


COLUMBIA LIBRARIES OFFSITE



CU05548039

II 614.4 C33 48

Columbia University
in the City of New York



BUTLER

Library

BIOLOGICAL SCIENCES LIBRARY
COLUMBIA UNIVERSITY

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. XLVIII. 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

Geh. Reg.-Rat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. XLVIII. Band.

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

Originale.

Mit 9 Tafeln und 93 Abbildungen im Texte.

J e n a,
Verlag von Gustav Fischer.
1909.

G 14.4
C 321

v. 48

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLVIII. Heft 1.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Bakterien der Enteritis-Gruppe (Typus Gärtner und Typus Flügge), insbesondere über die sogenannten „Fleischvergiftungserreger“ und die sogenannten „Rattenschädlinge“¹⁾.

[Aus dem Königl. Institute für Infektionskrankheiten in Berlin
(Direktor: Geh. O.-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.
Abteilungsvorst.: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Frosch).]

Von

Dr. Mühlens, Dr. Dahm und Dr. Fürst,
Marinestabsarzt. Assistenten am Institute.

Die Einteilung der Bakterien der Enteritisgruppe, zu denen wir auch die sogenannten Fleischvergiftungserreger (außer Botulinus) zählen, läßt sich am zweckmäßigsten nach dem Vorgange von De Nobele (3, 4), Kutscher und Meinicke (1) u. a. auf Grund des Agglutinationsverhaltens vornehmen: Je nach Beeinflussung durch Paratyphus B- bzw. Enteritis-Flügge-Serum einerseits (Gruppe I) oder Typhus- und Enteritis-Gärtner-Serum andererseits (Gruppe II). Diese beiden Gruppen sind zwar nicht kulturell, jedoch auf Grund der spezifischen Agglutination und Bakteriolyse streng auseinanderzuhalten (Kutscher und Meinicke u. a.).

Zur Gruppe I sind zu zählen: *Bac. enteritidis*, Typus I (Flügge, Kaensche, Aertryck, Meirelbeek u. a.), *Bac. paratyphus B* (Schottmüller), ferner auch *Mäusetyphusbacillus* (Loeffler), sowie *Hogcholera-* (Salmon-Smith) und *Psittakosebacillus* (Nocard).

In die Gruppe II gehören: *Bac. enteritidis*, Typus II (Gärtner, Rumfleth, Haustädt, Moorseele, Brüssel, Gent u. a.), ferner, wie sich auch aus unseren Untersuchungen ergibt: *Bac. Danysz*, *Ratin*, *Isatschenko* und *Rattenbacillus Dunbar*.

Die Bakterien der sogenannten Enteritisgruppe beanspruchen in neuerer Zeit viel Aufmerksamkeit. — Als Ende 1906 gelegentlich der bakteriologischen Untersuchung einer in Berlin nach dem Genuß von Gänsepökelkeule entstandenen Fleischvergiftung einige Kontrollfütterungen von weißen Mäusen mit in Berlin N gekaufter, geräucherter Gänsebrust und rohem Schinken gemacht wurden, fand sich, daß auch viele der mit den letztgenannten Fleischsorten gefütterten Tiere unter Vergiftungserscheinungen eingingen (Mühlens). Aus den Organen der Tiere ließen sich alsdann Bakterien entweder von dem vorhin genannten Typus (Enteritis Gärtner) oder dem anderen Enteritistypus (Enteritis Flügge) in Reinkultur nachweisen. Bei diesem höchst auffallenden Ergebnis konnte man denken, daß es sich um eine zufällige (vielleicht Laboratoriums-) Infektion der Mäuse gehandelt habe, zumal da die Tiere nach der anfänglichen Fleischfütterung von dem Diener weiterhin mit Brot

1) Anm. bei Korrektur: Die Untersuchungen sind im Winter 1906/07 ausgeführt. Die neuere Literatur ist daher nicht mit berücksichtigt. Aus äußeren Gründen konnte die Publikation erst jetzt erfolgen.

und Hafer versorgt wurden. Um daher sicher festzustellen, ob tatsächlich eine derartige Infektion von weißen Mäusen nach Verfütterung von beliebigem unverdächtigem Räucherfleisch u. dergl. zustande kommen könne, nahmen wir eine große Anzahl von Fütterungsversuchen mit den verschiedensten Fleischsorten unter ganz besonderen Vorsichtsmaßregeln vor. Bei diesen wurde in ganz einwandfreier Weise das auffallende Ergebnis der ersten Fütterungsversuche bestätigt.

Im einzelnen können wir über unsere Untersuchungen folgendes berichten:

A. Untersuchungen über durch Fleischverfütterungen bei weißen Mäusen beobachtete Infektionen mit Bakterien der Enteritis-Gärtner und Enteritis-Flügge-Gruppe.

1. Material und Untersuchungsmethoden.

Die zur Untersuchung und zur Verfütterung verwendeten Fleischarten waren in den verschiedensten Fleischläden des Nordens und Nordwestens von Berlin gekauft und waren zum Verkauf bestimmt. Die Fleischarten sind im einzelnen aus der Tabelle I und II ersichtlich. Am häufigsten wurde mit Gänsebrust (Spickgans) und Schinken gefüttert. Zuweilen gingen wir darauf aus, möglichst verdorbene ältere Fleischproben zu bekommen, die jedenfalls bereits längere Zeit gelegen hatten (Tab. I, 8, 12, 13, 14, 21, 23, 25, 27, 28, 32, 40, 42 und 48); zwei zur Untersuchung gelangte Fleischsorten (Tab. I, 3 und 56) waren von der Polizeibehörde beschlagnahmt und dem Institut zur Untersuchung übersandt worden, nachdem einige Personen nach dem Genusse derselben unter heftigen Erscheinungen an einer akuten Fleischvergiftung erkrankt waren.

Kulturelle Untersuchungen. Im Laboratorium wurde das Fleisch aus der Umhüllung herausgenommen und sogleich in eine sterile Doppelschale gelegt. In den meisten Fällen wurde alsdann zunächst versucht, in folgender Weise aus dem Fleisch direkt irgend welche pathogenen Keime zu züchten: Nach Zerkleinerung der zur Untersuchung bestimmten Stücke mit steriler Schere wurden sie in sterilem Mörser mit etwas Kochsalzlösung fein zerrieben; alsdann Ausstreichen von der Emulsion auf Drigalski- oder Malachitgrünplatten oder beide. Häufig beschickten wir auch zunächst Bouillonröhrchen mit etwa 1 ccm des zerriebenen Fleisches: Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank erfolgte dann die Besäung der Platten wie vorhin. Mitunter ließen wir auch Bouillonaufschwemmungen über Nacht im Schüttelapparat und legten dann erst von diesen geschüttelten Aufschwemmungen die Platten an. Endlich wurde noch eine Anreicherung der etwa vorhandenen Bakterien ähnlich der Anreicherung von Typhusbacillen in Organen versucht: Unzerkleinerte Fleischstücke blieben in steriler Schale über Nacht bei 37° C und wurden dann ähnlich wie das andere Material verarbeitet.

Fütterungsversuche. Als Fütterungstiere wurden fast ausschließlich weiße Mäuse, nur in vereinzelten Fällen auch bunte Ratten gebraucht. Häufig ließen wir die Tiere vorher hungern. Besondere Sorgfalt wurde auf die Reinheit der Tiergefäße verwendet. Wie sich aus später erwähnten Beobachtungen ergibt, war dies unbedingt notwendig zur einwandfreien Durchführung der großen Versuchsreihe. Als Tiergefäße dienten die bekannten, etwa 30 cm hohen, 18 cm breiten zylindrischen Gläser, die mit einem Deckel aus breitmaschigem Drahtnetz geschlossen waren. Glas und Deckel wurden vor der Benutzung

mindestens 2 Stunden (meistens über Nacht) in eine 5-proz. Kresollösung gestellt, dann mit heißem Wasser gründlich ausgespült und im Trockenschrank bei 60° C einige Stunden belassen. Vor Einbringen in den Trockenschrank waren die Deckel mit einer mehrfachen Gazeschicht überzogen worden, um Verunreinigung der Gefäße von außen, etwa durch infizierte Fliegen, zu vermeiden. Später wurden auch noch alle Tiere in einem vom Arbeitslaboratorium vollständig getrennten Raum untergebracht.

Das Fütterungsmaterial wurde mit sterilen Instrumenten möglichst fein zerschnitten und in den ersten Versuchen in dieser Weise, in späteren in Kochsalzlösung oder Bouillon gegeben. Die sämtlichen Fütterungen, auch die späteren mit Hafer und Brot, wurden später stets von dem Versuchsleiter, nicht vom Diener, vorgenommen. Gefüttert wurden die Tiere in den ersten Versuchen (1—3) 1mal, später überwiegend 2mal, d. h. sie erhielten die betreffenden Fleischsorten an zwei aufeinanderfolgenden Tagen ausschließlich als Nahrung; nur die Tiere in den Versuchen 8—11 waren an 4—5 aufeinanderfolgenden Tagen mit Fleisch gefüttert worden. Nach der Fleischfütterung bestand die Nahrung aus Brot und Hafer, derselben Nahrung, die auch die anderen gesunden Mäuse im Institut sowie unsere Kontrolltiere täglich bekamen.

2. Ergebnis der kulturellen Fleischuntersuchungen.

Aus keiner der nach den beschriebenen Methoden untersuchten 57 Fleischsorten gelang es, Bakterien aus der Gruppe der Fleischvergiftungserreger kulturell nachzuweisen. Die Platten, auf denen das fein zerriebene Fleisch (meist Rauch- und Salzfleischarten) ausgestrichen war, blieben in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle in den ersten 24 Stunden steril. Erst nach 48—72 Stunden zeigte sich um die auf die Platten gebrachten Fleischstückchen häufig geringes Wachstum von weißgrauen und bläulichen Kolonien. Mikroskopisch erwiesen diese sich als Kokken, mitunter dem *Diplococcus lanceolatus* ähnliche Diplokokken. Es gelang weder durch Verfütterung von Kulturen dieser Kokken noch durch subkutane Injektion weiße Mäuse sichtlich krank zu machen oder zu töten. 2mal wuchsen nach Ausstreichen von Gänsebrustemulsion auf Drigalski-Platten bläuliche, von Enteritiskolonien nicht zu unterscheidende Kolonien fast in Reinkultur, die aber von keinem unserer Sera agglutiniert wurden.

Die Platten, die mit einem Tropfen der beschriebenen Bouillonaufschwemmungen beschickt waren, blieben mitunter anfangs auch steril; doch zeigten sich auch häufig auf ihnen viele feine stecknadelkopfgroße, bläuliche Kolonien nach 24 Stunden (Kokken und Diplokokken), sowie häufig auch Coli-artige Bakterien.

Die mit der 24 Stunden bei 37° C aufbewahrten Bouillonaufschwemmung besäten Platten wurden fast stets von zahlreichen Bakterien überwuchert, unter denen keine Enteritis- oder ähnliche Kolonien ausfindig gemacht werden konnten.

3. Ergebnis der Fütterungsversuche.

Unsere 57 Fütterungsversuche sind in der Tabelle I und II skizziert.

Tabellenerklärung. In der Tab. I, Spalte 5 sind die einzelnen Tiere getrennt durch die Bezeichnungen a, b und c, ebenso wie in den beiden nächsten Rubriken. Außerdem findet sich in Spalte 5 die Angabe des Datums, an dem die Mäuse spontan eingingen [z. B. a) 18. Okt.] oder getötet wurden [z. B. b) get. 7. Dez.]. In der Rubrik „Sektionsbefund“ bedeutet:

+ hinter dem betreffenden Organ: deutlich vergrößert,
 ++ stark vergrößert,
 +++ sehr stark vergrößert,
 o.B. ohne bemerkenswerten Befund,
 typ. typisch, d. h. beim Darmbefund: dünner, schleimiger Inhalt und ödematöse Durchtränkung der Darmserosa.

In der Spalte „Bakteriologischer Befund“ bedeutet: „R. K.“ Reinkultur, ferner: „—“ negatives Kulturresultat. Bezüglich der Zeichen in der letzten Rubrik gilt folgendes:

+ bedeutet: mit Lupe undeutliche Agglutination erkennbar,
 ++ mit bloßem Auge feine Agglutination erkennbar,
 +++ mit bloßem Auge mittelgrobe Agglutination erkennbar,
 ++++ mit bloßem Auge sehr grobflockige Agglutination erkennbar.

Tabelle I.
 Fleischfütterungsversuche bei weißen Mäusen.

Laufende No.	Art und Aussehen des verfütterten Fleisches	Zahl der Mäusefütterten	Gefüttert am	Eingegangen oder getötet am	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund (auf Drigalskiplatte)	Typusserum 1:200	Paratyphus B. Serum 1:200	Danzysz-Serum 1:500
1	Gänsebrust, frisch	3	13. Okt. 1906	a) 18. Okt. 1906 b) u. c) 19. Okt.	a) b) u. c) Milz +, Leber +, Darm typ. u. Herz, Darm —	a) R. K. aus Milz u. Herz, Darm —	++	—	—
2	Gänsebrust, frisch	3	19. Okt.	a) 5. Nov. b) 10. Nov. c) get. 7. Dez.	a) Milz +, Leber u. Darm o. B. b) Milz ++++, Leber +, gefleckt, Darm typ. c) Sektion o. B.	a) u. c) Herz, Milz steril, Darm — b) R. K. aus Herz u. Milz, Darm —	—	++	—
3	Rohrer Schinken, eingesandt von Polizeibehörde, da Menschen nach Genuß mit Erbrechen erkrankt	2	24. Okt.	a) 1. Nov. b) 10. Nov.	a) Milz +, Leber o. B., Darm typ. b) Milz ±, Leber o. B., Darm typ.	a) u. b) R. K. aus Herz u. Milz, Darm —	—	+	—

Laufende No.	Art und Aussehen des verfütterten Fleisches	Zahl der gefütterten Mäuse	Gefüttert am	Eingegangen oder getötet am	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund (auf Drigalskiplatte)	Orientierende Probe-agglutination		
							Typus serum 1:200	Para-Typus Serum 1:200	Dauysz-Serum 1:500
13	Gänsebrust, alt, trocken	2	1. Dez.	a) u. b) get. 21. Jan. 07	a) Milz +, Darm, Leber o. B. b) Milz ++, Leber, Darm o. B.	a) Aus Herz u. Milz vereinzelte blaue Kolonien, Darm o. B. b) Organe steril	-	+	-
14	Gänsebrust, alt, faserig	2	6. Dez.	a) u. b) get. 31. Jan.	a) u. b) Milz ++, Leber, Darm o. B.	a) u. b) Herz, Milz steril, Darm —	.	.	.
15	Rohrer Schinken, frisch	2	6. Dez.	a) 29. Jan. b) get. 29. Jan.	a) Milz ++++, Leber +, gefleckt, Darm partienweise ödematös b) Milz +, Leber, Darm o. B.	a) R. K. aus Herz u. Milz, Darm — b) Milz u. Herz steril, Darm —	-	+	-
16	Frische Schweinerippe	2	7. Dez.	a) 14. Dez. 06 b) 21. Jan. 07	a) Milz +, Leber gefleckt, Darm typ. b) Milz ++, Leber +, gefleckt, Darm typ.	a) Milz u. Herz steril, Darm — b) R. K. aus Niere, Herz, Milz, Darm	.	.	++
16	Schweinerippe 16a, 1/4 St. im Wasserbade gekocht	3	7. Dez.	a) b) u. c) get. 29. Jan.	Sektion o. B.	Herz, Milz, Niere steril, Darm —	.	.	.
17	Ochsenszunge, frisch	2	10. Dez.	a) 24. Dez. b) get. 21. Jan.	a) Milz ++++, Leber +, gefleckt, Darm typ. b) Milz ++++, Leber dunkelrot, Darm aufgetrieben	a) R. K. aus Herz, fast R. K. aus Milz, Darm — b) Herz 2 blaue Kolonien, Niere, Milz steril, Darm —	+	+	++
18	Rohrer Schinken, frisch	2	13. Dez.	a) u. b) get. 30. Jan.	a) u. b) Milz +, sonst o. B.	Organe steril, Darm —	.	.	.
19	Gänsebrust, angeblich nur schwach geräuchert, frisch	2	13. Dez.	a) 14. Dez. b) get. 30. Jan.	a) Leber gelb, sonst o. B. b) Sektion o. B.	a) Aus Milz, Herz, Darm nur rote Kolonien b) Aus Milz einzelne blaue u. rote Kolonien	-	+	-

20) Gänsebrust, frisch	leidlich	2	14. Dez.	a) 28. Jan. b) get. 3. Febr.	a) Milz +++ , Leber + , stark gefleckt, Darm typ. b) R. K. aus Herz, Milz, fast R. K. aus Darm	a) R. K. aus Herz, Milz, Darm b) R. K. aus Herz, Milz, fast R. K. aus Darm	-	++	-
21) Roper Schinken, blaß, trocken		2	14. Dez.	a) 17. Dez. b) get. 21. Jan.	a) Leber gelb, Milz -, Darm eng, Inhalt fest b) Milz ++ , sonst o. B.	a) Milz u. Herz steril, Darm - b) Organe steril, Darm -	-	++	-
22) Gänsebrust, frisch		2	14. Dez.	a) 27. Dez. b) get. 23. Jan.	a) Milz ++ , Leber + , gefleckt, Ekchymosen in Lungen, Darm typ. b) Milz ++ , Leber blaß, Darm o. B.	a) R. K. aus Milz, Herz, Darm b) Milz u. Herz steril, Darm -	-	++	-
23) Gänsebrust, braunrot, trocken, am Raude schmierig		2	15. Dez.	a) u. b) get. 30. Jan.	a) u. b) Milz + , sonst o. B.	Milz, Herz steril, Darm -	-	-	-
24) Bückling, frisch		2	16. Dez.	a) 19. Jan. b) 28. Jan.	a) Milz +++ , Leber sehr stark fleckig, Darm par-tienweise ödematös b) Milz +++ , in Leber große gelbe Flecken, Darm wenig ödematös	a) u. b) R. K. aus Milz, Herz, Niere, Darm	+	-	++
25) Hamburger fleisch, faserig, feucht, schmierig, Geruch nach Lake	Rauch-	2	18. Dez.	a) u. b) get. 1. Febr.	a) Milz + , sonst o. B.	a) Herz steril, aus Milz einige bläuliche Kolonien, Darm - b) Organe steril	-	-	-
26) Schweinepöckelfleisch, frisch		2	18. Dez.	a) u. b) get. 31. Jan.	Sektion bei beiden o. B.	Organe steril	-	-	-
27) Gänsepöckelkeule, trocken, schmutzig grau-rot, übler Geruch		2	19. Dez.	a) 21. Dez. b) get. 29. Jan.	a) Milz + , Leber + , gefleckt, Darm typ. b) Milz +++ , sonst o. B.	a) R. K. aus Milz, Niere, Herz, fast R. K. aus Darm b) R. K. aus Herz, Milz, Darm -	-	+	-
28) Gänsebrust, trocken, dunkel-braunrot		2	21. Dez.	a) 23. Jan. b) get. 23. Jan.	a) Milz +++ , sehr breit, gefleckt, Leber + , gefleckt, Darm typ. b) Milz + , Leber blaß, Darm o. B.	a) u. b) R. K. aus Herz u. Milz, a) fast R. K. aus Darm	+	-	++

Laufende No.	Art und Aussehen des verfütterten Fleisches	Zahl der Mäuse gefütterten	Gefüttert am	Eingegangen oder getötet am	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund (auf Drigalskiplatte)	Orientierende Probe- agglutination		
							Typus- serum 1:200	Para- typhus B Serum 1:200	Danysz- Serum 1:200
29	Rohrer Schinken, frisch	2	21. Dez.	a) u. b) get. 31. Jan.	a) u. b) Sektion o. B.	a) u. b) Organe steril	.	.	.
30	Rohrer Schinken, frisch	2	3. Jan. 07	a) u. b) get. 1. Febr.	a) Sektion o. B. b) Milz +, sonst o. B.	a) u. b) Organe steril	.	.	.
31	Gänsebrust, etwas trocken	2	3. Jan.	a) 16. Jan. b) get. 2. Febr.	a) Milz +, Leber +, b) Sektion o. B.	a) R. K. aus Herz u. Milz, Darm — b) Organe steril	.	+	—
32	Gänsepökelkeule, am Rande trocken, nach innen schmutzig braunrot	2	4. Jan.	a) 16. Jan. b) get. 29. Jan.	a) Milz ++, Darm kaum verändert, Leber gelb b) Milz +, sonst o. B.	a) Aus Milz, Herz rote u. bläuliche Kol., Darm — b) Organe steril	.	—	.
33	Bückling, frisch	2	4. Jan.	a) u. b) get. 2. Febr.	a) u. b) Sektion o. B.	a) u. b) Organe steril	.	.	.
34	Rohrer Schinken, frisch	2	7. Jan.	a) u. b) get. 2. Febr.	a) u. b) Sektion o. B.	a) Milz steril, aus Herz einige rote Kol., Darm — b) Organe steril	.	—	.
35	Gänsebrust, trocken	2	7. Jan.	a) u. b) get. 4. Febr.	a) Milz ++, Darm leicht ödematös, Leber o. B. b) Milz +, sonst o. B.	a) R. K. aus Milz, Herz, Darm — b) Organe steril	.	+	—
36	Rohrer Schinken	1	8. Jan.	25. Jan.	Milz +, Leber dunkelbraunrot, Darm typ.	R. K. aus Herz u. Milz, Darm —	.	+	—
37	Gänsebrust, frisch	2	8. Jan.	a) u. b) get. 6. Febr.	a) u. b) Milz +, Darm partienweise ödematös	a) u. b) Organe steril	.	.	.
38	Gänsebrust, frisch	2	10. Jan.	a) 22. Jan. b) 28. Jan.	a) Milz ++, Leber leicht gefleckt, Darm typ. b) Milz +, Darm leicht ödematös, Leber dunkel	a) u. b) R. K. aus Herz, Milz u. Niere; Darm —	.	—	++

39) Rober Schinken, frisch	3	10. Jan.	a) 19. Jan. b) 30. Jan. c) get. 4. Febr.	a) u. b) Milz ++, Leber a) u. b) R. K. aus Herz, sehr stark gefleckt, Darm aus Darm c) Sektion o. B.	+	-	++
40) Rober Schinken, alt u. trocken	3	10. Jan.	a) 20. Jan. b) 23. Jan. c) get. 6. Febr.	a) u. b) Milz +, gefleckt, a) u. b) R. K. aus Herz, Leber +, gefleckt, Darm Milz u. Niere; Darm — typ. c) Milz +, Darm o. B.	.	+	-
41) Gänsebrust, frisch	3	10. Jan.	a) 21. Jan. b) 26. Jan. c) get. 5. Febr.	a) (am Kopfe angefressen), a) R. K. aus Herz, Milz, Niere, fast R. K. aus Darm typ. b) Milz ++, sehr breit, b) R. K. aus Herz u. Milz, Leber gefleckt, Darm typ. c) Milz +, sonst o. B.	.	+	-
42) Rober Schinken, trocken, faserig	3	11. Jan.	a) 16. Jan. b) 28. Jan. c) 3. Febr.	a) b) u. c) Milz ++, Le- a) Organe steril ber +, dunkelbraun, ge- b) R. K. aus Milz, Herz, fleckt, Darm typ.	-	+	-
43) Rober Schinken, frisch	2	11. Jan.	a) 14. Jan. b) get. 6. Febr.	a) (Sektion sofort nach dem a) Aus Milz überwiegend Tode), Milz +, Darm par- blaue, aus Herz einzelne tierenweise ödematös, Leber rote Kolonien, Darm — o. B. b) Milz +, sonst o. B.	-	++	-
44) Gänsebrust, frisch	3	11. Jan.	a) 20. Jan. b) u. c) get. 6. Febr.	a) Milz +, Leber +, a) R. K. aus Herz, Niere, dunkelrot, gefleckt, Darm fast R. K. aus Milz; typ. b) Milz +, sonst o. B. c) Sektion o. B.	.	-	++
45) Gänsebrust, frisch	3	12. Jan.	a) b) u. c) get. 6. Febr.	a) u. b) Sektion o. B. b) u. c) Organe steril c) Milz +, Darminhalt a) Aus Herz, Milz einzelne dünn rote Kolonien	.	-	-

Laufende No.	Art und Aussehen des verfütterten Fleisches	Zahl der gefütterten Mäuse	Gefüttert am	Eingegangen oder getötet am	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund (auf Drigalskiplatte)	Orientierende Probe-agglutination		
							Typus-serum 1:200	Para-Typus B Serum 1:200	Danzs-Serum 1:500
46	Rohrer Schinken, frisch	3	12. Jan.	a) 31. Jan. b) 5. Febr. c) get. 6. Febr.	a) (angefressen, Herz u. Lungen fehlen), Milz ++++, Darm leicht ödematös b) Milz +, Leber +, Darm typ. c) Milz ++, sonst wie b)	a) R. K. aus Milz; Darm —	—	+	—
47	Ochsenszunge, frisch	3	15. Jan.	a) 28. Jan. b) 4. Febr. c) 6. Febr.	a) (angefressen, Herz, Lungen, Milz fehlen), Darm typ. b) Milz +, Leber +, dunkel, Darm partienweise ödematös c) wie b)	a) R. K. aus Nieren, fast R. K. aus Darm b) u. c) R. K. aus Herz u. Milz, Darm —	—	+	—
48	Gänsebrust, alt	3	15. Jan.	a) u. b) 28. Jan. c) get. 7. Febr.	a) angefressen b) Milz +, Leber +, dunkel-braunrot, Darm partienweise ödematös c) Sektion o. B.	a) R. K. aus Herz, Milz, Darm — c) Einzelne rote Kolonien aus Herz und Milz, Darm —	—	—	—
49	Rohrer Schinken	3	15. Jan.	a) 28. Jan. b) 3. Febr. c) 4. Febr.	a) Milz ++++, Leber +, Darm typ. b) u. c) Milz ++, Leber +, gefleckt, Darm typ.	a) u. c) R. K. aus Milz, Niere, Herz, Darm — b) R. K. aus Milz, Herz, Niere, fast R. K. aus Darm	—	+	—

50	Geräucherter frisch	3	15. Jan.	a) 17. Jan. b) 22. Jan. c) get. 22. Jan.	a) (angefressen, Darm fehlt) Milz —, in Leber viele bis erbsengroße Cysten b) u. c) Milz +, Leber gelb, Darm typ. a) Aus Herz vor-inzelte blaue Kolonien, aus Milz nur rote, Darm — b) R. K. aus Herz, Milz, Niere c) R. K. aus Herz, Milz, Niere, fast R. K. aus Darm	+	-	+	++
51	Rober Schinken, frisch	3	15. Jan.	a) 25. Jan. b) 28. Jan. c) 7. Febr.	a) u. b) Milz +, Leber +, dunkel, leicht gefleckt, Darm typ. c) Sektion o. B.	-	+	-	+
52	Gänsebrust, frisch	3	16. Jan.	a) 5. Febr. b) u. c) get. 7. Febr.	a) Milz +, Leber dunkel-braunrot, leicht gefleckt, Darm typ. b) Milz +, sonst o. B. c) Milz + +, Leber +, Darm typ.	-	(±)	-	-
53	Rober Schinken	3	16. Jan.	a) 5. Febr. b) 7. Febr. c) get. 7. Febr.	a) Milz + + +, breit und dick, Leber +, gefleckt, Darm typ. b) Milz +, Leber o. B., Darm leicht ödematös c) Sektion o. B.	-	+	-	-
54	Ochsenzunge, frisch	3	18. Jan.	a) b) u. c) get. 7. Febr.	a) b) u. c) Organe steril, Darm —	-	+	-	-
55	Ochsenzunge, frisch	3	18. Jan.	a) 28. Jan. b) 2. Febr. c) 4. Febr.	a) b) u. c) Milz +, Leber +, leicht gefleckt, Darm typ.	-	+	-	-
56	Geräucherte Fleischwurst, als verdächtig von der Polizeibehörde eingesandt, da Personen nach Genuß erkrankt	3	3. Jan.	a) u. b) aufgefressen c) 17. Jan.	a) u. c) R. K. aus Milz u. Herz; Darm — b) R. K. aus Milz u. Herz, fast R. K. aus Darm c) R. K. aus Herz u. Milz, Darm —	-	+	-	-

Ueberblicken wir das Ergebnis der in Tab. I zusammengestellten Versuche, dann ergibt sich die auffallende Tatsache, daß eine große Anzahl unserer Mäuse nach Fütterung mit geräucherten und gepökelten Fleischarten einging, einen pathologisch-anatomisch gut charakterisierten Befund zeigte und meist in den Organen Bakterien der Fleischvergiftungserreger (Enteritis-Flügge oder E. Gärtner-Gruppe) beherbergte.

Unter den 57 Fütterungsversuchen an je 2 oder 3 Mäusen starben bei 40 Versuchen ein oder mehrere Tiere, und zwar 74 (53,6 Proz.) von im ganzen 138 gefütterten Tieren. Nur bei 17 Versuchen blieben alle Tiere am Leben. Diese wurden sämtlich nach 4—6 Wochen ebenso wie die bei den anderen 40 Versuchen noch überlebenden Tiere getötet und auch untersucht, im ganzen waren dies 64 (46,4 Proz.) überlebende Tiere.

Die Tiere starben am häufigsten 7—14 Tage nach der Fütterung, mitunter auch früher oder erheblich später. Ein ausgesprochenes Krankheitsbild war in der Regel nur dann vorhanden, wenn der Tod bereits wenige Tage nach der Fütterung erfolgte. Die Mäuse magerten meist bald etwas ab, ihr Haar wurde struppig, und die sonst so munteren Tiere saßen regungslos an derselben Stelle; auf äußere Reize, wie Ergreifen mit der Pinzette, reagierten sie wenig. Durchfälle von dünnen gelblichen, zum Teil schleimigen Massen wurden oft vor dem Tode beobachtet, jedoch nicht in allen Fällen. Manche Tiere erholten sich nach anfänglichen Krankheitserscheinungen wieder und waren bis zu dem Tage, an dem sie eingingen oder getötet wurden, meist munter. Ob vielleicht doch kurz vor dem Tode charakteristische Krankheitserscheinungen auftraten, konnte nicht beobachtet werden, da fast alle Tiere während der Nacht starben, mit einer einzigen Ausnahme; dies Tier lag etwa 24 Stunden lang regungslos da, und die Atembewegungen waren das einzige Lebenszeichen.

a) Pathologisch-anatomischer Befund.

Die Sektion bot bei den meisten eingegangenen und auch bei vielen der getöteten Tiere einen charakteristischen Befund. Die Veränderungen erstreckten sich hauptsächlich auf den Darm, die Milz und die Leber.

Der Dünndarm war häufig, anscheinend insbesondere in den leichter verlaufenden Fällen, meteoristisch aufgetrieben; die Darmschlingen wölbten das Peritoneum vor und erschienen durch diese als über bleistiftdicke weiße Wülste durch. Die Darmserosa war verdickt, ödematös durchtränkt und sah weich und gelockert aus. In anderen Fällen bestand eine hochgradige sulzige ödematöse Durchtränkung der Darmserosa und starke Injektion der Darmgefäße. Der Darminhalt war dünnflüssig, schleimigweiß oder mehr gallig, gelb oder grünlich. — Die Milz war fast stets deutlich vergrößert und dunkelrot gefärbt, zuweilen mit zahlreichen gelben bis stecknadelkopfgroßen, mitunter noch größeren Knötchen durchsetzt. Die Milzschwellung war in einzelnen Fällen, namentlich bei 2—3 Wochen nach der Fütterung verstorbenen Tieren, so hochgradig, daß das Organ vollkommen die linke Bauchseite ausfüllte und eine Länge von $2\frac{1}{2}$ cm und eine Breite von 1 cm erreichte. — Nicht so konstant, doch sehr häufig, war auch die Leber vergrößert, von dunkelbraunroter Farbe und mitunter ähnlich wie die Milz mit zahlreichen kleinen gelben Knötchen durchsetzt, die ihr dann ein marmoriertes Aussehen verliehen. — In seltenen Fällen wurden noch geringe Exsudate in Brust- und Bauchhöhle gefunden. — Die Lungen waren oft hyperämisch.

b) Bakteriologischer Befund.

Die bakteriologische Untersuchung der eingegangenen und getöteten Mäuse erstreckte sich in erster Linie auf Milz, Herz und Darminhalt, zuweilen auch auf andere Organe. Von dem zu untersuchenden Material wurde je 1 Platinöse Saft auf Drigalski-Platten ausgestrichen. Auf den Platten von der größeren Anzahl der Tiere erhielten wir aus Milz und Herz eine Reinkultur von Kolonien, die sich im hängenden Tropfen als lebhaft bewegliche Stäbchen erwiesen. Häufig fanden sich dieselben Kolonien auch auf den Platten vom Darminhalt, auch hier mitunter fast in Reinkultur.

Bei den orientierenden Probeagglutinationen mit Typhusserum 1:200, Danysz-Serum 1:500 (Typus Enteritis Gaertner) und Paratyphus B-Serum 1:200 trat bei den meisten Kolonien eine deutliche sofortige Agglutination mit Paratyphus B-Serum, bei anderen mit Danysz- und Typhusserum auf. Von den in dieser Weise positiven Versuchsreihen wurde dann je 1 Stamm auf Agar reingezüchtet und später der genauen kulturellen Prüfung unterzogen.

Bei den Probeagglutinationen ließ sich serodiagnostisch von vornherein folgende Trennung vornehmen:

- a) Positive Reaktion auf Typhus- u. Danysz-Serum: in 13 Versuchen bei 25 Mäusen,
 b) " " " Paratyphus B-Serum: " 24 " " 45 "

Von den unter

- a) genannten Tieren waren spontan eingegangen: in 12 Versuchen 20 Mäuse,
 b) " " " " " 20 " 36 "

Im ganzen war also, wie auch noch im einzelnen aus der folgenden Tab. II ersichtlich ist, bei 70 Versuchstieren aus 37 verschiedenen Versuchsreihen ein positives kulturelles Resultat erzielt, d. h. einer der beiden Enteritistypen gezüchtet worden. Bei 20 Versuchen war das kulturelle Resultat gänzlich negativ. Von den 70 positiven Tieren waren im ganzen 56 in 32 Versuchen spontan eingegangen und 14 in 14 Versuchen getötet worden. Von diesen letzteren stammten aber auch viele (9) aus 9 Versuchen, in denen außerdem Tiere spontan mit positivem Befund eingegangen waren. In diesen wie in den übrigen Fällen deckte sich der bakteriologische Befund der verschiedenen Tiere einer Versuchsreihe stets, d. h. die positiven Tiere einer Versuchsreihe hatten stets dasselbe Bakterium. — Im ganzen wurde nur aus 5 Versuchen, bei denen keine Tiere spontan eingegangen waren, ein positives kulturelles Resultat gewonnen.

In der folgenden Tabelle II sind die eingegangenen bzw. getöteten Tiere noch besonders mit Bezug auf die zur Fütterung verwendeten Fleischarten zusammenfassend zusammengestellt.

Morphologisch sind unsere Bacillen nicht von denen der Enteritis-Gruppe I und II zu trennen. Die kurzen (in Kultur auch längeren) Stäbchen mit vielen langen Geißeln sind lebhaft beweglich, lebhafter als Typhusbacillen. In Gewebsschnitten sowie in Organausstrichen zeigen sie meist deutliche Polfärbung und haben somit eine große Ähnlichkeit mit den Septikämieerregern. Sie sind gramnegativ.

Kulturelles Verhalten der gewonnenen Stämme.

Das verschiedene serodiagnostische Verhalten bei der orientierenden Agglutination ließ den Schluß zu, daß es sich um 2 verschiedene Bakterienarten handele. In ihrem kulturellen Verhalten ließen sich die beiden aber nicht unterscheiden. Nur schien es häufig, als ob auf Lackmus-Milchzucker-Agarplatten die auf Paratyphus B-Serum reagierenden Stämme etwas größer und üppiger sowie weniger durchscheinend

Tabelle II.
Zusammenfassende Uebersicht über die Tiere mit positivem
Bakterienbefund.

Gefüttert mit	Anzahl der Tiere	Spontan eingegangen	Mit positivem Befund	Ge-tötet	Mit positivem Befund	Im ganzen positiv
Gänsebrust	53	25	17	28	8	25
Rohem Schinken	48	31	25	17	3	28
Gekochtem Schinken	3	—	—	3	—	—
Schweinepökelfleisch	2	—	—	2	—	—
Schweinerippe, frisch	2	2	1	—	—	1
Schweinerippe, dieselbe gekocht	3	—	—	3	—	—
Gänsepökelleule	4	2	1	2	1	2
Ochsenzunge, geräuchert, frisch	11	7	7	4	1	8
Ger. Bückling	4	2	2	2	—	2
Hamb. Rauchfleisch	2	—	—	2	—	—
Ger. Lachs	3	2	2	1	1	3
Ger. Wurst	3	3	1	—	—	1
Summe	138	74	56	64	14	70

wuchsen, während die anderen zartere, mehr durchscheinende Kolonien bildeten. Auch zeigte deren Farbe meist ein reineres Blau, während die ersteren meist einen graublauen Farbenton aufwiesen. Jedoch waren diese Unterschiede keineswegs konstant. Im einzelnen verhielten sich alle Stämme kulturell folgendermaßen:

Lackmusmolke wird nach 24 Stunden rot, nach 48—72 Stunden violett, dann blau unter zunehmender Trübung der Molke und Bildung eines Oberhäutchens auf der Molke.

Barsiekow-Milchzucker-Nutroselackmuslösung ist nach 72 Stunden und auch später noch unverändert; keine Gasbildung.

Barsiekow-Traubenzucker-Nutroselackmuslösung ist nach 24 Stunden erdbeerfarben, geronnen; Gasbildung.

Milch gerinnt nicht; sie nimmt nach 10—14 Tagen einen gelblichen Farbenton an und wird durchsichtig (ähnlich wie es Schottmüller zuerst bei Paratyphus B beschrieb).

In Rothbergerschem Neutralrotagar zeigt sich starke Gasbildung sowie nach 24—48 Stunden auch Fluoreszenz.

In Mannitnährboden (Hetsch) Rötung, Gerinnung, wenig Gasbildung.

Gelatine wird nicht verflüssigt.

Wachstum auf Agar nicht charakteristisch.

Keine Indolbildung.

Ihrem gemeinsamen kulturellen und morphologischen Verhalten nach gehören also beide Arten zu der Klasse der Enteritiskakterien (Typus I und II), die ja auch kulturell sich nicht voneinander unterscheiden lassen.

Agglutinationsprüfungen: Wie nach dem Ausfall der Probeagglutination zu erwarten war, traten nun auch bei dem genauen Aus-titrieren der Tierstämme in agglutinatorischer Beziehung deutliche Unterschiede zwischen den beiden Typen zutage. Diese gehen aus den Tabellen III, IV und V hervor. Bezüglich der Bezeichnungen bei den Agglutinationen gilt das bereits früher (p. 4) Gesagte. In den Tabellen sind vergleichsweise die Resultate notiert, die wir feststellten: a) nach $\frac{1}{4}$ Stunde, b) nach 1 Stunde Brutschrankaufenthalt und c) nach weiteren 20 Stunden bei Zimmertemperatur.

Tabelle III.
Agglutination der Stämme vom Typus Enteritis Flüge mit Paratyphus B-Serum-Titer 1:5000.

Stamm	1:1000			1:2000			1:3000			1:4000			1:5000			1:6000			1:10000			Norm. Pferde- serum 1:200			
	1/4 St.	1 St.	20 St.	1/4 St.	1 St.	20 St.	1/4 St.	1 St.	20 St.	1/4 St.	1 St.	20 St.	1/4 St.	1 St.	20 St.	1/4 St.	1 St.	20 St.	1/4 St.	1 St.	20 St.	1/4 St.	1 St.	20 St.	
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5c	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22a Herz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22a Darm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27a Milz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27a Darm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
36	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
36 subkutan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
39b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
41b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
42	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
46a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
47c	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
51c	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
52c	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
53c	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
217 Paratyphus B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Aus Tabelle III ergibt sich, daß die dort aufgeführten Stämme (Enteritis Typus I) von Paratyphus B-Serum (Stamm 217 der Sammlung) hoch, viele fast bis zur Titergrenze agglutiniert wurden. Danysz-Serum (Typus Enteritis II) ließ dieselben in einer Verdünnung 1:400 vollkommen unbeeinflusst.

Die Stämme der Tabelle IV und V wurden von hochwertigem Danysz-Serum (Enteritis Typus II) bis zu einer Verdünnung von 1:20000, also auch fast bis zur Titergrenze agglutiniert, ferner auch von Typhusserum bis zur Verdünnung 1:1500, also in ähnlicher Weise wie Enteritis Gaertner von Typhus- und Danysz-Serum beeinflusst wird. Bei den Stämmen der Tabelle IV und V erfolgte durch Paratyphus B-Serum 1:200 noch eine Mitagglutination (Tabelle V), bei einzelnen sogar noch bei 1:500.

Aus den kulturellen und Agglutinationsprüfungen geht nun zur Genüge hervor, daß wir es bei der einen Gruppe von Kulturen (Tabelle III) mit Stämmen des Enteritis I (Flügge)-Typus, bei der anderen (Tabelle IV und V) dagegen mit Stämmen des Enteritis II (Gärtner)-Typus zu tun haben.

Virulenzprüfungen: Wie aus der Tabelle VI ersichtlich ist, war die Virulenz bei fast allen Stämmen (von beiden Typen) mindestens $\frac{1}{100}$ Oese, bei vielen $\frac{1}{500}$ und bei einigen $\frac{1}{1000}$ Oese. Fast alle Tiere aber (Meerschweinchen), die innerhalb 24 Stunden noch nicht tot waren (+ bedeutet: in 24 Stunden tot), gingen, auch nach Injektion von kleinen Dosen, später nach 3—4 Tagen, zugrunde. Der Sektionsbefund war typisch.

Tabelle VI.
Virulenzbestimmung bei einigen aus den Mäusen gezüchteten Stämmen.

Stamm	Typus	$\frac{1}{10}$ Oese	$\frac{1}{100}$ Oese	$\frac{1}{500}$ Oese	$\frac{1}{1000}$ Oese	$\frac{1}{2000}$ Oese
1	II	+	n. 60 Std. †	.	.	.
2	I	+	n. 6 Tagen †	.	.	.
3	I	+	+	.	.	.
4b	II	+	+	.	.	.
5c	I	+	+	.	.	.
6a	II	.	+	+	.	.
11	II	.	+	+	+	.
12b	II	.	+	+	.	.
15a	I	.	+	n. 60 Std. †	.	.
16a	II	.	n. 36 Std. †	n. 60 Std. †	.	.
17a	II	.	+	+	n. 2 Tagen †	.
22a	I	.	+	+	+	.
24a	II	.	+	+	.	.
27a	I	.	+	+	+	.
31a	I	.	+	n. 4 Tagen †	.	.
36a	I	.	+	+	.	.
38a	II	.	+	n. 60 Std. †	.	.
39b	II	.	+	+	.	.
40a	I	.	+	n. 5 Tagen †	.	.
41b	I	.	+	n. 4 Tagen †	.	.
44a	II	.	n. 36 Std. †	lebt	.	.
46a	I	.	+	+	.	.
49a	I	.	n. 60 Std. †	n. 4 Tagen †	.	.
50a	II	.	+	n. 3 Tagen †	.	.
50b	II	.	+	n. 36 Std. †	.	.
50c	II	.	+	n. 40 Std. †	.	.
51a	I	.	+	n. 15 Tagen †	.	.
55a	I	.	+	+	.	.
56	I	.	.	.	n. 72 Std. †	n. 6 Tagen †

Erste Abt. Orig. Bd. XLVIII.

Heft 1.

2

4. Subkutane Fleischimpfungen.

Mit einigen Fleischproben versuchten wir auch durch subkutane Impfung Mäuse tödlich zu infizieren. Von den Fleischsorten 36, 37, 47, 49, 50, 51, 53, 54 und 55 wurde je einer weißen Maus ein kleines Stückchen Fleisch aus der Bouillonaufschwemmung, die 24 Stunden bei 37° gehalten war, unter die Haut an der Schwanzwurzel gebracht. Alle Mäuse bis auf eine (36) starben unter starker Abmagerung innerhalb von 2—3 Tagen; Maus 36 lebte 11 Tage lang. Die Injektionsstellen waren verklebt und mit einem Schorf bedeckt. In der Hauttasche fanden sich noch kleine Ueberreste des Infektionsmaterials. Um dieselben bestand ein geringes Oedem und entzündliche Füllung der Gefäße. Die Milz war nur bei den Tieren 36 und 47 vergrößert; nur bei 36 zeigte der Darm eine geringe ödematöse Schwellung; sonst bot die Sektion keinen besonderen Befund. Bei der bakteriologischen Untersuchung von 49, 50, 51, 53, 54 und 55 wurden keine pathogenen Keime nachgewiesen. Dagegen ließen sich bei Maus 36 neben zahlreichen roten Kolonien auf der Drigalski-Platte aus Herz und Milz einzelne blaue nachweisen, die bei der genaueren Agglutination als zum Typus Enteritis II gehörend erkannt wurden (dieselbe Art war auch bei den Füttertieren nachgewiesen worden). Bei Maus 47 fanden sich ferner ebenso wie bei den entsprechenden Fütterungstieren dieselben Enteritisbakterien (Typus I) in Milz in Reinkultur und auch in reichlichen Mengen an der Impfstelle.

Bei der mit Fleischsorte 37 (Gänsebrust) subkutan infizierten Maus ließen sich endlich post mortem aus Herz und Darm Bacillen von Typus II Enteritis (Gärtner) züchten. Die mit demselben Fleisch gefütterten Tiere waren seinerzeit gesund geblieben.

In einzelnen Versuchen gingen also nach subkutaner Einimpfung von kleinen Fleischstückchen alle Mäuse zugrunde; bei $\frac{1}{3}$ derselben ließen sich kulturell Fleischvergiftungsbakterien nachweisen.

5. Infektionsversuche in ungereinigten Käfigen ohne Fleischfütterung.

Bei unserem ersten Fütterungsversuch waren alle 3 Mäuse nach Fütterung mit Gänsebrust, die der eine von uns von seinem Frühstückstisch mitgebracht hatte, am 5. und 6. Tage nach der Fütterung eingegangen. Am letzten Tage wurden in denselben Käfig nach Herausnahme der toten Mäuse ohne Reinigung des Käfigs 3 gesunde Mäuse gesetzt und in der gewöhnlichen Weise mit Hafer und Brot gefüttert. Nach 6 Tagen starb eine und nach 2 weiteren Tagen die beiden anderen. Alle 3 Tiere zeigten ebenso wie die 3 zuerst eingegangenen den charakteristischen Sektionsbefund (p. 12); bei allen 6 Tieren ließ sich aus den Organen dasselbe Bakterium (Typus Enteritis II) in Reinkultur züchten; bei einem der zuletzt eingegangenen, nicht mit Fleisch gefütterten Tiere waren die Bakterien auch im Darm. In dasselbe Tiergefäß wurden 2 Tage später wieder ohne Reinigung 4 normale Mäuse gesetzt: von diesen starb eine nach 17 Tagen mit demselben Befund.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß der Infektionsstoff in dem Tiergefäß in infektionstüchtiger Weise (wahrscheinlich im Kot) längere Zeit haftet. Hiermit ist gezeigt, wie berechtigt unsere p. 2 geschilderte Sorgfalt bei Reinigung der Tiergefäße war.

6. Kontrollversuche.

Es war nun wichtig, festzustellen, ob unsere Versuchstiere sich ihre Infektion mit den Enteritisbakterien tatsächlich durch eine Fleischfütterung zugezogen hatten, oder ob die Erkrankungen vielleicht durch eine spontane Epidemie, eine Laboratoriumsinfektion oder durch Verunreinigung der anderen Nahrungsmittel zustande gekommen waren. Gegen die Annahme solcher Möglichkeiten spricht zunächst in gewissem Sinne die abwechselnd beobachtete Infektion mit 2 verschiedenen Bakterienarten.

Wir bezogen unsere Versuchstiere aus den Beständen des Institutes meist zu je 30–50 Stück. Zur Kontrolle wurden vor jeder Fütterung mit Fleisch von jeder Mäuselieferung einige herausgenommen und diese dann nur mit Hafer und Brot gefüttert, dieselbe Nahrung, die die Fleischfütterungstiere später auch erhielten. Die Tiergläser unserer Kontrollmäuse standen zwischen denen der Fütterungstiere. Im ganzen wurden 40 Kontrollmäuse untersucht. Von diesen waren innerhalb von 3 Wochen 6 (15 Proz.) spontan eingegangen, während die übrigen nach 3–4 Wochen zur bakteriologischen Untersuchung getötet wurden. Unter den 40 Mäusen fand sich nur bei einer von den spontan eingegangenen eine starke Milzvergrößerung und eine große fleckige Leber, während der Darm keine Besonderheiten aufwies und sein Inhalt fest war. Die Nieren fielen als groß und blutreich auf. Aus Herz und Milz dieser Maus wuchsen auf Drigalski-Platten blaue Kolonien mit den kulturellen und serodiagnostischen Merkmalen des Typus Enteritis II. Gleich darauf wurden auch die anderen Mäuse in demselben Käfig getötet. Bei allen waren Milz und Herz bakterienfrei; auch im Darm ließen sich keine verdächtigen Kolonien finden. Von den übrigen 5 eingegangenen Mäusen hatten 2 Cocciden in der Leber, bei den 3 anderen konnte eine bestimmte Todesursache nicht festgestellt werden.

Unter 40 Kontrolltieren fand sich also nur bei einer spontan eingegangenen Maus (2,5 Proz.) eine Infektion mit Bakterien von Typus Enteritis II (gegenüber 53,6 Proz. nach Fleischfütterung).

Wenn auch unsere Kontrollversuche noch in mancher Hinsicht hätten erweitert werden können, so scheint es doch schon sehr wahrscheinlich, daß der hohe Prozentsatz von positiven Bakterienbefunden bei fleischgefütterten Tieren (über 50 Proz.) nicht auf zufälliger Infektion beruhen kann, sondern im Zusammenhang mit den Fleischfütterungen stehen muß; und zwar kommt offenbar im Anschluß an die Fütterung mit den genannten Rauch- und Salzfleischarten, vielleicht auch gerade durch diese Arten begünstigt, eine tödliche Infektion der Tiere mit einer der beiden Enteritisarten zustande, mag man nun für die Bakterien die Bezeichnung: „Enteritis Flügge oder Paratyphus B oder Mäusetyphus“ usw. einerseits, oder „Enteritis Gärtner oder Danysz oder Ratin, Dunbar“ usw. andererseits wählen. Immerhin bleibt es auffallend, daß die Bakterien in keinem Falle aus dem Fleisch direkt gezüchtet werden konnten. Eine postmortale Einwanderung der (etwa normalerweise bei dem Tiere im Darm vorkommenden) betreffenden Bakterien in die Organe erscheint auch sehr unwahrscheinlich. Denn 1) wurden die Bakterien bei den 40 Kontrollmäusen nur einmal gefunden, und 2) wurde bei vielen Tieren unmittelbar post mortem (nach Tötung) auch eine Reinkultur in den Organen nachgewiesen, 3) bei einer post-

2*

mortalen Einwanderung hätten auch häufiger andere Bakterien (Coli) in den Organen vorhanden sein müssen.

Man könnte noch denken, daß die Bakterien normalerweise in den Mäusen vorkommen und daß dieselben unter gewissen Bedingungen (Darmstörungen nach Pökelfleischgenuß etc.) erst sich besonders vermehren und pathogen würden. Die von uns angestellten kulturellen Untersuchungen von normalen Mäusen haben aber keinen Anhalt für diese Vermutung ergeben.

Anmerkung. Stabsarzt Kutscher züchtete aus der Milz von 2 grauen Mäusen, die bei anderweitigen Untersuchungen mit Pferdemit gefüttert worden waren und nach einiger Zeit eingingen, Reinkulturen, die er freundlicherweise uns zur Prüfung überließ. Dieselben stellten sich als Stämme von Typus Enteritis I heraus und sind in der Tabelle III mit „K I“ und „K II“ bezeichnet.

Ferner fand noch Oberarzt Rothe in unserem Institut bei einer weißen Maus, die er mit Pneumokokken infiziert hatte, die aber daran nicht einging, nach 14 Tagen aus der Milz eine Reinkultur von Kolonien des Typus Enteritis II. Dieser Stamm ist in den Tabellen IV und V mit „M R“ bezeichnet. Zweifellos kommen also auch anscheinend spontane Infektionen von Mäusen mit Enteritisbakterien (Typus I und II) vor.

Zusammenfassung (Teil A.).

Bei einer größeren Zahl von Fütterungsversuchen von weißen Mäusen mit ungekochten, gepökelt oder geräucherten, zum großen Teil anscheinend einwandfreien Fleischarten gingen über 50 Proz. der gefütterten Tiere ein. Bei der Sektion ließen sich außer meist charakteristischem pathologisch-anatomischen Befund aus den Organen fast stets Bakterien vom Typus Enteritidis I (Flügge, bezw. Paratyphus B, bezw. Mäusetyphus) oder vom Typus Enteritidis II (Gärtner), meist in Reinkultur nachweisen. Aus den zur Fütterung verwendeten Fleischsorten war es nie gelungen, die genannten Bakterien direkt zu züchten. Gleichwohl glauben wir annehmen zu können, daß die tödlichen Infektionen unserer Versuchstiere durch Zuführen der betreffenden Bakterien mit der Nahrung (Fleisch), anscheinend in geringen Mengen zustande gekommen sind. Wir müßten daraus schließen, daß die betreffenden Bakterien auch in anscheinend normalen Fleischarten, namentlich in ungekochtem Schweine- und Gänsepökelfleisch vorkommen¹⁾ und — wenn auch für die Menschen unschädlich — doch eine für Mäuse tödliche Infektion zu veranlassen vermögen. Findet unter gewissen günstigen Bedingungen eine Vermehrung im Fleisch statt, bezw. enthält dieses sehr zahlreiche Bakterien, so kann es zu den bekannten Fleischvergiftungserscheinungen kommen.

B. Untersuchungen über die sog. „Rattenschädlinge“ (Bac. Danysz, Ratn, Dunbar und Isatschenko).

In gewissem Zusammenhang mit dem beschriebenen stehen unsere Untersuchungen über die sogenannten als Rattenvertilgungsmittel viel-

1) Anm. bei Korrektur: Vergl. Hübener, Dtsch. med. Wchschr. 1908. No. 24

fach empfohlenen „Rattenschädlinge“ (Trautmann), insofern als es sich um nahe Verwandte, zum Teil vielleicht identische Bakterien der Enteritis-Gruppe handelt. Wir fügen daher unsere Hauptresultate auf:

1. Morphologisches und kulturelles Verhalten.

Morphologisch sind die „Rattenschädlinge“ untereinander und von *Bac. enteritidis* (Typ. II) nicht zu unterscheiden. Auch kulturell konnten wir sie weder untereinander, noch von den Bakterien der Enteritis-Gruppe I (Flügge), noch denen der Gruppe II (Gärtner) unterscheiden. (Kulturelles Verhalten siehe also p. 13). Unsere Resultate stimmen im allgemeinen mit denen von Trautmann (5) überein. Nur fand dieser abweichend für *Bac. enteritidis* Gaertner und den *Rattenbacillus* Dunbar (mit dem die anderen rattenpathogenen Bacillen identisch sind) in Milchzuckerbouillon ganz geringe Gasbildung sowie in Barsiekow-Milchzuckerlösung Säurebildung, Gerinnung sowie geringe Gasbildung.

2. Agglutinationsverhalten.

Kutscher und Meinicke (1) hatten bei ihren vergleichenden Agglutinationsprüfungen der Bakterien der verschiedenen Enteritis-Gruppen kein brauchbares hochwertiges Serum vom Typus Enteritidis Gärtner zur Verfügung, da ihnen selbst bei schonendster Behandlung (Beginn mit $\frac{1}{10}$ Oese intravenös) die Kaninchen stets nach 4–6 Wochen marantisch zugrunde gingen. Dagegen gelang es uns u. a. mit dem Stamm 261 (Brüssel) unserer Institutssammlung (Typus Enteritis II) ein hochwertiges agglutinierendes Serum vom Titer 1:20000 herzustellen. Als Serumtiere benutzten wir kräftige $2\frac{1}{2}$ –3 kg schwere Kaninchen und begannen mit Einspritzung von $\frac{1}{8}$ Oese (1 Std. bei 60° abgetötet) subkutan oder intravenös und steigerten dann langsam; Einspritzungen alle 10 Tage. Einzelne Tiere vertrugen schließlich die Injektion von 4 Oesen lebend subkutan; bei einigen Einspritzungen kam es allerdings zu Abszeßbildung. Wir nahmen nach den Erfahrungen von Kutscher und Meinicke von vornherein gleich eine größere Anzahl von Tieren in Behandlung. Unsere Tiere magerten auch, namentlich nach intravenösen Injektionen, stark ab; viele gingen auch vorzeitig zugrunde, namentlich bei Einspritzungen von dem Stamm 264 (Gent).

Auch von unserem Stamm Danysz-Berlin gewannen wir ein hochwertiges agglutinierendes Serum vom Titer 1:30000. Ein hochwertiges bakterizides Serum herzustellen gelang uns dagegen nicht.

Zu den vergleichenden Agglutinationsprüfungen wurden außer den genannten noch folgende Sera verwendet:

Typhus-Pferdeserum, Titer 1:5000,
Paratyphus B-Eselserum, Titer 1:5000,
Ratin-Kaninchenserum, Titer 1:1200.

Die Hauptresultate unserer umfangreichen Agglutinationsprüfungen einzeln aufzuzählen, glauben wir uns ersparen zu können.

An dieser Stelle sei nur erwähnt, daß nach unseren Beobachtungen die Agglutination bei den Stämmen vom Enteritis-Typus II mit dem eigenen (Enteritis II-) und Danysz-Serum sehr schnell (meist innerhalb von 10 Minuten) bis zur Grenze eintrat und alsdann nach 1-stündigem Brutschrankaufenthalt und weiterem Stehenlassen bei Zimmertemperatur (selbst nach 24 Stunden) nicht stärker wurde. Im Gegenteil, mitunter hatte es eher den Anschein, als sei sie lockerer geworden: Agglutinationen (Grenzwerte), die am Tage vorher deutlich positiv waren, wurden nur noch mit der Lupe als positiv erkannt. Auch bei minder starken Verdünnungen der hochwertigen genannten Sera war die Agglutination der Enteritis-(Typus II) Stämme mit ihrem Serum nicht so grobflockig, wie ihre Agglutination mit Typhusserum. Diese letztere trat bei den Enteritis II-Stämmen aber langsamer ein und wurde

ebenso wie die auch erst allmählich auftretende Mitagglutination durch Paratyphus B-Serum nach Aufenthalt im Brutschrank und weiterem Stehenlassen stets noch stärker, bezw. es trat dann noch Agglutination ein bei Verdünnungen, in denen vorher noch keine Agglutination festzustellen war (bei Enteritis II-Stämmen durch Typhusserum nach 24 Stunden mitunter fast bis Titergrenze).

Aus unseren Agglutinationsprüfungen war nun ohne weiteres die Uebereinstimmung im Agglutinationsverhalten der rattenpathogenen Bakterien: Danysz, Dunbar, Ratin, Isatschenko untereinander sowohl als auch mit den Stämmen vom Typus II der Enteritisbakterien (also z. B. 244 Gärtner, 261 Brüssel, 264 Gent) zu ersehen; im besonderen verhalten sich die genannten Stämme gleichmäßig gegenüber dem agglutinierenden Danysz-, Enteritis-Typus II- (Brüssel-), Ratin- und Typhusserum; auch die Mitagglutination durch Paratyphus B-Serum zeigte entsprechende Verhältnisse. Kleinere quantitative Unterschiede lassen sich ungezwungen mit individuellen Eigentümlichkeiten im Verhalten der Agglutinierbarkeit der einzelnen Kulturen erklären. Es wird ja auch nicht ein jeder Typhus-, Paratyphus- usw.-Stamm von dem spezifischen Serum quantitativ genau in derselben Weise agglutiniert.

3. Bakterizide Versuche.

Aus äußeren Gründen konnten Pfeiffersche Versuche nicht in der wünschenswerten Vollständigkeit gemacht werden. Bei unseren wenigen Versuchen zeigte es sich aber, daß das bakterizide Gärtner-Typus-Serum (Stamm 261 Brüssel) gegen Infektion mit dem eigenen Stamm sowie mit Danysz-Berlin bis zur Dosis von 0,001 g schützte; ferner schützte das bakterizide Danysz-Serum ebenfalls gleichmäßig bis zur Dosis von 0,002 g gegen den eigenen Stamm, sowie gegen den Stamm 261 Brüssel.

Auch Absättigungsversuche konnten aus äußeren Gründen nicht in größerem Umfang ausgeführt werden. Erwähnt sei jedoch, daß Trautmann (5) bereits durch solche festgestellt hatte, „daß der Rattenbacillus sich als identisch mit *Bac. enteritidis* Gärtner erwies.“ „Dunbar“ wird aber auch von Trautmann für identisch mit „Danysz“ und „Ratin“ gehalten.

Erwähnt sei noch, daß es uns auch gelang, beim *Bac. Danysz* filtrierbare hitzebeständige (wahrscheinlich) Endotoxine nachzuweisen, ähnlich wie wir sie von Enteritis Gaertner kennen.

Aus dem bisher Gesagten geht hervor, daß der *Bac. Danysz* und mit ihm die identischen: Ratin, Dunbar und Isatschenko morphologisch, kulturell und biologisch von den Bakterien des Typus II Enteritidis (Gärtner) nicht unterschieden werden können. Sie stehen also zueinander zum mindesten in einem ähnlichen Verhältnis, wie *Bac. paratyphus B* oder Typus I Enteritidis (Flügge) zum Mäusetyphusbacillus.

4. Tierpathogenität der Rattenschädlinge.

Die „Rattenschädlinge“ werden insbesondere von der „Danysz“- und „Ratin-Gesellschaft“ als unschädlich für Menschen und Haustiere bezeichnet, während bekanntlich die von ihnen nicht zu unterscheidenden Enteritis II (Gärtner)-Bakterien für menschenpathogen gelten. Die Bacillen stehen also ähnlich zueinander, wie Mäusetyphus und Paratyphus B bezw. Enteritis I (Flügge). In der Ratingebrauchsanweisung

heißt es nun allerdings: „Neugeborene Kälber und Saugferkel soll man vor der Aufnahme von Ratin bewahren.“ Gegen die Unschädlichkeit der Mäusetyphusbacillen für Menschen sind einige Stimmen laut geworden (Trommsdorf (6), Meyer (7), Shibayama (8). Bahr und Claudius (9) berichten, daß nach der Aufnahme von Ratinbacillen einige Menschen gesund geblieben seien. Aus den Tierversuchen von Bahr und Claudius, sowie Bergmann (10) geht hervor, daß nach Aufnahme von Ratinbacillen per os junge Kälber zweifellos an akuter Enteritis schwer erkranken und eventuell (Bergmann) eingehen können. Dabei konnten die Bacillen in den inneren Organen nachgewiesen werden. Auch Grimm (11) berichtet über Erkrankungen von Kälbern (1 tot) nach Ratinfütterung. Er teilt ferner mit, daß 3 Ratten, denen Kot von dem später gestorbenen Kalb beigebracht war, nach 5—6 Tagen eingingen. Auch krepiereten Hühner, die mit Stückchen von inneren Organen einer am selben Tage nach Ratininfektion eingegangenen Ratte gefüttert waren; bei der Sektion wurde eine starke Entzündung der Lungen und des Darmkanals festgestellt; aus Leber und Milz ließen sich Ratinbacillen in Reinkultur züchten. Einige andere von den genannten geprüften Tieren (Hunde, Katzen, Kaninchen, Enten, Tauben, Schwein, Ferkel u. a.) erkrankten dagegen nicht. — Wladimiroff und Kamensky (12) berichteten kürzlich über zahlreichere, auf Ersuchen der Dänischen Ratingsgesellschaft angestellte Versuche mit Ratin an Haustieren (im ganzen an 30 Tieren). Sie kamen zu dem Resultate, daß die Ratinbacillen in geringerem Grade auch für andere Tierarten (als Mäuse und Ratten) nach Einführung per os pathogen sein können. Wladimiroff und Kamensky hatten zwar keine tödliche Infektion zu verzeichnen; jedoch erkrankte ein 6 Wochen altes Kalb schwer nach Ratinfütterung; ein Schafbock zeigte starken Durchfall und Schwächezustände; 2 Pferde, 1 Ziege und eine Dachshündin reagierten auf die Ratinfütterung alsbald mit vorübergehenden Temperaturanstiegen. Wladimiroff und Kamensky hatten allerdings große Dosen zur Fütterung verwendet, wie sie in Wirklichkeit kaum je von unseren Haustieren verzehrt werden dürften.

Eigene Tierversuche.

a) Herkunft der Kulturen.

Die zu unseren Tierversuchen verwendeten Danysz kulturen bezogen wir von der Danysz-Virus-Vertriebsgesellschaft (Berlin) in Form des Danysz-Virus, welches in den 6 von uns geprüften Röhrchen (Preis je 2,50 M.) stets eine Agarreinkultur der beschriebenen Bakterien darstellte. Die Stämme wurden von der Drigalski-Platte bei uns auf gewöhnlichem Agar weitergezüchtet.

Von dem Berliner Vertreter der Ratingsgesellschaft wurde uns je eine Flasche Ratin (Bouillonkultur) und eine Dose Kartoffel-Ratin übergeben (Preis auch je 2,50 M.). In unserem Institut fand sich noch eine alte Flasche Ratin von früheren Versuchen her verschlossen, auf Eis aufbewahrt (gezeichnet 30. November 1904). Sie enthielt noch nach über 2 Jahren eine Reinkultur von lebenden Ratinbacillen.

b) Virulenzprüfung Danysz, kurz nach Empfang, einmal umgezüchtet auf Drigalski, dann Agar.

I. Meerschw. von 250 g Gewicht	{	1) $\frac{1}{8}$ Oese intrap., † nach 18 Stunden	} Reinkulturen Danysz aus Organen
		2) $\frac{1}{12}$ " " † " 18 "	
		3) $\frac{1}{18}$ " " † " 22 "	
		4) $\frac{1}{24}$ " " lebt nach 5 Tagen (Abszeß an Injektionsstelle).	

II. Meerschw. von etwa 500 g Gewicht	{	5) $\frac{1}{10}$ Oese intrap., † nach 5 Tagen	}	Reinkulturen Danysz aus Organen
		6) $\frac{1}{25}$ " " † " 6 "		
		7) $\frac{1}{50}$ " " † " 6 "		
		8) $\frac{1}{100}$ " " † " 7 "		

Der Sektionsbefund bei den unter I. und II. aufgeführten Tieren war folgender: Injektion der subkutanen Blutgefäße, stellenweise Hämorrhagieen, seröse bis eiterig-fibrinöse Peritonitis, letzteres namentlich bei den Tieren unter II.; einige zeigten schwartige bzw. sulzig-eiterig-hämorrhagische Auflagerungen bis zur Leber hinauf. Der Darm war aufgetrieben, injiziert, stark gashaltig. Bei den akut eingegangenen Tieren waren an Milz und Leber keine Veränderungen nachzuweisen, dagegen war bei den älteren Tieren insbesondere die Milz deutlich vergrößert. In den Organen fanden sich stets die Danysz-Bacillen in Reinkultur derart, daß die polgefärbten kurzen Stäbchen schon in Organausstrichen leicht nachzuweisen waren. Bei Tier 2 gelang es auch, Danysz-Bacillen im Kot nachzuweisen.

c) Ratten- und Mäusefütterungen mit „Danysz-Virus“.

Bei unseren nach der dem Danysz-Virus beigegebenen Vorschrift vorgenommenen Fütterungsversuchen von Ratten und Mäusen gingen von grauen Ratten innerhalb von 3—10 Tagen über 50 Proz., und von zahmen Ratten etwa 90 Proz. in 3—21 Tagen ein, die weißen Mäuse sämtlich. Auch drei mit Kadavern von eingegangenen Tieren gefütterte Ratten gingen ein. Soweit eine kulturelle Untersuchung möglich war, gelang meist der Nachweis der Bakterien in den Organen, mitunter auch im Darminhalt.

Der Sektionsbefund bot bei allen nach Fütterung eingegangenen Tieren fast genau das gleiche Bild: Sehr häufig Injektion der kleinen Blutgefäße im Unterhautzellgewebe, daselbst auch mitunter kleinere Hämorrhagieen. Darm-, namentlich Dünndarmschlingen meist aufgetrieben, mehr oder minder injiziert, ödematös mit dünnflüssigem gelblichem oder mehr grünlichem gashaltigen Inhalt, darin mitunter auch Schleimfetzen. Die Darmserosa war meist verdickt, ödematös durchtränkt und sah häufig gelockert aus. Die Peyerschen Plaques waren mitunter geschwollen. Stets war deutliche Milzvergrößerung nachzuweisen, insbesondere starke bei langsamem (chronischem) Krankheitsverlauf; die Milz war dann meist dunkel-blaurot und zeigte häufig hirsekorn- bis stecknadelkopfgröße grauweiße Knötchen (mikroskopisch Nekrosen). In der Regel bestand auch Lebervergrößerung, namentlich in älteren Fällen, dann häufig ebenfalls mit grauweißen Knötchen, die in der Leber mitunter fast linsengroß waren. Bei vielen Tieren waren kleine Exsudate in Brust- und Bauchhöhle vorhanden; auch subpleurale kleine Blutungen sind beobachtet. Die Lungen waren meist hyperämisch. Manchmal waren die Halsdrüsen deutlich entzündlich geschwollen, ebenso fast stets die Mesenterial- und retroperitonealen Drüsen.

Wir sehen also, daß das von der Danysz-Gesellschaft vertriebene „Virus“ imstande ist, Ratten und Mäuse in einem gewissen Prozentsatz zu töten, und zwar unter dem Bilde einer akuten Gastroenteritis bzw. der durch die hämorrhagischen Septikämieerreger veranlaßten Infektionen. Die Tiere haben pathologisch-anatomisch die größte Ähnlichkeit mit Pestratten, zumal die Stäbchen auch Polfärbung zeigen. Eine Verwechslung ist leicht möglich, worauf schon Trautmann bei Bac. Dunbar hinwies. Am sichersten scheint die Danysz Wirkung bei weißen Mäusen und zahmen Ratten zu sein. Wilde Ratten und Mäuse erlagen

der Infektion häufig nicht. Bei früheren Versuchen, die Kolle (13) im Institut für Infektionskrankheiten mit Danysz und Ratin angestellt hatte, wurden mit grauen Ratten auch nicht viel günstigere Resultate erzielt. Mit keinem der Mittel gelang es, mehr als 60 Proz. der Tiere zu töten, und das im Laboratoriumsversuch, wobei die Tiere durch Hungern zum Fressen des Virus gezwungen wurden. — Trautmann hatte bei seinen Versuchen mit B. c. Dunbar unter den günstigsten Bedingungen auch nur eine Rattenmortalität von 45—50 Proz. Bahrs (12) nahm seinerzeit für das ungleichmäßige Verhalten der Ratten gegenüber seinen Danysz- und Ratinkulturen mangels einer anderen stichhaltigen Erklärung allgemein örtliche Verschiedenheiten an. Wir schließen uns Trautmann an, der annimmt, daß man mit einer erworbenen Immunität gegen den unter wilden Ratten und Mäusen vielleicht häufig vorkommenden Bacillus rechnen muß.

Um zu sehen, ob sich eventuell in nicht infizierten Tieren die Erreger häufiger fänden, haben wir einmal nacheinander acht in Berlin gefangene graue Ratten getötet. Bei keiner dieser und auch verschiedenen anderen daraufhin untersuchten Ratten und Mäuse konnte ein Parasitenträger ermittelt werden durch kulturelle Untersuchung von Darminhalt, Leber (Galle) und Milz.

d) Danysz-Verfütterung an andere Tiere.

Wir haben eine Anzahl Fütterungsversuche bei folgenden Tieren gemacht: Meerschweinchen, Katze, junger Hund, Ferkel, Hammel, Rind, Affe, Huhn, Taube, Gans. Zur Fütterung wurde Agarkulturmaterial, bei den großen Tieren bis zu einer Kultur verwendet. Nur folgende Tiere reagierten auf die Fütterung: ein Hammel und zwei Affen mit Temperaturanstiegen, teils auch mit Durchfall und Störungen des Allgemeinbefindens. Bei beiden Affen gelang der Nachweis der Bacillen im Stuhl, bei einem bei der Sektion auch in den Mesenterialdrüsen; auch ein junger Hund erkrankte, anscheinend infolge der Fütterung. Die andern Tiere zeigten außer vielleicht Freßunlust kurz nach Fütterung keine erkennbaren Erscheinungen.

Von gewissem Interesse war der folgende Versuch: Eine Gans erhielt am 14. Dezember eine Kultur Aufschwemmung von uns auf Agar gezüchteter Danysz-Bacillen in den Rachen eingegossen. Das Tier zeigte außer vielleicht etwas Durchfall (?) keine bemerkenswerten Krankheitserscheinungen. Am 20. Dezember wurde das Tier getötet durch Verblutenlassen. Im Blut ließen sich kulturell keine Danysz-Bacillen nachweisen. Dann blieb das Tier gerupft 3 Tage mit den Eingeweiden hängen. Alsdann Sektion: Leber gelb-rot. Im Darm Schleim, doch keine Rötung oder Schwellung der Schleimhaut. Zwei kirschgroße Drüsen im Mesenterium, die im Durchschnitt weich, nicht eiterig sind. Aus Herz und Milz Reinkultur von Danysz-bacillen, aus Leber, Gallenblase und Niere außerdem Coli. Aus Darm kein Danysz. Leider wurde das Fleisch (Brust) nicht auf das Vorhandensein der Danysz-Bacillen untersucht. — Nach diesem Befund steht fest, daß sich die Danysz-bacillen, ohne daß Krankheitserscheinungen bestanden hatten, einige Tage nach dem Schlachten in den Organen, zum Teil in Reinkultur, bei der Gans vorfanden.

Interessant ist auch unser Affenversuch: Während Affe I auf wiederholte Dosen nur mit Temperatursteigerungen und etwas Mattigkeit

reagierte, erkrankte Affe II gleich nach der ersten Fütterung an erheblicher Gastroenteritis. Bei beiden Affen wurden die Danysz bacillen im Stuhl und bei dem seziierten Affen außerdem noch im Mesenterialdrüseneiter (in Reinkultur) nachgewiesen. Es ist also zweifellos eine wirkliche Infektion von Affen durch Verfütterung von Danysz-Virus möglich. Gewiß gibt es bei allen Tierarten individuelle Unterschiede in der Empfänglichkeit.

Ueberblickt man die in der Literatur niedergelegten und unsere Tierversuche mit Danysz- und Ratin-Virus, so sieht man, daß tatsächlich eine Infektion einer Anzahl von Haustieren mit beiden Mitteln im Laboratoriumsversuch zustande kommen kann; allerdings wurden Mengen verfüttert oder injiziert, die für die Infektion in praxi kaum in Betracht kommen dürften.

Bei Menschen sind unseres Wissens, wohl aus naheliegenden Gründen, nur vereinzelte Versuche mit Danysz bzw. Ratin gemacht; Näheres hierüber ist uns aber nicht bekannt. Nach einigen wenigen negativ ausgefallenen Versuchen kann aber unserer Ansicht nach noch nicht die Unempfänglichkeit des Genus humanum für die Infektion mit Danysz und Ratin als unumstößliche Tatsache hingestellt werden. Es wäre immerhin denkbar, daß unter gewissen Umständen eine Infektion (vielleicht septikämischer Art) bei Verletzungen oder dergleichen bei Mensch und Haustieren zustande kommen könnte. Will man die Identität von Danysz und der ähnlichen Rattenschädlinge mit Enteritis Gärtner nicht anerkennen, so muß man doch zum mindesten annehmen, daß Danysz, Ratin, Dunbar, Isatschenko usw. (ähnlich, wie es Kutscher und Meinicke bei Paratyphus, Mäusetyphus, Enteritis Flügge usw. vermuten) von einer gemeinsamen Matrix abstammen. Sie haben infolge der Passagen durch gewisse Tierspecies sich anscheinend gerade bezüglich der pathogenen Wirkung ihrem jeweiligen Wirt mehr oder minder angepaßt und anderen Tierarten gegenüber zurzeit an Virulenz eingebüßt. Deshalb aber ist es nicht ausgeschlossen, daß eine Pathogenität, etwa von Danysz- und Mäusetyphusbacillen für Menschen und größere Tiere (wenn nicht vorhanden), unter Umständen doch wieder zustande kommen könnte. Jedenfalls scheint uns vorläufig eine gewisse Vorsicht bei der Verwendung der Ratten- und Mäuseschädlinge geboten. Die immerhin auffällige Zunahme der gerade in der letzten Zeit in den verschiedensten Ländern berichteten bakteriellen Fleisch- und Nahrungsmittelvergiftungsepidemien rechtfertigt wohl derartige Erwägungen. Nicht unerwähnt sei, daß die tierpathogene Wirkung des Bac. enteritidis (Gärtner) fast genau mit der der „Rattenschädlinge“ übereinstimmt.

Van Ermengem (15) sagt über die tierpathogene Wirkung der Enteritisbakterien (Gärtner) zusammenfassend: „In kleinen Quantitäten subkutan, intravenös, intraperitoneal oder intrastomachal eingebracht, töten sie die empfänglichen Tierarten: Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen, Affen, Kälber usw., indem sie intensive entzündliche, teils lokalisierte oder über verschiedene Organe ausgebreitete Veränderungen hervorrufen (eiterige Infiltration des Unterhautbindegewebes, fibrinöse exsudative Peritonitis, Gastroenteritis, interstitielle Hepatitis, lobuläre Pneumonie, Nephritis usw.). Zu gleicher Zeit setzen sie eine allgemeine Infektion auf dem Wege der Blutbahn (Septikämie) und lassen sich dann in der Mehrzahl der Gewebe, besonders im Muskelgewebe, nachweisen.“

Wenn ihre Virulenz herabgesetzt ist, so rufen sie oft kleine multiple Abszesse oder miliäre nekrotische Herde, fettige Degeneration in der Leber, in der Milz usw. hervor.“ Es ist wohl kaum ein bloßer Zufall, daß die von van Ermengem genannten, für Enteritis Gärtner besonders empfänglichen Tiere gerade diejenigen sind, die sich auch am ehesten für Danysz- und Ratinbacillen empfänglich zeigen, darunter insbesondere auch das Kalb. Und gerade nach Kalbfleischgenuß sind häufiger Fleischvergiftungsepidemien mit *Bac. enteritidis* Gärtner beobachtet worden [van Ermengem: Moorseele-Epidemie (15), Holst: Gaustad-Epidemie (18)]. Bei den meisten beschriebenen Fleischvergiftungsepidemien handelte es sich bekanntlich um Fleisch von notgeschlachteten Tieren, von denen die meisten an septischen Entzündungen oder an puerperalen oder traumatischen Septikämien (Euterentzündungen, Metritis u. a.) litten; manche hatten auch enteritische oder Lungen-Erscheinungen. — Im Zusammenhang hiermit sei kurz erinnert an das Siegel-Busseniusche Stäbchen der Maul- und Klauenseuche (17), nach dessen Verfütterung namentlich Kälber unter schweren gastroenteritischen Erscheinungen erkrankten, und bei denen der Nachweis der lebhaft beweglichen Stäbchen in den Organen gelang. Sollte nicht etwa dieses Stäbchen mit dem *Bac. enteritidis* Gärtner nahe verwandt bzw. identisch gewesen sein? Scheint doch die natürliche Verbreitung dieser Bacillenart, namentlich unter Kälbern und Kühen, gar nicht so selten zu sein.

Anhang.

Rattenpathogenität des *Bac. enteritidis* II (Gärtner).

Im Zusammenhang mit den vorstehenden Erwägungen schien es uns nun noch von besonderem Interesse, die Enteritis II-Bakterien auch genauer auf ihre rattenpathogenen Eigenschaften hin zu untersuchen, um sie auch in dieser Beziehung mit den sogenannten Rattenschädlingen in Vergleich setzen zu können. Unsere Versuchsanordnung hierbei war dieselbe wie bei den Fütterungen mit Danysz-Virus (gemäß Gebrauchsanweisung).

Zu diesen Fütterungsversuchen nahmen wir, zunächst ohne vorherige Tierpassagen u. dergl., zwei alte, seit Jahren in der Institutsammlung auf Agar gezüchtete Sammlungsstämme vom Gärtnerotypus, nämlich die Stämme 261 (Brüssel) und 264 (Gent).

Die Pathogenität der beiden Sammlungsstämme bei Verfütterung war für Mäuse trotz der jahrelangen Weiterzucht in der Institutsammlung noch erhalten, wenn auch die Wirkung im allgemeinen langsamer eintrat als bei dem virulenten Danysz-Virus. Die Pathogenität für Ratten war dagegen gering. Bekannt ist, was auch wir bestätigen können, daß die Pathogenität der sogenannten Rattenschädlinge bezüglich der Infektionsmöglichkeit per os nicht sehr beständig ist; sie läßt nicht nur nach längerem Aufbewahren des Virus, sondern auch nach häufigen Agarpassagen und selbst nach Tierpassagen nach (Trautmann, Danysz- und Ratingesellschaft-Prospekte). Trautmann gelang es jedoch nach längeren verschiedenartigen Versuchen einen bei Verfütterung vorher apathogenen Dunbar-Stamm durch wiederholte Passagen über Taubenblutagar wieder virulent zu machen. In ähnlicher Weise züchteten auch wir unsere Stämme 264 und 261 12mal hintereinander je 24 Stunden lang auf

Taubenblutagar weiter. Auf diese Weise gelang es auch, unsere Enteritis-Stämme für die Ratteninfektion per os geeigneter zu machen. Der Prozentsatz der Mortalität nach Verfütterung stieg und die Wirkung war eine schnellere: 6 gefütterte Mäuse gingen in 2—4 Tagen mit typischem Befund ein (auch Bacillennachweis). Von den nach Taubenblutpassage mit Stamm 261 gefütterten 3 grauen und 2 weißen Ratten gingen 2 graue und auch 1 weiße in 4—6 Tagen ein. Befund typisch; bei einer Ratte u. a. Mesenterialdrüenschwellung sehr deutlich; Bacillennachweis positiv, einmal auch aus Gallenblase. Die beiden anderen Tiere lebten nach 6 Wochen noch. — Mit Stamm 264 wurden nach Taubenblutpassage 1 weiße und 3 graue Ratten gefüttert; bis auf eine graue Ratte gingen alle Tiere in 4—6 Tagen ein. (Bacillennachweis positiv).

Erwähnt sei noch, daß wir nach Einbringen von Bacillen in Bouillon-Kollodiumsäckchen in dem Tierkörper keine deutliche Virulenzsteigerung bemerkt hatten; dagegen fanden wir bei einem Stamm 261, der aus einer nach 25 Tagen eingegangenen Ratte gewonnen war, eine erhöhte Pathogenität bei Verfütterung: von 3 grauen Ratten waren 2 in 10 Tagen tot, die gefütterten beiden weißen Mäuse und eine zahme Ratte gingen innerhalb 4—9 Tagen ein.

Aus den vorstehenden Versuchen ergibt sich, daß auch das rattenpathogene Verhalten der Enteritisbacillen vom Typus II (Gärtner) dem des *Bacillus Danysz*, Dunbar und Ratin entspricht.

Zusammenfassung (Teil B.).

1) Das sogenannte Danysz-Virus eignet sich zur Rattenvertilgung ähnlich wie der Ratinbacillus und der Rattenbacillus Dunbar nur in beschränktem Maße, indem (wahrscheinlich infolge Immunität) nur etwa 50—60 Proz. der grauen Ratten, selbst im Laboratoriumsversuch, zugrunde gehen. Zahme Ratten und besonders weiße Mäuse werden allerdings in weit höherem Prozentsatz vernichtet.

2) Die sogenannten Rattenschädlinge: *Bac. Danysz*, Dunbar, Ratin, Isatschenko sind morphologisch, kulturell und biologisch von dem *Bac. enteritidis* Gärtner nicht zu unterscheiden.

3) Auch in den tierpathogenen Eigenschaften zeigen sie die größte Ähnlichkeit. Auf Grund der Literatur und unserer Versuche steht fest, daß es möglich ist, mit „Danysz“ und „Ratin“ gewisse Haustiere sowie Affen ähnlich wie mit Enteritis Gärtner im Laboratoriumsversuch zu infizieren.

4) Wir konnten auch mit alten Sammlungs-(Gärtner)Kulturen nach Auffrischung durch Passagen über Taubenblutagar ein mindestens ebenso gut wie Danysz- und Ratinvirus wirkendes Rattenvertilgungsmittel herstellen.

5) Bei der Anwendung der Rattenschädlinge (Vertrieb in Reinkulturen im Handverkauf) ist Vorsicht geboten.

Abgeschlossen Berlin, 31. März 1907.

Literatur.

- 1) Kutscher und Meinicke, Vergleichende Untersuchungen über Paratyphus-, Enteritis- und Mäusetyphusbakterien und ihre immunisatorischen Beziehungen. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LII. p. 301.)
- 2) Kutscher, K. H., Paratyphus. (Handb. d. path. Mikroorganismen [Kolle-Wassermann]. Ergänzungsbd. I. 1906.)

- 3) De Nobele, Du séro-diagnostic dans les affections gastro-intestinales d'origine alimentaire. (Annal. Soc. méd. de Gand. 1899.)
- 4) —, 2. mémoire. (Ibid. 1901.)
- 5) Trautmann, H., Bakterien der Paratyphusgruppe als Rattenschädlinge und Rattenvertilger. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LIV. p. 104.)
- 6) Trommsdorff, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 48.
- 7) Mayer, G., Ueber die Verschleppung typhöser Krankheiten durch Ameisen und die Pathogenität des Löfflerschen Mäusetyphusbacillus für den Menschen. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 47.)
- 8) Shibayama, G., Ueber Pathogenität des Mäusetyphusbacillus für den Menschen. (Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 20.)
- 9) Bahr und Claudius, Ratin, Herstellung, Eigenschaften und Anwendung desselben. (Broschüre der Ratin-Gesellschaft. 1904.)
- 10) Bergman, A. M., Om rattdödningsmedlet Ratin. (Tidskrift för Landtmän. 1904. No. 29.)
- 11) Grimm, M. D., Eine neue Seuche der Ratten. (Bote für öffentl. Veterinärwesen. 1905. No. 7.) [Russisch.]
- 12) Bahrs, Ueber die zur Vertilgung der Ratten und Mäuse benutzten Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIX. p. 263.)
- 13) Kolle, W., Ueber Maßnahmen und Verfahren zur Bekämpfung der Ratten- und Mäuseplage. (Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. 1905. No. 7.)
- 14) Wladimiroff, A. und Kamensky, A., Versuche an Haustieren mit der ratten-tötenden Bakterie Neumanns (Ratin.) (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1907. No. 2.)
- 15) van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. (Handb. d. path. Mikroorganismen [Kolle-Wassermann]. Bd. II. 1903.)
- 16) —, Recherches sur des empoisonnements produits par de la viande de veau à Moorseele. (Bull. acad. de méd. de Belgique. 1892.)
- 17) Fischer, B., Zur Aetiologie der sogenannten Fleischvergiftungen. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXXIX. 1892.)
- 18) Holst, in Norsk mag. f. Läger. 1894. No. 9. (Ref. in Baumgartens Jahresber. 1897. p. 679.)
- 19) Bussenius und Siegel, Der gemeinsame Krankheitserreger der Mundseuche der Menschen und der Maul- und Klauenseuche der Tiere. (D. med. Wochenschr. 1897. No. 5 u. 6.)
- 20) Fränkel, C., Weitere Erfahrungen über den Siegelschen Bacillus der Maul- und Klauenseuche. (Hyg. Rundschau. 1897. No. 11.)
- 21) Löffler und Frosch, Berichte der Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898. Heft 9/10.)

Nachdruck verboten.

Ueber eine Paratyphus B-Epidemie beim Infanterieregiment Hessen-Homburg No. 166, nebst Bemerkungen über das Jakobsthalsche Serumpapier (Merck).

[Aus der bakteriologischen Abteilung des hygienisch-chemischen
Laboratoriums des XVIII. Armeekorps.]

Vom Stabsarzt Prof. Dr. E. Marx.

Paratyphusepidemien sind zwar nicht selten, aber es scheint mir immerhin noch lohnend, neue Epidemien bekanntzugeben, besonders wenn sie unter den geschlossenen Verhältnissen eines Truppenteils vorkommen.

Die Vorgeschichte der zu beschreibenden Epidemie ist nach den Mitteilungen, die mir Herr Stabsarzt Dr. Eimler machte, der auch so gütig war, den Krankheitsverlauf kurz zu schildern, folgende:

Am 8. Mai d. J. rückte das I. Bataillon des Regiments 166, bei dem vorher irgendwelche Häufungen an Darmerkrankungen nicht vorgekommen waren, zum Truppenübungsplatz bei Darmstadt aus. Am 8.

abends kamen die Truppen, die einen Teil des Weges mit der Bahn gefahren, einen Teil marschiert waren, dort an. Am 11. Mai meldeten sich 2 Mann, am 12. Mai 33, am 13. Mai 5 und am 14. Mai 3 Mann krank. Es ergab sich, daß der größte Teil dieser 43 Mann bereits am 9. nachmittags Leibscherzen und Durchfall gehabt hat. Da der Verdacht bestand, daß es sich vielleicht um eine durch das Wasser des Lagers hervorgerufene Darmerkrankung handelte, wurde ich vom Sanitätsamt des XVIII. Armeekorps mit der Untersuchung der dortigen Brunnen beauftragt. Ich konnte feststellen, daß alle Brunnen — es handelte sich um Röhrenbrunnen, die aus ca. 24 m Tiefe Wasser einem sehr reichen, vom Odenwald nach dem Rhein sich hinziehenden Grundwasserstrom entnehmen — tadellos waren. Auch die bakteriologischen Untersuchungen ergaben praktisch Keimfreiheit des Wassers.

Da die Besichtigung der Kranken und der Gang der Epidemie an einen akuten Paratyphus denken ließ, bat ich um Uebersendung von Stuhlproben von 2 Mann, die noch Durchfälle hatten, und Blutproben einiger anderer.

Ich erhielt 2 Stühle, einen ganz dünnflüssigen, völlig typhusähnlich, einen etwas festeren und dickeren und 3 Serumproben.

Aus dem typhusähnlichen Stuhl (Fall 1) wuchsen auf der Endo-Platte sehr zahlreiche, aus dem festen (Fall 2) eine helle Kolonie. Die Kultur und die Prüfung mit Paratyphus und Typhusserum ergab, daß es sich um Paratyphus B handelte. Ich möchte hier gleich einschalten, daß eine Agglutination der Kulturen durch Typhusserum selbst bei stärkster Konzentration desselben nicht stattfand. Ferner bemerke ich, daß sämtliche Agglutinationen mit Formolkulturen ausgeführt wurden. Das Verfahren war das von M. Neisser ausgearbeitete, das seiner Zeit von Pröscher¹⁾ veröffentlicht worden ist.

Ich möchte nicht verfehlen, auch an dieser Stelle nochmals auf die großen Vorteile der Formolbouillon hinzuweisen, bei welcher Irrtümer durch spontane Agglutination mit NaCl-Lösung nicht vorkommen, und die gestattet, auch in einem kleinen Laboratorium jederzeit ein stets gebrauchsfertiges Diagnostikum ohne Unkosten sich vorrätig zu halten.

Die Agglutination der eingesandten Serumproben ergab gegen Paratyphus B-Formolkulturen folgendes:

Verdünnung	Fall		
	3	4	5
1: 40	+++ ²⁾	+++	+++
1: 80	+++	+++	+++
1: 160	+	+++	+++
1: 320	+	+++	++
1: 640	+	+++	++
1: 1280	Spur	++	Spur

Auf Grund der Stuhluntersuchungen der 2 Kranken, die noch diarrhoische Stühle hatten, und der Ergebnisse der Serumuntersuchungen

1) Pröscher, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. 1902. p. 400.

2) +++ vollständigste Verklumpung in größten Haufen; ++ sehr starke Verklumpung, grobe Haufen; + starke, makroskopisch erkennbare Häufchen; Spur: mit schwacher Vergrößerung zahlreiche Häufchen zu erkennen, Verklumpung nicht ganz vollständig.

Typhusformolbouillon wurde auch in einer Konzentration von 1:40 nicht im geringsten verklumpt. Selbstverständlich wurden auch Kontrollen Paratyphus B-Formolkultur mit NaCl-Lösung angesetzt, ohne daß Verklumpung eintrat. Im folgenden erübrigt sich diese selbstverständliche Forderung der NaCl-Kontrolle jedesmal besonders zu erwähnen, es sei ein für allemal gesagt, daß sie in allen Fällen angesetzt worden ist und niemals auch nur eine Spur von Agglutination ergeben hat.

von 3 Rekonvaleszenten war mit Sicherheit zu sagen, daß es sich bei der Gleichheit der Krankheitszeichen aller Erkrankten um eine akut einsetzende Paratyphus B-Epidemie handeln mußte.

Ehe wir auf die weiteren bakteriologischen Untersuchungen eingehen, sei in Kürze das typische Krankheitsbild und der Krankheitsverlauf geschildert. Herr Stabsarzt Dr. Eimler äußert sich darüber, wie folgt.

„Die zahlreichen Entleerungen waren schleimig, wässerig, ohne Blutbeimengungen. Bei 29 Mann begann die Erkrankung unter Schüttelfrost, bei 12 Mann trat außerdem Erbrechen auf. Temperaturerhöhungen von 37,5—39,9° bestand an einem Tage bei 23, an zwei Tagen bei 15, an drei Tagen bei 2 Leuten, drei waren fieberfrei. Roseolen, Milztumor, Angina waren in keinem Fall, Herpes labialis in einigen Fällen nachzuweisen, unter Darreichung von Rizinusöl und Kalomel, alsdann von Opium und Tannin und schleimiger Kost schwanden die Krankheitserscheinungen nach 7—8-tägiger Behandlung.“

Es handelte sich also um eine ganz akut mit gastroenteritischen Zeichen einsetzende Krankheit, die sich durch einen sehr raschen und leichten Verlauf auszeichnete. Das so plötzliche Einsetzen eines Paratyphus mußte wohl vor allem an eine Nahrungsmittelvergiftung oder Infektion denken lassen. Das Nächstliegende war, an Wurst zu denken. Wurst, die die Leute auf dem Truppenübungsplatz bekommen hatten, konnte kaum beschuldigt werden, da eine Frage sofort ergab, daß ein sehr großer Teil der 43 Erkrankten, oder wohl besser gesagt, der 43, die so krank waren, daß sie sich krank gemeldet hatten, keine Wurst gegessen hatten. Nun hatten aber die Leute als Marschzehrung am 8. Mai beim Ausrücken aus der Garnison Blutwurst mitbekommen. Von den 43 Erkrankten gaben 4 an, von der Wurst nichts gegessen zu haben, alle übrigen hatten es getan. Von diesen 43, resp. nach Abzug der 4 von 39 hatten 7 die Wurst nur zum Teil gegessen und dann fortgeworfen, da sie schlecht gewesen sei. Teils wurde angegeben, daß sie ranzig geschmeckt hätte, teils wurde gesagt, daß sie in der Mitte schleimig und breiig gewesen sei. Von dieser Wurst konnte ich ein Stückchen von einem Mann erhalten, der sie wegen des schlechten Geschmacks nicht aufgegessen hatte, und der selbst erkrankt war.

Aus dieser Wurst, die keinen Fäulnisgeruch hatte und nicht schlecht aussah, konnte ich direkt durch die Kultur keinen Paratyphus B züchten. Von zwei damit gefütterten Mäusen erkrankte eine am 5. Tage mit blutigen Durchfällen und starb am 6. Tage. Aus dem Herzblut wurde Paratyphus B in Reinkultur gezüchtet. Da die Maus unter den typischen Erscheinungen und nach der typischen Zeit (vgl. L. H. Marks)¹⁾ erkrankte und starb, so halte ich mich für berechtigt, anzunehmen, daß die Infektion durch die Wurst erfolgte, die aber offenbar nur in recht geringen Mengen Paratyphus B enthielt. Die andere Maus ging erst nach 14 Tagen unter langsamer Abmagerung zugrunde, ohne daß Paratyphus in ihrem Herzblut nachgewiesen werden konnte. Möglich, daß sie eine unzureichende Dose erhalten und eine daraus resultierende Kachexie die Ursache ihres Todes war.

Man kann nun gegen die Annahme, daß diese Wurst die Ursache der Paratyphus B-Epidemie war, zweierlei einwenden. Erstens hatten 4 Mann von 43 Erkrankten nicht von der Wurst gegessen, zweitens wissen wir

1) Marks, L. H., Arbeit. a. d. Kgl. Inst. f. experim. Therapie zu Frankfurt a. M. 1908. Heft 4. p. 37.

nach den Mitteilungen von Hübener¹⁾ und Rimpau²⁾, daß Wurst häufig Paratyphus B enthält, ohne daß deren Genuß auch nur im geringsten schadet.

Ad 1 habe ich als entsprechendes Beispiel zu bemerken, daß kürzlich Baehr³⁾ über eine Paratyphusepidemie beim Feldartillerieregiment No. 75 berichtete, bei der allem Anschein nach mit Sicherheit die Epidemie auf den Genuß von Hackfleisch zurückgeführt werden mußte, da auch in einem Stift, wo vom selben Metzger geliefertes Fleisch gegessen wurde, und bei den Gesellen des Metzgers Paratyphus B-Erkrankungen gleichzeitig vorkamen. Auch in diesem Falle hatte ein Teil der Erkrankten nicht von dem Hackfleisch gegessen. Es beweist diese Tatsache eben nicht viel, da hier, wie so oft, anamnestische Fragen uns im Stich lassen.

Ad 2. Da sich die sogenannten Schweinepestbacillen in dem Darm vieler Schweine befinden, und da es glaubhaft gemacht ist, daß diese mit Paratyphus B identisch sind, wenigstens kann man sie zur Zeit nicht unterscheiden, so wird man nach den Hübener und Rimpauschen Mitteilungen, die in dankenswerter Weise die zu erwartende Tatsache des Vorkommens von Paratyphus B in der Wurst in einwandfreier Weise feststellten, nicht umhin können, den Schluß, hier Kranke mit Paratyphus B, hier Paratyphus B auch in Wurst etc., von der gegessen, also Infektion durch dieses Nahrungsmittel mit großer Vorsicht zu ziehen. In diesem Fall kommt aber ein besonderes Moment dazu. Von 43 bzw. 39 Musketieren sagten mir 7, wie schon erwähnt, daß sie die Wurst auf dem Marsch nur zum Teil gegessen hatten, da sie ihnen verdorben vorkam. Nun, daß unsere Musketiere in mancher Beziehung mit Speisen sehr wählerisch sind und Sachen oft absolut nicht essen, die vielen als Leckerbissen erscheinen, kommt oft genug vor, daß aber ein Soldat, der, wie hier alle Leute, Blutwurst sehr gerne ißt, diese auf dem Marsch, nachdem er ein Stück davon gegessen, ohne Grund fortwirft, das glaube ich nicht. Ich glaube, daß man sicher annehmen kann, es handelte sich um eine bei der sehr heißen Witterung, die damals herrschte, zersetzte Wurst, die außerdem, wie so viele Würste, Paratyphus B enthielt. Daß die meisten Bacillen an und für sich eine Infektion nicht machen können, daran zweifelt wohl heutzutage niemand. Ganz besonders gilt dies von den Infektionen, die vom Magendarmkanal ihren Ausgang nehmen. Es gehört dazu eben, nun, sagen wir, die Magenverstimmung.

Nun wissen wir, daß zersetztes Fleisch durch die Bildung von Ptomainen auch ohne Infektion leichtere oder schwerere Indispositionen und Reizung des Magendarmkanals macht. Dies ist meiner Ansicht nach hier das Wesentliche. Die Wurst, die offenbar im allgemeinen gut, aber zum Teil mehr oder weniger zersetzt war (lösliche Gifte konnte ich in dem Stück Wurst, das ich erhalten hatte, nicht nachweisen), hatte offenbar bei recht vielen Magen und Darmkatarrh erzeugt. Diejenigen, die in ihrer Portion genug Paratyphus B bekommen hatten, bekamen diesen dazu, denn durch die Darmreizung war der Boden für die Ansiedelung geschaffen. Die beiden Schädlichkeiten, Fäulnisgift und Paratyphus B, kamen eben hier zusammen.

Ich möchte nun ganz kurz auf die weiteren serologischen Untersuchungen der übrigen Erkrankten eingehen. Ich erhielt Serumproben von allen 43 und agglutinierte sie mit Paratyphus B. Anfangs machte

1) Hübener, Dtsch. med. Wochenschr. 1908. p. 1044.

2) Rimpau, Dtsch. med. Wochenschr. 1908. p. 1045.

3) Baehr, Hyg. Rundschau. 1908. p. 505.

ich die Serumverdünnungen 40, 80, 400, dann 80, 160, 800. Meine Zeit ließ es leider nicht zu, alle Sera auszutitrieren, ich mußte mich mit einigen Stichproben begnügen.

Die Resultate waren, wie folgt:

I. Serumverdünnungen 1:40, 1:80, 1:400.

Verdünnung	Fall						
	1	2	6	8	9	12	13
1: 40	++	++	+++	++	0 ¹⁾	+	+++
1: 80	++	++	+++	++	0	+	+++
1: 400	++	0	+	++	0	+	+++

II. Serumverdünnungen 1:80, 1:160, 1:800.

Verdünnung	Fall									
	7	10	11	14	15	16	17	18	19	20
1: 80	++	++	++	++	+++	++	+++	+++	+++	++
1: 160	+	++	++	+	++	++	+++	++	+++	+
1: 800	0	Spur	++	0	+	+	++	+	Spur	0

Verdünnung	Fall									
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
1: 80	+++	++	+++	++	+++	++	+++	+	+++	
1: 160	+++	++	+++	++	+++	++	+++	+	+++	
1: 800	+++	+	+	+	++	Spur	+	+	++	

Verdünnung	Fall									
	30	31	32	33	34	35	36	37	38	
1: 80	+++	++	+	+	+++	+++	++	+++	+++	
1: 160	+++	+	Spur	Spur	+++	+++	++	++	++	
1: 800	+	Spur	Spur	Spur	+	++	+	+	+	

Verdünnung	Fall				
	39	40	41	42	43
1: 80	+++	+++	++	++	0 ²⁾
1: 160	++	+++	++	+	0
1: 800	+	+++	Spur	Spur	0

Die in dieser Uebersicht fehlenden Fälle 3—5 sind bereits eingangs aufgeführt worden.

Da die Agglutination zwischen dem 27.—31. Mai vorgenommen worden war, so liegt die Serumprüfung, den 10. Mai als Durchschnittstag der Erkrankung angenommen, 17—21 Tage nach dem Auftreten der ersten stärkeren Krankheitszeichen.

Wie aus der Uebersicht hervorgeht, fehlten dauernd nur bei zwei Leuten Agglutinine, die vielleicht schon verschwunden waren. Einer von diesen wollte übrigens von der Wurst nicht gegessen haben. Im Uebrigen sehen wir, daß zum Teil recht erhebliche Werte bestehen und der größte Teil noch bei der Verdünnung 1:800 agglutinierte. Es wurden dann noch drei weitere Sera, vergl. auch die vorher angeführten Sera der Fälle 3—5, bis zur Grenze titriert. Das Resultat ist folgendes:

Verdünnung	Fall		
	17	21	40
1: 800	++	+++	+++
1: 1000	+	++	++
1: 3200	0	Spur	++
1: 6400	0	0	+
1: 12800	0	0	0

Wenn wir so gesehen haben, daß fast in allen Fällen selbst eine so leichte Infektion mit Paratyphus B wie hier genügt, um hohe, zum Teil sogar sehr hohe Agglutinationswerte bei den Erkrankten zu erzeugen,

1) Nach 8 Tagen wiederholt gleichfalls negativ.

2) Fall 43 war auch 8 Tage später negativ.

so ist auch diese Epidemie wieder ein Beispiel dafür, wie sehr man es dem Praktiker an das Herz legen soll, doch stets bei allen verdächtigen Fällen sich der Mühe, wenn man es eben überhaupt so nennen kann, der Blutentnahme zu unterziehen. Die Aussicht, hier ein sicheres Resultat zu erzielen, ist zunächst sehr groß, viel größer, als bei den Stuhluntersuchungen, die aber leider aus Bequemlichkeitsgründen in der Praxis beliebter sind, dann gibt es, wie Rimpau¹⁾ zeigte, viele gesunde Menschen, die Paratyphus B ausscheiden, ja bei denen sogar Paratyphus B im Blut zirkuliert. Sind sie nur Bacillenausscheider und nie paratyphuskrank gewesen, so gibt ihr Serum auch keine Reaktion gegen Paratyphus. Also ist schließlich doch nur der positive Widal beweisend.

Alle diese Leute sind 2mal nach ihrer Genesung auf das Vorkommen von Paratyphusbacillen im Stuhl untersucht worden. Weder hier noch im Garnisonlazarett Darmstadt, wo sie interniert waren, und wo Herr Stabsarzt Dr. Bach die Stühle untersuchte, konnten Paratyphusbacillen gefunden werden. Wohl aber war der Stuhl der Rekonvaleszenten, wie so oft bei und nach Darmerkrankungen, sehr reich an atypischen Coli-Kolonieen.

Zum Schluß noch einige Worte über das Jakobsthalsche Serumpapier, das mir hier wieder ausgezeichnete Dienste getan hat, denn nicht nur die aus den ersten Fällen gezüchteten Paratyphusbacillen, sondern auch noch später eine ganze Reihe der atypischen Coli-Stämme wurden mit Hilfe dieses Serums untersucht. Es scheint den Fachkollegen zum großen Teil entgangen zu sein, daß die Firma Merck nach dem Vorschlag von Jakobsthal²⁾ schon seit längerer Zeit alle möglichen Sera zu Agglutinationszwecken in den Handel bringt, die in der Weise hergestellt sind, daß eine bestimmte Menge Serum, bezw. Serumverdünnung auf ein starkes Fließpapier getropft und angetrocknet ist. Diesen Papieren soll NaCl-Lösung (früher war 0,5-proz. Karbollösung vorgeschrieben, die ich aber niemals benutzt habe) in bestimmten Mengen, entsprechend der Etikettenaufschrift, zugefügt werden. So gibt z. B. die Firma für Paratyphus B an, daß der auf dem Papier befindliche Serumtropfen, in 2 ccm gelöst, eine Serumverdünnung ergibt, die einen Titer von 1:300 hat, d. h. wenn von dieser Serumlösung ein Teil zu 299 Teilen Fickers Diagnostikum der Firma Merck gegeben wird, so erhält man noch eine positive Reaktion. Der von Dr. Landmann für die Darstellung des Diagnostikums benutzte Stamm zeichnet sich durch eine überaus leichte Agglutinierbarkeit aus. Da man nun in der Praxis das Serumpapier doch niemals gegen dieses Diagnostikum benutzt, so ist vielleicht die Titerangabe, so wie sie die Gebrauchsanweisung angibt, nicht ganz glücklich. Es ist ganz sicher, daß die meisten frisch aus dem Körper gezüchteten Paratyphus- oder Typhuskulturen nicht so hoch verklumpt werden, wie manche besonders leicht agglutinierbare Kulturen. Will man also mit solchem Serum eine Kultur prüfen, so muß man ebenso vorgehen, wie mit jedem anderen Serum, d. h. man darf nicht nur die Serumverdünnung der Titergrenze benutzen, besonders wenn man mit lebenden Kulturen arbeitet, da man dann sicher Mißerfolge haben wird. Es ist unbedingt notwendig, die Agglutination mit einer Serumauflösung zu beginnen, die nur wenig über der Originalverdünnung liegt (beim Paratyphus B also ein Blättchen Papier in 2 ccm NaCl-Lösung) und dann weiter bis zur Grenze (beim Paratyphus zur 300-fachen Verdünnung) zu titrieren.

1) Rimpau l. c.

2) Jakobsthal, Arch. f. Hyg. Bd. XLVIII. 1906.

Dieses Serum hat viele Vorzüge. Zunächst ist es recht hochwertig wie einige, weiter unten mitgeteilte Titrationsen und eine einfache Berechnung zeigt. Nehmen wir an, daß der Tropfen auf dem Papier unverdünntes Serum ist, so würde ungefähr 0,05 ccm Serum im Papier vorhanden sein. Diese Menge in 2 ccm NaCl-Lösung gelöst, ergibt eine Verdünnung 1:40, so daß die Titergrenze gegen Fickers Diagnostikum $1:40 \times 300 = 1:12000$ wäre. Dann ist es sehr haltbar. So habe ich z. B. Serumproben Ende Februar 1907 erhalten und diese ohne jede Vorsichtsmaßregeln in der Flasche, in der es geliefert war, im Schrank aufbewahrt. Eine Abschwächung ist offenbar bis heute nicht eingetreten. Wenn ich das Serum damals auch nicht ganz austitrierte, so zeigte doch ein Vergleich, daß eine Abschwächung nicht stattgefunden haben kann. Es ist in diesem wichtigen Punkt also ein ganz ideales Präparat, besser als die Trockensera, die nur bei Aufbewahrung unter Luftabschluß dauernd gut bleiben. Es ist also auch in dieser Hinsicht für die Feldlaboratorien oder irgend ein anderes fliegendes Laboratorium, das immer bereit sein muß, von allergrößtem Nutzen. Auch das gelöste Serum ist im Eisschrank bei Chloroformzusatz eine Reihe von Tagen unverändert haltbar. Schließlich ist der Preis auch mäßig, da 30 Blatt nur 2,55 M. kosten.

Die Lösung des Serums erfolgt sehr schnell. Ich habe das Papier meist nicht, wie die Vorschrift lautet, mehrere Stunden, sondern nur $\frac{1}{2}$ —1 Stunde in der NaCl-Lösung gelassen und zwischendurch häufig tüchtig geschüttelt. Ich habe keine Vorteile von längerem Stehenlassen gesehen. Es lösen sich dabei natürlich viele Papierfetzchen los, doch lassen sich diese groben Teilchen durch einige Umdrehung in der Handzentrifuge glatt ausschleudern. Das Papier ballt sich dann so fest zusammen, daß das Abgießen der klaren Serumlösung ohne Schwierigkeit vor sich geht.

Um die wirklich vorzüglich agglutinierenden Eigenschaften zu zeigen, seien einige Protokolle der Titrierung des Serums gegen Paratyphus B und auch gegen Typhus angeführt. Ich bemerke dazu, daß die Titer beim Paratyphus B nach der von mir angenommenen Berechnung 1:40 der ursprünglichen Lösung des Paratyphus B-Papiers in 2 ccm resp. 1:60 in 3 ccm (ich löste stets in 3 ccm) angegeben sind. Beim Typhusserum rechnete ich demnach, wie folgt: Es soll zu jedem Blatt Papier 10 ccm NaCl-Lösung hinzugefügt werden, man erhalte dann eine Serumlösung vom Titer 1:1000, d. h. 0,05 ccm Serum : $10 \times 1000 = 1:200000$.

I. Paratyphus B-Papier (altes Papier) gegen Formolbouillon.

Berechneter Titer gegen Fickers Diagnostikum 1:12000.

1: 120	+++	1: 3840	++
1: 240	+++	1: 7680	+
1: 480	+++	1: 15360	Spur
1: 960	+++	Kontrolle	0
1: 1920	+++		

Das frisch bezogene Papier wich insofern ab, als das Resultat bei 1:7680 ++ und bei 1:15360 + war.

Typhus-Papier (altes Papier) gegen Formolbouillon.

Berechneter Titer gegen Fickers Diagnostikum 1:200000.

1: 400	+++	1: 12800	+
1: 800	+++	1: 25600	Spur
1: 1600	+++	1: 51200	Spur
1: 3200	++	1: 102400	0
1: 6400	++	Kontrolle	0

3*

Also auch dies Serum ist gegen die Formokulturen sehr hochwertig, wenn auch nicht annähernd so wie gegen das Fickersche Diagnostikum, das wohl aus dem homologen Stamm präpariert ist. Allerdings ist der angegebene Wert auch etwas sehr hoch. Gegen lebende Kulturen ist die Reaktion natürlich schwächer. Der makroskopische Titer gegen Paratyphus B ist 1:1920, der mikroskopische (schwache Vergrößerung) 1:9360, gegen Typhus makroskopisch 1:1600, mikroskopisch 1:3200.

Es ist selbstverständlich, daß derartige Titrationen wiederholt gemacht worden sind, und daß stets dieselben Resultate erzielt wurden.

Ich glaube, diese Tabellen zeigen besser als viele Worte die vorzüglichen Eigenschaften der Merckschen Serumpapiere nach Jakobsthal wenigstens für Typhus und Paratyphus B, die anderen habe ich nicht geprüft, ich zweifle aber nicht, daß sie ebenso gut sein werden. Das Mercksche Serumpapier und die M. Neisserschen Formolbouillonkulturen räumen auch dem kleinsten und unter den ungünstigsten Verhältnissen in bezug auf Personal, Material und Geldmittel arbeitenden Laboratorium jede Schwierigkeit der Serodiagnostik aus dem Weg und gestatten, daß eine notwendige Untersuchung, sollte diese auch noch so selten vorkommen, stets ohne jeden Zeitverlust, wie es z. B. das Anlegen frischer Agarkulturen mit sich bringt, ausgeführt werden kann.

Nachdruck verboten.

Ueber die sogenannten „tierischen Bacillen“ (Bail).

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.
(Direktor: Geheimrat Prof. R. Pfeiffer).]

Von Dr. Carlo Bezzola.

Die Injektion einer tödlichen Dosis von Typhusbakterien in das Peritoneum des Meerschweinchens hat eine rapide Vermehrung der Bakterien und eine ausgesprochene Peritonitis zur Folge, die in ihrer Stärke von der Virulenz und Menge der Bacillen abhängig ist. Wir wissen, daß bei dieser Peritonitis ein Exsudat auftritt, welches eine trübe, fadenziehende Flüssigkeit darstellt, die sich in der Bauchhöhle in wechselnden Mengen bildet und leicht gerinnt. Mikroskopisch enthält es Leukocyten, rote Blutkörperchen, Endothelzellen in wechselnder Menge und eine ungeheure Zahl von Bacillen. Es gelingt leicht, die zelligen Elemente mittels der Zentrifugation von der Flüssigkeit zu trennen, indem man das Exsudat einige Minuten in einer Zentrifuge von 500 Umdrehungen ausschleudert. Dabei gehen fast quantitativ die zelligen Elemente und eine kleine Menge der Bakterien in den Bodensatz. Wenn wir das Exsudat abgießen, behalten wir so eine Flüssigkeit, in der sich von Formelementen nur die Bacillen befinden. Wenn wir jetzt die abgegossene Flüssigkeit mit einer Zentrifuge von 6000 Drehungen ausschleudern, so gelingt es fast vollständig, die Bacillen von der Flüssigkeit zu trennen. Ueber die Eigenschaft der so erhaltenen Bacillen und Exsudate habe ich Untersuchungen angestellt, über die nachstehend berichtet wird.

Schon Bail und seine Schüler haben gezeigt, daß die Typhusbacillen, die sie aus dem Meerschweinchenperitoneum gewannen, ein besonderes Verhalten darbieten, durch das sie sich von den Kulturbakterien unterscheiden, welche zur Injektion in das Peritoneum des Meerschwein-

chens gedient haben. Zwischen den Kulturbakterien und den aus dem Peritoneum eines mit einer tödlichen Dosis von Bakterien infizierten Meerschweinchens gewonnenen Bakterien bestehen nach Bail sowohl morphologische wie biologische Unterschiede. Die „tierischen“ Bacillen sind „dicker und plumper“ und zeigen eine deutliche Resistenz gegenüber einem Serum, derart, daß die in der Kultur gut agglutinablen Bacillen nunmehr inagglutinabel werden, und daß ihre Resistenz gegenüber den bakteriolytischen Immunseris zunimmt, so daß eine für Kulturbakterien sicher ausreichende Serumdosis gegenüber tierischen Bacillen versagt. Diese Unterschiede können sich nach Bail schon in sehr kurzer Zeit ausbilden; sie wurden von ihm schon 3 Stunden nach der Injektion der Typhusbakterien in das Peritoneum des Meerschweinchens beobachtet.

Bail behauptet ferner, daß es selbst mittels großer Mengen von Immunserum nicht gelingt, normale Tiere gegenüber der Infektion mit tierischen Bacillen zu schützen. Diese Bailsche Beobachtung einer Veränderung wichtiger biologischer Eigenschaften einer Bakterienart innerhalb weniger Stunden schien mir einer Nachprüfung zu bedürfen. Ich benutzte dabei zunächst einen virulenten Typhusstamm, der dem Institut durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Geheimrat Wassermann überlassen worden war. Der Typhusstamm, im nachstehenden als Stamm W. bezeichnet, zeigte sämtliche für Typhus charakteristischen Merkmale. Agglutination mit einem Pferdeimmunserum vom Titer 1:8000, 1:3200 +, 1:6400 ±. Die Virulenz des Stammes betrug für 200 g Meerschweinchen $\frac{1}{7}$ — $\frac{1}{10}$ Oese. Die tierischen Bacillen gewann ich aus dem Exsudat von Meerschweinchen von 250—400 g, die intraperitoneal mit 2—3 Oesen einer 18-stündigen Agarkultur behandelt waren. Nach dem Tode der Tiere wurde das Exsudat natürlich unter aseptischen Kautelen gesammelt, von den zelligen Elementen durch eine kurz dauernde Zentrifugation mit 500 Umdrehungen befreit. Die Bakterien wurden sodann nach Möglichkeit durch weitere Zentrifugation des Abgusses in einer stärkeren Zentrifuge von 6000 Umdrehungen ausgeschleudert. Der Bodensatz der tierischen Bacillen wurde so dosiert, daß er durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung zu einer gewissen Dichte aufgeschwemmt wurde, welche genau der Temperatur einer abgemessenen Kulturaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung entsprach. Die Infektionsdosis der „tierischen“ Bacillen betrug eine Oese; die Immun-

Tabelle I.

No. des Tieres	Gewicht g	Dosis der Bakterien	Dosis des Immunserums ¹⁾	Resultat
865	250	1 Oese Typhus W. Kultur	0,003	bleibt am Leben
866	250	1 Oese Typhus W. tier. Bacillen	0,003	stirbt
871	260	wie 866	0,01	stirbt
847	260	wie 866	0,05	bleibt am Leben
877	250	1 Oese Typhus W. Kultur	0,003	bleibt am Leben
878	240	1 Oese Typhus W. tier. Bacillen	0,003	stirbt
879	250	wie 878	0,01	bleibt am Leben

1) Serum eines Kaninchens mit Typhus behandelt.

serumdosis wurde im Gegensatz zu Bail, der das Immuserum zu wechselnden Zeiten vor den Bakterien injizierte, von mir mit diesen gemischt, gegeben (s. Tabelle I).

Die Versuche dieser Tabelle ergeben in der Tat, daß die tierischen Bacillen eine deutliche Erhöhung ihrer Resistenz gegenüber Kulturbakterien zeigen; jedoch ist der Unterschied keineswegs in meinen Versuchen so ausgesprochen, wie in denen von Bail, da in dem zweiten Versuche schon das dreifache Multiplum des Serums auch die „tierischen Bacillen“ prompt bakteriolysierte. Es handelt sich hier also nur um geringgradige quantitative Differenzen, und in keinem Falle sind die tierischen Bacillen von den Kulturbakterien qualitativ als verschieden zu betrachten.

Nach Bail wird die Resistenz der tierischen Bakterien durch eine Umänderung ihrer vitalen Eigenschaften im Peritoneum des Tieres hervorgerufen. War diese Ansicht richtig, so dürften sich tierische Bacillen nur durch den Infektionsprozeß erzeugen lassen. Spielt jedoch das Exsudat als solches vermöge seiner physikalischen Eigenschaften bei diesen Phänomenen eine Rolle, so mußte sich der tierische Zustand der Bakterien auch durch Aufenthalt derselben in einem Exsudat außerhalb des tierischen Körpers erzielen lassen. Ich habe deshalb Versuche angestellt, in denen an Stelle der tierischen Exsudatbacillen aus dem Peritoneum gestorbener Meerschweinchen Kulturbakterien im Reagensglas in Exsudaten aufgeschwemmt wurden. Die Exsudate wurden in gleicher Weise wie früher durch Typhusinjektion gewonnen und durch starkes Zentrifugieren von den Bakterien befreit. Einige Male wurden auch die Exsudate nachträglich noch zur sicheren Abtötung der wenigen zurückgebliebenen Bakterien 1—2 Stunden auf 60° erhitzt. Je 1 cm der Exsudate wurde mit einer Oese Kulturbakterien beschiedt; in den Kontrollversuchen wurde die gleiche Bakteriendosis in Kochsalzlösung an Stelle der tierischen Flüssigkeit aufgeschwemmt. Die Aufschwemmungen blieben, um Bakterien in den „tierischen“ Zustand überzuführen bei einer Temperatur von 2° mit dem Exsudat während einer Stunde in Kontakt. Diese niedrige Temperatur wurde gewählt, um jedes Wachstum der Bakterien innerhalb der Versuchszeit auszuschließen und damit eine biologische Anpassung an die besonderen Verhältnisse des sie um-

Tabelle II.

Peritonealexsudat, gewonnen durch intraperitoneale Injektion von 2 Oesen einer 18-std. Agartyphuskultur W. an ein Meerschweinchen von 300 g (das Exsudat wird 1 Std. bei 60° inaktiviert). Je 1 Oese Bacillen in 1 cm Exsudat aufgeschwemmt bleibt 4 Std. bei 8° in Kontakt. Im Kontrollversuch Kochsalzlösung statt Exsudat.

No. des Tieres	Gewicht g	Dosis der Bakterien	Dosis des Immuserums	Resultat
891	210	1 Oese Typhus W. mit Kochsalzlös. in Kontakt	0,003	nach 3 Std. 30 Min. ist die Infektion fast abgelaufen. Das Tier bleibt am Leben
892	210	1 Oese Typhus W. mit Exsudat in Kontakt	0,003	nach 3 Std. 30 Min. massenhaft Bacillen. Das Tier stirbt in < 24 Std.
893	210	wie 892	0,01	nach 3 Std. 30 Min. massenhaft Bacillen; nach 14 Std. viele Bacillen; nach 36 Std. sehr wenig Bacillen; viel Leukocyten. Das Tier bleibt am Leben

Tabelle III.

Versuchsordnung wie in Tabelle II. Nur bleiben die Bacillen mit dem Exsudat 1 Std. bei 2° in Kontakt.

No. des Tieres	Gewicht g	Dosis der Bakterien	Dosis des Immuns- serums	Resultat
236	200	1 Oese Typhus W. mit Kochsalzlös. in Kontakt	0,006	nach 4 Std. ist die Infektion fast abgelaufen. Das Tier bleibt am Leben
237	200	1 Oese Typhus W. mit Exsudat in Kontakt	0,006	nach 4 Std. viele Bacillen. Das Tier stirbt < 24 Std.
238	200	wie 237	0,012	nach 4 Std. zieml. viele Bacillen; nach 16 Std. abgelaufen. Das Tier bleibt am Leben
239	200	wie 237	0,018	nach 4 Std. wenige Bacillen; nach 16 Std. viele Bacillen. Das Tier stirbt in 24 Std.

Tabelle IIIa.

Versuchsordnung wie in Tabelle III.

No. des Tieres	Gewicht g	Dosis der Bakterien	Dosis des Immun- serums	Resultat
261	215	1 Oese Typhus W. mit Kochsalzlös. in Kontakt	0,006	nach 16 Stunden keine Bacillen. Das Tier lebt
264	220	1 Oese Typhus W. mit Exsudat in Kontakt	0,006	das Tier stirbt < 16 Std. ∞ Ba- in dem Exsudat
265	205	wie 264	0,012	nach 16 Std. viele Bacillen; nach 24 Std. spärliche Bacillen. Das Tier stirbt nach 3 Tagen, spärliche Bacillen in Reinkultur
266	220	wie 264	0,018	nach 16 Std. keine Bacillen. Das Tier stirbt nach 3 Tagen, keine Bacillen
267	225	wie 264	0,024	nach 16 Std. keine Bacillen. Das Tier bleibt am Leben

Tabelle IIIb.

Versuchsordnung wie in Tabelle III. Das Exsudat wurde nicht inaktiviert.

No. des Tieres	Gewicht g	Dosis der Bakterien	Dosis des Immun- serums	Resultat
270	200	1 Oese Typhus W. mit Kochsalzlös. in Kontakt	0,006	nach 4 Std. ist die Infektion abgelaufen. Das Tier lebt
268	195	wie 270	0,006	wie oben
272	205	1 Oese Typhus W. mit Kochsalzlös. in Kontakt	0,006	nach 4 Std. viele Bacillen. Das Tier stirbt < 36 Std.
273	195	wie 272	0,006	wie oben
274	190	wie 272	0,012	nach 4 Std. zieml. viele Bacillen. Das Tier stirbt in 48 Std.
271	190	wie 272	0,024	nach 4 Std. zieml. viele Bacillen; nach 16 Std. sind die Bacillen verschwunden. Das Tier bleibt am Leben

gebenden Mediums. Nur in einem Falle wurden die Bakterien 4 Stunden bei einer Temperatur von 8° der Einwirkung des Exsudats unterworfen. Danach wurden die Bakterien beider Aufschwemmungen (Kochsalz resp. Exsudatflüssigkeit) möglichst quantitativ ausgeschleudert, in 1 ccm

physiologischer Kochsalzlösung pro Oese aufgeschwemmt und zusammen mit der Immunserumdosis injiziert (s. Tabelle II—III b).

Wir haben, wie sich aus den Tabellen ergibt, hier einen tierischen Zustand der Exsudatbakterien durch den einfachen Kontakt mit der Peritoneumflüssigkeit im Reagensglas erreicht. Gegen den Versuch bei 8° könnte man noch den Einwand machen, daß bei dem 4-stündigen Aufenthalt bei dieser Temperatur die Bakterien in der Exsudatflüssigkeit bessere Entwicklungsbedingungen als in der Kontrollkochsalzlösung gefunden hatten, und daß die Immunserumdosis eben auf stärkere Vermehrung der Exsudatbakterien zurückzuführen sei.

Abgesehen davon, daß auch bei 8° die Bakterienentwicklung nur eine minimale sein kann, spricht gegen eine derartige Erklärung der Umstand, daß auch in den übrigen Versuchen bei einer Temperatur von 2°, bei der eine Bakterienvermehrung überhaupt ausgeschlossen war, die gleichen Resultate erzielt wurden. Die Differenz zwischen den Serumdosen für die in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Bakterien gegenüber den in Exsudat aufgeschwemmten ist nicht immer die gleiche, in einzelnen Fällen nur sehr gering, in anderen aber selbst zweifach, vierfach stärker für die Exsudatbakterien. Analoge Versuche wurden mit einem Typhusstamm von sehr geringer Virulenz, Dosis letalis, etwa eine Oese, angestellt. Hier trat durch den Aufenthalt der Bakterien im Exsudat keine ausgesprochen deutliche Veränderung im Sinne der früheren Versuche zutage. Eine geringe Differenz ist aber auch hier bemerkbar. Sie tritt jedoch nur in einem verzögerten Ablauf der Infektion bei der gleichen Serumdosis beim Exsudattier in Erscheinung.

Tabelle IV.

Versuchsordnung wie in Tabelle III.

No. des Tieres	Gewicht g	Dosis der Bakterien	Dosis des Immunserums	Resultat
233	200	1 Oese Typhus Gießen mit Kochsalzlösung in Kontakt	0,0005	nach 4 Std. ist die Infektion abgelaufen. Das Tier bleibt am Leben
234	200	1 Oese Typhus Gießen mit Exsudat in Kontakt	0,0005	nach 4 Std. wenige Bacillen; nach 16 Std. keine Bacillen. Das Tier bleibt am Leben
235	200	wie 234	0,001	nach 4 Std. sind die Bacillen verschwunden. Das Tier bleibt am Leben

Die Erzielung des tierischen Zustandes im Exsudat in vitro dauert gewisse Zeit. Nach 5 Minuten langem Kontakt mit dem Exsudat bei 2° unterscheiden sich die Bakterien noch nicht in ihrem Verhalten von den in Kochsalzlösung aufgeschwemmten, nach 1 Stunde ist aber die Differenz immer deutlich. Daß es sich bei den künstlich durch Exsudat resistent gemachten Typhusbakterien nicht etwa um eine spezifische Einwirkung des Typhusexsudats auf die Typhusbakterien handelt, dafür spricht die Tatsache, daß auch bei Zusatz der Typhusbakterien unter analogen Bedingungen zu einem in entsprechender Weise hergestellten Choleraexsudat das gleiche Resultat erzielt wurde (s. Tabelle V).

Man kann diese Tatsachen nur dahin deuten, daß offenbar die Ursache der Differenz in besonderen Eigenschaften der Exsudatflüssigkeit an sich gelegen ist, nicht aber in Veränderungen der Bakterien selber. Auch auf eine stärkere Vermehrung der Bakterien im Exsudatröhrchen

Tabelle V.

Versuchsordnung wie in Tabelle III. Anstatt Typhusexsudat Choleraexsudat von Meerschweinchen. Das Exsudat wurde bei 60° inaktiviert.

No. des Tieres	Gewicht g	Dosis der Bakterien	Dosis des Immunsersums	Resultat
140	210	1 Oese Typhus W. mit Kochsalzlös. in Kontakt	0,003	nach 16 Std. keine Bacillen. Das Tier bleibt am Leben
141	210	1 Oese Typhus W. mit Exsudat in Kontakt	0,003	das Tier stirbt < 16 Std. oc Bacillen
142	210	wie 141	0,006	wie oben
139 Kontrolle	180	0,6 ccm Choleraexsudat inaktiviert		keine Choleraeibakterien. Das Tier bleibt am Leben

kann bei der niederen Temperatur und dem kurzen Kontakt der Unterschied unmöglich zurückgeführt werden. Vielmehr dürfte die Ursache der erhöhten Resistenz der Exsudatbakterien ausschließlich auf die Veränderungen physikalischer Natur zurückzuführen sein, die sie in Berührung mit dem Exsudat erfahren. Wir müßten uns vorstellen, daß die einzelnen Bacillenindividuen sich gewissermaßen mit der schleimigen Exsudatflüssigkeit imprägnieren und umhüllen und dadurch von der Einwirkung des Ambozeptors besser geschützt sind.

Wenn diese Annahme richtig ist, so muß die höhere Resistenz sich auch mit ambozeptorbeladenen Bakterien durch den Kontakt mit Exsudat herbeiführen lassen, indem nunmehr, wie vorher der Ambozeptor, jetzt das Komplement durch die Exsudathülle zurückgehalten wird. Das ist in der Tat der Fall, wie der folgende Versuch zeigt.

Tabelle VI.

Versuchsordnung wie in Tabelle III, nur wurden die Bacillen vor der Behandlung mit dem Exsudat mit Ambozeptor beladen.

No. des Tieres	Gewicht g	Dosis der Bakterien	Beladen 30 Min. bei 2° mit der Immunsersumdosis	Resultate
275	210	1 Oese Typhus W. mit Kochsalzlös. in Kontakt	0,006	nach 4 Std. ist die Infektion abgelaufen. Das Tier bleibt am Leben
277	210	1 Oese Typhus W. mit Exsudat in Kontakt	0,006	nach 4 Std. viele Bacillen. Das Tier stirbt nach 24 Std.
269	220	wie 277	0,018	nach 4 Std. ist die Infektion abgelaufen. Das Tier bleibt am Leben

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Pfeiffer, für die Anregung zu diesen Untersuchungen sowie für das Interesse, das er an ihnen genommen hat, herzlichst zu danken.

Nachdruck verboten.

Ueber einen vom Meerschweinchen isolierten Tetragenus.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie in Sassari
(Prof. Dr. L. Vincenzi).]

Von Dr. **Giuseppe Altana**, Assistenten.

Mit 2 Figuren.

In den ersten Monaten dieses Jahres starben in unserem Institut mehrere Meerschweinchen, stark abgemagert, und mit reichlichem Haar- ausfall, besonders am Rumpf und Hals. Bei einigen wurde die Krank- heit 20—25 Tage lang beobachtet. Die Tiere fraßen ebenso wie die gesunden, oft sogar mehr, verendeten aber in einem elenden Zustande. Der Tod kam plötzlich unter vorhergehendem lauten Schmerzensschrei. Die Krankheit zeigte sich kontagiös, indem sie mehrere Tiere in dem- selben Käfig betraf, nicht alle aber gingen zugrunde, einige erholten sich in ziemlich kurzer Zeit.

Die Obduktion zweier in der Agonie mit Chloroform getöteten Meerschweinchen bot mir nichts Besonderes, ausgenommen eine ausge- sprochene Hypertrophie und Blässe der Organe. Die bakteriologische Untersuchung war dagegen interessant, und zwar gelang es mir, aus der Leber und aus dem Blute einen speziellen Mikroorganismus zu züchten. Dasselbe Resultat bekam ich später in 4 anderen Fällen.

Die ersten Meerschweinchen wurden am 31. Jan. getötet, eines seziierte ich am 8. Febr., eines am 11. desselben Monats, und die anderen am 4. März.

Der gezüchtete Mikroorganismus war ein sehr kleiner *Micrococcus* mit etwas ovaler Form. Er teilte sich in vier vereinigt bleibende Indi- viduen, die in manchen Exemplaren eine deutliche runde Hülle zeigten; war unbeweglich, mit Anilinfarben leicht färbbar, und die Färbung blieb nach Gramscher Methode bestehen. Unter 15° C wuchs er nicht, am besten gedieh er bei 37°. Auf verschiedenen Nährböden gezüchtet, war sein Wachstum immer sehr spärlich.

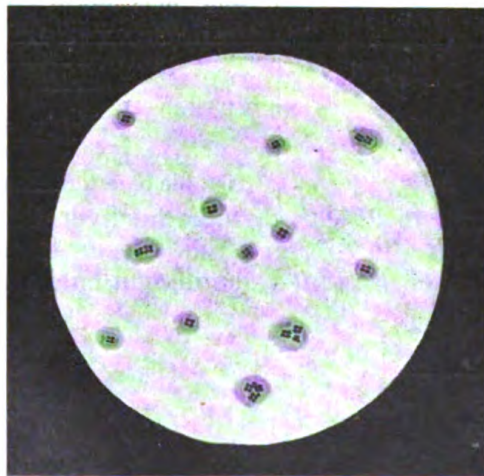


Fig. 1. Präparat aus Bouillonkultur.
Koristka, hom. Immers. $\frac{1}{15}$ u. Komp.-Ok. 4.

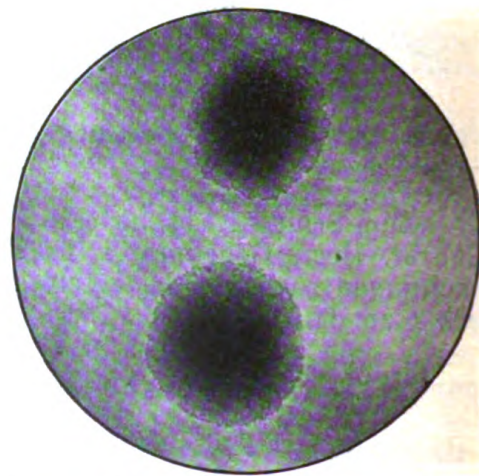


Fig. 2. Zwei Kolonien auf Agarplatte.
Vergr. 65:1.

In Bouillon gab er einen feinen, staubförmigen Satz. Die Bouillon blieb klar. Auf Bouillon, der man Blutserum in kleiner Menge zusetzte, war das Wachstum etwas ausgeprägter, und die Flüssigkeit wurde getrübt.

In sterilisierter Milch verursachte er keine Koagulierung.

Auf einfachem Agar bildete der isolierte Tetrigenus ganz kleine, weiße Pünktchen. Bei schwacher Vergrößerung sahen die oberflächlichen Kolonien rund, dunkler, grob granuliert, mit etwas gezähneltem Rande, manchmal mit einem deutlichen Kern in der Mitte aus.

Auf Serumagar, d. h. Agar mit Meerschweinchenserum im Verhältnis von 1:2–3 gemischt, war das Wachstum üppiger. Die Kolonien erreichten die Größe von ungefähr 2 mm. In keinem Falle konfluieren sie.

Auf Nährgelatine wuchs der Tetrigenus außerordentlich kümmerlich und langsam. Die Kolonien waren noch kleiner, als die auf Agar gewachsenen. Bei schwacher Vergrößerung zeigten sie eine runde Form, einen braunen Farbenton, und eine grobgranulierte Struktur. Die Gelatine wurde nicht verflüssigt.

In den bei 37° C gehaltenen Kolonien hörte das Wachstum des Tetrigenus schon nach 48 Stunden auf, dagegen entwickelte er sich bei Zimmertemperatur auf Gelatine 2–3 Monate lang weiter, jedoch in unbedeutendem Maße.

Traubenzucker wurde vom Tetrigenus nicht vergoren.

Zahlreiche Versuche, einen günstigeren Nährboden für die Entwicklung dieses Tetrigenus zu bereiten, blieben resultatlos. Es gelang mir auch nicht, experimentell die Krankheit bei Meerschweinchen zu erzeugen. Die Tiere wurden teils subkutan, teils direkt in die Blutbahn, in die Peritonealhöhle und in die Pleurahöhle eingepflegt. Neugeborene und junge Meerschweinchen bekamen auch per os Tetrigenus-Bouillonkulturen, doch stets ohne Erfolg. Für die Versuche verwendete ich frische, ebenso wie alte Kulturen, immer jedoch in kleiner Menge. Negativ fielen auch einige an Mäusen und Kaninchen angestellte Experimente aus.

Die Frage, ob der Tetrigenus mit der spontan entwickelten Krankheit in Zusammenhang stand, war mir also unmöglich zu entscheiden.

Es kann aber nicht bezweifelt werden, daß der in 6 Fällen isolierte Tetrigenus vom Meerschweinchenorganismus stammte. Die mit einem kleinen Leberparenchymstückchen bereiteten Agarplatten gaben immer positive Resultate. In einem Falle konnte ich bis 50 Tetrigenus-Kolonien zählen; in den anderen variierte die Summe zwischen 10 und 20. Die mit einigen Bluttröpfchen gesäten Agarplatten blieben 3mal steril, drei gaben positives Resultat, doch war die Zahl der entwickelten Kolonien sehr gering (3–10).

Wenn auch der gezüchtete Tetrigenus ein saprophytisches latentes Leben in den Organen der obduzierten Tiere führte, war der Befund nichtsdestoweniger ohne Wert.

Keiner der saprophytischen und pathogenen beschriebenen Tetrakokken stimmte mit meinem überein. Nicht nur seines spärlichen Wachstums wegen ist er verschieden; nicht nur fordert er gegen die anderen eine Temperatur über 15° C zur Entwicklung; er gibt auch in Bouillon keinen schleimigen Satz, und die auf Agar und Gelatine kleinen gewachsenen Kolonien haften dem Nährsubstrat nicht fest an, erheben sich auch nicht auf der Oberfläche derselben, sind gar nicht

klebrig und können leicht mit der Platinnadelspitze, auch in minimalen Teilen, abgelöst werden.

Ein genaueres Studium über diesen neuen *Tetragenus* behalte ich mir vor.

Wegen seines außerordentlich langsamen Wachstums auf Gelatine nenne ich den Mikroorganismus *Tetragenus tardissimus*.

Herrn Prof. Vincenzi, Direktor des Instituts, spreche ich für die Unterstützung bei der Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus.

Sassari, Mai 1908.

Nachdruck verboten.

Der Ursprung der Pneumokoniosen.

[Aus dem Hygienischen Institute der Kgl. Universität Bologna
(Direktor: Prof. G. Sanarelli).]

Von Prof. Dr. **Guido Q. Ruata**, beauftragtem Direktor.

(Ins Deutsche übertragen von Prof. O. v. Negri z. M.)

Man nennt Pneumokoniose die Einatmung und das konsequente Ablagern von Staub in die Lungen, welchen alle Individuen in größerem oder geringerem Maße ausgesetzt sind, je nach der Umgebung, in welcher sie gewöhnlich leben. Nicht immer bildet die Ablagerung von fremden Körperchen im Lungenparenchym eine wirkliche Krankheitsform, welche sich hingegen kundgibt, wenn die Staubkörperchen, die auf die Lunge kommen, in so großer Anzahl vorhanden sind, daß sie von der Lunge nicht mehr vertragen werden können, oder wenn die Staubpartikelchen mit solchen mechanischen oder chemischen Eigenschaften behaftet sind, daß sie pathologische Veränderungen im Lungengewebe hervorrufen.

Im allgemeinen ist immer angenommen worden, daß ungeachtet des tüchtigen Verteidigungssystems, welches dem Atmungsapparate eigen ist, die Staubkörperchen durch die Inhalation in die Lunge kommen, und diese Meinung ist eben die verbreitetste unter den Autoren, und hat ihre experimentelle Sanktion in den wohlbekanntenen Forschungen von Arnold¹⁾ erfahren.

Kürzlich, nach den bekannten Studien von Calmette über den digestiven Ursprung der Tuberkulose, veröffentlichten aber Vansteenberghe und Grysez²⁾ Forschungen, welche dahin gingen, nachzuweisen, daß die gewöhnlichste der Pneumokoniosen, die Anthrakose, nicht mehr als das Resultat des direkten Eindringens des Kohlenstaubes in die Atmungswege und in die Alveolen, von wo derselbe durch Phagocytose in das Lungenparenchym übergeht, anzusehen ist, sondern eher als das Resultat der Aufsaugung (wenigstens unter gewöhnlichen Verhältnissen) desselben durch den Darm.

Die zwei Autoren führten in den Magen erwachsener Meerschweinchen chinesische Tusche und Kohlenstaub ein, sowohl mit der Nahrung vermengt, als auch direkt mit der Sonde. Die Versuchstiere wurden nach 24

1) Arnold, Untersuchungen über Staubinhalation und Staubmetastase. Leipzig 1885.

2) Vansteenberghe et Grysez, Sur l'origine intestinale de l'anthraxose pulmonaire. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XIX. 1905. p. 787.)

oder 48 Stunden getötet, und im Lungenparenchym derselben fand man schwärzliche Zonen (Granula anthracotica) vor, welche sich besonders auf die oberen Lappen und den Rand der unteren Lappen ausdehnten; die mesenterischen Ganglien waren unbeschädigt, jene der Mediastinaldrüse angeschwollen und schwarz.

Wenn derselbe Versuch an jungen Meerschweinchen angestellt wurde, ergab er aber ganz verschiedene Resultate: Die Lungen waren unversehrt, die mesenterischen Ganglien mit Kohlenstaub durchsetzt.

Nach den beiden Autoren ist die Lungenanthrakose der Tatsache zuzuschreiben, daß der Staub, nachdem er durch die mesenterischen Ganglien durchgegangen ist — die hingegen bei den jungen Tieren undurchdringlich wären — sich in den Ductus thoracicus, dann in den großen Blutumlauf ergossen hat, um eben dadurch auf dem Blutwege zur Lunge zu gelangen.

Vansteenberghe und Grysez inhalierten in einer anderen Reihe von Experimenten (1) Kaninchen, denen zuerst die Speiseröhre durch Verbindung oder Verstopfung abgeschlossen worden war, Kohlenstaub ein: sie beobachteten alsdann, daß, während die Kontrollkaninchen anthrakotisch wurden, jene mit der abgeschlossenen Speiseröhre, auch nach verlängerten Inhalationssitzungen, keine Spur von Anthrakose darboten.

Wenn man hingegen einen der großen Bronchienäste abschloß, so daß die eine Lunge von der Luft isoliert, während die andere und die Speiseröhre offen blieben, so fand man nach einer verlängerten Inhalationssitzung, daß beide Lungen anthrakotisch waren, aber während die freie Lunge in den Aesten und im freien Teile der Alveolen und in Abständen auch im Parenchym Granulationen aufwies, bot die isolierte Lunge nur eine intraparenchymatöse Anthrakose dar.

Aus diesen Versuchen schlossen Vansteenberghe und Grysez, daß „die physiologische Anthrakose in den meisten Fällen der Darmabsorption der Kohlenpartikelchen zuzuschreiben ist“.

Die Veröffentlichung der zwei Schüler Calmettes rief sogleich in der wissenschaftlichen Welt großes Interesse hervor, und besonders in Frankreich machten sich viele Autoren sogleich daran, die Versuche der genannten Autoren zu kontrollieren, denn beregte Experimente boten in der Tat ein sehr evidentes und probatives Bild dar.

Petit¹⁾ bestätigte vor allem die Resultate, indem er auf an vorgeschrittener Tuberkulose kranken Kindern experimentierte, denen er Kohlenstaub verschlucken ließ. Es ist aber augenscheinlich, daß auf diese Weise die Hauptbedingungen des Versuches verändert wurden, denn es handelte sich um durch die Krankheit tief modifizierte Organismen.

Herman²⁾ hingegen schloß, daß die Anthrakose des Ursprunges vom Darne aus, wenn sie sich kundgibt, der lokale Ausdruck eines Verteidigungsprozesses ist, welcher auch die anderen phagocytären Organe interessiert. Der gewöhnliche und auch der wichtigste Weg ist der der Atmung, und jedenfalls sind die zwei Formen vom anatomisch-pathologischen Gesichtspunkte aus nicht unterscheidbar, denn das Endresultat beider ist die interstitielle Imprägnation der Lunge.

Remlinger³⁾ experimentierte am Kaninchen und berichtete, daß

1) Petit, G., Origine intestinale de l'anthracose pulmonaire. (Presse médicale. 1906. p. 654.)

2) Herman, Sur l'origine de l'anthracose pulmonaire. (Presse médicale. 1906. p. 781. Académie royale de Médecine de Belgique. 1906. 27 octobre.)

3) Remlinger, Pathogénie de l'anthracose pulmonaire. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 1906. 3 novembre.)

es ihm niemals gelungen sei, bei diesem Tiere die Lungenanthrakose durch den Darm zu bewirken, und schloß sie so zugunsten der Inhalationstheorie aus. Zu ähnlichen Schlüssen, nachdem sie mit Meerschweinchen und Kaninchen experimentiert hatten, kamen Basset¹⁾, Schultze²⁾ und Mironesco³⁾. Küss und Lobstein⁴⁾, ebenfalls nach zahlreichen Versuchen, kamen zu folgenden Schlüssen:

1) Die Lungenanthrakose entsteht durch Inhalation und nicht durch Deglutition, denn sie erreicht dieselbe Stärke sowohl durch das vorhergehende Abbinden der Speiseröhre oder des Pylorus, oder wenn es die Nahrungsüberfüllung des Magens verhindert, daß der verschluckte Staub bis zum Duodenum vordringe.

2) Kleine Mengen Kienruß, welche genügend sind, auf dem Wege der Inhalation eine sehr starke Anthrakose hervorzubringen, erzeugen nur eine sehr unbedeutende oder gar keine Anthrakose, wenn sie auf dem intestinalen Wege in den Organismus eingeführt werden. Wenn sich die Anthrakose einstellt, bietet sie die histologische Anordnung einer Anthrakose inhalatorischen Ursprunges dar, und läßt die mesenterischen Ganglien unversehrt, woraus man annehmen kann, daß sie eher einer vorher stattgefundenen oder noch mitwirkenden Inhalation zuzuschreiben sei.

Diesen ersten, denen von Vansteenberghé und Grysez so entschieden entgegengesetzten Resultaten, antworteten obengenannte Autoren im Vereine mit Calmette⁵⁾ mit anderen Versuchen, welche im wesentlichsten die ersten bestätigten, indem sie besonders auf das verschiedene anatomisch-pathologische Aussehen der Anthrakose, je nach ihrem respiratorischen oder digestiven Ursprunge, bestanden.

Daraufhin bewies Remlinger⁶⁾ nochmals, daß der Hauptmechanismus der Lungenanthrakose von der Inhalation vertreten ist; Hoche und Funk⁷⁾, daß bei den jungen Kaninchen die auch äußerst leichte Inhalation von Kohlenstaub eine interstitielle Anthrakose verursacht; Basset⁸⁾, daß bei den Kaninchen und den erwachsenen oder jungen Meerschweinchen der unlösbare Staub, welcher im Verdauungskanale zirkuliert, nicht absorbiert wird, und daß die lymphatischen Ganglien der erwachsenen Tiere, wenigstens der Kaninchen, die ihnen zugeschriebene Permeabilität nicht besitzen; Feliziani⁹⁾, daß große Mengen Kohlenstaubes, welche in den Magen der Meerschweinchen eingeführt werden,

1) Basset, A propos de la pathogénie de l'anthracose pulmonaire. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 1906. 3 e 24 novembre. — Société centrale de Médecine vétérinaire. 1906. 8 novembre.)

2) Schultze, Gibt es einen intestinalen Ursprung der Lungenanthrakose? (Münchener med. Wochenschr. 1906. 28. August.)

3) Mironesco, Sur la prétendue origine intestinale de l'anthracose pulmonaire. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 1906. 28 juill.)

4) Küss et Lobstein, Pathogénie de l'anthracose pulmonaire. (Comptes rendus de l'Académie des Sciences. 1906. 19 novembre.)

5) Calmette, Vansteenberghé et Grysez, L'anthracose pulmonaire physiologique. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 1906. 8 décembre. — Société centrale de Médecine vétérinaire. 1906. 20 décembre.)

6) Remlinger, Pathogénie de l'anthracose pulmonaire. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 1906. 22 décembre.)

7) Hoche et Funk, Des premiers stades de l'anthracose pulmonaire par inhalation. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 1906. 17 décembre.)

8) Basset, A propos de la pathogénie de l'anthracose pulmonaire. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 1906. 29 décembre et 1907. 28 janvier.)

9) Feliziani, Sulla genesi dell' antracosi polmonare. (Il Policlinico. 1906. Fasc. 12. p. 526—528.)

keine Lungenanthrakose erzeugen, die nicht einmal durch direkte Injektion von Chinatuscheemulsion ins Bauchfell hervorgebracht wird; Küss und Lobstein¹⁾, daß die physiologische Lungenanthrakose gewöhnlich durch Inhalation und nicht durch Verschluckung entsteht, und daß, wenn auch der Darm für die feinsten Granulationen nicht absolut undurchdringlich ist, dennoch die Anthrakose, die manchmal auf diesem Wege entsteht, ganz unbedeutend und gleichgültig ist.

Auch Arloing und Forgeot²⁾ bemerkten, daß die in Form fester, äußerst feiner Partikelchen in den Verdauungskanal eingeführten Stoffe, welche unter dem Mikroskope als von brownianischen Bewegungen belebt erscheinen, sich außerhalb der Darmschleimhaut halten, von welcher also die Lungenanthrakose nicht ausgehen würde.

In der letzten Zeit teilte Arloing³⁾ andere Beobachtungen mit, welche dahin zielten, den digestiven Ursprung der Anthrakose auszuschließen: „Wenn man — sagt Arloing — den intestinalen Ursprung annimmt, so muß der durchlaufene Weg folgender sein: Mesenterische Ganglien, Zisterne von Pecquet, Ductus thoracicus, Einmündung der Subclavia und der Jugularvene, rechtes Herz, Lungenarterie, Lunge. Wenn man jetzt dieselben kohligen Stoffe in die Jugular- und in die obere Hohlvene injiziert, findet man niemals gefärbte Partikelchen in der Lunge, währenddem sie sich hingegen fortwährend in der Milz, in der Leber, im Knochenmarke ablagern, indem sie sich auf die lymphatischen Zellen und auf das Gefäßendothelium festsetzen. Es ist endlich logisch, anzunehmen, daß wenn der Ursprung der Anthrakose im Verdauungskanale seinen Sitz hätte, unsere Lungen rasch vollgepfropft wären, denn die Menge des von uns mit dem Brote, dem Fleische und allen anderen auf einige Minuten dem Staube ausgesetzten Elementen verschluckten Staubes ist unberechenbar.“

Endlich bewies Weinberg⁴⁾, daß man anthrakotische Erscheinungen auch bei den Meerschweinchen finden kann, die keiner besonderen Nahrungsdiät unterworfen sind, und dieser Autor schloß daraus, daß die Versuche, welche den digestiven Ursprung der Lungenanthrakose nachzuweisen suchten, mit Vorbehalt aufgenommen werden sollten; andererseits wiesen Triboulet und Fancoz⁵⁾ bei der Leichenschau eines Steinmetzen nach, daß die Lungen voller Kalkteilchen und anthrakotischer Körnchen waren, während die mesenterialen Ganglien unverändert waren.

Breton und Petit⁶⁾ behaupteten hingegen, daß die Anthrakose bei den jungen Meerschweinchen, die auf digestivem Wege tuberkulös gemacht wurden, auf ebendemselben Wege leicht entstehe, durch welche Behauptung die Autoren sich der Meinung von Calmette und seiner

1) Küss et Lobstein, Passage des poussières insolubles à travers l'intestin. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 1907. 26 janvier et 1907. 20 avril.)

2) Arloing et Forgeot, La pathogénie de l'anthracose pulmonaire. (Comptes rendus de l'Académie des Sciences. 1907. 15 avril.)

3) Arloing, Pathogénie de l'anthracose pulmonaire. (Société nationale de Médecine de Lyon. 1907. 6 mai. — Presse médicale. 1907. p. 349.)

4) Weinberg, Anthracose pulmonaire chez le cobaye neuf. (Société anatomique. 1907. 15. février. — Presse médicale. 1907. p. 118.)

5) Triboulet et Fancoz, A propos de l'origine digestive de l'anthracose pulmonaire. (Société médicale des hôpitaux. 1907. 22 février. — Presse médicale. 1907. p. 133.)

6) Breton et Petit, Sur la perméabilité des ganglions mesentériques chez le cobaye jeune, préalablement rendu tuberculeux par la voie digestive. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 1907. 16 février.)

Mitarbeiter näherten. Gegen diese Aussage kann man sogleich (wie bei Petit) einwenden, daß die von den genannten Autoren vorgenommenen Versuche den anormalen Fall von kranken Organismen betrachten, und daß man also beregten Versuchen den Mechanismus der physiologischen Anthrakose nicht zuschreiben kann.

Gesagtes kurz zusammenfassend, können wir schließen, daß den kategorischen Behauptungen von Calmette, Vansteenberghe und Grysez gegenüber, die im allgemeinen für die physiologische Anthrakose einen digestiven Ursprung annahmen, zahlreiche Forscher aufstanden, welche alle oder größtenteils für die absolute Ausschließung eines solchen Mechanismus waren und sich an die klassische Theorie hielten, die der Lungenanthrakose und im allgemeinen allen Pneumokoniosen einen wesentlich respiratorischen Ursprung zuschrieben.

Diesen Meinungsverschiedenheiten zufolge wurde in der Société de Biologie in Paris ein „Ausschuß der Anthrakose“ ernannt, welcher aus Malassez, Letulle, Henneguy, Dastre und Borrel bestand und die Aufgabe hatte, die Frage zu studieren und zu entscheiden.

Im Berichte seiner Arbeiten, an denen auch Basset und Calmette kontradiktorisch teilnahmen, erklärte der Ausschuß, sich nicht mit der Lungenanthrakose beschäftigt zu haben, indem man sich nur auf die intestinale oder mesenterische beschränkt hatte, denn in der ersten liegt der Grund eines Irrtumes in der Tatsache vor, daß viele Meerschweinchen auch im normalen Zustande vor jedem Versuche die Lungenanthrakose aufweisen, wodurch die Interpretation der Endresultate äußerst schwierig wird.

Was die mesenterische Infiltration betrifft, so beschloß der Ausschuß, daß sie in den Meerschweinchen, die 6 Stunden nach Einführung von Chinatusche (durch Verschlucken oder mittels der Spritze in den Magen) geopfert werden, sich nicht einstellt.

Andererseits bestätigte der Ausschuß den Durchgang von Staub im Falle wiederholter Einnahmen.

Diese bescheidenen Resultate, die zum Teil auch sehr bestreitbar sind, denn einige der den wiederholten Einführungen unterworfenen Meerschweinchen erkrankten, wodurch die Experimentverhältnisse verändert wurden, lösten also noch nicht die von den Gelehrten von Lille erhobene Frage, die ungefähr auf dem früheren Flecke verblieb.

Der vom Gesichtspunkte der Pathologie und Hygiene doppelt wichtige Gegenstand bewog uns alsdann, die Frage zu studieren und in verschiedenen Richtungen zu verfolgen, was wir eben in vorliegender Schrift darlegen.

In unseren Forschungen haben wir die ziemlich unsichere Verwendung des Kohlenstaubes jedweder Art verlassen, denn dieser Staub kann nicht unschwer zum Irrtume führen. Das Ueberallvorkommen des Staubes in unseren Wohnungen macht es manchmal möglich, daß die Tiere, wie wir schon beobachtet haben, spontan anthrakotisch sind, und zwar sowohl an vorhergehender Anthrakose als an anderen mitwirkenden Anthrakosen, die etwa unfreiwillig von einer anderen Ursache als von der wirklich studierten erzeugt werden könnten.

Wir selbst haben Gelegenheit gehabt, bei einer großen Anzahl von erwachsenen Meerschweinchen eine sehr deutliche spontane Lungenanthrakose zu beobachten. Dieser Befund riet uns gleichzeitig an, den Ge-

1) Rapport sur l'antracose. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 1907. 11 mai.)

brauch von Kohlenstaub auszuschließen und auch den Schluß zu ziehen, daß die von den Autoren von Lille nur in den erwachsenen Tieren nachgewiesene Anthrakose nicht dem Verschlucken von Kohlenstaub zuzuschreiben wäre — ein Ursprung, welcher einstimmig von den anderen Forschern verworfen wird — sondern eher einem normalen, sowohl den Menschen als den Tieren gemeinschaftlichen Inhalationsphänomen, und hierin finden wir uns, wie wir schon gesehen haben, mit anderen Autoren, die den nämlichen Befund angetroffen hatten, vollkommen im Einklange.

Wir wandten uns hingegen der Anwendung von mikrobischen Sporen zu. Diese Methode, welche unzweifelhafte Dienste auch bei anderen Forschungen leisten kann, bietet, wie wir sehen werden, eine außergewöhnliche technische Sicherheit, denn wenn man ein Material benutzt, welches gewöhnlicherweise in dem betreffenden Raume nicht vorhanden ist, kann man Wirkungen — und folglich Deutungen — ausschließen, die von denen der wirklich unternommenen Versuche verschieden sind. Außerdem — und dies ist ein anderer unbestreitbarer Vorteil — waren die von uns angewendeten Sporen gegen die hohen Temperaturen sehr widerstandsfähig, so daß es uns leicht fiel, indem wir die zu prüfenden Stücke sterilisierten, nur den verwendeten Keim herauszufinden durch Entwicklung der Sporen aus den Stücken, die auf die gewöhnlichen Nährmittel ausgesät wurden.

Die Sporen, deren wir uns zu unseren Versuchen bedienten, gehören einem von Biffi isolierten saprophyten Bacillus an, welcher von ihm *Bacillus clavatus* benannt wurde.

Die Haupteigenschaften dieses Bacillus sind kurz folgende: Länge 4–6 μ , Dicke 0,2–0,3 μ , unbeweglich, vereinzelt oder in Ketten, geradlinig oder leicht gekrümmt, mit abgeplatteten Enden. Er färbt sich gut mit den geläufigen Methoden und widersteht weder Gram noch Claudius.

Er ist aërob und entwickelt sich in 18–24 Stunden auf den gewöhnlichen Nährmitteln. In den Bouillon- oder Agarkulturen fängt er nach 24 Stunden an dicke Sporen auszubilden, welche anderthalbmal so dick als der Bacillarkörper und oval sind; sie setzen sich an ein Ende an und verleihen so dem Keime die Aehnlichkeit mit einer Keule. Gegen den 3. Tag ist die ganze Kultur sporifiziert und die Sporen befreien sich vom Bacillus; später sieht man nur freie Sporen.

Diese Sporen färben sich in den ersten Tagen stark und ohne Schwierigkeiten mit den einfachen Färbemitteln und besitzen praktisch nicht die Eigenschaft, der Entfärbung durch Säuren zu widerstehen. Wenn sie aber, nachdem sie sich vom mikrobischen Körper abgetrennt haben, älter werden, werden sie dicker und größer, bis sie ein doppeltes Volumen als das ursprüngliche erreichen. In diesem Augenblicke ist die Färbung nur mit einer der klassischen, für die Sporen verwendeten Methoden möglich — z. B. der Möllerschen — und überdies weisen sie einen bedeutenden Widerstand der Säureentfärbung gegenüber auf.

Die besondere Eigenschaft einiger Sporen, sich auch mit den gewöhnlichen Färbemitteln, ohne eine besondere vorhergehende Behandlung, zu färben, stellt eine schon von Fränkel beobachtete und von Gosio und Sclavo¹⁾ gut bestimmte Ausnahme dar; die letzteren Autoren studierten den *Bacillus suaveolens* in einer Stärkegärung, und auch

1) Gosio e Sclavo, Contributo allo studio delle fermentazioni batteriche. (Rivista d'igiene e sanità pubblica. Vol. I. 1890. No. 12–13.)

die Sporen dieses Bacillus sind nicht wie gewöhnlich so refraktär, sich in der Kälte mit den üblichen Anilinlösungen zu färben. Die Sporen des Bacillus clavatus sind gegen Wärme sehr widerstandsfähig, und zwar mehr als eine Stunde bei 100° und 5 Minuten bei 110°.

Für unsere Forschungen bereiteten wir reichliche Kulturen in Flaschen nach Roux auf der Oberfläche festgewordenen Agars zu. Nach 15 Tagen, nachdem wir uns der vollständigen Sporifizierung der Kulturen versichert hatten, schabte man den oberflächlichen Belag ab und vermengte ihn feucht mit Amidonstaub; sodann trocknete man die Mischung aus, zerrieb sie sehr fein im Mörser und erhielt so ein unfühbares Pulver, einen für Inhalationsversuche höchst geeigneten wirklichen Staub.

Die Inhalation wurde auf folgende Weise vollzogen: Die besondere dazu verwendete Vorrichtung bestand aus einem Flaçon, dessen Gummistöpsel mit zwei Löchern versehen war. Durch beide Löcher wurde ein Glasröhrchen gesteckt, wovon das eine mit einer Maske für den Kopf des Tieres, das andere mit einem Gummihandgebläse verbunden war, durch welche es möglich war, nach Belieben größere oder kleinere Mengen staubigen Materials zu inhalieren.

Für Verschluckungsversuche adoptierten wir ausschließlich die Sonde, wodurch dichte Sporensuspensionen in den Magen eingeführt wurden.

Die Tiere, Kaninchen und Meerschweinchen, wurden in Reihen behandelt, um sie, wie wir in der Darstellung der Experimente angeben werden, in gewissen Zeitabständen opfern zu können.

Nachdem das Tier getötet worden war, wurde die Lunge herausgenommen, gewaschen, in schmale Streifen und sodann ein jeder in Stückchen geschnitten, mit welchen Bouillonröhren besät wurden. Die Röhren wurden auf 100° durch 20 Minuten hindurch sterilisiert und alsdann in den Thermostaten gebracht. In den folgenden Tagen schritt man zur Untersuchung der Kulturen, um die eventuelle Entwicklung der Sporen des Bacillus clavatus, die zur Lunge gelangt sein konnten, nachzuweisen. Auf gleiche Weise verfuhr man für die Aussaat der mesenterischen Ganglien, die gleichzeitig unternommen wurde.

Nun gehen wir zu den Ergebnissen unserer Experimente über:

I. Verschluckung.

1. Reihe: 8 Kaninchen.

Kaninchen No. 1 (1930 g) und No. 1 bis (1700 g). Erhalten in den Magen 30 ccm Sporen. Geopfert 12 Stunden nach der Einnahme. Die Aussaaten der Lungen und der mesenterischen Ganglien bleiben steril.

Kaninchen No. 2 (715 g) und No. 2 bis (1850 g). Erhalten in den Magen 40 ccm Sporen. Geopfert 24 Stunden nach der Einnahme. Die Aussaaten der Lungen und der mesenterischen Ganglien bleiben steril.

Kaninchen No. 3 (1750 g) und No. 3 bis (1600 g). Sie erhalten in den Magen 50 ccm Sporen. Geopfert nach 24 Stunden. Die Aussaaten der Lungen und der mesenterischen Ganglien bleiben steril.

Kaninchen No. 4 (1820 g) und No. 4 bis (1900 g). Sie erhalten in den Magen 60 ccm Sporen. Geopfert nach 72 Stunden. Die Aussaaten der Lungen und der mesenterischen Ganglien bleiben steril.

2. Reihe: 8 erwachsene Meerschweinchen.

Meerschweinchen No. 1 (330 g) und No. 1 bis (350 g). Erhalten in den Magen 10 ccm Sporen. Geopfert nach 12 Stunden. Die Aussaaten der Lungen und mesenterischen Ganglien bleiben steril.

Meerschweinchen No. 2 (400 g) und No. 2 bis (370 g). Sie erhalten in den Magen 15 ccm Sporen. Geopfert nach 24 Stunden. Die Aussaaten der Lungen und der mesenterischen Ganglien bleiben steril.

Meerschweinchen No. 3 (390 g) und No. 3 bis (360 g). Sie erhalten in den Magen 20 ccm Sporen. Geopfert nach 48 Stunden. Die Aussaaten der Lungen und der mesenterischen Ganglien bleiben steril.

Meerschweinchen No. 4 (400 g) und No. 4 bis (380 g). Sie erhalten in den Magen 30 ccm Sporen. Geopfert nach 72 Stunden. Die Aussaaten der Lungen und mesenterischen Ganglien bleiben steril.

In diesen beiden Reihen wurden mit doppelten Tieren experimentiert, um größere Sicherheit der Resultate zu erlangen.

3. Reihe: 4 junge Kaninchen.

Von No. 5 bis No. 8, im Gewichte von 250—350 g, erhalten sie in den Magen von 5—10 ccm Sporen und werden geopfert, wie die der vorhergehenden Reihen nach 12, 24, 48, 72 Stunden. Für alle Aussaaten der Lungen und der mesenterischen Ganglien ergaben sie sich als steril.

4. Reihe: 4 junge Meerschweinchen.

Von No. 5 bis No. 8, im Gewichte von 150—200 g, erhalten sie in den Magen von 5—10 ccm Sporen. Wie in den vorhergehenden Reihen, wurden sie nach 12, 24, 48 und 72 Stunden geopfert. Bei allen Aussaaten der Lungen und der mesenterischen Ganglien bleiben sie steril.

5. Reihe.

Da wir uns in den vorhergehenden Versuchen darauf beschränkten, die Tiere nach einem Zeitmaximum von 72 Stunden zu opfern, haben wir sehen wollen — obwohl dies schon von vornherein sich als sehr unwahrscheinlich ergeben konnte — ob nach diesem Zeitraume und nachdem in den Magen größere Mengen Sporen injiziert worden, diese in die mesenterischen Ganglien oder in den Magen übergegangen wären.

Meerschweinchen No. 9 (480 g). Erhält in den Magen für 3 aufeinanderfolgende Tage hindurch 30 ccm Sporen. Es wird nach vier Tagen nach der letzten Verschluckung geopfert.

Meerschweinchen No. 10 (450 g). Dieselbe Behandlung wie das vorhergehende. Es wird nach fünf Tagen nach der letzten Einnahme geopfert.

Meerschweinchen No. 11 (490 g). Dieselbe Behandlung wie die vorhergehenden. Es wird nach sechs Tagen nach der letzten Verschluckung geopfert.

Meerschweinchen No. 12 (250 g). Dieselbe Behandlung wie die vorhergehenden. Es wird nach sieben Tagen nach der letzten Verschluckung geopfert.

Die Aussaaten der Lungen und der mesenterischen Ganglien aller dieser Meerschweinchen sind steril geblieben.

Jede weitläufige Erläuterung der in diesen 5 Reihen enthaltenen Versuche würde vollständig überflüssig sein. Aus denselben ergibt sich klar, daß der Verdauungskanal bei den gesunden Tieren für Partikelchen, die keine eigene Bewegung haben, und in unserem Falle von den Sporen des Clavatus vertreten sind, eine undurchdringliche Schranke darstellen, durch welche sie weder zur Lunge, noch zu den mesenterischen Ganglien gelangen können.

Gegen diese unsere Versuche könnte man vielleicht einwenden, daß sich die Sporen entwickelt haben könnten, und so die bacilläre Form hervorgebracht hätten, welche, wenn sie auch zu den mesenterischen Ganglien oder zur Lunge gelangt sein sollte, von der Wärme sterilisiert worden wäre, da sie weit weniger widersteht als die Sporen. In der Tat ist es aber nicht so. Beim Studium ihrer Eigenschaften hat Biffi wahrgenommen, daß die Sporen lange Zeit in den Organen als solche verbleiben, und daß, wenn die Sporenemulsion auf endovenösem oder endoperitonealem Wege inokuliert wurde, man die Sporen nach 12 bis 17 Stunden aus den verschiedenen Organen (Leber, Milz, Lunge), nach vorhergehend ausgeführter Sterilisierung züchten kann. Unsere Art zu sterilisieren ist eben die Unterlage unserer Forschungsmethode. Was wir soeben vorgebracht haben, soll noch durch folgende Versuche bestätigt werden:

6. Reihe.

Meerschweinchen No. 13 und 14. Erhalten ins Bauchfell 10 ccm Sporen und werden nach 18 und 24 Stunden geopfert.

Meerschweinchen No. 15 und No. 16. Erhalten ins Bauchfell 10 ccm Sporen und werden nach 36 und 48 Stunden geopfert.

4*

Wie gewöhnlich, werden die zu kleinen Stücken geschnittenen Lungen auf Bouillonkulturen ausgesät und die Röhren mit Wärme sterilisiert.

Aus allen hat sich der *Bacillus clavatus* entwickelt.

Somit wird bewiesen, daß die Sporen sich wirklich wie untätige Partikelchen auf die Lunge festgesetzt haben, und als solche dort verblieben sind, bis endlich auf einen geeigneteren Boden übertragen, sie sich entwickelt haben, wodurch eben der Leitgedanke unseres Verfahrens berichtigt und berechtigt wird, denn wenn sich die Sporen während ihres Verweilens im lebenden Organismus entwickelt hätten, würden die von ihnen erzeugten Bacillen gewiß durch die Wärme, die man zur Sterilisation der ausgesäten Organismen von der Einstellung in den Thermostaten verwendete, getötet worden sein.

Da wir also nachgewiesen hatten, daß mittels der Verschluckung kein Durchgang von Sporen weder in die mesenterischen Ganglien noch in die Lunge stattfand, gingen wir zum zweiten Teile unserer Experimente über, d. h. zur Inhalation der Sporen, welche auf die vorher beschriebene Weise vorgenommen wurde:

II. Inhalation.

7. Reihe: 4 Kaninchen.

Kaninchen No. 9 (1930 g). Inhalation durch 15 Minuten hindurch. Wird sogleich danach geopfert.

Kaninchen No. 10 (2080 g). Inhalation durch 15 Minuten hindurch. Geopfert nach 13 Stunden.

Kaninchen No. 11 (2100 g). Inhalation 15 Minuten. Geopfert nach 24 Stunden.

Kaninchen No. 12 (1810 g). Inhalation 15 Minuten. Geopfert nach 48 Stunden.

Die auf oben angegebene Weise vorgenommenen Lungenaussaaten, bei 100° und durch 20 Minuten hindurch sterilisiert, erzeugen alle den *Bacillus clavatus*.

8. Reihe: 4 Meerschweinchen.

Meerschweinchen No. 17 (430 g). Inhalation 15 Minuten. Sogleich geopfert.

Meerschweinchen No. 18 (380 g). Inhalation 15 Minuten. Geopfert nach 12 Stunden.

Meerschweinchen No. 19 (400 g). Inhalation 15 Minuten. Geopfert nach 24 Stunden.

Meerschweinchen No. 20 (360 g). Inhalation 15 Minuten. Geopfert nach 48 Stunden.

Alle Lungenaussaaten weisen die Entwicklung des *Bacillus clavatus* auf.

Auch Inhalationen durch kürzere Zeit hindurch geben dieselben Resultate, wie aus folgenden Experimenten hervorgeht:

9. Reihe: 3 Kaninchen.

Kaninchen No. 13 (1860 g). Inhalation 1 Minute.

Kaninchen No. 14 (1560 g). Inhalation 2 Minuten.

Kaninchen No. 15 (1980 g). Inhalation 4 Minuten.

Die 3 Kaninchen werden 5 Minuten nach der Inhalation geopfert. Aus allen Lungenaussaaten entwickelt sich der *Bacillus clavatus*.

10. Reihe: 4 Meerschweinchen.

Von No. 21 bis No. 24. Sie werden einer sehr leichten Sporeninhalation von 2—5 Minuten Dauer unterzogen und sogleich danach geopfert.

Aus allen Aussaaten der Lungen hat sich der *Bacillus clavatus* entwickelt.

Diese Gesamtheit von Forschungen erscheint uns geeignet, die verschiedenen, von den Autoren, welche sich mit dem Gegenstande beschäftigt haben, erhobenen Fragen zu lösen.

Nehmen wir die Forschungen auf Verschluckung durch: Nicht nur die Lunge blieb unversehrt, sondern auch die mesenterischen Ganglien, was eben beweist, daß das eingenommene Material sich vom Verdauungskanaal nicht in den Organismus verbreitet hat, und dies nicht nur

nach einer einzigen Einnahme, sondern auch nach wiederholten Einnahmen nicht. Und so fällt auch die Einwendung des Unterschiedes des Verhaltens zwischen jungen und erwachsenen Tieren, die von Calmette und seinen Mitarbeitern behauptet wurde, d. h., daß bei den ersten die Ganglien eine Schranke gegen den Durchgang der Partikelchen bilden, die hingegen von den Ganglien der zweiten nicht geboten wird, denn bei unseren Tieren sind die von den verschluckten Sporen vertretenen Teilchen nicht einmal bis zu den mesenterischen Ganglien gelangt.

Wo befindet sich also die Schranke? Augenscheinlich in den Darmwänden selbst, denn wenn man die Emulsion der Sporen in den Blutstrom oder ins Bauchfell inokuliert (6. Reihe), setzen und fixieren sich diese rasch in allen Organen, von den mesenterischen Ganglien bis zur Lunge. Daraus erfolgt, daß, wenn die verschluckten Sporen die Darmwände überschreiten könnten, keine lymphatische Schranke genügend wäre, ihre Verbreitung in den Organismus und ihre Lokalisierung in den verschiedenen Organen, die Lunge mit inbegriffen, zu verhindern.

Die Lungeninfiltration als Folge der Inhalation der Sporen ist im Gegenteil typisch, welches die Menge des inhalierten Materials und die Dauer der Inhalation selbst auch seien. Und wenn es wahr ist, daß von Anfang an die Sporen sich auf die Wände der Bronchien und der Alveolen ansetzen, so ist es auch wahr, daß sie rasch die Beute einer aktiven phagocytischen Tätigkeit werden, wodurch die Infiltration alsbald intraparenchymatös wird, eine Form, die nach Calmette und seinen Schülern ausschließlich der Anthrakose digestiven Ursprunges eigen wäre.

Noch könnte man uns einwenden, ein Material verwendet zu haben, das von dem, welches die wahre Anthrakose erzeugt, d. s. die verschiedenen Kohlenstaubarten, zu verschieden wäre. Unsere Sporen — wir haben es ja schon gesehen — funktionieren als untätige Partikelchen, und ihr individuelles Volumen ist sehr oft kleiner als dasjenige der Partikelchen der verschiedenen Staubarten, die an den gewöhnlichen und experimentellen Pneumokoniosen teilnehmen.

Uns auf alles dies stützend, halten wir uns für berechtigt, zu behaupten, daß im normalen Organismus die Pneumokoniosen ihren Ursprung aus der Inhalation ziehen und nicht aus der Verschluckung von Staubmaterialien, denn während unsere Forschungen uns zu diesem reinen Schlusse hinleiten, bieten die Versuche von Vansteenberghe, Grysez und Calmette Gelegenheit zu solchen Irrtümern — die von uns und von anderen hervorgehoben wurden — daß sie zur Behauptung der von den Autoren vorgebrachten Theorie absolut keinen Anhalt geben.

Als praktisches Korollarium zu dieser Kenntnis glauben wir uns berechtigt, zum Ausdrucke zu bringen, daß die Verteidigung gegen das Eindringen der Staubsorten in den Organismus bei den verschiedenen Gewerben und Industrien ihr Augenmerk besonders auf die Respirationsorgane richten muß, nach dem klassischen Grundbegriffe, welcher übrigens derjenige ist, der bei der Konstruktion und Anwendung der betreffenden Vorrichtungen besonders zum Leitgedanken gedient hat.

Ehe wir diesen Bericht abschließen, können wir nicht umhin, anzuführen, wie von verschiedenen Seiten versucht wurde, die in Lille über die Anthrakose ausgeführten Studien als Stütze für die besonders von Behring und Calmette behauptete Theorie vorzubringen, nach welcher das Virus der Tuberkulose nicht auf dem Wege der Respiration zur Lunge gelangen, sondern hingegen vom Darne nach Verschluckung der Keime ausgehen würde. Zwei Beispiele unter den vielen sollen ge-

nügen: Milian¹⁾, nachdem er die Arbeiten von Behring, Calmette, Guérin, Bartel, Veleminsky und Vallée, welche die experimentelle Lungentuberkulose realisierten, rekapituliert hatte, schrieb: „Die Versuche, die nach meiner Ansicht als die unumstößlichsten gelten können, um den intestinalen Ursprung der Lungentuberkulose festzustellen, sind nicht die vorhergehenden, sondern eher die von Vansteenberghe und Grysez, welche nicht die Lungentuberkulose, wohl aber die Lungenanthrakose betreffen. Diese Autoren haben entscheidend bewiesen, daß der von den Staubarten durchlaufene Weg, um zur Lunge zu gelangen, nicht der respiratorische, sondern der digestive war.“

In der Diskussion, welche einer Konferenz von Aschoff²⁾ folgte, dessen Ideen vollständig mit den Schlüssen von Arnold³⁾ im Einklange standen, stellte Roemer die Experimente von Lille als demonstrativ auf wegen Analogie des digestiven Ursprunges der Lungentuberkulose, worauf Aschoff antwortete, indem er alle schwachen Seiten jener Forschungen ans Licht zog, und besonders die Genauigkeit der Inhalationsversuche bezweifelte.

Daß es so kommen mußte, war übrigens sehr leicht vorauszusehen, denn die Versuche von Vansteenberghe und Grysez sind nur eine Folge und eine Derivation derjenigen über die „Tuberkulose durch Verschluckung“ ihres Lehrers Calmette.

Jedenfalls werden wir auf diese zweite Frage nicht eingehen, denn sie erfordert wohl weit umständlichere und verschiedene Elemente als diejenigen, womit wir uns gegenwärtig beschäftigen, indem wir uns — nach den Ergebnissen unserer Forschungen — darauf beschränken werden, festzustellen, wie der Mechanismus, welcher das Entstehen der Pneumonie regelt, gar keine Analogie bietet mit dem digestiven Ursprunge, der für die Lungentuberkulose von Behring und Calmette vorgebracht wird. Hieraus muß man schließen, daß jener erste nicht im mindesten zur Stütze dieses letzten angerufen werden kann.

Bologna, im Mai 1908.

Nachdruck verboten.

Ueber Versuche, aus Gärungsstühlen den Granulobacillus saccharobutyricus zu züchten.

[Aus der medizinischen Universitätspoliklinik (Prof. A. d. Schmidt) und dem hygienischen Institut (Prof. C. Fränkel) in Halle.]

Von Dr. **Kemp,**

früherem Assistenten der Poliklinik,
jetzigem Spezialarzt für Magen- und Darmkrankheiten in Bonn.

Mit 3 Figuren.

Im Jahre 1884 hat Nothnagel⁴⁾ zuerst darauf aufmerksam gemacht, daß in menschlichen Stuhlentleerungen manchmal Mikroorganis-

1) Milian, Les portes d'entrée de la tuberculose pulmonaire. (*Revue des hôpitaux de France et de l'étranger*. 1906. Juin. No. 6.)

2) Aschoff, Ueber Untersuchungen des Herrn Dr. Bennecke, die Einwanderung von Ruß in die Lungen betreffend. (Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beförderung der gesamten Naturwissenschaften. Marburg 1906. No. 6.)

3) Arnold, a. a. O.

4) Nothnagel, Beiträge zur Physiologie und Pathologie des Darmes. Berlin 1884.

men vorkommen, die dadurch charakterisiert sind, daß sie sich mit Jodlösung tief dunkelblau färben. Da viele von ihnen eine den Hefezellen ähnliche Gestalt haben, waren sie bis dahin gewiß häufig mit Hefezellen verwechselt worden. Sie unterscheiden sich jedoch dadurch scharf von den Hefezellen, daß diese durch Jod stets gelb bis gelbbraun gefärbt werden, während die fraglichen Mikroben, wie gesagt, einen tiefdunkelblauen bis blauschwarzen Farbenton annehmen. Nach Nothnagel haben sich vornehmlich v. Jaksch¹⁾ und Strasburger²⁾ mit den mikroskopischen Bildern solcher Stühle beschäftigt, die durch Jod blau gefärbte Mikroorganismen enthalten. Sie stimmen darin überein, daß vereinzelte Exemplare der Mikroben in fast allen Stühlen, besonders auch im Säuglingsstühle zu finden sind. Passini³⁾ beobachtet sie sogar in den Faeces von Brustkindern.

Das Auftreten größerer Mengen der Granulomikroben ist indeß, wie es scheint, stets ein Zeichen pathologischer Zusammensetzung des Kotes. P. Selter⁴⁾ faßt es (bei Säuglingen) als ein Zeichen von mangelhafter Verdauung der Kohlehydrate auf. Strasburger sah sie besonders in weich-breiiigen Stühlen, zumal in den für die „intestinale Gärungsdyspepsie“ charakteristischen kohlehydratreichen und gärenden Darmentleerungen. Diese Beobachtung hat sich bei den zahlreichen Fäcesuntersuchungen, die auf der Krankenabteilung und später in der Poliklinik von Herrn Prof. A. d. Schmidt systematisch durchgeführt wurden, immer wieder bestätigt, so daß wir uns gewöhnt haben, in dem Auftreten der granulosehaltigen Zellformationen direkt ein Zeichen mangelhafter Stärkeverdauung zu sehen. Aufgefallen ist uns bei diesen Stühlen ferner, daß sie stets einen deutlichen Geruch nach Buttersäure verbreiteten, worauf schon Strasburger aufmerksam gemacht hat. H. Meyer⁵⁾ hat vor kurzem 17 Fälle von ausgesprochener Gärungsdyspepsie zusammengestellt und 6-mal gefunden, daß bei Jodzusatz die granulosehaltigen Mikroben das mikroskopische Bild beherrschten. Ebenso oft waren an ihrer Stelle, oder mit ihnen verbunden, lange, streptothrixartige Fäden zu sehen, die ebenfalls die Granulosereaktion gaben. Die Gestalt der fraglichen Mikroorganismen ist nicht immer dieselbe. Nothnagel hat bereits drei Formen unterschieden: 1) die Stäbchen- oder Bacillenform, 2) die Ei- oder Ellipsenform, 3) die Spindel- oder Zitronenform. Er hat aber dabei betont, daß fließende Uebergänge zwischen allen drei Formen vorkommen.

Wir können diese Schilderung bestätigen, wollen aber ausdrücklich bemerken, daß wir Uebergänge von den unter 1 genannten kurzen und dicken Stäbchen zu den langen streptothrixartigen Fäden, von denen soeben die Rede war, nicht gesehen haben.

Es fragt sich nun: Welcher Klasse von Mikroben sind diese auffallenden Gebilde zuzurechnen, und welche Bedingungen sind entscheidend für ihr massenhaftes Auftreten in den genannten pathologischen Darmentleerungen? Nothnagel legte sich, als er sie zuerst beschrieb, bereits diese Frage vor, und beantwortete sie dahin, daß die Gebilde wahrschein-

1) v. Jaksch, *Klinische Diagnostik innerer Krankheiten*. 4. Aufl. Wien und Leipzig 1896. p. 238.

2) Schmidt, Ad. und Strasburger, J., *Die Faeces des Menschen etc.* 2. Aufl. Berlin 1905. p. 274.

3) *Wiener klin. Wochenschr.* 1902. p. 8.

4) Selter, P., *Die Verwertung des Faecesuntersuchung*. Stuttgart 1904. p. 31.

5) Meyer, H., *Ueber intestinale Gärungsdyspepsie*. (Deutsch. Arch. f. kl. Med. Bd. XCII. Heft 5 u. 6.)

lich mit dem von Prazmowski¹⁾ beschriebenen *Clostridium butyricum* identisch seien. Allerdings fehlte ihm jede positive Unterlage, geschweige denn ein Beweis für diese Annahme, und Strasburger spricht sich denn auch sehr skeptisch darüber aus.

Auf Anregung von Herrn Prof. A. d. Schmidt suchte ich nun der Lösung dieser Frage dadurch näher zu treten, daß ich Material aus Stühlen, die mit Jod sich blau färbende Mikroorganismen in auffallender Menge enthielten, auf künstliche Nährböden brachte und versuchte, eine Reinkultur der fraglichen Gebilde zu erzielen. Zur Feststellung der Identität wurde verlangt, daß die gezüchteten Mikroben in Form und Gestalt den im Stuhle gefundenen ähnelten, auf Jodzusatz die Granulose-reaktion gaben, auf kohlehydrathaltigen Nährböden Gas bildeten und Buttersäure erzeugten.

Mikroorganismen, die diese Eigenschaften zeigen, sind schon früher beschrieben worden. So haben Trécul im Jahre 1865 und van Tieghem im Jahre 1879²⁾ bei der Cellulosegärung ein Bakterium auftreten sehen, das sich mit Jod blau färbte. Van Tieghem nannte es deswegen *Amylobacterium*. Es ist dies wahrscheinlich derselbe Organismus, den Prazmowski in Jahre 1880 als *Clostridium butyricum* beschrieben hat.

Im Jahre 1893 fand dann Beijerinck³⁾ einen beweglichen, ebenfalls auf Jodzusatz sich blau färbenden Mikroorganismus, dem er den Namen *Granulobacter saccharobutyricum* beilegte. Alle diese Autoren haben hauptsächlich die chemischen Leistungen ihrer Bakterien studiert, Reinkulturen haben sie dabei aber wohl kaum unter den Händen gehabt. Von sonstigen Forschern, die sich noch mit Buttersäuregärung und Buttersäurebakterien beschäftigt haben, seien erwähnt: v. Klecki⁴⁾, Hüppe⁵⁾, Gruber⁶⁾, Botkin⁷⁾.

Die ausgedehntesten und genauesten Untersuchungen über Buttersäureerreger sind indes von Grassberger und Schattenfroh⁸⁾ angestellt worden. Auf streng anaëroben Wege haben sie zwei verschiedene Arten, nämlich bewegliche und unbewegliche Buttersäurebacillen gezüchtet. Die beweglichen sind wahrscheinlich dieselben, die vorher schon Beijerinck und v. Klecki beschrieben haben. Die unbeweglichen sind dagegen zuerst von Grassberger und Schattenfroh gefunden, eingehend studiert und beschrieben worden. Passini⁹⁾ hat später übrigens noch über Züchtung von aëroben Buttersäurebacillen berichtet, die ebenso wie die anaëroben Grassbergers und Schattenfrohs die Granulose-reaktion geben sollen. Das gemeinsame Merkmal aller dieser Mikroben ist also einmal die Buttersäureerzeugung und zweitens die Granulosebildung. Man versteht darunter die Anhäufung eines mit Jod sich blau färbenden, wahrscheinlich stärkeähnlichen, aber noch nicht näher bekannten Stoffes.

1) Prazmowski, Untersuchungen über die Entwicklung und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Leipzig 1880.

2) Comptes rendus de la société de Biologie 1865 u. 1879.

3) Beijerinck, Ueber die Butylalkoholgärung und das Butylferment. (Verh. d. akad. Wiss. 2. Sekt. 1893. 1. deel.)

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. p. 169, 249, 286.

5) Mitt. G. A. Bd. II.

6) Centralbl. f. Bakt. Bd. I. p. 370.

7) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. p. 21.

8) Arch. f. Hyg. Bd. XLII u. XLIII. 37.

9) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIX. 1905.

Ehe ich nun über meine eigenen Versuche berichte, möchte ich noch etwas näher auf die Mitteilungen Grassbergers und Schattenfrohs über die von ihnen gezüchteten Buttersäurebacillen eingehen, denn es scheint mir, daß ihr beweglicher *Granulobacillus* derselbe ist, der von mir aus Gärungsstühlen auf anaëroben Wege in Reinkultur dargestellt worden ist.

Den beiden Autoren gelang es, den beweglichen *Granulobacillus* aus Milch, Wiener Hochquellleitungswasser, Käse, Hafer- und Roggenmehl, aus Rohrzuckerbouillon und aus Gartenerde zu züchten. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß zunächst Anreicherungen der Bacillen erstrebt, und davon weiter anaërobe Plattenkulturen angelegt wurden. Die Anreicherung geschah einmal in Milch, sodann in einer von Beijerinck angegebenen Nährflüssigkeit, die 5 Proz. Glukose und 5 Proz. fein gemahlene Fibrin oder Pepton enthielt. Was die Anreicherung in Milch anlangt, so wurde Marktmilch in Reagensgläser gefüllt und 10–30 Minuten lang im Dampftöpfe erhitzt. Zur Erzielung von Anaërobiose wurden dann die einzelnen Reagensgläser in Buchner-Röhren gestellt, die im unteren Drittel mit alkalischer Pyrogalllösung angefüllt und oben luftdicht verschlossen waren. Die so vorbereitete Milch wurde nun in den Brutschrank gestellt. Nach etwa 24 Stunden trat in der Milch unter Caseinabscheidung deutliche Gärung ein. Mit je einem bis zwei Tropfen dieser Milch wurden Zuckeragarplatten (2 Proz.) angelegt und diese 24–48 Stunden lang im Botkinschen Apparate wieder bei 37° gehalten. Von den Platten wurden die verdächtigen Kolonien auf andere Nährböden übertragen und weiter untersucht. Dieses Verfahren wurde immer bei der Züchtung der unbeweglichen Bacillen in Anwendung gebracht. Zur Züchtung der beweglichen bedienten sich die Autoren mit Vorliebe des Beijerinckschen Anreicherungsverfahrens. Sie richteten sich dabei ganz nach den Angaben Beijerincks, indem sie 5 g Dextrose und 5 g fein gemahlene Fibrin oder Pepton mit 110 ccm Wasser in einem enghalsigen Kölbchen einige Minuten lang kochten und dann die kochende Nährlösung mit dem zu untersuchenden Material impften. Das noch heiße Kölbchen stellten sie in den Brutschrank. Wenn sich nach etwa 24 Stunden in der Flüssigkeit Gasentwicklung zeigte, so wurden davon in derselben Weise, wie von der angereicherten Milch Zuckeragarplatten angelegt. Die Platten wurden im Botkinschen Apparate sauerstofffrei gemacht und ca. 24 Stunden lang bei 37° gehalten. Am folgende Tage waren sie meist reichlich von Gasblasen durchsetzt. Stellenweise war der Agar von der Platte abgehoben. Deutlich abgegrenzte Kolonien waren in der Regel nicht zu erkennen. Sie waren vielmehr schleierartig ausgebreitet. Der Rand der Gasblasen war vielfach trübe infiltriert. Manchmal hatten sich auch die Bakterien nach Art einer diffusen Trübung über die ganze Fläche des Nährbodens ausgebreitet. Die von den Kolonien abgeimpften Bakterien erwiesen sich bei der mikroskopischen Untersuchung meist als schlanke lebhaft bewegliche etwa 3–5 μ lange und 0,6–1,0 μ breite Stäbchen. In anderen Fällen waren die Stäbchen bedeutend länger und gleichmäßig, oder ungleichmäßig verdickt und weniger beweglich. Bei Zusatz von Jodlösung zeigten sie sich dann teilweise, oder in ganzer Ausdehnung intensiv braun, oder blau gefärbt. Die Ablagerung der Granulose war in den meisten Exemplaren so, daß ein Ende des Stäbchens frei blieb. Bei Vorhandensein von Doppelstäbchen lagen diese mit den gefärbten Teilen aneinander, so daß es den Anschein hatte, als ob beide zusammen ein längeres Stäbchen bildeten, das in der Mitte Granulose abgelagert habe, während seine beiden Enden frei seien. Ausnahmsweise kam auch das entgegengesetzte Verhalten vor. Viele Stäbchen sahen bei Jodfärbung wie mit dunklen Körnern angefüllt aus. In ihnen hatte sich die Granulose offenbar nur stellenweise abgelagert. Gelegentlich waren die Bakterienleiber statt blau oder schwarz, hellbraun, oder gar rötlich gefärbt.

Bei reichlicher Granuloseablagerung nahmen die Stäbchen alle möglichen Formen an. Viele wurden im ganzen, oder nur im mittleren Abschnitte dicker und bekamen schließlich eine Faß- oder Eiform. Manchmal traten auch kolbige Verdickungen an einem, oder beiden Enden auf, so daß die betreffenden Exemplare ein keulen- oder hantelförmiges Aussehen erhielten. Auch bei diesen sogenannten Clostridienformen blieb ein scharf abgegrenzter endständiger Bezirk bei Jodfärbung frei. An dieser Stelle kam die Spore zur Entwicklung, die sich nach völliger Ausbildung im ungefärbten Präparate als ein ovales, stark glänzendes Körperchen zeigte. Granuloseablagerung und Sporenbildung ging bei den Kulturen mit wenigen Ausnahmen Hand in Hand. Wenn sich Granulose in den Bakterienleibern angesammelt hatte, so nahmen diese allmählich eine Eiform an. Nach Auffassung der Autoren war die Ursache dafür die, daß die Zellmembran dem Drucke der sich ansammelnden Massen nachgab und sich seitlich ausdehnte. Gleichzeitig bildete sich an dem frei gebliebenen Ende die Spore aus. Wurde in den Kulturen sehr reichlich Granulose gebildet, so war dieselbe nach einer gewissen Zeit auch im Zentrum der Sporen nachweisbar. Grassberger und Schattenfroh

beobachteten die Granulosebildung am besten in flüssigen, zucker-, oder stärkereichen Nährböden, in denen neben den Buttersäurebacillen noch andere aërobe, oder anaërobe Bacillenarten gewachsen waren, ferner in Reinkulturen auf Zuckergelatinenährböden.

Von dem unbeweglichen *Granulabacillus saccharobutyricus*, der von Grassberger und Schattenfroh zuerst gefunden und beschrieben worden ist, möchte ich nur erwähnen, daß seine Entdecker ihn aus Milch, Erde, Käse, aus Kuh- und Menschenkot und aus Gartenerde züchteten, daß er sich von dem beweglichen hauptsächlich dadurch unterschied, daß er strenger anaërob wuchs, widerstandsfähiger gegen Hitze war (bei 40' langem Verweilen im Dampftopfe wurde er nicht abgetötet), daß er Gelatine verflüssigte, und daß seine Oberflächenkolonien meist rund und scharf begrenzt waren.

Meine Versuche begann ich damit, daß ich zunächst im hängenden Tropfen die ovalen, hefezellenähnlichen Gebilde so, wie ich sie in den frisch entleerten zu diesem Zweck mit Wasser verdünnten Faeces antraf, mehrere Tage lang bei einer Temperatur von 37° beobachtete. Ich hatte dabei zwar wiederholt den Eindruck, als ob sich die Zahl der Zellen vermehrte, doch kann ich mich hierbei wohl geirrt haben, denn ich besitze weder eine zahlenmässige Grundlage, noch habe ich jemals eine Teilung der Zellen, oder eine Sporenbildung gesehen. Da es von vornherein wahrscheinlich war, daß die fraglichen Lebewesen Anaërobier waren, so versuchte ich es nunmehr mit der anaëroben Züchtung auf Agarplatten, denen ich sterilisierten Faecesextrakt zusetzte, das durch Filtration von mit Wasser verriebenen Faeces gewonnen war. Sowohl diese Versuche, als auch andere, die Mikroorganismen vorher in Dextrin-, Stärke- oder Zuckerbouillon anzureichern, mißlangen. Wiederholte Anreicherungsversuche in steriler Milch, die ich dem Vorgehen Grassbergers und Schattenfrohs folgend angestellt hatte, verliefen ebenfalls erfolglos. Wenigstens war mikroskopisch in der Milch keine Wucherung der schon im Impfmateriale nachgewiesenen Zellen zu erkennen. Auch die Gasbildung, die die genannten Autoren regelmäßig in der Milch beobachtet hatten, wenn eine Vermehrung der von ihnen gesuchten Bakterien stattgefunden hatte, fehlte gänzlich.

In der Beijerinckschen Nährflüssigkeit (5 Proz. Glukose und 5 Proz. Serumalbumin) gelang es mir überhaupt zuerst, Organismen zu züchten, die den in den Faeces vorkommenden, mit Jod blau gefärbten, hefezellenähnlichen Gebilden, morphologisch sehr glichen und auf Jodzusatze ebenfalls tief dunkelblau gefärbt wurden, so daß ich auf den Gedanken kam, beide seien mit einander identisch. Wenn man nämlich genannte Nährflüssigkeit mit Gartenerde impft und 24 Stunden später mikroskopisch (hängender Tropfen) untersucht, so erkennt man teils lebhaft bewegliche Stäbchen, teils in langsamerer Bewegung befindliche keulenförmige, oder auch zigarrenspitzenähnliche, daneben noch zitronen- bis eiförmige Individuen. Die eigentümlichen Formen der Bakterien hat man Clostridien genannt. Sie kommen nur in ganz besonderen Nährböden zur Entwickelung. Als sehr geeignet für ihre Züchtung hat sich bei meinen Versuchen der ebenfalls von Beijerinck angegebene Nährboden: 5 Proz. Glukose, 3 Proz. präzipitiertes Calciumkarbonat, 0,05 Proz. Natriumphosphat, 0,05 Proz. Magnesiumsulfat und 0,05 Proz. Chlorkalium erwiesen. Nach der Ueberimpfung in diese Flüssigkeit habe ich eine deutliche Vermehrung der Clostridienformen aus Gartenerde beobachten können. Daneben waren aber noch alle möglichen anderen, langen und kurzen, beweglichen und unbeweglichen Bakterienarten zu erkennen. Zur Erzielung einer Reinkultur habe ich nun denselben flüssigen Nährboden mit vorher gewaschenem Agar zusammengebracht, beides zusammen aufgekocht und daraus einen festen Nährboden hergestellt, den ich dann

durch Aufkochen wiederum verflüssigt, mit Gartenerde geimpft und in Petri-Schalen gegossen habe. Die so hergestellten Platten waren durch das ungelöste präzipitierte Calciumkarbonat weiß gefärbt und undurchsichtig. Nach 3—4 Tagen sah man an einzelnen Stellen die Kreide schwinden. Dort bildeten sich aufgehellte Bezirke, die anfangs hirsekorn- bis stecknadelkopfgroß waren und sich nach 1—2 Tagen teilweise bis zur Linsengröße ausdehnten. Der Nährboden war an diesen Stellen vom Boden der Glasschale abgehoben, so daß zwischen beiden ein kleiner Hohlraum bestand. An der Decke dieses Hohlraumes, die vom Agar selbst gebildet war, saß gewöhnlich eine etwa stecknadelkopfgroße, runde Kolonie. Diese hatte offenbar Gas entwickelt, das den Agar von seiner Unterlage emporgehoben hatte.

Die von einer solchen Kolonie stammenden, unter dem Mikroskop beobachteten Bakterien verhielten sich morphologisch ebenso, wie die im flüssigen Nährboden kultivierten (Fig. 1). Auffallend war nur, daß auch hier neben den Clostridien, die auf Jodzusatz die typische Granulosereaktion gaben, große, plumpe oder kleinere Stäbchenformen vorhanden waren, die mit Jod entweder nur teilweise, oder überhaupt nicht gefärbt wurden.

Oberflächenkolonien mit den erwähnten Bakterienformen habe ich bei diesem Verfahren niemals bekommen. Daher schien mir die Annahme berechtigt, daß die gezüchteten Bakterien nur Anaerobier sein könnten.

Nachdem ich soweit gekommen war, ging ich dazu über, mit Gärungstühen ebenso zu verfahren, wie mit der Gartenerde. Mit zehn verschiedenen Stuhlproben habe ich derartige Anreicherungsversuche angestellt und Plattenkulturen angelegt. Davon sind drei hinsichtlich der Anreicherung positiv ausgefallen, bei der Weiterzüchtung auf festen Nährböden habe ich aber nur von zweien isolierte Stämme bekommen, die granulosehaltige Exemplare aufwiesen.

Diese drei Versuche verliefen folgendermaßen:

1) Stuhl I, der mikroskopisch reichlich jodpositive Stäbchen und ovale Körperchen enthielt, wurde am 18. Aug. 1907 in Glukose- und Serumalbumin-Nährlösung angereichert. Am 21. Aug. waren im hängenden Tropfen viele mit Jod sich dunkelblau bis schwarz färbende Bakterien zu erkennen, die im ganzen etwas kleiner aussahen, als die aus Gartenerde gezüchteten und teils Spindel-, teils Zigarrenspitzenformen aufwiesen. Bei letzteren hatte das dickere Ende keine Farbe angenommen, so daß das betreffende Bakterium einer angebrannten und teilweise veraschten Zigarre ähnlich schien. Am 23. Aug. wurden von dieser Anreicherungsflüssigkeit einige Tropfen in die zweite Glukose, Calciumkarbonat, Natriumphosphat, Magnesiumsulfat und Chlorkalium enthaltende Nährflüssigkeit gebracht. Hierin erhielten jetzt die ovalen Formen das Uebergewicht über die Stäbchen. Isolierung und Reinzüchtung habe ich zwar auf



Fig. 1. Aus Gartenerde gezüchtet auf Kreideagarplatte und von einer isolierten Kolonie abgeimpft.

Agarplatten, die mit denselben Nährsalzen versetzt waren, versucht, doch ohne Erfolg. Auch mit dem anaëroben Verfahren nach H. Hammerl bin ich nicht zum Ziele gekommen. Weitere Versuche einer Reinzüchtung habe ich aufgegeben.

2) Versuch II ist sowohl bezüglich der Anreicherung der gesuchten Mikroben, als auch bezüglich ihrer Züchtung auf festen Nährböden positiver ausgefallen. Ich habe ihn folgendermaßen angestellt:

Zunächst impfte ich die Anreicherungsflüssigkeit mit mehreren Platinösen des Stuhles. Am 4. Tage nachher waren bei der mikroskopischen Untersuchung granulosehaltige Mikroorganismen in der Nährflüssigkeit zu erkennen. Mit Hilfe des Plattenverfahrens versuchte ich dann, die Keime reinzuzüchten. Nach vielen vergeblichen Bemühungen gelang es mir, durch Auflegen von Glimmerscheiben auf den Nährboden

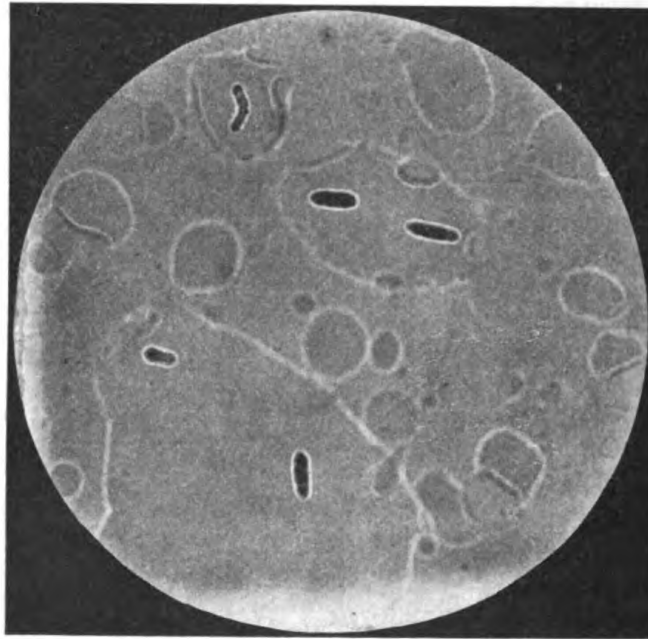


Fig. 2.

unter den Scheiben ein Wachstum von Organismen zu erzielen, die einen deutlichen Geruch nach Buttersäure verbreiteten. Unter den Glimmerscheiben hatte sich Gas in ziemlicher Menge entwickelt. Auch im Nährboden selbst hatten sich ausgedehnte Blasen gebildet. Der Rand der Gasblasen war vielfach trübe infiltriert. Manchmal hatte sich eine trübe Flüssigkeit über den ganzen Teil des Nährbodens ausgebreitet, der von der Glimmerscheibe bedeckt war. Der dadurch hervorgerufene trübe Ueberzug über dem Nährboden ließ isolierte Kolonien nur schwer oder manchmal gar nicht erkennen. Brachte man eine stark getrübe Stelle des Nährbodens mit der Platte unter das Mikroskop und betrachtete diese bei mittelstarker Vergrößerung, so konnte man deutlich kleine Stäbchen über dem Nährboden verstreut liegen sehen. Bei starker Vergrößerung erwiesen sich diese Stäbchen als auffallend lange und plumpe Gebilde (Fig. 2). Einige davon waren an ihren Enden keulenförmig verdickt, andere erschienen mehr in der Mitte oder im Ganzen spindel- oder eiförmig angeschwollen. Mit Jod färbten sie sich tief

dunkelbraun bis schwarz. Im hohen Zuckeragarstich bildeten sie stark Gas. In 5-proz. Stärkekleisteragar war die Gasbildung deutlich geringer, in 5-proz. Dextrinagar dagegen ebenso stark wie im Zuckeragar. Bouillon, mit Dextrose und Dextrin versetzt, zeigte dieselben Erscheinungen. Auch bei Zusatz von löslichem Agar (Hemicellulose) zur Bouillon war Gasbildung sichtbar, was sich wohl dadurch erklären läßt, daß der lösliche Agar nicht absolut zuckerfrei war.

Bezüglich der Morphologie der so gezüchteten Bakterien ist zu bemerken, daß ihre Größe und Form sehr verschieden waren, daß sie Clostridien bildeten und nie Eigenbewegung zeigten. Ihr Wachstum auf anderen Nährböden, insbesondere auf Zuckergelatine, die sich nach den Angaben von Grassberger und Schattenfroh für die Clostridien- und Granulosebildung besonders gut eignet, und ihre chemische



Fig. 3.

Wirkungsweise konnten leider nicht mehr geprüft werden. Jedenfalls kann aber schon gesagt werden, daß sie, wenn sie reichlich zur Entwicklung gekommen waren, einen markanten Geruch nach Buttersäure verbreiteten.

3) Aus einem dritten, ebenfalls typischen Gärungsstuhle, in dem mikroskopisch reichlich jodpositive Mikroben vorhanden waren, ist es mir ebenfalls mit Hilfe des Anreicherungsverfahrens und der Weiterzucht auf kohlehydrathaltigen, mit Glimmerscheiben bedeckten Nährböden gelungen, Granulobakterien in Reinkultur zu erhalten. Die in Zuckeragarplatten gewachsenen Kolonien lagen meist in der Tiefe, vereinzelt hatten sie auch rundliche Vertiefungen auf der Oberfläche des Agars gebildet in der Weise, daß das von ihnen erzeugte Gas sich zwischen Glimmerscheibe und Nährboden gesetzt und, um sich selbst Platz zu verschaffen, an der betreffenden Stelle den weichen Agar eingedrückt hatte. Vielfach war die seitliche Wandung dieser Vertiefungen rundum von einer Bakterienkolonie besetzt.

Die dort gewachsenen Mikroben waren morphologisch wieder sehr variabel, ähnlich wie die im Versuch 2 beschriebenen Exemplare (Fig. 3). Mit Jod nahmen die meisten die bekannte tief dunkelbraune bis schwarze Farbe an. Den eigentlichen blauschwarzen Farbenton der Granulose habe ich bei ihnen eigentümlicherweise nicht beobachten können. Meiner Ansicht nach trägt der Nährboden die Schuld daran. Das Wachstum auf Zuckergelatine, die ja nach Grassberger und Schattenfroh für die Granulosebildung der günstigste Nährboden sein soll, habe ich auch in diesem Falle leider nicht prüfen können. Was die Beweglichkeit der Bakterien angeht, so ist dieselbe von mir nur bei den Formen beobachtet worden, die keine Clostridien und keine Granulose gebildet hatten. Die Gasentwicklung war in den zucker-, dextrin- oder hemicellulosehaltigen Agar- oder Bouillonährböden ebenso ausgesprochen wie im Versuch 2. Auch hierbei machte sich ein deutlicher Buttersäuregeruch bemerkbar.

Wenden wir uns nun zu der Frage, ob die von mir gezüchteten Bakterien identisch sind mit den in den Gärungsstühlen so reichlich vorkommenden, mit Jod dunkelblau gefärbten „hefeartigen“ Zellen. Dabei ist zunächst festzustellen, daß meine Bakterien zu der Klasse der Granulobakterien gehören und Buttersäure erzeugen. Kulturell haben sie die größte Aehnlichkeit mit dem von Grassberger und Schattenfroh beschriebenen *Bacillus granulobutyricus mobilis*, wenn auch ihre Beweglichkeit nicht immer so ausgesprochen war, wie sie die beiden Autoren bei ihrem beweglichen *Granulobacillus* beobachtet hatten. Die Kolonieenbildung auf Platten, die Gasentwicklung, der deutliche Buttersäuregeruch, die Clostridienbildung mit Granuloseablagerung und die Beweglichkeit, die ich immerhin beim ersten und dritten Versuche gesehen habe, sprechen jedenfalls für die Identität. Auffallend ist, daß bei dem massenhaften Vorhandensein der jodpositiven Zellen in den untersuchten Stühlen es nur 3mal gelungen ist, Granulobakterien auf kulturellem Wege zu erhalten. Die Schuld liegt vielleicht zum Teil daran, daß die Züchtung keine streng anaërobe war, indem ich mich nur mit Tiefenkolonien und Auflegen von Glimmerscheiben auf die Nährböden zur Erzielung einer Anaërobiose begnügte, während Grassberger und Schattenfroh ein sehr streng anaërobes Verfahren angewandt und infolgedessen auch bessere Resultate erzielt haben.

Hinsichtlich der Morphologie darf man keine allzu strengen Artmerkmale aufstellen. Alle Autoren sind darin einig, daß weitgehende Wachstumsverschiedenheiten vorkommen. Sowohl Grassberger und Schattenfroh, als auch Passini, der auf aëroben Wege granulosehaltige Bakterien züchtete, haben Clostridien und Stäbchen, ja bis zu langen Fäden ausgewachsene Formen in ihren Kulturen nebeneinander gesehen. Eine Trennung dieser verschiedenen Formen, vor allem der Stäbchen und Fäden, von den ovalen Clostridien ist mir bei wiederholten Versuchen mit Plattenkulturen nie gelungen. Was speziell die Clostridien, die so typisch für die Faeces sind, betrifft, so habe ich sie zwar verhältnismäßig selten, aber doch so charakteristisch gesehen, daß mir ihre Identität mit den Faecesformen sicher zu sein schien. Passini und Grassberger sind der Ansicht, daß alle Granulobakterien gelegentlich die Clostridienformen annehmen, und erblicken darin eine Art Involution resp. Degeneration der Bakterien. Wenn das richtig ist und diese Formen ihre Lebenskraft eingebüßt haben, was ja bekanntlich bei einem großen Teile der in den Faeces vorhandenen Bak-

terien der Fall sein soll, so wird es verständlich, warum unter dem Mikroskop im hängenden Tropfen eine Vermehrung der Clostridien bzw. ein Wachstum derselben niemals sichtbar wurde, ebenso warum trotz der großen Menge der in den Stuhlentleerungen mikroskopisch sichtbaren ovalen Zellen die Züchtungsversuche doch nur in 3 Fällen positiv waren. Einige Forscher gehen noch weiter und sehen schon in der Ansammlung von Granulose ein Zeichen der Involution. Die Granulosebildung setzt nämlich nur unter bestimmten Bedingungen ein. Solange die Bakterien lebenskräftig sind, bauen sie das Kohlehydrat ab und speichern keine Granulose auf. Das geschieht erst, wenn die Vitalität nachläßt. Für diese Anschauung spricht, daß die Granulose nicht einfach der Stärke oder einem anderen bekannten Kohlehydrat gleichzusetzen ist. Sie stellt vielmehr eine noch nicht näher bekannte Abart dar. Die Sporen, deren Vitalität jedenfalls am größten ist, sind fast immer frei von Granulose. Nur dann, wenn diese im Uebermaß gebildet wurde, konnten sie Grassberger und Schattenfroh mit Jod auch im Zentrum der Sporen als dunklen Punkt nachweisen. Auffallend bleibt immerhin, daß in den Faecespräparaten eigentlich nur die Clostridien erscheinen. Neben ihnen kommen zwar vereinzelt granulosehaltige Stäbchen vor, sie treten aber an Zahl stets erheblich zurück. Mit den wiederholt erwähnten Streptothrix-artigen Fäden, die ebenfalls mit Jod blau gefärbt werden, scheinen die Amylobakterien nichts zu tun zu haben, wenn auch in den Kulturen immer lange, dünne Stäbchen vorkommen. Die Streptothrix-Formen sind aber noch wesentlich länger und dünner und, wenn sie in den Faeces erscheinen, füllen sie das ganze Präparat aus ohne Uebergänge zu den Clostridien. Die Frage, um welche Arten von Mikroorganismen es sich bei ihnen handelt, ist ihrer Lösung auch durch meine Versuche nicht näher gerückt, doch scheint es mir wahrscheinlich, daß eine Verwandtschaft zwischen ihnen und den ovalen Formen nicht besteht.

Daß die in Gärungsstühlen so auffallend häufig auftretenden ovalen, sowie Zitronen- und Spindelformen mit den Grassberger- und Schattenfroschen Granulobacillen und den von mir gezüchteten identisch sind, habe ich also mit Sicherheit durch diese Versuche auch nicht zu entscheiden vermocht, doch sprechen die erzielten Resultate sehr für die Richtigkeit der nur auf mikroskopischen Studien aufgebauten Vermutung Nothnagels, daß die granulosehaltigen Faecesclostridien zu der Klasse der Buttersäurebildner gehören und mit dem *Clostridium Prazmowski* identisch sind.

Literatur.

- 1) Nothnagel, Beiträge zur Physiologie und Pathologie des Darmes. Berlin 1884.
- 2) Schmidt u. Strasburger, Die Faeces des Menschen. Berlin 1905.
- 3) Prazmowski, Untersuchungen über die Entwicklung und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Leipzig 1880.
- 4) Grassberger u. Schattenfroh, Ueber Buttersäuregärung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVII, XLII, XLIII.)
- 5) Passini, Ueber granulosebildende Darmbakterien. (Wien. klin. Wochenschr. 1902.)
- 6) Beijerinck, Ueber die Butylalkoholgärung und das Butylferment. (Verh. akad. Wissensch. 2. Sekt. 1893. 1. deel.)
- 7) Meyer, H., Ueber intestinale Gärungsdyspepsie. (Dtsches Arch. f. klin. Med. 1908. Heft 1.)
- 8) v. Jaksch, Klinische Diagnostik innerer Krankheiten. Leipzig u. Wien 1907.

Nachdruck verboten.

Die Aetiologie des Keuchhustens. Experimenteller Keuchhusten.

[Aus der Abteilung für allgemeine Pathologie des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin (Vorstand: Prof. W. W. Podwysotszki).]

Von **W. N. Klimentko,**

Privatdozent an der Kaiserlichen militärmedizinischen Akademie.

An die Lösung der Frage nach der Aetiologie des Keuchhustens ist schon viel Zeit und Mühe gewendet worden. Eine Zeitlang schien es, als ob die Aufgabe gelöst und der Keuchhustenerreger gefunden wäre, aber bald darauf folgte eine bittere Enttäuschung. Ich habe nicht die Absicht, die Geschichte aller in dieser Richtung gemachten Versuche genau zu beschreiben, sondern will nur kurz die wichtigsten und interessantesten Arbeiten hervorheben:

Der erste, der es versuchte, mit Hilfe des bakteriologischen Untersuchungsverfahrens die Aetiologie des Keuchhustens zu erklären, war M. J. Afanassieff (1) (1887). Er isolierte aus dem Auswurf der Keuchhustenkranken im Stadium der Krampfanfälle einen kurzen, sporenbildenden (endosporengen), beweglichen Bacillus, der sich mit allen Anilinfarben gut färben ließ. Dieser Bacillus wuchs vorzüglich auf allen gewöhnlichen, in den Laboratorien gebräuchlichen Nährböden. Prof. Afanassieff machte 18 Versuche, 12 an jungen Hunden und 6 an jungen Kaninchen. Die Kultur seines Stäbchens injizierte er entweder in die Luftröhre, indem er deren Wand durchstach, oder direkt in die Lunge. Seine Versuche teilt er in drei Gruppen: 1) in solche, wo die Tiere zweifellos krank waren, aber nachher gesund wurden, 2) wo die Tiere am 2. oder 3. Tage nach der Infektion starben, und schließlich 3) in solche, wo die Tiere lange krank waren und zuletzt doch eingingen. Bei allen Versuchen von Prof. Afanassieff war, mit Ausnahme eines einzigen, die Temperatur bei den Tieren schon in den ersten 24 Stunden nach der Infektion stark erhöht (39,6°, 40° usw.), im letzten Falle dagegen erst am 6. Tage. Das Fieber hielt zuweilen 15 Tage lang an. Nach den angeführten Protokollen zu urteilen, entwickelte sich bei 17, den Versuchen unterworfenen Tieren schon gegen Ende des ersten Tages — nur bei einem am 6. Tage nach der Infektion — eine Bronchopneumonie, außerdem wurde bei allen Bronchitis beobachtet. Während der Krankheit husteten und niesten die Tiere, zuweilen beobachtete man bei ihnen eine Augenbindehautentzündung und Ausfluß aus der Nase. Die längste Dauer der Krankheit, vom Moment der Infektion an gerechnet, wurde bei den Tieren der ersten Gruppe, wie es scheint, festgestellt — in einem Falle 28 Tage — eine mittlere bei den Tieren der dritten Gruppe — 15 Tage — und eine sehr unbedeutende bei den Tieren der zweiten Gruppe, 2—3 Tage. Die Sektion ergab immer Bronchopneumonie und Bronchitis, zuweilen — jedoch augenscheinlich selten — Tracheitis und niemals Laryngitis. Seinen Bacillus fand Prof. Afanassieff immer im Schleim der Bronchien und in den bronchopneumonischen Herden, seltener nur im Schleim der Luftröhre, des Kehlkopfs und der Nasenhöhle. Außerdem teilt Afanassieff mit, daß D. G. Ssemtschenko und die Aerztin N. K. Schulz bei 5 an Keuchhusten gestorbenen Kranken aus den bronchopneumonischen Herden das genannte Bakterium isolierten. Auf Grund all dieser Fakta kommt Afanassieff zu dem Schluß, daß der von ihm gefundene Bacillus tatsächlich der Erreger des Keuchhustens sei und eine keuchhustenartige Erkrankung bei Tieren hervorrufe. Leider haben die weiteren Untersuchungen diese Schlußfolgerung nicht bestätigt.

Die später folgenden Arbeiten über die Bakteriologie des Keuchhustens kann man in drei Gruppen teilen: Zur 1. Gruppe müssen die Arbeiten von Ritter (2) (1892) und Buttermilch (3) (1899), die einen Diplococcus aus dem Auswurf Keuchhustenkranker isolierten, gerechnet werden. Zur 2. Gruppe gehören die Arbeiten von Deichler (4) (1886 u. 1889), von M. G. Kurloff (5) (1896) und Behla (6) (1898), die den Keuchhustenerreger in Protozoen, welche von ihnen im Auswurf der Keuchhustenkranken gefunden worden waren, sehen wollten. Zu der 3. und umfangreichsten Gruppe muß man die Arbeiten aller Forscher rechnen, die bipolare Bacillen als den Erreger der Krankheit erkannten. Hierher rechne ich: Spengler (7) (1897), Czaplowski u. Hensel (8) (1897), Koplik (9) (1897), Zusch (10) (1898), Vincenzi (11) (1898), Elmassian (12) (1899), Luzzato (13) (1900), Arnheim (14) (1900), Jochmann u. Krause (15)

(1901), **Leuriaux** (16) (1902), **Reyher** (17) (1903) und **Manicatide** (18) (1903). Manche von den genannten Autoren isolierten augenscheinlich bei den Kranken denselben Bacillus (z. B. **Czaplewski** u. **Hensel** und **Zusch**), andere zweifellos verschiedene Bakterien (z. B. **Jochmann** u. **Krause**, **Manicatide** u. A.). Wenn man die Arbeiten der genannten Autoren prüft und zusammenstellt, kommt man meiner Ansicht nach zu dem wichtigen Schluß, daß alle diese Autoren im Auswurf der Keuchhustenkranken einen kleinen bipolaren Bacillus sahen, den zu züchten ihnen aber nicht gelang.

In dieser Lage befand sich die Frage der Aetiologie des Keuchhustens bis zum Jahre 1906, wo die Arbeit zweier belgischer Gelehrten, **Bordet** u. **Gengou** (19), erschien, die Hoffnung auf eine endgültige Lösung gab. In dieser Arbeit teilten die Forscher mit, daß sie aus dem Auswurf der Keuchhustenkranken in der Katarrhperiode und in der ersten Woche der Krampfperiode der Krankheit einen kleinen, unbeweglichen, bipolaren Bacillus isoliert hätten. Dieses Stäbchen nahmen sie als wirklichen Erreger des Keuchhustens hauptsächlich auf Grund dessen an, weil das Blutserum der von der Krankheit Genesenden in allen von ihnen untersuchten Fällen einen für ihren Bacillus spezifischen Zwischenkörper enthielt (Ambozeptor, Substance sensibilisatrice). Die Anwesenheit dieses Körpers kann man bekannterweise mit Hilfe der Komplementablenkung [Bordet-Gengousche Reaktion (20)] beweisen, die im Jahre 1901 von ihnen beschrieben worden war.

In Anbetracht der Wichtigkeit der Bordet-Gengouschen Mitteilung (19) unternahm ich, von Prof. W. W. Podwysotzki dazu aufgefordert, eine Kontrolluntersuchung ihrer Arbeit.

Die Methodik, die ich anwendete, um das Bordet-Gengousche Stäbchen aus dem Auswurf der Keuchhustenkranken zu isolieren, war mit derjenigen dieser Forscher identisch, nur mit dem Unterschiede, daß ich den Auswurf nicht auf schrägen Blutagar, sondern in Petrische, mit demselben Agar beschickte Schalen impfte. Als Nährboden diente der Bordet-Gengousche Blutagar, der von ihnen speziell zur Züchtung ihres Bacillus empfohlen wird. Anstatt des von ihnen vorgeschlagenen defibrinierten Kaninchen- oder Menschenblutes benutzte ich aus ökonomischen Rücksichten defibriniertes Hundeblood. Alle Hinweise auf die Bereitung des Bordet-Gengouschen Nährbodens (19) finden sich in ihrer Arbeit.

Den Anordnungen von Bordet und Gengou folgend, suchte ich Kranke in einem möglichst frischen Stadium des Keuchhustens, d. h. solche, die sich entweder in der katarrhalischen Periode oder in der 1. Woche der Krampfperiode befanden. Diese Fälle kommen leider selten vor, und ich hatte nur 5 solche Kranke zu meiner Verfügung: 4 Kranke aus der 1. Woche und 1 aus der 2. Woche der Krampfperiode dieser Krankheit. Aus dem Auswurf aller dieser Kranken wurden Bordet-Gengousche Stäbchen gezüchtet. Einer der Kranken starb in der 3. Woche der Krampfperiode an einer rechtsseitigen katarrhalischen Pneumonie und eitrig-fibrinösen Pleuritis. Aus den katarrhalischen Herden der Lunge und aus dem rechten Vorhof des Herzens wurde eine Reinkultur des Bordet-Gengouschen Mikroorganismus isoliert.

Der Keuchhustenbacillus von Bordet und Gengou ist ein kleines Stäbchen mit abgerundeten Enden. Er ist unbeweglich. Mit gewöhnlichen Anilinfarben läßt er sich ziemlich gut färben, aber am besten ist es, zu seiner Färbung Kühnes Karbolmethylenblau oder Karboltoluidinblau zu verwenden. Bei einer Färbung mit diesen Farben ($\frac{1}{2}$ —2 Min. ohne Erwärmen) färbt sich das Bordet-Gengousche Stäbchen ungleich, die Peripherie und die Enden erscheinen stärker gefärbt als die Mitte, d. h. es liegt hier eine Polfärbung des Bacillus vor. Bei dieser Art der Färbung gleicht der Keuchhustenbacillus dem Pestbacillus, er ist nur etwas kleiner und färbt sich schwächer als der letztere. Be-

kanntlich erscheint der Pestbacillus besonders bei einer Färbung mit Methylenblau als ein bipolarer.

Diese verhältnismäßig geringe Färbbarkeit mit karbolisierten blauen Farbstoffen und seine Bipolarität erscheinen als charakteristische morphologische Eigentümlichkeiten des Keuchhustenbacillus und können sogar bis zu einem gewissen Grade als seine unterscheidenden Merkmale im Vergleich zu anderen Bacillen gelten.

Das Bordet-Gengou'sche Stäbchen ist nicht säurebeständig, nach Gram färbt es sich nicht. Sporen bildet es nicht, Geißeln hat es nicht. Die für seine Entwicklung günstigste Temperatur ist $+36-38^{\circ}\text{C}$, doch wächst es, obgleich langsam, auch bei einer Temperatur von $+20-22^{\circ}\text{C}$.

Es ist ein Aërobe.

Den Keuchhustenbacillus aus dem Auswurf der Kranken zu isolieren, gelingt fürs erste nur auf dem oben genannten Nährboden. Auf diesem Nährboden werden die Kolonien gewöhnlich nach 2-tägigem Verweilen in einem Thermostaten bei $+37-38^{\circ}\text{C}$ sichtbar. Die Kolonien erscheinen dann in Gestalt von sehr kleinen, dem unbewaffneten Auge zuweilen kaum bemerkbaren, stark gewölbten, runden, glänzenden Erhöhungen von gräulicher Farbe. Wenn man die Petrische Schale nach 2-tägigem Verbleiben in einem Thermostaten in eine feuchte Kammer stellt und letztere im Thermostaten läßt, so können die Kolonien zuweilen die Größe eines Mohnkornes erreichen. Bei dem ersten Ueberimpfen des Bordet-Gengou'schen Stäbchens auf Strichagar ist das Wachstum desselben nach 24-stündigem Verweilen im Thermostaten kaum bemerkbar, nach 2 Tagen jedoch wächst es ziemlich üppig. Je öfter man den Bordet-Gengou'schen Bacillus von einem Blutagar auf den anderen weiterimpft, desto üppiger ist das Wachstum der Kultur. Die äußere Erscheinung der 2-tägigen Kultur auf einem Kaninchenblutnährboden ist folgende: Ein sich von der Oberfläche abhebender Belag von weißer Farbe; auf einem mit Hundeblood bereiteten Nährboden ist der Belag grauweiß, und da das Keuchhustenstäbchen hämolytisch ist, wird ein Teil des Nährbodens, dem Wachstum des Stäbchens entsprechend, durchsichtig, was man beobachten kann, wenn man den Nährboden gegen das Licht hält; am meisten ist das natürlich dort bemerkbar, wo der Nährboden eine dünne Schicht bildet.

Das Keuchhustenstäbchen von Bordet-Gengou kann augenscheinlich sofort nach seiner Isolierung aus dem Auswurf auch auf ascitischen 1-proz. Glycerinagar (ascitische Flüssigkeit und 1-proz. Glycerinagar zu gleichen Teilen) in Gestalt eines glänzenden weißlichen Belages wachsen. Es entwickelt sich auch auf 1-proz. Glycerinserumagar (Blutserum eines beliebigen Tieres, gleichviel ob sterilisiert oder nicht, und 1-proz. Glycerinagar zu gleichen Teilen). Die äußere Erscheinung der Kultur ist auf dem genannten Nährboden dieselbe wie auf Blutagar. Es wächst auch auf M. M. Nastjukoffs (21) Eigelbkoagulum in Gestalt eines weißlichen glänzenden Belages, nur nicht sehr üppig. Es gelingt nur mit Mühe, sein Wachstum auf diesem Nährboden zu unterhalten. Es wächst noch auf Ascites-, Serum-, Blut- und 1-proz. Glycerinbouillon (ascitische Flüssigkeit, Blutserum oder defibriniertes Blut, 1-proz. Glycerinbouillon zu gleichen Teilen) und auf lackfarbenem Blut (1 Teil defibriniertes Blut und 9 Teile destilliertes Wasser). Die Höhe aller flüssigen Nährböden darf in Anbetracht des ausgesprochenen Aërobentums des Stäbchens 1 cm nicht übersteigen. Auf den beiden ersten Nährböden wächst es anfangs

in Gestalt eines Belags auf dem Glase an der Oberfläche der Flüssigkeit, und nachher auch auf dem Boden des Gefäßes. Nach 2—3 Tagen wird der Nährboden etwas trübe. Blutbouillon und lackfarbenes Blut werden unter dem Einfluß der Entwicklung des Mikroorganismus dunkel und braun. Das Wachstum des Stäbchens in den letzten 2 Nährböden beginnt an den Rändern des Gefäßes und geht dann erst auf den Boden desselben über. Nachdem der Mikroorganismus sich an das Wachstum auf den verschiedenen genannten Nährböden gewöhnt hat, gewinnt es die Fähigkeit, sich auch auf den in Laboratorien gebräuchlichen Nährböden zu entwickeln. Die verschiedenen Kulturen gewinnen diese Fähigkeit in verschiedenem Zeitraum, nach $1\frac{1}{2}$ Monaten, 4 Monaten und sogar später. 3 von den 5 der von mir gezüchteten Kulturen wachsen jetzt gut auf den gewöhnlichen in Laboratorien verwendeten Nährböden und sogar auf Schräggelatine. Auf gewöhnlichem 1-, 2- und 3-proz. Schrägglyzerinagar von schwach alkalischer Reaktion entwickelt sich das Stäbchen wie auf ascitischem Agar. Auf Schräggelatine wächst es wie auf den genannten Nährböden, nur viel schwächer. Die Gelatine verflüssigt es nicht. In gewöhnlicher Bouillon wächst es, indem es sie leicht trübt und auf dem Boden einen schleimigen Niederschlag bildet. Milch koaguliert es nicht; ihre äußere Erscheinung bleibt unverändert. Auf Kartoffeln wächst es in Gestalt eines schmierigen Belags von brauner Farbe.

Die Oberflächenkolonien auf Agar sind ziemlich charakteristisch. Bei auffallendem Licht erscheinen sie nach 24—36 Stunden dem unbewaffneten Auge als glänzende opaleszierende Halbkugeln, die an Taupfropfen erinnern, bei durchscheinendem Licht sind sie vollkommen durchsichtig. Je älter die Kolonien, um so trüber sind sie. Die Tiefenkolonien bieten dem unbewaffneten Auge nichts Bemerkenswertes dar. Unter dem Mikroskop sind weder die Oberflächen- noch die Tiefenkolonien charakteristisch.

Das Bordet-Gengousche Stäbchen bildet, wenn es sich an das Wachsen auf gewöhnlichen Nährböden gewöhnt hat, auf einem Blutnährboden größere Kolonien als früher, die der äußeren Erscheinung und ihren Eigenschaften nach den Oberflächenkolonien auf Agar sehr ähnlich sind.

Den gewöhnlichen Versuchstieren, Meerschweinchen, Kaninchen und weißen Mäusen ist das Bordet-Gengousche Stäbchen wenig gefährlich: Es gehört eine große Menge Kultur dazu, um sie zu töten ($1\frac{1}{2}$ bis 2 Blutagarschräggkulturen, in die Bauchhöhle eingeführt, für die ersten Tiere, 3—4 Kulturen für die zweiten und $\frac{1}{4}$ für die dritten). Alle genannten Tiere sterben nach 1—2 Tagen mit Erscheinungen einer exsudativ-serösen oder serös-blutigen Peritonitis. Zuweilen beobachtet man an ihnen ebensolche Exsudate in den Höhlen der Pleuren und des Herzbeutels. In den meisten Fällen ist das Exsudat vollkommen steril und selten nur enthält es Bordet-Gengousche Stäbchen in sehr geringer Anzahl. Wenn wir den Tieren größere Quantitäten bei 60° C abgetöteter Kulturen injizieren, so erzielen wir dieselben Resultate wie mit lebenden Bakterien. Filtrate der Kulturen des Bordet-Gengouschen Stäbchens, in die Bauchhöhle der genannten Tiere eingeführt, sind denselben ganz unschädlich. Folglich ist es sehr wahrscheinlich, daß das Stäbchen, wenigstens in den flüssigen Nährböden, in denen es gezüchtet wird, keine löslichen Toxine bildet. Man muß deshalb fürs erste annehmen, daß dieses Bakterium nur Endotoxine entwickelt.

Wenn man einen geringen Teil einer Blutagarkultur des Bordet-Gengouschen Stäbchens in die vordere Augenkammer eines Kaninchens einführt, so bildet sich bei demselben eine Trübung der Hornhaut und eine starke Bindehautentzündung. Eine merkbare Vergrößerung des injizierten Bakterienquantums ist nicht zu bemerken.

Mit dem Blutserum eines vom Keuchhusten Genesenen (15—30 Tage nach Beendigung der Krampfperiode) und den Kulturen des Bordet-Gengouschen Stäbchens gelingt die Reaktion dieser Autoren, d. h. die sogenannte Reaktion der Komplementablenkung. Diese Reaktion wird bekanntlich in der gegenwärtigen Zeit von vielen für spezifisch erklärt. Das positive Resultat der Reaktion beweist, daß im Organismus des Kranken und des Genesenden sich dem die Krankheit hervorruhenden Mikroorganismus spezifische Antikörper entwickelt haben.

Ich halte es für angemessen, hier folgendes zu bemerken: Ein Teil meiner Kulturen wächst augenblicklich auch auf den gewöhnlichen Laboratoriumsnährböden. Dieser Umstand widerspricht scheinbar meiner Behauptung, daß der von mir isolierte Bacillus mit dem Bordet-Gengouschen Stäbchen identisch ist. Dieser scheinbare Widerspruch läßt sich übrigens sehr einfach erklären: Man denke nur daran, daß z. B. der Tuberkelbacillus auf einigen Nährböden (wie Kartoffeln, Glycerinagar), erst dann wächst, wenn er schon an das Wachsen auf anderen Nährböden (koaguliertes Glycerinserum) gewöhnt ist. Es ist natürlich, daß manche Kulturen sich schneller, andere langsamer, an künstliche Lebensbedingungen gewöhnen, darum wachsen die einen früher, die anderen später auf den Nährböden, auf denen die Tuberkelbacillen zu wachsen befähigt sind. Es ist möglich, daß Bordet und Gengou es nicht versucht haben, ihre Kulturen so systematisch an die gebräuchlichen Nährböden zu gewöhnen, wie ich es getan habe.

Bevor ich zu dem experimentellen Teil meiner Arbeit übergehe, werde ich mir erlauben, einige Worte über die allgemeine Zahl der von mir auf den Bordet-Gengouschen Keuchhustenbacillus untersuchten Personen zu sagen. Bis zur gegenwärtigen Zeit habe ich 76 Keuchhustenranke, 31 Kinder, die an akutem Rachenkatarrh, Grippe und Bronchitis litten, und 50 gesunde Brustkinder untersucht. Die Keuchhustendiagnose wurde in allen Fällen von erfahrenen Kinderärzten und nicht von mir gestellt.

Bei der 2. und 3. Gruppe der Kinder habe ich keimnal weder aus dem Rachenschleim noch aus dem Auswurf das Bordet-Gengousche Stäbchen isoliert und auch bei der bakteriologischen Untersuchung nichts Ähnliches gefunden. Bei der 1. Gruppe jedoch isolierte ich das Stäbchen, wie schon oben erwähnt, in 5 frischen Fällen. Bakterioskopisch fand ich den Bacillus (d. h. ein Stäbchen, das sich vollkommen charakteristisch für den Bordet-Gengouschen Mikroorganismus färben ließ), in 64 Fällen, d. h. bei 80 Proz. aller von mir untersuchten Fälle. In den 5 Keuchhustenfällen, in denen das Bordet-Gengousche Stäbchen isoliert wurde, war es unter anderen Mikroorganismen auf den Auswurfstrichpräparaten vorherrschend, während es sich in den übrigen Fällen in nur geringer Anzahl vorfand.

Es ist interessant, hier die folgenden zwei Umstände hervorzuheben: 1) unter 76 Keuchhustenfällen waren nur 5 frische (1. und 2. Woche der Krampfperiode) und 71 veraltete (4., 5., 6. und 7. Woche), 2) nur dort, wo viele sich mit Karboltoluidinblau schwach färbende bipolare Stäbchen nachgewiesen werden konnten, gelang es, den Bordet-Gengouschen

Bacillus zu isolieren. All dieses stimmt mit den Mitteilungen von Bordet und Gengou, daß es nur in frischen Fällen möglich ist, ihren Bacillus zu isolieren, vollkommen überein (in der katarrhalischen Periode und in der 1. Woche der Krampfperiode der Krankheit). Die Uebereinstimmung der Ergebnisse meiner Kontrolluntersuchung mit den von Bordet und Gengou mitgeteilten Tatsachen hat eine große Bedeutung in der Beziehung, daß sie die unbedingte Richtigkeit der Beobachtungen dieser Forscher bestätigt und ihre Ansicht, daß der von ihnen gefundene Bacillus wirklich der Erreger des Keuchhustens ist, befestigt.

Da ich mit meinen Untersuchungen dieselben Resultate erzielte, wie Bordet und Gengou, so erachtete ich meine Aufgabe für beendet und strebte nicht weiter an, den Bordet-Gengouschen Bacillus in möglichst vielen Keuchhustenfällen zu isolieren, sondern machte den Versuch, bei Tieren auf experimentellem Wege Keuchhusten hervorzurufen.

Meine ersten Versuche in dieser Richtung mißlingen. Kleine, saugende Meerschweinchen und junge Kaninchen erwiesen sich dem Keuchhusten gegenüber als immun.

Die in einer physiologischen Kochsalzlösung aufgeschwemmten Kulturen des Bordet-Gengouschen Stäbchens wurde den einen wie den anderen mit Hilfe der Pravazschen Spitze in die Luftröhre injiziert, wobei deren Vorderwand zwischen den Knorpelringen durchstoßen wurde. Bei Kaninchen kann man dieses mit Leichtigkeit machen, ohne die Haut zu zerschneiden, da die Luftröhre nahe der Oberfläche liegt, bei den Meerschweinchen jedoch mußte man die Haut und das darunter liegende Fettgewebe zerschneiden, um an die Luftröhre zu gelangen. Fast alle anderen dem Versuch unterworfenen Tiere wurden infiziert, indem man ihnen in die Luftröhre durch den Kehlkopf eine 2-tägige, in einer physiologischen Kochsalzlösung aufgeschwemmte Keuchhustenkultur, die entweder auf Bordet-Gengouschem Blutagar oder auf gewöhnlichem Agar gezüchtet war, einspritzte. Die Aufschwemmung wurde mittels der Fränkelschen Kehlkopfspritze injiziert. Dank diesem Verfahren wurden den Tieren keine Verletzungen beigebracht. Nur in seltenen Fällen wurden sie durch die Einführung der Aufschwemmung in die Nasenhöhle infiziert.

Ein 3 Monate altes Lamm und ein 2 Monate altes Ferkel, die zu dem Versuch gebraucht wurden, erwiesen sich für den Keuchhustenc bacillus nur bedingt empfänglich.

Sie fieberten 2 Tage nach der Injektion (die Temperatur stieg gegen Abend um 1° im Vergleich zur Norm) und bei beiden wurde im Laufe von 3—4 Tagen Durchfall beobachtet. Husten hatte weder das eine noch das andere. Bei beiden wurde eine bedeutende Abmagerung bemerkt und bei dem Ferkel noch ein starkes Zurückbleiben im Wachstum im Vergleich zu einem Kontrollferkel.

Viel erfolgreicher waren meine Versuche an Affen: einem Babuin (*Cynocephalus Babuin*), 2 Makakos (*Macacus cynomolgus*), 2 grünen Meerkatzen (*Cercopithecus sabaceus*) und 2 amerikanischen Affen (wahrscheinlich *Cebus capucinus*). Alle 7 Affen waren ausgewachsen.

5 Affen wurden künstlich infiziert (einer durch die Nasenhöhle und 4 durch die Luftröhre) und 2 infizierten sich selbst von den kranken Nachbarn. Bei allen beobachtete man folgende Erscheinungen: Eine mehr oder weniger erhöhte Temperatur (von 38,9—39,5°), 1mal 24 Stunden,

6mal 2 Tage nach der Infektion, die verschieden lang anhielt, Ausfluß aus der Nase, Augenbindehautentzündung und Durchfall. Bei 6 Affen stellte sich ein bellender Husten ein, ohne die sogenannte „reprise“, der 4—36 Tage anhielt; ein Affe hatte keinen Husten.

Der letzte Affe — ein Babuin (durch die Nasenhöhle infiziert) — starb 6 Tage nach der Infektion an einer akuten, im Anschluß an eine Appendicitis entstandenen Peritonitis. Nach dem Tode wurde weder aus der Nasenhöhle, noch dem Rachenschleim, der Luftröhre und den Bronchen der Bordet-Gengouische Bacillus isoliert.

Der Makako — ein Weibchen — wurde mittels einer in die Luftröhre eingeführten 2-tägigen Schrägkultur infiziert. Die Temperatur stieg 2 Tage nach der Infektion und blieb 3 Tage erhöht. Der Husten trat am 3. Tage nach der Infektion auf und hielt im ganzen 4 Tage an. Rasselgeräusche und Dämpfung in den Lungen waren nicht vorhanden. Am 8. Tage nach der Infektion war er schon ganz gesund und blieb 3 Monate gesund, nach welchem Zeitraum man die Beobachtungen einstellte. Aus dem Nasenschleim wurde am 4. Tage nach der Infektion der Bordet-Gengouische Bacillus isoliert.

Das Makakomännchen, das in demselben Käfig wie das Weibchen saß, wurde absichtlich nicht gleichzeitig infiziert, um zu sehen, ob es auf natürlichem Wege von dem kranken Weibchen angesteckt werden würde. 24 Stunden nachdem dem Weibchen der Bordet-Gengouische Mikroorganismus in die Luftröhre eingeführt worden war, zeigten sich bei dem Männchen alle oben angeführten Symptome außer Husten; den darauffolgenden Tag fing es zu husten an und hustete die 30 Tage, die seine Krankheit währte, bis es starb. Es fieberte die ganze Zeit. Der Typus des Fiebers war ein unregelmäßiger. In den ersten 15 Tagen der Krankheit war das Fieber geringer (die höchste Temperatur in dieser Zeit war 38,8° um 6 Uhr abends) als in den letzten 15 Tagen, wo es am Morgen 39° hatte und um 6 Uhr abends gegen 40°. Das Tier zu perkutieren und zu auskultieren war wegen seiner Wildheit unmöglich. Einmal, am 10. Tage der Krankheit, als es schon stark hustete, gelang es mit Hilfe eines Phonendoskops das Tier zu auskultieren, doch wurde außer einer Rauheit des Atems nichts gefunden. Am 5., 10. und 20. Tage wurde aus dem Nasen- und Rachenschleim der Bordet-Gengouische Bacillus isoliert. Im Auswurf gelang es keinmal, den Tuberkelbacillus zu finden, auf den man des Fiebers wegen Verdacht hatte. Die Sektion ergab bedeutende Veränderungen in den Lungen, die lebhaft an Tuberkeln erinnerten; dieselben Veränderungen fanden sich in der Milz, der Leber und den Nieren.

Im Schleim des Kehlkopfes, der Luftröhre und der Bronchen fand man bakterioskopisch bipolare Stäbchen in ganz unbedeutender Quantität, wie überhaupt in veralteten Keuchhustenfällen. Tuberkelbacillen wurden auch hier nicht gefunden. Trotz der vielen aus dem Schleim des Kehlkopfes, der Luftröhre, der Bronchen, aus dem Lungensaft, aus anderen Organen und dem Blut angelegten Kulturen gelang es nirgends, das Bordet-Gengouische Stäbchen zu isolieren.

Hinsichtlich dieses Falles ein endgültiges Urteil zu fällen, halte ich bis zu einer ausführlichen histologischen Untersuchung für verfrüht, und beschränke mich deshalb auf diese kurzen von mir angeführten Daten.

Bei der Meerkatze — dem Weibchen — das durch die Luftröhre mit einer 2-tägigen Schrägkultur infiziert worden war, verlief die Krankheit ebenso wie bei dem Makakoweibchen. Es war 6 Tage krank, hustete

4 Tage. Aus dem Nasenschleim wurde am 5. Tage der Bordet-Gengousche Bacillus isoliert.

Das Meerkatzenmännchen, das mit dem Weibchen zusammensaß, wurde von demselben angesteckt, hustete 32 Tage und starb. Da die Sektion spät (2 Tage nach dem Tode) vorgenommen wurde, gelang es nicht, aus dem schon stark in Verwesung übergegangenen Kadaver die Ursache des Todes festzustellen. Das Bordet-Gengousche Stäbchen wurde bei Lebzeiten des Affen am 5., 10. und 15. Tage der Krankheit aus dem Nasenschleim isoliert; nach dem Tode jedoch wurde der Bacillus nicht mehr gefunden.

Schließlich wurden noch 2 amerikanische Affen infiziert (je eine 2-tägige Kultur des Keuchhustenbacillus in die Luftröhre). Beide erkrankten 6 Tage nach der Infektion. Das Männchen hustete 5 Tage und wurde gesund. Das Weibchen fieberte am 5. Tage nach der Infektion, an demselben Tage beobachtete man an ihm alle gewöhnlichen Krankheits-symptome außer Husten. Erst am 10. Tage nach der Infektion stellte sich der Husten ein und dauerte 36 Tage, wonach der Affe starb. Die Sektion ergab: einen unbedeutenden akuten Kehlkopfkatarrh, einen Katarrh der Luftröhre und der großen Bronchien und katarrhalisch entzündete Herde in dem oberen Lappen beider Lungen und in dem unteren Lappen der rechten Lunge. Andere pathologisch-anatomische Veränderungen der Organe wurden nicht konstatiert. Als der Affe noch lebte, isolierte man mehrfach aus dem Nasenschleim das Bordet-Gengousche Stäbchen. Nach dem Tode wurde eine Reinkultur des Keuchhustenbacillus aus dem Schleime der Luftröhre, der Bronchien und der katarrhalischen Herde der Lungen gewonnen¹⁾. Aus dem Blute der rechten Herzseite gelang es nicht, den Bordet-Gengouschen Mikroorganismus zu isolieren.

Folglich ist es aus meinen Experimenten an Affen ersichtlich, daß es gelingt, sie mit Keuchhusten zu infizieren, aber die bei ihnen hervorgerufene Erkrankung verläuft augenscheinlich in den meisten Fällen abortiv, wenigstens bei den ausgewachsenen Tieren, mit denen ich zu tun hatte.

Mich auf die in der ärztlichen Literatur verstreut vorkommenden Äußerungen [z. B. A. Ssokolowsky (22), Sticker (23) u. A.], daß Hunde an Keuchhusten erkranken können, stützend, machte ich den Versuch, sowohl ausgewachsene, als auch junge Hunde mit dem Bordet-Gengouschen Stäbchen zu infizieren.

3 ausgewachsenen Hunden wurden 4 zweitägige, in 8 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung aufgeschwemmte Agarschräggkulturen in die Luftröhre injiziert. Alle 3 Hunde blieben vollkommen gesund; die Temperatur stieg nicht bei ihnen, auch wurden keinerlei Krankheitserscheinungen beobachtet. Ein Hund wurde am 10., der zweite am am 15., der dritte am 20. Tage nach der Infektion getötet. Aus dem Schleim des Kehlkopfs und der Luftröhre wurde das Bordet-Gengousche Stäbchen bakterioskopisch nicht gewonnen, ebensowenig gelang es, dasselbe aus Kulturen des Tracheal- und Kehlkopfschleimes zu isolieren. Die Lungen waren bei allen 3 Hunden vollkommen gesund. Derselbe Versuch wurde an einem jungen, ungefähr 1 Jahr alten Hunde wiederholt. Im Laufe von 11 Tagen nach der Infektion blieb der Hund augenscheinlich gesund; die Temperatur war die ganze Zeit normal. Am 12. Tage wurde

1) Ich erinnere die Leser an die oben beschriebene Sektion des an Keuchhusten erkrankten Kindes, welches an einer Bronchopneumonie starb.

der Hund getötet. Der Kehlkopf und die Lungen erwiesen sich als vollkommen normal. Die Schleimhaut der Luftröhre war ganz unbedeutet gerötet. Im Lumen der Luftröhre fand sich glasiger Schleim in ziemlich großer Quantität. Aus demselben wurde bakterioskopisch eine Reinkultur des Keuchhustensstäbchens gewonnen, was die auf Bordet-Gengou-schem Blutnährboden angelegten Kulturen vollkommen bestätigten.

Die Experimente an 48 jungen Hunden gaben im allgemeinen sehr einförmige, aber äußerst lehrreiche Resultate.

Dem Alter nach verteilten sich die jungen Hunde auf folgende Weise: 7 waren $2\frac{1}{2}$ —3 Monate alt, 10 4 Wochen, 20 2 Wochen alt und 11 eben erst geboren. 20 Hunde wurden künstlich infiziert; 18 durch die Luftröhre und 2 durch die Nasenhöhle; 28 infizierten sich selbst, sie wurden teils von den kranken Brüdern angesteckt (13), teils von dem Raum infiziert, in dem früher kranke Tiere gewesen waren (11), die letzten (4) wurden von der Mutterhündin angesteckt, die mit den kranken Hunden oder deren Müttern (z. B. beim Spaziergang) in Berührung gekommen war.

In allen Fällen, gleichviel ob die Infektion eine künstliche oder eine natürliche war, beobachtete man ein anfängliches Stadium der Krankheit, welches 2—6 Tage dauerte. Darauf folgte die katarrhalische Periode, die durch eine unbedeutende Steigerung der Temperatur — $0,5$ — $1,5^{\circ}$ im Laufe von 2—4 Tagen —, Ausfluß aus der Nase, einen leichten Katarrh der Schleimhaut der Augenlider und der Augäpfel, durch Niesen und Ueberschlucken charakterisiert wurde. Nach 1—2—3 Tagen wurde der Husten stärker, er trat krampfartig auf und hatte zuweilen einen bellenden Charakter, die „reprise“ jedoch beobachtete ich keimlich; die Hustenanfälle gingen oftmals in Erbrechen aus. Durch die Aufnahme von Speise und bei Erregung wurden bei vielen kleinen Hunden heftige Hustenanfälle ausgelöst. Ein unbedeutender Ausfluß aus der Nase hielt während der ganzen Krankheit an. In dieser Periode kam es auch oft vor, daß die jungen Hunde an Durchfall litten. Während der katarrhalischen Periode war mit Ausnahme der ersten Tage, wie oben bemerkt, die Temperatur, wenn keine Komplikationen hinzutraten, eine normale. Sobald sich jedoch bei den jungen Hunden eine katarrhalische Pneumonie einstellte, beobachtete man bei ihnen Fieber von unregelmäßigem Typus. Man kann als Gesetz anführen, daß bei ihnen mit der genannten Komplikation die Krankheit zu einem Schluß kam, daß sie es war, die die Tiere tötete. Von den 48 jungen Hunden gingen 39 in verschiedenen Zeiträumen ein und 9 wurden getötet. Die Lebensdauer der Tiere (20 Versuche) schwankte vom Moment der Infektion an bis zum Tode zwischen 13 und 41 Tagen, und von der Zeit, wo der Husten auftrat, bis zum tödlichen Ausgang zwischen 8 und 37 Tagen.

Die Hunde (28), die unter normalen Bedingungen erkrankten, lebten von dem Moment, wo sie die Möglichkeit hatten, sich zu infizieren, bis zum Tode 10—48 Tage. Die Dauer der Krankheitsperiode, während welcher sie husteten, schwankte zwischen 7 und 44 Tagen.

Die Sektion ergab bei allen Tieren ohne Ausnahme eine leichte Hyperämie des Kehlkopfes und der Luftröhre und eine größere oder geringere Menge zähen Schleimes in denselben. Der Krankheitswoche entsprechend, in welcher der Hund getötet wurde oder starb, war der Schleim entweder durchsichtig und glasig oder trübe und weißlich. Bei der Sektion wurde bei 43 jungen Hunden, bei allen, die selbst eingingen und bei 4 von den getöteten, eine katarrhalische Pneumonie und ein

leichter Katarrh der großen, mittleren und kleinen Bronchien festgestellt. An 5 Tieren wurde keine Pneumonie konstatiert. Ein Teil dieser Fälle (3) bezieht sich auf künstlich infizierte, der andere auf Hunde (2), die auf natürlichem Wege erkrankt waren. Diese Hunde waren am 8., 9., 10., 12. und 22. Tage der katarrhalischen Periode der Krankheit getötet worden. In 6 Fällen wurden seröse Exsudate in der Bauchhöhle und in 2 Fällen gleichzeitig in der Bauchhöhle und in der Herzbeutel- und Pleurahöhle konstatiert.

Ich will hier den Umstand betonen, daß die pathologisch-anatomischen Veränderungen bei den auf natürlichem Wege infizierten Tieren genau dieselben und zuweilen sogar stärker ausgeprägt waren als bei den auf künstlichem Wege infizierten. Aus dem Schleim der Luftröhre isolierte ich bei allen 48 Hunden mit Hilfe des Bordet-Gengouschen Blutagars ihren Keuchhustenbacillus in vollkommen reiner oder fast reiner Kultur. Aus den katarrhalischen Lungenherden gewann ich immer (43mal) eine Reinkultur des Stäbchens. In 3 Fällen isolierte ich eine Reinkultur desselben aus dem Blute der gefallenen Tiere. In den Ausstrichpräparaten des Trachealschleimes fand ich bakterioskopisch das Bordet-Gengousche Stäbchen immer in großer Menge und in den meisten Fällen ohne Beimischung anderer Bacillen. Aus dem Saft der katarrhalischen Lungenherde isolierte ich es auch immer bakterioskopisch, aber nur in geringer Anzahl.

Das mikroskopische Bild des Trachealschleimausstrichpräparates eines kranken Hundes ist vollkommen identisch mit dem Ausstrichpräparat des Auswurfs eines Keuchhustenkranken, der sich in der ersten Woche der Krampfperiode befindet. Als die Hunde noch lebten, isolierte ich mehrfach in verschiedenen Krankheitsstadien aus ihrem Nasenschleim den Bordet-Gengouschen Bacillus, aber weitaus nicht in reiner Kultur.

Mit dem Blutserum zweier Hunde (5. Woche der katarrhalischen Periode) und dem Blutserum eines vom Keuchhusten genesenden Kindes (etwa 3 Wochen nach Beendigung der Krampfperiode) wurde die Bordet-Gengousche (24) Reaktion angestellt, welche positive Resultate ergab. Die Methodik der Reaktion entsprach genau den Anordnungen der Autoren.

Ich will jetzt die von mir gewonnenen Daten zusammenstellen:

Der Umstand, daß es mir gelungen ist, das Bordet-Gengousche Stäbchen in allen frischen Keuchhustenfällen (in der 1. und 2. Woche der Krampfperiode) und genau unter den Bedingungen, die Bordet und Gengou zur Isolierung ihres Mikroorganismus fordern, zu gewinnen, scheint mir eine Tatsache von größter Wichtigkeit. Dieses ist kein Zufall, sondern beweist im Gegenteil, daß die genannten Forscher ganz genau die Bedingungen kannten, unter denen ihr Mikroorganismus gewonnen werden konnte. Daß ich, ihren Hinweisen folgend, zu denselben Resultaten kam, ist schon zum Teil ein Beweis, daß ihr Stäbchen tatsächlich eine große Rolle in der Aetiologie des Keuchhustens spielt.

Eine gewisse Bedeutung hat auch die Tatsache, daß ich, wie oben berichtet, das Bordet-Gengousche Stäbchen kein einziges Mal bei gesunden Brustkindern (50 Fälle) und bei Kranken, die an verschiedenen Katarrhformen der Luftwege litten, fand.

Man darf auch den Umstand nicht außer acht lassen, daß ich vielfach — bei 80 Proz. aller von mir untersuchten Fälle (76) — bakterioskopisch in dem Auswurf ein Stäbchen gefunden habe, das morphologisch mit dem Bordet-Gengouschen Bacillus identisch war.

Ich werde jetzt eine Parallele ziehen zwischen dem, was ich an jungen Hunden und Affen beobachtete, und was uns über den Verlauf des Keuchhustens bei Menschen bekannt ist. Kinder sind besonders für Keuchhusten empfänglich, dasselbe sehen wir bei Affen und vor allen Dingen bei Hunden, wie aus dem oben Angeführten ersichtlich ist (besonders in Fällen natürlicher Infektion). Die Dauer des Anfangsstadiums schwankt bei Menschen nach Sticker (23) (p. 12) in den Grenzen eines Zeitraums von 2—5—8 Tagen, nach N. F. Filatoff (26) 3—14 Tagen, nach Neurath (27) 3—15 Tagen usw. Neurath übrigens bemerkt, daß es beim Keuchhusten keine feststehenden Daten für eine Angabe der Dauer des Anfangsstadiums der Krankheit gibt. Der verstorbene N. F. Filatoff sprach sich sehr vorsichtig über diese Frage aus. Das Anfangsstadium schwankte bei meinen Versuchen an jungen Hunden und Affen zwischen 2—6 Tagen. Folglich stimmt die Dauer dieses Krankheitsstadiums bei Menschen mit derselben der von mir untersuchten Tiere überein.

Im Anfang der katarrhalischen Periode des Keuchhustens beobachtet man bekanntlich eine Steigerung der Temperatur. Dasselbe war auch bei meinen Tieren der Fall. Danach kehrt beim Keuchhusten die Temperatur wieder zur Norm zurück und die Krankheit verläuft, wenn keine Komplikationen hinzutreten, ohne Fieber. Auch bei meinen Tieren hörte nach einer kurzen Steigerung der Temperatur das Fieber wieder auf und die Krankheit verlief ohne Fieber bis zum Hinzutreten von Komplikationen, die dann wieder Fieber hervorriefen. Es ist wahr, daß sich bei meinen Tieren keine „reprise“ einstellte, doch verläuft auch bei Menschen der Keuchhusten zuweilen ohne dieselbe; bei Brustkindern z. B. bleibt sie oft aus [Sticker (23, p. 19), Neurath (27, p. 864), N. F. Filatoff (26, p. 442) usw.], auch bei Erwachsenen [Strümpell (28)]. An manchen jungen Hunden beobachtete ich oft Erbrechen nach Abschluß des Hustenanfalls; dasselbe wird auch bei Kindern bemerkt [N. F. Filatoff (26, p. 440)].

Interessant und wichtig ist auch, daß man zuweilen bei Keuchhustenkranken Laryngitis und Trachitis feststellt [Sticker (23, p. 16); an jungen Hunden beobachtete ich sie immer.

Bei Keuchhusten kommt auch Durchfall vor [Sticker (23, p. 17)]. So hat Eckstein (29) unlängst eine Keuchhustenenepidemie beobachtet, wo die Kinder fast fortwährend an Durchfall litten. Durchfall beobachtete ich auch bei meinen Tieren.

Die häufigste und gefährlichste Komplikation des Keuchhustens bei Menschen ist bekanntlich die katarrhalische Pneumonie. Nach Sée (30) tritt sie zuweilen bei einem Drittel aller Keuchhustenkranken auf. Nach Sticker (23, p. 24) ist die katarrhalische Pneumonie bei Kindern unter 3 Jahren fast immer tödlich. Sie kann sich in allen Stadien der Krankheit entwickeln. Im allgemeinen beobachtete ich dasselbe an jungen Hunden und Affen. Bei den ersteren trat die katarrhalische Pneumonie eigentlich immer auf und dabei in verschiedenem Zeitraum; vom Ende der 1. Woche an bis zur 6. Woche ihrer Krankheit. Sie war für dieselben immer tödlich. Der letztere Umstand erklärt sich zum Teil durch das jugendliche Alter der Hunde (sie waren nicht über 3 Monate alt) und teilweise auch dadurch, daß das Keuchhustenstäbchen, nachdem es mehrfach den Tierkörper passiert, an Virulenz gewinnt. An Affen beobachtete ich diese Komplikation nur einmal.

Die Dauer des Keuchhustens schwankt bei Menschen in sehr weiten

Grenzen; von 3 Tagen [Trousseau (31)] bis zu 1 Jahre [Sticker (23, p. 19)]; die Durchschnittsdauer ist nach N. F. Filatoff (26, p. 447) 42 Tage und nach Sticker (23, p. 19) 63 Tage. Die Affen waren bei mir 5—36 Tage und die jungen Hunde 7—44 Tage krank. Auch in der Dauer der Krankheit besteht folglich eine Analogie zwischen der Erkrankung der Affen und der Hunde und dem Keuchhusten der Menschen.

Eine große Bedeutung für die Lösung der genannten Frage hat auch das Faktum, daß ich aus den katarrhalisch-pneumonischen Herden des an Keuchhusten gestorbenen Kindes dasselbe Stäbchen isolierte wie aus den katarrhalischen Lungenherden der Affen und jungen Hunde, die mit dem Bordet-Gengouschen Mikroorganismus infiziert worden waren. Zu der Annahme, daß unter den jungen Hunden, die ich zu meinen Versuchen verwendete, irgend eine Seuche herrschte, liegt absolut kein Grund vor, weil in der tierärztlichen Medizin noch keine ähnlichen ansteckenden Erkrankungen, wie ich sie beobachtet hatte, beschrieben worden sind [Friedberger und Fröhner (32)]. Es ist wahr, daß, den Beobachtungen der Tierärzte entsprechend, Hunde und besonders junge Hunde zur katarrhalischen Pneumonie geneigt sind [Friedberger und Fröhner (32, Bd. II. p. 82)], vielleicht liegt bis zu einem gewissen Grade darin die Erklärung, daß diese Krankheit so oft bei den den Versuchen unterworfenen jungen Hunden auftrat und immer einen tödlichen Verlauf nahm.

Wenn man die von Prof. Afanassieff angeführten Tatsachen mit den von mir gewonnenen Daten zusammenstellt, so ist der ungeheure Unterschied zwischen denselben deutlich erkennbar: Bei ihm fehlt die Inkubationsperiode der Krankheit, bei mir ist sie vorhanden; bei seinen Experimenten steht die katarrhalische Pneumonie im Zentrum des klinischen Krankheitsbildes, bei mir tritt sie in den Hintergrund zurück und erscheint nur als schwere Komplikation der Krankheit; die Dauer der Krankheit war in den Versuchen von Prof. Afanassieff eine viel kürzere als bei mir: Bei ihm bis 28 Tage, bei mir bis 48 Tage; die Sektionen ergaben bei Prof. Afanassieff bei weitem nicht immer Laryngitis und Trachitis, ich fand sie immer. Schon aus den eben angeführten Gegenüberstellungen ist deutlich zu erkennen, welcher ungeheurer Unterschied zwischen den von Prof. Afanassieff gewonnenen und meinen experimentellen Daten ist, und außerdem zwischen der Krankheit seiner Tiere und dem Keuchhusten der Menschen.

Wie soll man denn die Krankheit bezeichnen, die das Bordet-Gengousche Stäbchen bei Tieren hervorruft? Ich denke, man kann sie einen „infektiösen Katarrh der Luftwege“ nennen; eine solche Bezeichnung geben aber einige Kliniker [Strümpell (28, p. 235) und Heubner (32)] auch dem Keuchhusten.

Somit kann man, wenn man alle von mir gesammelten Daten prüft und zusammenstellt, zu dem Schlusse kommen, daß 1) das Bordet-Gengousche Stäbchen zweifellos der Erreger des Keuchhustens ist und 2) daß man bei jungen Hunden und Affen, vielleicht auch noch bei einigen anderen Tieren, auf künstlichem Wege Keuchhusten hervorrufen kann, wenn man sie mit dem Bordet-Gengouschen Stäbchen infiziert.

Das Studium des Keuchhustens geht somit in ein neues Stadium über, und es ist möglich, daß unsere klinische Vorstellung von demselben sich in der nächsten Zeit stark verändern wird.

Ich benutze hier die Gelegenheit, um Prof. W. W. Podwyssotzki meine herzliche Erkenntlichkeit auszusprechen sowohl für sein dauerndes Interesse an meiner Arbeit, als auch für die mir gebotene Möglichkeit, den experimentellen Teil meiner Arbeit auf großer Basis zu entwickeln.

Zum Schlusse erlaube ich mir, sowohl den Oberärzten des Kinderhospitals des Prinzen v. Oldenburg, des Elisabethhospitals, des Nikolaihospitals und des Petersburger Findelhauses, als auch überhaupt allen Aerzten der genannten Anstalten und den Privatärzten, die mir das Material zuführten, ohne welches die von mir unternommene Arbeit undenkbar gewesen wäre, meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Afanassieff, M. J., Wratsch. 1887 [Russisch] u. St. Petersburg. med. Wochenschr. Bd. IV. 1887. p. 349.
- 2) Ritter, Berl. klin. Wochenschr. 1892. No. 50.
- 3) Buttermilch, Berl. klin. Wochenschr. 1899. No. 17.
- 4) Deichler, Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie. Bd. XLIII. 1886 u. Bd. XLVII. 1887.
- 5) Kurlloff, M. G., Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. No. 14 u. 15.
- 6) Behla, Dtsche med. Wochenschr. 1898. No. 28.
- 7) Spengler, Dtsche med. Wochenschr. 1897. No. 52 u. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. No. 7.
- 8) Czaplewski u. Hensel, Dtsche med. Wochenschr. 1897. No. 37 u. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII. No. 22—25 u. Bd. XXIV. No. 23.
- 9) Koplik, Brit. med. Journ. 1897.
- 10) Zusch, Münch. med. Wochenschr. 1898. No. 23 u. Centralbl. f. Bakt. etc. 1898. No. 20—21.
- 11) Vincenzi, Dtsche med. Wochenschr. 1898. No. 40 u. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. No. 7.
- 12) Elmassian, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899.
- 13) Luzzato, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. 1900. No. 24.
- 14) Arnheim, Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 32 u. 1903. No. 29.
- 15) Jochmann u. Krause, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1901 u. Bd. XLIV. 1903.
- 16) Leuriaux, La sem. méd. 1902. No. 29.
- 17) Reyher, Jahrb. f. Kinderheilk. 1903. p. 605, Charité-Annalen. Bd. XXIX. u. Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 36.
- 18) Manicatide, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. 1903. p. 469.
- 19) Bordet et Gengou, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XX u. XXI.
- 20) — —, Ibid. T. XV.
- 21) Nastjukoff, Wratsch. 1893. No. 33 u. 34. [Russisch.]
- 22) Sokolowsky, Die Krankheiten der Atmungsorgane. Uebersetzt aus der polnischen Sprache von Sochatzky. Teil I. 1900. p. 254. [Russisch.]
- 23) Sticker, Der Keuchhusten. (Nothnagels Spezielle Pathol. u. Therapie. Bd. IV. Teil II. p. 46.)
- 24) Bordet et Gengou, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XV et XX.
- 25) — —, Ibid. T. XX.
- 26) Filatoff, N. F., Vorlesungen über akute infektiöse Krankheiten bei Kindern. 1895. p. 437. [Russisch.]
- 27) Neurath, Pfaunders u. Schlossmanns Handb. d. Kinderheilk. Bd. I. 1906. Teil II. p. 859.
- 28) Strümpell, A., Lehrb. d. speziellen Pathol. u. Therapie d. inneren Krankheiten. 1. russische Aufl. Bd. I. 1894. p. 239. [Russisch.]
- 29) Eckstein, Prager med. Wochenschr. 1907. No. 33.
- 30) Sée, zit. nach Sticker, op. cit. p. 24.
- 31) Trousseau, zit. nach Sticker, op. cit. p. 19.
- 32) Friedberger u. Fröhner, Lehrb. d. speziellen Pathol. u. Therapie d. Haustiere. 5. Aufl. 1900.
- 33) Heubner, Lehrbuch der Kinderkrankheiten. Uebersetzt aus dem Deutschen. 1907. [Russisch.]

Nachdruck verboten.

Ueber mikroskopisch sichtbare, filtrierbare Virusarten. (Ueber Strongyloplasmen.)

Von Dr. B. Lipschütz (Wien).

I.

Durch die bahnbrechenden Arbeiten Robert Kochs und durch die Einführung exakter Arbeitsmethoden in die bakteriologische Technik war es in den letzten Dezennien des vergangenen Jahrhunderts gelungen, die Aetiologie der wichtigsten menschlichen und tierischen Affektionen zu erforschen. Hingegen konnte bei einer Reihe von zweifellos parasitären, zum Teil sogar hochinfektiösen Krankheiten mit Hilfe der bekannten Methoden und Benützung der immer verbesserten optischen Hilfsmittel kein weiterer Schritt in ihrer ätiologischen Erkenntnis gemacht werden. Lyssa, Vaccine, Epithelioma contagiosum der Tauben, Peripneumonie der Rinder, Molluscum contagiosum des Menschen, um nur einige der hier gemeinten Affektionen zu nennen, waren zwar in histologischer oder experimenteller Hinsicht häufig genug Gegenstand exakter Untersuchungen gewesen; es scheiterte jedoch jeder Versuch, das Virus in seiner mikroskopischen Form zur Darstellung zu bringen. Denn wenn auch bei den meisten dieser Krankheiten von zahlreichen Autoren Mikroorganismen gefunden oder das Vorkommen gewisser rätselhafter Gebilde demonstriert und in ätiologischen Zusammenhang zu den studierten Krankheiten gebracht worden waren, so ergab die kritische Nachprüfung ganz andere Resultate: Die gezüchteten Mikroorganismen waren nur zufällige saprophytäre Bewohner des pathologischen Substrates gewesen, während die meist als Protozoen gedeuteten Gebilde, für die man sich sogar in einzelnen Fällen mit Mühe einen Entwicklungszyklus zurechtgelegt hatte, nur Degenerationsprodukte des Gewebes, und zwar entweder des Protoplasmas oder des Kernes oder beider darstellten. Und wenn auch durch die Konstanz des Vorkommens dieser histologischen Gebilde ihre spezifische Beziehung zum erkrankten Gewebe nahegelegt wurde, so konnten doch keinerlei Beweise für ihre parasitäre Natur erbracht werden; die Forschung war hier auf einem toten Punkte angelangt und es mußten neue Arbeitsmethoden gefunden werden, um den rätselhaften Schleier, der eine große Gruppe interessanter Krankheiten dem ätiologischen Studium entzogen hatte, lüften zu können.

Loeffler und Frosch konnten nun 1898 feststellen, daß das Virus der Maul- und Klauenseuche bakterienrichte Filter passiere, und durch diese Versuche wurde zum ersten Male eine wissenschaftliche Erklärung für den negativen Ausfall der früheren Untersuchungen erbracht. Es wurde nämlich der Schluß gezogen, daß das betreffende Virus offenbar untermikroskopische Größe besitzen müsse und daher mit Hilfe unserer besten optischen Hilfsmittel nicht zur Darstellung gebracht werden könne.

Fast gleichzeitig wurde im Institut Pasteur in Paris die Filtrierbarkeit des Virus der Peripneumonie der Rinder von Nocard und Roux nachgewiesen, und die folgenden Jahre lehrten uns eine größere Reihe von Affektionen kennen, bei denen, ebenfalls durch Feststellung der Filtrierbarkeit ihres Virus, sämtliche früheren Befunde jede Bedeu-

tung verloren hatten (Hühnerpest, Lyssa, Taubenpocke, Molluscum des Menschen, gelbes Fieber, Vaccine etc. etc.). Es entstand auf diese Weise die Lehre von den sogenannten invisiblen oder submikroskopischen oder ultramikroskopischen Virusarten, über welche in zwei ausgezeichneten französischen Arbeiten von Roux 1903 und Remlinger 1906 zusammenfassende Berichte erstattet wurden.

Die eben erwähnte Bezeichnung, durch welche zum Ausdruck gebracht werden sollte, daß filtrierbare Mikroorganismen sich der mikroskopischen Besichtigung vollkommen entziehen, wird jedoch schon von Roux selbst, trotz der gebrauchten Ueberschrift „Sur des microbes dites invisibles“ im Texte korrigiert; denn er führt das bekannte Beispiel der Wasservibrionen an, die nach Passieren der Filter sich züchten und leicht färben lassen.

Remlinger bemängelt ebenfalls die Benennung „ultramikroskopische“ Mikroorganismen, indem er schreibt: „De ce qu'un microbe traverse un filtre, il n'ensuit pas nécessairement qu'il soit „ultramicroscopique“, „invisible“. La dénomination de microbes ou de virus filtrants présente l'avantage de moins préjuger de la nature des ces microorganismes.“ Remlinger ist jedoch der Ansicht, daß nach unseren heutigen Kenntnissen sämtliche filtrierbare Virusarten sich dem mikroskopischen Studium entziehen, denn er bemerkt: „Aucune des affections rangées dans la catégorie des maladies à virus filtrants n'a dû en être retirée pour passer dans celles à microbe visible.“ Diese Ansicht Remlingers ist aber schon deswegen nicht gerechtfertigt, weil der Erreger der Peripneumonie der Rinder von Roux 1903 zu den sichtbaren, filtrierenden Erregern gerechnet wird, der allerdings fast an der Grenze des mikroskopisch Sichtbaren sich befindet und offenbar den Uebergang der gewöhnlichen Mikroorganismen zu den invisiblen Erregern darstellt, eine Tatsache, die übrigens Remlinger ebenfalls in einer Fußnote erwähnt.

War nun einmal die Möglichkeit der Sichtbarmachung eines filtrierbaren Virus bewiesen, so konnte die Annahme als sehr wahrscheinlich gelten, daß es gelingen würde, auch bei anderen bisher unbekanntem Erregern, die die Filter passieren, mikroskopische Befunde zu erheben. Tatsächlich gelang es in den letzten Jahren Borrel und mir, bei der Taubenpocke und dem Molluscum contagiosum des Menschen, deren Virus zweifellos gewisse Filter passiert, typische mikroskopische Befunde festzustellen, so daß wir derzeit über drei Krankheitsprozesse zu berichten imstande sind, bei denen das Virus nicht nur filtrierbar, sondern auch mikroskopisch sichtbar ist.

Es geht also aus dem Gesagten hervor, daß es durch Forschungen der letzten Zeit gelungen ist, mehrere filtrierbare Virusarten aus der Gruppe der unsichtbaren in die der sichtbaren Erreger zu versetzen und daß daher der oben zitierte Ausspruch Remlingers nicht mehr als zutreffend bezeichnet werden darf. Ich halte es indessen für notwendig, eine namentlich auf theoretische Ueberlegungen sich stützende Ansicht nicht ungeäußert zu lassen; ich meine nämlich, daß es neben den visiblen, filtrierbaren Virusarten zweifellos auch solche gibt, die infolge ihrer enormen Winzigkeit (und wahrscheinlich auch infolge äußerst minimaler Affinität zu unseren bekannten Farbstoffen) sich stets dem mikroskopischen Nachweise entziehen werden, daß also manche filtrierbare Virusarten gewiß submikroskopische Größe besitzen. Die wissen-

schaftliche Forschung wird es jedoch als ihre Aufgabe betrachten müssen, erst durch weiteres Studium die Zugehörigkeit der hier in Betracht kommenden Virusarten zu der Gruppe der visiblen oder zu der der nicht sichtbaren filtrierbaren Mikroorganismen endgültig festzustellen.

II.

Nach dieser einleitenden Darstellung wollen wir eine kurze Beschreibung derjenigen filtrierbaren Virusarten, für welche es gelungen ist, einen mikroskopischen Befund festzustellen, geben, und im Anschluß daran nur flüchtig einige weitere filtrierbare Erreger erwähnen, indem wir bezüglich näherer Angaben auf die angeführten Arbeiten von Roux und Remlinger verweisen.

In unserer Schilderung werden wir bestrebt sein müssen, die chronologische Reihenfolge der Tatsachen einzuhalten, da nur in dieser Weise ein klares Bild von der ätiologischen Erforschung dieses so schwierigen Kapitels gewonnen werden kann.

1. Virus der Peripneumonie der Rinder.

Es ist das große Verdienst der französischen Schule, im Institut Pasteur dieses Virus genauestens erforscht zu haben. Zwar hatten, wie schon erwähnt, Loeffler und Frosch nachgewiesen, daß das Virus der Maul- und Klauenseuche Bakterienfilter passiere und dadurch das erste filtrierbare Virus entdeckt. Es gelang ihnen jedoch weder der mikroskopische noch der kulturelle Nachweis des Erregers; wir betrachten daher das Virus der Peripneumonie als das zuerst entdeckte visible und filtrierbare Virus. Nachdem beim Studium desselben von Nocard, Roux und Borrel grundlegende Tatsachen eruiert worden sind, die für die ganze Gruppe der in vorliegender Arbeit zu besprechenden Virusarten von Bedeutung sind, erscheint es uns geboten, ausführlicher hier zu verweilen.

In medizinischen Kreisen ist dieser Krankheit, wie ich mich des öfteren überzeugen konnte, bisher geringes Interesse entgegengebracht worden; es sei daher in aller Kürze einiges aus dem klinischen und pathologisch-anatomischen Bilde derselben erwähnt. Die Peripneumonie stellt eine Tierseuche dar, die gewöhnlich als in den Lungen und auf der Pleura lokalisierte, intensive exsudative Entzündung verläuft, und oft den Tod des Tieres herbeiführt. Anatomisch findet man in den akuten Fällen Hepatisation der befallenen Lungenlappen und einen bis zu 30 l zählenden, gelblichen Erguß in der Pleura.

Genauere histologische Untersuchungen der kranken Lungen sind mir aus der Literatur nicht bekannt; namentlich fand ich nicht das Auftreten von „Einschlüssen“ oder spezifischen Degenerationsprodukten erwähnt. Aus theoretischen Gründen glaube ich, das Vorhandensein derartiger Produkte (vielleicht in den chronischen Fällen der Peripneumonie) als wahrscheinlich hinstellen zu dürfen, und wären diesbezügliche histologische Untersuchungen sehr erwünscht.

Während die hochvirulente Pleurafflüssigkeit sich auf allen gewöhnlichen Nährmedien steril erweist, gelang es Nocard und seinen Mitarbeitern durch das Kulturverfahren im Kollodiumsäckchen innerhalb des Kaninchenperitoneums und später auch durch Versuche in vitro (auf in bestimmter Weise zubereiteten flüssigen und festen Medien), üppig wachsende und in Generationen fortzuzüchtende Kulturen zu erzielen, welche, Rindern inokuliert, das typische, schwere Krankheitsbild erzeugten.

Die mikroskopische Untersuchung der Kulturen ist von großem Interesse; sie enthalten mit regelmäßiger Konstanz feinste korpuskuläre Elemente, die zwar schon gewöhnliche Farbstoffe annehmen, am besten jedoch nach Loefflers Geißelfärbungsmethode darstellbar sind. Nach Nocard ist es sehr schwierig, die Morphologie dieses Mikroorganismus wegen seiner außerordentlichen Kleinheit zu studieren; er gibt die Form derselben als rundlich oder länglich an. Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Borrel, der mir ein nach Loeffler gefärbtes Präparat einer Reinkultur von Peripneumonie überließ, konnte ich mich durch eigenes Studium von der Morphologie des Erregers dieser Krankheit unterrichten. Benützt man eine gute Immersionslinse und stärkere Kompensationsokulare, so ergeben sich keinerlei Schwierigkeiten bei der Beurteilung der Formenverhältnisse.

Man sieht im ganzen Gesichtsfelde äußerst zahlreiche, kleine Körperchen, die entweder einzeln oder in Diploformen oder, wenn auch selten, in aus 3 bis höchstens 4 Individuen zusammengesetzten Ketten gelegen sind. Während bei anderen in dieser Arbeit zu beschreibenden Virusarten die Form des einzelnen Körperchens eine ungemein scharf konturierte ist, finden wir hier als Grundtypus zwar ebenfalls ein kleines, rundliches oder selbst kreisrundes Protoplasmaklumpchen; außerdem findet man jedoch Körperchen, die mehr plumpe Formen mit eckiger Begrenzung aufweisen. Möglicherweise sind dieselben degenerierte Elemente, wie man solche auch in Kulturen anderer Mikroorganismen nicht so selten anzutreffen pflegt. Auf diesen Umstand dürften wohl auch geringe Größenunterschiede der einzelnen Körperchen, die an einzelnen Stellen des Präparates sich feststellen lassen, zurückzuführen sein. Im allgemeinen sind die Körperchen der Peripneumonie um ein geringes kleiner, als die weiter unten zu beschreibenden Virusarten, schätzungsweise fast $\frac{1}{4} \mu$ groß.

Dieser kleine Mikroorganismus passiert Chamberland F und Berkefeld-Filter, hingegen nicht Chamberland B und Kitasato-Kerzen. Für die Filtration ist es jedoch unbedingt notwendig, das Material stark zu verdünnen, da, wie wir bei der allgemeinen Erörterung der Filtrationsbedingungen eines Virus sehen werden, der Eiweißgehalt des Ausgangsmaterials sich sehr störend erweist.

Das Temperaturoptimum dieses Virus liegt zwischen 37 und 38°. Bei 58° stirbt der Erreger der Peripneumonie sowohl in der Kultur wie auch in der serösen Lungenflüssigkeit.

Nach Ueberstehen der Krankheit erwerben die Rinder Immunität; das Serum hochimmunisierter Tiere ist jedoch weder agglutinierend, noch bakterizid, die heilenden Eigenschaften des Serums sind nur in geringem Maße vorhanden.

2. Virus des Epithelioma contagiosum der Tauben und Hühner

wurde von Borrel 1904 entdeckt, nachdem in einer sehr umfangreichen Literatur, die bis zum Jahre 1905 reicht, von Bosc, Sanfelice, Reischauer u. a. über verschiedene bei der „Taubenpocke“ vorkommende Einschlüsse und Parasiten berichtet worden war, von welchen Befunden jedoch kein einziger einer ernsten Kritik standzuhalten vermag. Nach der grundlegenden, sehr kurzen Mitteilung Borrels ist das Virus der Taubenpocke ausführlich von Burnet und später von mir im Institut Pasteur studiert worden, und sei bezüglich näherer Angaben auf diese

Arbeiten verwiesen. Hier kann nur in aller Kürze auf die wesentlichsten Eigenschaften dieses Virus eingegangen werden, wobei einige Angaben über das klinische Verhalten der Affektion vorausgeschickt werden mögen.

Die natürliche Infektion findet unter noch nicht genauer bekannten Verhältnissen statt; das Virus dringt wahrscheinlich durch eine kleine *laesio continui* der Haut oder der Schleimhäute in den Organismus, um auf dem Wege der Blutbahn in die Haut oder in die Rachenschleimhaut zu gelangen, wo es schwere anatomische Veränderungen veranlaßt und selbst den Tod des Tieres herbeiführen kann.

Zur künstlichen Infektion wählt man die Haut des Brustkorbes, wo man, nach Rupfen der Federn, das Virus leicht einreibt. Nach 5—6 Tagen ist die Haut eigentümlich geschwollen, die Follikel sind stark vergrößert und entleeren auf seitlich ausgeübten Druck weißliche Pfröpfe, die den Follikularbälgen entsprechen. Diese enthalten das Virus in sehr reinem Zustande; übrigens ist es auch in jedem Partikelchen der erkrankten und mit Krusten sich bedeckenden Haut nachweisbar. Beim Huhn erzeugt die Impfung nicht nur eine Affektion der Haut, sondern auch zum Teil eine seröse Anschwellung des subkutanen Gewebes. Viele Tiere überstehen die künstliche Infektion, ein Teil geht unter starker Abmagerung ein.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der erkrankten Haut findet sich folgendes Bild: Außerordentlich zahlreiche, kleinste Körperchen, die einzeln oder in Diploformen, oder meist in kleinen Häufchen im Protoplasma der Zellen gelegen sind, gleiche Größe und rundliche Form aufweisen und durch Querteilung sich zu vermehren scheinen. Nach vergleichenden Untersuchungen glaube ich annehmen zu können, daß die Körperchen des Taubenpockenvirus etwas größer sind, als die bei der Peripneumonie der Rinder beschriebenen. Sie besitzen in der Regel keine Affinität zu gewöhnlichen Farbstoffen, färben sich gut nach Giemsa und vorzüglich nach Loefflers Geißelfärbungsmethode.

Nach den Untersuchungen von Marx und Sticker ist das Virus des Epithelioma contagiosum der Tauben filtrierbar; es passiert Berkefeld-Filter, wird aber durch Porzellanfilter zurückgehalten.

Physikalischen und chemischen Einflüssen setzt dieses Virus großen Widerstand entgegen. Es kann 2 Jahre trocken aufbewahrt werden, ohne an Virulenz einzubüßen. Durch Saponin und taurocholsaures Natrium wird es nur in geringem Maße beeinflusst (Lipschütz).

Nach Ueberstehen der Krankheit erlangen die Tiere Immunität.

Von Interesse sind ferner folgende zwei Tatsachen, auf die jedoch hier nicht näher eingegangen werden kann. Zunächst das Vorkommen des Virus in den inneren Organen, nicht nur bei intravenöser, sondern auch bei kutan vorgenommener Impfung (Burnet, ich); ferner die Fähigkeit des Virus, leicht zu mitigieren, so daß die Rückimpfung des Taubenpockenvirus vom Huhn auf die Taube oft versagt (Marx und Sticker).

In jüngster Zeit ausgeführte experimentelle Untersuchungen identifizieren das Virus des Epithelioma contagiosum der Tauben mit dem der Geflügeldiphtherie (Carnwath) und bestätigen dadurch eine schon von älteren Autoren verteidigte Ansicht. Nachdem es nun Bordet mittels einer sehr geistreichen Methode gelungen ist, das Virus der Geflügeldiphtherie künstlich zu züchten, scheinen wir dadurch auch die Kultur des Taubenpockenvirus erlangt zu haben. Weitere Untersuchungen werden diesen für die Frage der visiblen, filtrierbaren Erreger so wichtigen Gegenstand noch weiter aufklären müssen.

3. Virus des Molluscum contagiosum des Menschen.

Von der Voraussetzung ausgehend, daß filtrierbare Mikroorganismen durchaus nicht untermikroskopische Größe besitzen müssen, hatte ich bereits im September 1906 bei einigen Fällen von Mollusca contagiosa Untersuchungen vorgenommen, und hatte ich auch des weiteren Gelegenheit, dieselben während eines Studienaufenthaltes in Paris und in Breslau fortzusetzen. Bei dem Interesse, das diesem kleinen menschlichen Tumor — bei den bisher angeführten Virusarten handelte es sich ausschließlich um tierische Affektionen — stets entgegengebracht wurde, möchte ich hier auf das Virus desselben etwas genauer eingehen.

Die Technik der Untersuchung ist eine äußerst einfache; das exzidierte oder ausgedrückte Molluscum wird entweder mit einigen Tropfen Wasser fein verrieben und mit der Emulsion dünne Ausstriche angefertigt, oder es werden direkt Abklatschpräparate hergestellt. Durch Anwendung der Loefflerschen Geißelfärbungsmethode sowie der Giemsa-Färbung war es mir gelungen, dieses Virus aus der Gruppe der früher sogenannten „ultramikroskopischen“ filtrierbaren Mikroorganismen herauszuheben. Das morphologische Bild ist stets typisch und weist gewisse Ähnlichkeit mit den bei der Beschreibung des Virus der Peripneumonie der Rinder und der Taubenpocke angeführten Formelementen auf. Man findet nämlich ungemein zahlreiche, teils einzeln oder in Diploformen, teils in kleinen Häufchen liegende, die sogenannten „Molluscumkörperchen“ gewissermaßen umschwärmende, kleine Elemente, die von gleicher Größe sind und rundliche, scharf umschriebene Konturen aufweisen. Nach Loeffler färben sie sich leuchtend rot, während sie nach Giemsa einen rötlich-violetten Farbenton annehmen. Ihre Vermehrung erfolgt offenbar durch Querteilung, wie wir es noch im letzten Abschnitte dieser Arbeit erörtern werden.

Mit den sub 1 und 2 beschriebenen Virusarten verglichen, ist das Verhalten des Virus des Molluscum contagiosum zu Farbstoffen und die Größenverhältnisse desselben von Interesse.

Letzterer Gesichtspunkt läßt sich kurz dahin präzisieren, daß das Virus der Peripneumonie die kleinsten, das des Molluscum contagiosum des Menschen die größten Durchmesser aufweist, während das Taubenpockenvirus zwischen beiden eingereiht werden muß. Zu dieser Anschauung gelangte ich durch den Vergleich einer größeren Anzahl von sowohl nach Loeffler als nach Giemsa gefärbten Präparaten und auf Grund von Messungen, die ich bei den Körperchen des Molluscum contagiosum vorgenommen habe. In gebeizten Präparaten haben sie einen Durchmesser von 0,2—0,25 μ ; in nicht gebeizten sind sie natürlich kleiner, immerhin über 0,1 μ groß.

Bezüglich der Affinität zu Farbstoffen sei kurz angeführt, daß mit den gewöhnlichen Farbstoffen keine oder höchst undeutliche Resultate erzielt werden; die Körperchen waren offenbar wegen dieser geringen Farbstoffaufnahme als auch wegen ihrer Winzigkeit der mikroskopischen Untersuchung bisher entgangen. Nach Anwendung von Beizen färben sie sich intensiv, heben sich scharf vom Untergrund der Präparate ab und können daher leicht erkannt werden.

Die Kultur dieses Virus ist mir bisher nicht geglückt; nach Analogie mit den zwei schon öfters zum Vergleiche herangezogenen Virusarten glaube ich die Möglichkeit der Züchtung auch dieses Virus grundsätzlich annehmen zu dürfen. In mehreren Fällen, die mir zur Verfügung

standen, hatten die Mollusca meist ihren Sitz am Genitale oder am Lidrand, wodurch eine gründliche Desinfektion unmöglich gemacht wurde, und dies mag wohl zum Teil den Grund der bisherigen negativen Resultate erklären.

Das Virus des *Molluscum contagiosum* ist nach den Untersuchungen von Juliusberg, die in der letzten Zeit von Serra Bestätigung fanden, filtrierbar; es passierte im Juliusbergschen Versuch eine Chamberland-Kerze. Mit dem Filtrat konnte bei einer von dreigeimpften Personen Haftung des Virus und Erzeugung typischer Mollusca erzielt werden.

Von besonderem Interesse ist natürlich der Nachweis der beschriebenen kleinen Körperchen in experimentell erzeugten Mollusca und zwar nicht nur bei Impfungen mit dem ausgedrückten Molluscuminhalt, sondern auch bei solchen mit Filtrat. Während ich bisher keine Gelegenheit hatte, Impfmollusca der ersten Art zu untersuchen, war es mir durch die Liebenswürdigkeit eines befreundeten Kollegen ermöglicht, ein „Filtratmolluscum“ der Untersuchung zuzuführen.

Nach den freundlichen Mitteilungen des Kollegen handelte es sich um ein am rechten Vorderarm sitzendes typisches Molluscum zweiter Generation, erzeugt durch Impfung mit dem Filtrat eines ebenfalls mit Molluscumfiltrat experimentell hervorgerufenen Molluscum erster Generation bei demselben Kollegen (am linken Oberarm), worüber bereits von Juliusberg in der Deutschen mediz. Wochenschrift No. 19. 1905 berichtet worden war. Es gelang mir nun leicht, den mikroskopischen Nachweis zu führen, daß auch im „Filtratmolluscum“ ungemein zahlreiche Körperchen enthalten sind, die bezüglich ihrer Größe und Form, sowie ihres Verhaltens zu Farbstoffen ein vollkommen typisches, mit meinen früheren Untersuchungen in Wien vollkommen übereinstimmendes Bild darboten.

Klinische Beobachtungen lehren, daß zunächst die Empfänglichkeit für das Virus des *Molluscum contagiosum* mit dem Alter abnehme, indem es als bekannt gelten kann, daß das Molluscum in der Regel eine Affektion des kindlichen und jugendlichen Alters darstellt. Daß aber auch in der zweiten Lebenshälfte keine Immunität gegen das Virus besteht, lehrte mich eine Moulage im Hospital St. Louis, eine 56 Jahre alte Person betreffend, deren Kopfhaut mit sehr großen und zahlreichen Mollusca bedeckt erscheint.

Die Empfänglichkeit für das Virus scheint aber auch, vom Alter abgesehen, bei verschiedenen Personen zu variieren. Juliusberg erzielte bei der Impfung von 3 Kollegen nur bei einem positive Resultate. Ich selbst habe mich in verschiedenen Zeitintervallen 3mal mit Molluscum geimpft, ohne ein einziges Mal Haftung des Virus zu erzielen, während mein hochverehrter Lehrer, Herr Brocq, mir gestattete mitzuteilen, daß er eine besondere Empfänglichkeit für das Virus des Molluscum zu besitzen schein, indem bei ihm mehrere Impfungen stets zu positiven Ergebnissen geführt hatten.

Es wurde bisher in knapper Zusammenstellung über 3 Affektionen berichtet, bei welchen namentlich durch Forschungen der letzten Jahre die Annahme sehr wahrscheinlich gemacht wurde, daß bakteriendichte Filter passierende, jedoch mikroskopisch sichtbare Virusarten die Erreger desselben abgeben. An diese möchte ich den von Halberstädter und v. Prowazek vor kurzer Zeit beschriebenen Befund bei Trachom

anreihen. Wenn auch nach den Untersuchungen von Pfeiffer und Kuhnt das Trachomvirus im Filter zurückgehalten wird, so lehnt sich der erwähnte Befund, namentlich in morphologischer Hinsicht als auch durch das Vorkommen von „Einschlüssen“, so sehr an die erwähnten Virusarten an, daß eine kurze Erwähnung desselben notwendig erscheint¹⁾.

Es finden sich nämlich, nach den Untersuchungen von Halberstädter und v. Provaszek in den Conjunctivalepithelzellen kappenförmig dem Kerne aufsitzende, nach Giemsa blau gefärbte Einschlüsse, innerhalb welcher rot färbbare, sehr feine Körnchen auftreten, sich rasch vermehren und in doppelkugelförmige Körperchen zerfallen; ihre Größe wird schätzungsweise auf $\frac{1}{4} \mu$ angegeben, würde also ungefähr die Größe des Virus des Molluscum contagiosum erreichen. Die Autoren glauben die parasitäre Natur der beschriebenen Körperchen annehmen zu können und fassen Vaccine, Scarlatina, Lyssa, Trachom, Hühnerpest, Taubenpocke und Molluscum contagiosum in eine gemeinschaftliche Gruppe zusammen, deren Erreger sie mit dem Namen Chlamydozoa belegen, da sie als gemeinschaftliches Kennzeichen dieser Affektionen das Vorkommen von die korpuskulären Erreger mantelartig umhüllenden Einschlüssen annehmen.

Entsprechend der uns in diesem Kapitel gestellten Aufgabe, einen kurzen Ueberblick der Bakterienfilter passierenden, mikroskopisch nachweisbaren Mikroorganismen zu geben, können wir auf diejenigen filtrierbaren Virusarten, bei denen es trotz äußerst mühsamer Untersuchungen bisher nicht gelungen ist, einen typischen mikroskopischen Befund zu gewinnen, nur mit ganz wenigen Worten eingehen und dabei auch nur die wichtigsten derselben — Vaccine, Lyssa und Hühnerpest — erwähnen. Die Forschungen der nächsten Jahre werden hoffentlich auch hier größere Klarheit bringen.

Bei der Vaccine stimmen die meisten neueren Untersuchungen überein, daß Berkefeld-Filter V unter Druck durch den Vaccineerreger passiert wird, daß dagegen Chamberland-Filter ihn zurückhalten. Auf Grund mikroskopischer Untersuchungen hatte v. Provaszek 1905 angenommen, daß die von ihm beschriebenen „Initialkörperchen“ den Träger des Virus darstellen dürften. Paaschen beschrieb später das Vorkommen von gleichmäßig nach Giemsa gefärbten, sehr kleinen Körperchen in der Lymphe, die wahrscheinlich mit den erwähnten „Initialkörperchen“ nicht identifiziert werden dürfen. Endlich wurde vor kurzer Zeit von Volpino mitgeteilt, daß es ihm mit Hilfe der Dunkelfeldbeleuchtung gelungen sei, in dem mit Vaccine infizierten Corneaepithel von Kaninchen feinste bewegliche Körperchen nachzuweisen, die in Kontrollpräparaten fehlten. Die färberische Darstellung der Körperchen ist Volpino in der letzten Zeit ebenfalls gelungen.

Aetiologisch-mikroskopische Untersuchungen über Lyssa liegen aus der letzten Zeit nur von Babes vor, welcher das Vorkommen sehr kleiner „Körperchen“ im Protoplasma der entarteten Nervenzellen in den am meisten ergriffenen Stellen des Nervensystems beschreibt. Nachdem der Nachweis der Körperchen ausschließlich in nach Ramón y Cajal imprägnierten Schnitten gelungen ist, die Färbung mit gebräuchlichen

1) Anmerkung bei der Korrektur. Die Filtrierbarkeit des Trachomvirus ist vor kurzer Zeit von Bertarelli nachgewiesen worden.

Farbstoffen in gewiß viel einfachere Beobachtungsverhältnisse darbieten. Den Deckglaspräparaten von Babes nicht erwähnt wird, glaube ich, daß dem erwähnten Befunde derzeit — wenigstens im Sinne der Ausführungen dieser Arbeit — keine Bedeutung beigelegt werden kann. Außerst zahlreiche Untersuchungen, die ich in den letzten 6 Monaten mit Hilfe der Geißelfärbungsmethoden und der Giemsa-Färbung an dünnsten Ausstrichen von Virus fixe ausgeführt habe, haben mir bisher keine oder jedenfalls keine eindeutigen Resultate geliefert.

Das Virus der Hühnerpest ist uns ebenfalls noch nicht in seiner mikroskopischen Form bekannt; vielleicht sind die vor wenigen Tagen von v. Pro w a z e k beschriebenen Gebilde der Träger des Virus, worüber baldige Nachprüfungen sehr erwünscht wären.

III.

In der Schilderung der in den vorangehenden Abschnitten dieser Arbeit angeführten menschlichen und tierischen Affektionen könnte leicht der Eindruck erweckt werden, als würden zwischen denselben nur recht lockere Verhältnisse bestehen und daß es nur das Resultat systematisierender Forschung sei, wenn beispielsweise das unscheinbare Molluscum contagiosum des Menschen mit der Lyssa oder Vaccine in derselben Gruppe von Krankheiten abgehandelt wird. Ein genaueres Eingehen auf die Natur der sie erzeugenden Virusarten, auf gewisse gemeinsame Eigenschaften und namentlich auf die Eigentümlichkeit gewisser gesetzmäßig auftretender Gebilde („Einschlüsse“) lehrt jedoch, daß weitgehende Analogieen der genannten Krankheiten bestehen und daß durch besonderes Hervorheben ersterer nur zum besseren Verständnis der bisher ätiologisch noch wenig geklärten Affektionen beigetragen wird. Ich halte es daher für angebracht, in einem besonderen Abschnitte dieser Arbeit auf die eben erwähnten Momente kurz einzugehen.

1. Form, Größe und Vermehrung des Virus.

Die einfachste Form des Protoplasmaklumpchens, die den besten Bedingungen bei der Filtration entspricht, ist zweifellos die Kugelform. Es ist daher nicht ohne Interesse, festzustellen, daß die visiblen, filtrierbaren Erreger, soweit sie uns bis heute bekannt geworden sind, eine gewisse Einförmigkeit ihres mikroskopischen Bildes aufweisen: rundliche oder kugelige, scharfe Konturen aufweisende Körperchen, die, wie es scheint, weder Kapseln besitzen, noch irgend welche Fortsätze oder Geißeln aussenden. Beim Molluscum contagiosum des Menschen konnte ich zwar in mehreren Fällen den Körperchen angeschlossen sehr schwach gefärbte birnförmige Anhänge nachweisen; ihre eventuelle Bedeutung wird erst in einer späteren Arbeit näher gewürdigt werden können.

Die Vermehrung erfolgt offenbar durch Querteilung, indem durch eine fortschreitende Einschnürung des Protoplasmaklumpchens doppel-punktartige Gebilde entstehen, die anfangs noch zusammenhängen, später durch Ausziehen der Verbindungsbrücke auseinanderweichen, um wieder in 2 rundliche Körperchen zu zerfallen. Ich habe diese Formenverhältnisse beim Virus des Epithelioma contagiosum der Tauben näher studiert und die einzelnen Formen als „Kugel-, Doppelpunkt- und Bisquitform“ beschrieben.

Was die Größe betrifft, so schwankt sie um $\frac{1}{4} \mu$ herum; die beschriebenen Körperchen sind also kleiner als alle bisher bekannten Mikroorganismen, immerhin besitzen sie mikroskopische Größe, da sie nie unter $\frac{1}{10} \mu$ fallende Dimensionen aufweisen. Auf Grund zahlreicher

Untersuchungen möchte ich an dieser Stelle ferner anführen, daß ich es für unwahrscheinlich halte, daß es neben den mikroskopisch sichtbaren Elementen etwa auch solche gibt, die sich bei den genannten Affektionen der mikroskopischen Besichtigung entziehen würden. Und schließlich soll noch erwähnt werden, daß keinerlei Anhaltspunkte für die Annahme eines etwa durch einen Entwicklungszyklus bedingten Auftretens morphologisch und vielleicht auch strukturell verschiedener Gebilde vorliegen. Ich kann daher keineswegs Juliusberg beistimmen, der aus der Verlängerung der Inkubationsdauer bei Impfungen mit Taubenpocken filtrat einen Wachstumsvorgang supponiert, bei welchem die großen, zweifellos nicht filtrierbaren, homogenen „Epitheliomkörperchen“ einerseits und das filtrierbare infektiöse Agens andererseits vielleicht nur als verschiedene Fortentwicklungsstufen des Virus in Betracht kämen.

Die beschriebenen Virusarten sind unbeweglich, nur bei der Vaccine glaubt Volpino, daß den von ihm beobachteten kleinsten Körperchen eigene Bewegung zukommt.

Für die derzeit invisiblen Erreger liegt die Annahme nahe, daß sie ebenfalls rundliche oder kugelige Form besitzen; nähere Aufschlüsse werden natürlich erst durch weitere, mit Hilfe besonderer Färbungsmethoden auszuführende Untersuchungen, wenigstens bei einzelnen Affektionen, bringen können.

2. Verhalten zu Farbstoffen.

Wenn auch der Erreger der Peripneumonie der Rinder schon mit Gentianaviolett etc. gefärbt werden kann, so läßt sich immerhin das refraktäre Verhalten der beschriebenen Virusarten zu den gebräuchlichen Färbungsmethoden und ihre ausgezeichnete färberische Darstellung mit Hilfe der Geißelfärbungsmethoden (namentlich nach Loeffler) und nach Giemsa als Regel aufstellen.

3. Verhalten zum Gewebe.

Als eines der wichtigsten Kennzeichen der beschriebenen Virusarten ist die symbiotische Existenz derselben mit den Zellen der befallenen Gewebe anzuführen, während bei den meisten pathogenen Mikroorganismen das extracelluläre Vorkommen als Regel bezeichnet werden kann. Es ist ferner von Wichtigkeit, festzustellen, daß im allgemeinen nur ganz bestimmte Gewebearten vom Virus befallen werden, und daß, wenn auch andere Organe sich als virushaltig erweisen, dies meistens durch keinerlei klinische Symptome zum greifbaren Ausdruck gelangt. Das Molluscum contagiosum des Menschen affiziert ausschließlich die Epidermis; das Epithelioma contagiosum der Tauben nur die Haut und in gewissen Fällen auch die Schleimhaut des Rachens, während die inneren Organe pathologisch-anatomisch nichts Auffälliges zeigen, jedoch virushaltig sind. Das Virus der Peripneumonie der Rinder lokalisiert sich in den Lungen und erzeugt eine schwere Pleuritis; das Lissavirus findet sich nur im Nervensystem und fehlt in den parenchymatösen Organen, während die Infektion mit Hühnerpestvirus fast mit sämtlichen Organen gelingt. Die Affinität einzelner Organe oder gewisser Gewebearten zu dem betreffenden Virus dokumentiert sich auch durch das Auftreten von bestimmten, ganz charakteristischen „Zelleinschlüssen“, die als Folge der durch die Symbiose mit dem parasitischen Virus eingetretenen Schädigung des Protoplasmas oder des Kernes oder beider aufgefaßt werden müssen. Die Literatur über diese meist unter dem Namen „Körperchen“ („Molluscumkörperchen“, Negrische Körperchen“ etc.) bekannten Ein-

schlüsse hat bereits allgemeine Beachtung gefunden, so daß ein näheres Eingehen auf dieselben an dieser Stelle uns überflüssig erscheint. Eines wollen wir jedoch betonen, nämlich daß diese Zelleinschlüsse, deren parasitäre Natur heute von fast sämtlichen Autoren aufgegeben worden ist, nur in ganz bestimmten Geweben oder selbst nur in einzelnen Anteilen derselben (beispielsweise bei Lyssa reichlich im Ammonshorn, hingegen Fehlen im Rückenmark) vorkommen, während das Virus, wie experimentell nachgewiesen werden kann, oft das gesamte Organ oder die ganze befallene Gewebspartie durchsetzt.

4. Die Uebertragung

der besprochenen Virusarten kommt zweifellos sehr häufig durch unmittelbare Berührung zustande. Die Erreger sind im allgemeinen obligate Parasiten; indessen können einzelne derselben (z. B. Taubenpockenvirus), wie noch weiter unten ausgeführt werden wird, auch in der Außenwelt infolge ihrer besonderen Resistenz durch lange Zeit ihre Virulenz bewahren und noch nach 2 Jahren Infektion vermitteln. Beim Molluscum contagiosum des Menschen vermutet Ehrmann, daß die Vermittelung der Infektion durch ein Zwischentier, wahrscheinlich durch *Phthirius pubis*, häufig stattfindet.

5. Die Resistenzverhältnisse

der besprochenen Virusarten schwanken innerhalb weiter Grenzen und sind zum Teil, wie z. B. beim Molluscum contagiosum des Menschen, noch gar nicht näher studiert worden.

Der Erreger der Peripneumonie stirbt schon bei 58° ab, während das Taubenpockenvirus sich physikalischen und chemischen Einflüssen gegenüber äußerst resistent erweist und meines Wissens wohl das widerstandsfähigste Virus darstellt. Diese Eigenschaft gibt wohl die Erklärung für die Tatsache ab, daß Infektionen von Tauben und Hühnern auch ohne direkte Berührung mit kranken Tieren schon mehrfach beobachtet worden sind, indem das resistente Virus selbst nach Desinfektion des Stalles sich noch nach längerer Zeit als virulent erweist.

Das Lissavirus setzt ebenfalls, nach den exakten Untersuchungen von Marie, physikalischen und chemischen Einflüssen einen gewissen Widerstand entgegen.

6. Verhalten zu gewissen Zellgiften.

In Untersuchungen der letzten Zeit wurde der Beeinflussung der filtrierbaren Virusarten durch Saponin, Galle und taurocholsaures Natrium Aufmerksamkeit geschenkt, nachdem es gelungen war, festzustellen, daß das Protoplasma von Protozoen, im Gegensatz zu dem der Bakterien, jedoch mit Ausnahme der Pneumokokken, durch taurocholsaures Natrium aufgelöst wird. Das Hühnerpestvirus wird durch 1-proz. Saponinlösung abgetötet (Landsteiner und Russ), hingegen bleibt das Vaccinevirus nach $\frac{1}{4}$ -stünd. Einwirkung einer 10-proz. Lösung von taurocholsaurem Natrium intakt (v. Provazek). Bei der Taubenpocke fand ich eine gewisse Beeinflussung durch taurocholsaures Natrium, eine viel schwächere durch Saponin. Ich möchte jedoch nicht den Autoren beistimmen, die hauptsächlich aus dem Ausfall derartiger Versuche Schlußfolgerungen auf die tierische oder pflanzliche Natur des studierten Virus zu ziehen geneigt sind. Auch möchte ich aufmerksam machen, daß in den bisherigen Versuchen die quantitativen und zeitlichen Faktoren, die auf den Ausfall derselben zweifellos maßgebend

sind, viel zu wenig berücksichtigt worden sind, und dies mag wohl den Grund für die abweichenden Resultate einzelner Autoren (beispielsweise beim Studium des Hühnerpestvirus) abgeben.

7. Ihre Eigenschaft, bakteriendichte Filter zu passieren.

Neben den Beziehungen, die die beschriebenen Virusarten zum Gewebe aufweisen, ist ihre Eigenschaft, bakteriendichte Filter zu passieren, von größter Bedeutung. Diese Erscheinung kommt jedoch nur unter ganz bestimmten Bedingungen zustande, und auch dann scheint es, daß ein größerer oder kleinerer Bruchteil des Virus im Filter zurückgehalten wird.

Nachdem die für das Zustandekommen der Filtration in Betracht kommenden Momente von ausschlaggebender Wichtigkeit sind, möchte ich dieselben hier nicht unerwähnt lassen.

Das Wesen der Filtration ist uns noch nicht genau bekannt; es läßt sich mit Sicherheit nur so viel aussagen, daß dasselbe von einer großen Reihe von Momenten abhängig erscheint. Eine übersichtliche erschöpfende Darstellung derselben ist mir nicht bekannt; wir müssen uns vielmehr mit einzelnen Angaben, die sich in den Arbeiten der Autoren zerstreut vorfinden, begnügen.

Daß die Filtration eines Virus ausschließlich von der Größe der Filterporen abhängig ist, kann nicht ohne weiteres angenommen werden; konnte doch Borrel in vollkommen einwandfrei ausgeführten Versuchen ein größeres Protozoon (*Micromonas Mesnili*) filtrieren, nachdem schon v. Esmarch vor einer Reihe von Jahren das *Spirillum parvum* filtrierbar fand, also 2 Mikroorganismen, bei denen man auf Grund ihrer Größenverhältnisse wohl kaum die Filtrierbarkeit angenommen hätte. Es müssen daher noch andere Momente bei der Filtration eine nicht unwesentliche Rolle spielen.

Nach Lode wirken Filterkörper aus porösen Massen, wie Kieselguhr oder Porzellanerde, nicht allein durch die Kleinheit der Poren, schon aus dem Grunde, weil die Poren zum größten Teil viel größer sind als die zu filtrierenden Mikroorganismen. Es wurde daher — wie Lode ausführt — der Flächenattraktion als ungleich wichtigerem Faktor bei der Filtration größerer Wert beigelegt. Daß indes die Flächenattraktion bei an der Grenze der Wahrnehmbarkeit befindlichen Mikroorganismen versagen soll, scheint Lode wunderbar. Er möchte daher annehmen, daß die filtrierenden Virusarten keinen starren Aggregatzustand, wie die Bakterienkörper besitzen; er denkt hierbei „an das halbflüssige Protoplasma eines plasmoidalen Körperchens, bei welchem die mannigfachen Anpassungen hinsichtlich der Körpergestalt mikroskopisch verfolgt werden können“.

Diese Ansichten Lodes haben gewiß vieles für sich, indes liegen bisher keine dieselben beweisenden Beobachtungstatsachen vor.

Wenn wir, nach dem Gesagten, über das eigentliche Wesen der Filtration noch nicht vollkommene Klarheit besitzen, so müssen wir doch einer Reihe von Momenten gedenken, die für die Beurteilung der Filtrationsresultate ausschlaggebend sind, und erscheint es um so mehr geboten, dieselben hier anzuführen, weil in der letzten Zeit bei Syphilis und Vaccine ausgeführte Versuche (Jancke, Siegel) diesen Momenten keine oder jedenfalls ungenügend Rechnung getragen haben, derartigen Filtrationsversuchen daher jede Beweiskraft abgesprochen werden muß. Von den zunächst zu besprechenden Faktoren ist zunächst der Grad der Verdünnung des Untersuchungsmateriales, ferner die spontane

Agglutinationsmöglichkeit sowie die Beweglichkeit des Virus anzuführen. Als besonderes Beispiel führe ich die Tatsache an, daß die seröse hochvirulente Flüssigkeit bei der Peripneumonie der Rinder nach der Filtration vollkommen avirulent wird, das Virus offenbar auch nicht in Spuren durchgelassen wurde. Verdünnungen der peripneumonischen Flüssigkeit aufs 10- und mehrfache des Volumens mit Wasser oder einfacher Bouillon ergeben hochvirulentes Material sowie üppig wachsende Kulturen. Die Erklärung für dieses eigentümliche Verhalten ist im Eiweißgehalt der zu filtrierenden Flüssigkeit gegeben, indem konzentrierte Eiweißlösungen Filter nur mit Mühe passieren und auf ihrer Wand eine Schicht ablagern, die die korpuskulären Elemente auffängt, bzw. ihren Durchtritt verhindert.

Ebenso ist es klar, daß die Leichtigkeit des Durchtrittes auch vom sonstigen Zustand des Virus abhängig ist, je nachdem es sich aus einzelnen, isolierten, oder aus miteinander verbackenen oder durch eine fettartige Masse, wie sie beim Taubenpockenvirus von Borrel supponiert wird, zu kleinen Klümpchen und Häufchen verklebten oder auch spontan agglutinierten Elementen zusammensetzt.

Aber selbst bei gelungener Filtration wird ein Teil zurückgehalten und aus der Verdünnung des dabei gewonnenen Materiales erklärt sich ungezwungen die Verlängerung der Inkubation, die man bisher bei Impfungen mit virulentem Filtrat des *Molluscum contagiosum* des Menschen und des *Epithelioma contagiosum* der Tauben beobachtet hat. Es ist daher meines Erachtens gar nicht notwendig, die Annahme von verschiedenen großen Entwicklungsstufen des Virus (Juliusberg), die übrigens auch durch keine weitere Tatsache Bestätigung finden, als Erklärung heranzuziehen. —

Ein weiteres Moment, das die Filtration erleichtert, ist die Beweglichkeit und leichte Flexibilität des betreffenden Mikroorganismus; wenigstens glaubt v. Esmarch beim *Spirillum parvum* derselben Bedeutung beilegen zu dürfen.

Weiter ist anzuführen, daß die Filtration stets unter Zusatz eines Testobjektes (*Bacillus prodigiosus* oder *fluorescens* etc.), unter mäßigem Druck vorgenommen werden und von kurzer Dauer sein soll; durch Anwendung mehrerer Atmosphären und bei lange dauernder Filtration können sicher nicht filtrierende Mikroorganismen durchgepreßt werden und dadurch zu irrtümlichen Resultaten führen.

Schließlich sei erwähnt, daß die im Handel befindlichen Filtersorten meist nicht nach einheitlichen Prinzipien konstruiert werden und daß daher der Vergleich der von verschiedenen Autoren erzielten Resultate oft ein mißlicher ist. Für genaue wissenschaftliche Untersuchungen empfiehlt es sich, wie dies im Institut Pasteur in Paris geschieht ad hoc zu konstruierende, genau kontrollierte Filter zu bestellen.

Ueber die Stellung der in dieser Arbeit angeführten Mikroorganismen im bakteriologischen System läßt sich zurzeit keine abschließende Ansicht aussprechen, da unsere Kenntnisse über diese Gruppe von Erregern noch in vielen Hinsichten recht lückenhafte sind. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß manche der filtrierbaren Virusarten (z. B. die des gelben Fiebers) in die Klasse der Protozoën hineingehören (Remlinger), während andere wieder, wie z. B. das Virus der Peripneumonie der Rinder oder das der Taubenpocke, unseres Erachtens mit

großer Wahrscheinlichkeit als echte Bakterien aufgefaßt werden müssen, wofür auch die kulturelle Erforschung des Peripneumovirus sprechen dürfte. v. Prowazek reiht alle filtrierbaren Erreger in eine Klasse ein, die zwischen Bakterien und Protozoen zu stellen ist und bezeichnet sie als Chlamydozoa. Diese Benennung erscheint mir nicht ganz zweckmäßig, da der Eindruck erweckt werden könnte, als sei das Virus hauptsächlich an das Vorkommen der Einschlüsse (*χλαμύς* = die Hülle) gebunden. Nun läßt sich sowohl bei der Lyssa als auch beim Epithelioma contagiosum der Tauben und bei der Peripneumonie der Rinder der Nachweis leicht erbringen, daß das Virus in enormen Mengen auch in solchen Geweben vorkommt, in denen Einschlüsse entweder vollkommen fehlen oder nur sehr selten sich vorfinden; z. B. im hochvirulenten Rückenmark bei Lyssa oder im Pleuraerguß bei der Peripneumonie der Rinder.

Aber auch die Bezeichnung „ultramikroskopische“, „submikroskopische“ oder „invisible“ Erreger kann nach den Ausführungen dieser Arbeit nicht als wissenschaftlich angenommen werden. Ich schlage daher vor, die hier beschriebenen Virusarten mit dem weniger präjudizierenden Namen Strongylosomen (oder Strongyloplasma) zu belegen (*στρογγύλος* = rund), mit welchem zum Ausdruck gebracht werden soll, daß kleinste runde Protoplasmaklumpchen den Grundtypus der uns bisher bekannten mikroskopisch sichtbaren, filtrierbaren Virusarten darstellen.

In vorliegender Arbeit konnte nur ein kurzer Ueberblick des einschlägigen Materiales gegeben werden; eine erschöpfende Darstellung der Strongyloplasma zu geben, erscheint derzeit unmöglich und muß diese für einen späteren Zeitraum verschoben werden.

Wien, im Mai 1908.

Literatur.

- 1) Babes, Zeitschr. für Hygiene. 1907.
- 2) Bordet, Ref. Bull. de l'Inst. Past. 1907.
- 3) Borrel, Compt. rend. de la soc. de Biol. 1904 u. 1902.
- 4) Burnet, Annales de l'Inst. Past. 1906.
- 5) Carnwarth, Arb. des Kais. Gesundh. 1907.
- 6) Ehrmann in „Anleit. z. histol. Unters. der Haut“.
- 7) v. Esmarch, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII.
- 8) Halberstädter und v. Prowazek, Arb. aus dem Kais. Gesundh. und Deutsche med. Wochenschr. 1907.
- 9) Juliusberg, Deutsche med. Wochenschr. 1904 u. 1905.
- 10) Lipschütz, Wiener klin. Wochenschr. 1907, Dermat. Centralbl. 1907 und Centralbl. f. Bakt. 1908.
- 11) Lode, Centralbl. f. Bakt. 1907.
- 12) Loeffler und Frosch, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIII. 1898.
- 13) Marx und Sticker, Deutsche med. Wochenschr. 1902 u. 1903.
- 14) Nocard und Roux, Annales de l'Inst. Past. 1898.
- 15) Paaschen, Münch. med. Wochenschr. 1906.
- 16) v. Prowazek, Arb. aus dem Kais. Gesundh. 1905 und 1906 und Münch. med. Wochenschr. 1908.
- 17) Remlinger, Bull. de l'Inst. Past. 1906.
- 18) Roux, Bull. de l'Inst. Past. 1903.
- 19) Russ, Arch. f. Hygiene. 1906.
- 20) Volpino, Centralbl. f. Bakt. 1908.

*Nachdruck verboten.***Zur Frage der Eier von *Culex cantans*.**

Antwort an Dr. A. Eysell.

Von **B. Galli-Valerio** und **J. Rochaz de Jongh**.

In Band XLVI dieses Blattes, p. 133, haben wir die Beschreibung der Eier von *Culex cantans* gegeben, die, unseres Wissens wenigstens, noch nie gemacht worden war.

Eysell, p. 717 des gleichen Blattes und gleichen Bandes, obwohl die Genauigkeit unserer Beobachtungen anerkennend, sagt, daß es sich nicht um eine Ausnahme handle, sondern um eine normale Tatsache bei den Eiern der Culicinen. Wenn wir aber Arbeiten zu Rate ziehen, wie diejenigen von Theobald (A monograph of the Culicidae. Vol. I. p. 19. London 1901), Giles (A handbook of the gnats or mosquitoes. 2. ed. p. 123. London 1902), Blanchard (Les moustiques. Paris 1905. p. 147), Howard (Notes on the mosquitoes of the United States. Washington 1900. p. 22) etc., so finden wir immer die Angabe, daß die Eier der Culicinen, mit einigen Ausnahmen (*Stegomyia*, *Mansonia*, *Megarhinus* etc.), kahnartig abgesetzt werden. Eysell (Mense, Handbuch der Tropenkrankheiten. Bd. II. 1905. p. 62) sagt selber, daß die Eier der Culicinen in „kahnförmigen schwimmenden Haufen oder einzeln abgesetzt werden“. Es scheint also doch, und es ist dies hauptsächlich in unseren Gegenden, wo wir unsere Beobachtungen ausführten, der Fall, daß das Absetzen der Eier am häufigsten kahnförmig geschieht. Deshalb haben wir auf die eigenartigen Gelege von *C. cantans* aufmerksam gemacht, die uns eine Ausnahme zu bilden schienen, obwohl wir selber in unserem „Manuel pour la lutte contre les moustiques. Lausanne 1906. p. 20“ daran erinnern, daß außer der Gattung *Stegomyia* andere Culicinengattungen (*Megarhinus*, *Mansonia* etc.) die Eier einzeln absetzen.

Eysell sagt, das Ei von *C. cantans* gleiche den Eiern aller Culicinen. Wir erlauben uns, mit dieser Behauptung nicht einverstanden zu sein. Das von uns beschriebene Ei — und man muß sich nur davon durch Besichtigung unserer Zeichnung überzeugen — hat mit den Eiern der kahnförmig legenden Culicinen nichts gemein; diese sind keulenförmig und nicht spindelförmig, wie das von uns beschriebene Ei.

Die hellen Zwischenräume, die wir am Rande und an der Oberfläche der Eier von *C. cantans* beobachteten, haben wir für dem Ei das Schwimmen ermöglichende Luftkammerchen gehalten. Eysell beschreibt sie als „eine wasserhelle, schleimige Masse“. Wir fanden sie den Luftkammerchen der Anophelinen Eier und derjenigen der von Goeldi (*Os mosquitos no Pará*. p. 125. Pará 1905) beschriebenen Eier von *Megarhinus separatus* sehr ähnlich.

Es freut uns, von Eysell zu vernehmen, daß in unseren Gegenden viele *Culex*-Arten die Eier in gleicher Weise absetzen wie *C. cantans*. Bis jetzt hatten wir noch keine gefunden und wir kannten keine einzige Beschreibung dieser Eier. Es ist dies in solchem Maße wahr, daß die oben angegebenen Arbeiten davon gar nicht sprechen! Wir glaubten, es wäre interessant, auf diese Tatsache aufmerksam zu machen, um einer Verwechslung mit den Eiern von *Stegomyia* vorzubeugen; es steht Eysell frei, diese Gattung nicht anzunehmen, obgleich er in seiner, im

Handbuch der Tropenkrankheiten erschienenen Arbeit nichts davon sagt, und die Gattung angibt, ohne sie weiter zu besprechen, eine Gattung, die in allen Arbeiten über Culiciden, und in allen von gelben Fieber handelnden medizinischen Büchern angenommen und geläufig gebraucht wird.

Lausanne, den 20. Juni 1908.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss von Wärme und Zeit auf den Ablauf der Agglutination.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Jena.
(Direktor: Geh. Hofrat Prof. Dr. Gärtner).]

Von Oberarzt Dr. **Konrich**, komm. zum Institut.

Der Wärme und der Zeit hat man seit der Entdeckung der Agglutination immer eine lebhafte Aufmerksamkeit gewidmet. Ueberblickt man die außerordentlich zahlreichen Arbeiten, die sich mit der Agglutination beschäftigen, so sieht man, daß im Laufe der Zeit die Neigung eingetreten ist, die Beobachtungsdauer des Phänomens zu verlängern, während man hinsichtlich der Temperatur im großen und ganzen die Anwendung der Brutschrankwärme beibehalten hat. Allerdings fehlt es durchaus nicht an Mitteilungen über den Ausfall der Reaktion bei verschiedener Temperatur und nach verschieden langer Zeit; an einem größeren Material, das besonders auch die Normalserumagglutination mit berücksichtigte, ist indessen die Frage bisher systematisch nicht bearbeitet worden. Aus den vorhandenen Literaturangaben sich darüber ein Urteil zu bilden, ist schwierig, teils sind die Versuchsreihen nicht groß genug, teils widersprechen sich die Ergebnisse, teils macht auch die verschiedene Methodik der Untersucher ihre Resultate ungeeignet zum Vergleich. Wenn in den folgenden Ausführungen auf die Literatur nur gelegentlich eingegangen wird, so hat das seinen Grund in der überaus reichen Fülle des einschlägigen Materials, das im einzelnen heranzuziehen sich von selbst verbot.

Für den beabsichtigten Zweck konnte als Arbeitsmethode nur die makroskopische in Betracht kommen: in Reagensgläsern gemessene Serummengen mit gemessenen Bakterienmengen zu versetzen und durch stets gleiches Flüssigkeitsvolumen konstante Emulsionsdichtigkeit zu erzielen. Es wurde deshalb so verfahren, daß mittels Pipetten in die Gläser je $\frac{1}{4}$ ccm der verschiedenen Serumverdünnungen eingefüllt wurde, nachdem die letzteren in der für 1 Tag nötigen Menge in größeren Gläsern stets frisch hergestellt waren. Da es unerlässlich war, die Röhren in kurzer Zeit mit der agglutinablen Substanz zu versetzen, um den Zeitfaktor möglichst genau bestimmen zu können, so mußte von der ursprünglichen Methodik abgesehen werden, in jedes Röhren eine Normalöse der Bakterien zu verreiben. Es fanden statt dessen dichte Emulsionen der Mikroorganismen Verwendung, die mittels Kapillarpipetten dem Serum zugesetzt wurden, worauf durch kräftiges Schütteln gleichmäßige Verteilung erfolgte. Die Bakterienemulsionen wurden stets in der Menge von 0,02 ccm in jedes Röhren gegeben, was einer Normalöse Agarrasen entsprach. Durch eine Reihe von Vorversuchen war diejenige Menge Flüssigkeit ermittelt, welche bei den einzelnen

Arten in 0,02 ccm eine Normalöse Bakterien enthielt — bezogen auf den 18-stündigen Rasen einer Petri-Schalenagarkultur. Die Mischung von Serum und Bakterien erfolgte bei den Reihen, die bei niedrigerer Temperatur gehalten werden sollten, im kalten Raume, nachdem beide Flüssigkeiten die Temperatur des Zimmers angenommen hatten; die übrigen Reihen wurden im geheizten Zimmer angesetzt. Die auf Gestellen geordneten Reihen — in die Gläser kam zuerst die Serumverdünnung, dann die Kultur — wurden zunächst unverzüglich abgelesen und danach in die verschieden temperierten Räume gebracht, und zwar je ein Versuch in den Paraffinschrank, einer in den Brutschrank, einer im Zimmer stehen gelassen, einer im kalten Raume gehalten. Die Wärmegrade betragen 55° , 37° , $17-22^{\circ}$ (Mittel $18,1^{\circ}$), $4-7^{\circ}$ (Mittel 6°); die bei Kälte gehaltenen Röhrrchen wurden stets auch daselbst abgelesen. Die Ablesung erfolgte nach 1, 3, 6, 14—17, 24 Stunden, vielfach, aber nicht regelmäßig, auch noch in den Zwischenzeiten. Zahlreiche, zuerst 24 Stunden bei 6° gehaltene Versuche mit Normalseris blieben weitere 24 Stunden bei 55° und wurden dann nochmals untersucht. Als Verdünnungs- und Emulsionsflüssigkeit diente eine Lösung, die 0,6 Proz. Kochsalz und 0,5 Proz. Formalin enthielt, wodurch eine Vermehrung der Keime verhindert und die Konstanz der agglutinablen Materie erzielt wurde.

Die vielfach geübte Unterscheidung verschieden starker Grade der Agglutination hat mir bei den Versuchen mit Normalseris keine brauchbaren Ergebnisse geliefert, trotzdem einzelne Stämme von diesem oder jenem Normalserum recht energisch verklumpt wurden. Insbesondere bestand durchaus kein Parallelismus zwischen Stärke der Körnchenbildung und mehr oder minder vollständiger Sedimentierung der Bakterien. Häufig war nach längerer Beobachtungszeit (18 Stunden) nur bei niedrigerer Temperatur ($5-20^{\circ}$) in allen Röhrrchen völlige oder teilweise Klärung eingetreten, ohne daß auch nur eine Spur von Agglutination zu sehen gewesen wäre, während andererseits, zumal bei 37° und 55° , eine ziemlich gleichmäßige Trübung in allen Röhrrchen und dennoch eine dem Serumgehalt parallel gehende Körnchenbildung sich zeigte. Die gleiche Bakterienart sedimentierte in einem Serum stark, in einem anderen weit schwächer, gleichgültig, ob das Serum konzentriert oder verdünnt war. Als Agglutination wurde nur die Anwesenheit gleichmäßig großer Körnchen bezeichnet, die in dem schräg gehaltenen Reagensglas in dünner Schicht mit dem unbewaffneten Auge erkennbar waren, nachdem die Röhrrchen kurz und kräftig zwischen zwei Fingern geschüttelt worden waren.

Es kann gleich hier bemerkt werden, daß auf die Sedimentierung in den Normalseris später nicht mehr eingegangen wird, weil irgend eine Regelmäßigkeit darin nicht zutage trat, ausgenommen die Erscheinung, daß bei 55° fast nie und bei 7° ziemlich häufig Sedimentierung erfolgt war, jedoch immer erst nach längerer Zeit; die Brutschrankwärme ähnelte in dieser Richtung dem höheren, die Zimmertemperatur dem niedrigen Wärmegrad.

Die Normalsera entstammten folgenden Species:

- | | | | |
|------------|-------------|---------------|----------------------|
| 1) Mensch, | 4) Ziege, | 7) Hund, | 10) Meerschweinchen, |
| 2) Pferd, | 5) Hammel, | 8) Katze, | 11) Gans, |
| 3) Rind, | 6) Schwein, | 9) Kaninchen, | 12) Ente, |
| | 13) Huhn, | 14) Taube. | |

Die Sera der Arten 2, 3, 5 und 6 waren von einem Individuum entnommen, die übrigen von mehreren.

Folgende Mikroorganismen fanden bei den Normalseris Verwendung (die hinter den einzelnen Arten stehenden Abkürzungen dienen zur Orientierung in den Tabellen):

- 1) 8 Typhusstämme (Ty₁₋₈),
- 2) 1 Paratyphus A-Stamm (PTyA),
- 3) 1 " B- " (PTyB),
- 4) 1 *B. coli commune*-Stamm (Col),
- 5) 3 Stämme Dysenterie Shiga-Kruse (K₁₋₃),
- 6) 1 Stamm " Flexner (F),
- 7) 1 " Pseudodysenterie (PD),
- 8) 1 " Cholera (Chol),
- 9) 1 " *Vibrio Metschnikow* (Met),
- 10) 1 " *Bact. prodigiosum* (Prod),
- 11) 1 " " *pyocyaneum* (Pyoc),
- 12) 1 " " *enteritidis* Gärtner (G),
- 13) 1 " *Micrococcus intracellularis* Weichselbaum (Men).

Auf die vollständige Wiedergabe aller Versuchsprotokolle verzichte ich wegen ihrer Länge, sondern sichte das erhaltene Zahlenmaterial nach bestimmten Gesichtspunkten, zumal Einzelzahlen hier eine ganz untergeordnete Bedeutung haben und nur Durchschnittswerte größerer Versuchsreihen entscheidenden Wert beanspruchen können. Die Versuchsergebnisse umfassen mehr als 20000 Einzelziffern; ich erwähne diesen Umstand lediglich deswegen, um die am Schluß ausgesprochene, die Praxis der Agglutination betreffende Forderung hinlänglich zu begründen.

Berechnet man den Mittelwert, der sich aus den von allen Bakterienstämmen in jedem einzelnen Serum unter irgend welchen Bedingungen überhaupt erreichten Höchstwerten ergibt, so bekommt man folgende Reihenfolge der Sera in bezug auf ihre Agglutinationskraft; und setzt man die Agglutinationskraft des schwächsten Serums gleich 1, so erhält man für die übrigen Sera folgende Werte:

Hammel	10,2	Huhn	3,5	Ente	2,5	Taube	1,8
Pferd	8,0	Hund	3,5	Kaninchen	2,4	Meerschweinchen	1,7
Schwein	5,2	Rind	3,2	Katze	2,2	Gans	1,6
		Mensch	1,5	Ziege	1,0.		

Das ist eine Reihenfolge, die von der durch Bürgi¹⁾ kürzlich gefundenen zwar im einzelnen nicht unwesentlich abweicht, im großen und ganzen aber seine Untersuchungen bestätigt. Nach seinen Ergebnissen agglutinieren in abnehmender Stärke die Sera von

- | | | |
|-----------|----------------------|---------------|
| 1) Rind, | 4) Hammel, | 7) Hund, |
| 2) Pferd, | 5) Huhn, | 8) Kaninchen, |
| 3) Ziege, | 6) Gans, | 9) Mensch, |
| | 10) Meerschweinchen. | |

Das Schweine-, Tauben-, Enten- und Katzenserum hat Bürgi nicht benutzt. Die stärksten Unterschiede zwischen seinen und meinen Resultaten finden sich beim Ziegenserum, das in Bürgis Versuchen eine ziemlich starke, in meinen eine recht schwache Agglutinationskraft besaß. Abgesehen von der bekannten Tatsache, daß die Sera verschiedener Individuen derselben Species oft verschieden stark agglutinieren, wird die Ursache des angeführten Unterschiedes wohl auch darin zu suchen sein, daß ich die Sera zweier jungen Tiere benutzte, bei denen ein geringer Gehalt der normalen Antikörper ja gewöhnlich gefunden wird. Wie weiterhin gezeigt werden wird, dürfte die verschiedene Versuchs-

1) Arch. f. Hygiene. Bd. LXII.

anordnung, die Bürgi und ich gebraucht haben, den Vergleich der Ergebnisse durchaus zulassen; B. ließ seine Röhren zuerst 2 Stunden bei 37° und dann bis zum nächsten Tage bei Eisschranktemperatur stehen, worauf die endgültige Ablesung erfolgte.

Erheblich Agglutinationskraft besaß besonders das zuerst verwendete Hammelserum; nach den mit einem anderen Hammelserum und einem Teil der Bakterienstämme wiederholten Versuchen würde es an die zweite Stelle gerückt werden müssen.

Die Bakterienstämme zeigten in allen Seris konstant ihre größere oder geringere Agglutinabilität. Von einigen Seris wurden alle verklumpt, von den schwächer wirkenden dagegen nur diejenigen, die von den stärkeren Seris ziemlich hoch beeinflusst wurden, während die träg agglutinablen darin völlig unbeeinflusst blieben. Berechnet man die Mittelwerte, die sich aus den von den einzelnen Stämmen überhaupt erreichten Höchstziffern ergeben, so ergeben sich folgende Zahlen:

Ty ₁ = 19,2	PTyA = 9,6	Chol = 19,2
Ty ₂ = 22,0	PTyB = 10,9	Met = 12,6
Ty ₃ = 30,5	Col = 12,0	Prod = 3,2
Ty ₄ = 21,0	K ₁ = 29,2	Pyoc = 6,2
Ty ₅ = 17,4	K ₂ = 19,7	EntG = 5,2
Ty ₆ = 27,0	K ₃ = 14,0	Men = 11,0
Ty ₇ = 21,0	„Mittel“ = 20,9	
Ty ₈ = 18,0	F = 43,9	
Mittel = 22,1	PD = 7,4	

Die Typhusstämmen weichen wenig in ihren Werten voneinander ab; auch No. 7 und 8, die als schwer agglutinabel bekannt waren, zeigen diese Eigenschaft im Normalserum nicht. Die hohen Werte des Flexner-Stammes überraschten nicht, weil er, wie das schon von mehreren Seiten für diese Art beschrieben ist, eine ungewöhnlich hohe Agglutinabilität besaß.

Nach solchen allgemeinen Ergebnissen gehe ich dazu über, die Wirkung von Wärme und Zeit auf die Reaktion aus den Protokollen zu ermitteln, indem ich wiederum nur die Mittelwerte gebe. Die Zahlen sind in der Weise berechnet, daß die Werte, die von den einzelnen Stämmen in allen Seris bei bestimmter Temperatur und nach bestimmter Zeit erreicht wurden, zusammengezählt und die Summe durch die Anzahl der Sera dividiert wurde. Die Agglutinationskraft aller Sera erscheint daher wie die eines einzigen Serums, so daß die Einflüsse, die Wärme und Zeit auf die agglutinierende Substanz ausüben, am klarsten hervortritt, weil Abweichungen, die durch ein besonderes Verhalten des einen oder anderen Serums bedingt sein könnten, ausgeschaltet sind; solche Sonderstellungen fanden sich übrigens in ausgesprochenem Grade niemals. Die wagerechten Reihen neben „Mittel“ bedeuten weiterhin die Durchschnittszahlen, die aus den über ihnen stehenden Ziffern berechnet sind — stellen also den Zeitfaktor absolut genommen dar, da alle Temperaturen in ihm gleichmäßig verwendet sind. Die senkrechten Reihen unter Mittel endlich enthalten die Mittelwerte, die sich aus den links von ihnen stehenden Zahlen ergeben; sie sind demgemäß der Ausdruck der reinen Temperaturwirkung. Von den beiden im Versuch arbeitenden Faktoren: Bakterium und Serum (agglutinable und agglutinierende Substanz) ist somit in dieser Tabelle nur der letztere auf die Einheit gebracht; der erstere erscheint in der ursprünglichen Form als Vielheit.

Stunden	Ty _e				Mittel	Ty _r				Mittel	Ty _a				Mittel	PTyA				Mittel	PTyB				Mittel
	1	3	16	24		1	3	16	24		1	3	16	24		1	3	16	24		1	3	16	24	
7°	3,7	6,4	9,3	13,7	8,2	4,0	6,7	10,3	10,7	7,9	5,6	16,0	20,6	19,0	15,3	3,2	8,5	14,0	13,0	9,6	2,6	4,5	12,5	12,1	9,9
20°	4,3	7,5	9,7	12,0	8,3	5,1	10,8	15,1	13,8	12,7	4,9	9,5	16,0	20,3	12,6	3,7	12,0	12,7	12,7	10,2	3,0	6,2	12,5	12,0	8,4
37°	3,9	5,8	9,5	11,0	7,5	4,7	7,5	12,7	13,2	9,5	4,8	11,8	19,3	19,3	13,3	2,7	8,5	16,0	14,2	10,3	2,6	6,5	13,0	14,0	10,2
55°	3,2	6,8	9,5	12,7	8,0	4,2	7,8	14,3	12,7	9,7	3,3	6,5	14,2	12,7	9,1	3,2	6,8	11,1	11,1	8,0	2,5	4,0	11,1	11,7	7,3
Mittel	3,7	6,9	9,5	12,3		4,5	5,9	13,1	13,1		4,6	10,2	17,3	17,8		3,2	8,9	13,4	12,7		2,6	5,3	12,2	12,4	
Stamm	Ty _e																								
Stunden	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel
7°	6,7	15,5	21,2	21,2	16,1	2,8	8,6	9,3	9,5	7,5	3,3	6,7	11,0	11,8	8,2	2,2	3,4	5,2	5,1	3,9	2,6	5,7	7,7	8,1	6,0
20°	6,7	19,2	22,1	22,0	17,5	4,1	8,4	12,4	13,0	9,4	4,9	8,2	11,7	13,3	9,5	2,4	5,7	7,5	7,5	5,7	3,0	4,5	6,7	9,1	5,7
37°	6,9	18,4	17,5	18,5	15,3	4,7	7,5	14,0	18,5	11,1	3,0	4,9	8,7	12,2	7,2	0,3	1,8	4,0	4,7	2,7	1,1	2,7	5,1	5,7	3,6
55°	6,0	12,2	14,9	18,8	12,9	2,4	5,2	6,0	7,0	5,1	2,8	4,2	8,5	8,9	7,1	0,3	0,5	2,5	2,9	1,5	0,1	1,0	2,6	2,7	1,6
Mittel	6,5	16,3	18,9	20,1		3,5	7,4	10,4	12,0		3,4	6,0	9,9	12,5		1,4	2,8	4,8	5,0		1,7	4,4	5,5	6,1	
Stamm	Col																								
Stunden	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel
7°	3,1	3,1	4,5	5,7	4,1	7,6	14,0	19,3	20,1	15,2	1,3	3,3	10,2	9,0	5,9	2,7	4,5	9,9	10,1	6,8	14,0	20,3	34,5	36,9	26,5
20°	3,3	4,2	5,8	6,3	4,9	11,7	13,3	20,8	22,8	18,1	1,7	3,5	11,0	12,0	6,8	2,2	5,1	10,7	13,0	7,7	12,5	22,6	38,9	43,2	29,3
37°	3,3	4,4	7,9	8,0	5,9	10,3	16,1	22,2	22,6	17,8	1,5	3,5	8,7	14,2	6,9	1,0	5,2	9,2	9,7	6,2	12,2	20,1	27,0	33,5	23,2
55°	3,5	6,2	5,6	7,0	6,0	3,9	5,8	9,7	11,3	7,7	0,2	0,8	2,5	3,5	1,7	0,3	0,3	3,6	3,7	1,9	14,5	19,2	16,5	17,1	16,8
Mittel	3,8	4,4	4,9	6,7		8,3	12,3	18,0	19,2		1,0	2,7	8,1	9,6		1,5	3,7	8,3	9,1		13,3	20,5	29,3	32,6	
Stamm	Chol																								
Stunden	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel
7°	1,0	2,1	3,8	5,3	3,0	1,8	3,4	7,0	7,5	4,9	1,0	3,2	10,0	9,7	5,9	0,1	0,2	1,7	1,7	0,9	1,2	1,7	4,0	4,5	2,8
20°	1,7	3,5	5,8	6,4	4,3	3,3	5,4	12,5	14,7	8,9	1,6	4,3	6,0	4,9	4,2	0,1	0,7	1,5	1,5	0,9	1,2	3,2	4,8	5,1	3,5
37°	1,7	4,7	6,7	7,1	5,0	2,4	4,2	7,7	13,7	7,4	0,7	7,8	1,9	2,0	3,1	0,1	1,0	1,7	2,1	1,2	1,0	3,5	4,7	4,1	3,3
55°	1,5	5,7	6,4	5,1	4,6	1,2	3,1	10,3	11,1	6,4	0,0	0,7	0,3	0,5	0,3	0,1	0,5	2,2	2,2	1,2	0,3	1,0	4,7	2,6	2,1
Mittel	1,4	4,0	5,6	5,9		2,4	4,0	9,3	11,8		0,8	4,0	4,5	4,2		0,1	0,6	1,7	1,8		0,9	2,3	4,5	4,0	
Stamm	Met																								
Stunden	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel
7°	0,1	0,2	1,0	1,7	0,7	0,1	0,1	1,2	2,2	2,7	0,7	0,7	1,5	1,7	1,5	0,7	0,7	1,5	1,5	0,9	1,2	1,7	4,0	4,5	2,8
20°	0,1	1,2	2,2	2,7	1,5	0,1	1,2	2,5	4,2	2,7	1,5	1,5	2,5	4,2	2,2	0,1	1,4	3,2	2,2	1,2	1,0	3,5	4,7	4,1	3,3
37°	0,1	1,9	3,8	4,2	3,3	0,1	1,9	3,8	4,2	3,3	0,5	1,4	2,5	3,3	2,6	0,5	1,2	2,0	2,0	1,2	0,5	1,2	2,0	2,0	2,0
55°	0,1	1,4	2,5	3,3	3,3	0,1	1,4	2,5	3,3	3,3	0,5	1,4	2,5	3,3	2,6	0,5	1,2	2,0	2,0	1,2	0,5	1,2	2,0	2,0	2,0
Mittel	0,4	1,7	2,5	2,9		0,7	1,7	2,1	2,9		0,7	2,1	2,1	2,9	4,8		1,7	2,1	2,9		0,7	2,1	2,1	2,9	4,8
Stamm	G																								
Stunden	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel
7°	0,1	0,2	1,0	1,7	0,7	0,1	0,1	1,2	2,2	2,7	0,7	0,7	1,5	1,7	1,5	0,7	0,7	1,5	1,5	0,9	1,2	1,7	4,0	4,5	2,8
20°	0,1	1,2	2,2	2,7	1,5	0,1	1,2	2,5	4,2	2,7	1,5	1,5	2,5	4,2	2,2	0,1	1,4	3,2	2,2	1,2	1,0	3,5	4,7	4,1	3,3
37°	0,1	1,9	3,8	4,2	3,3	0,1	1,9	3,8	4,2	3,3	0,5	1,4	2,5	3,3	2,6	0,5	1,2	2,0	2,0	1,2	0,5	1,2	2,0	2,0	2,0
55°	0,1	1,4	2,5	3,3	3,3	0,1	1,4	2,5	3,3	3,3	0,5	1,4	2,5	3,3	2,6	0,5	1,2	2,0	2,0	1,2	0,5	1,2	2,0	2,0	2,0
Mittel	0,4	1,7	2,5	2,9		0,7	1,7	2,1	2,9		0,7	2,1	2,1	2,9	4,8		1,7	2,1	2,9		0,7	2,1	2,1	2,9	4,8
Stamm	Men																								
Stunden	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel
7°	0,1	0,2	1,0	1,7	0,7	0,1	0,1	1,2	2,2	2,7	0,7	0,7	1,5	1,7	1,5	0,7	0,7	1,5	1,5	0,9	1,2	1,7	4,0	4,5	2,8
20°	0,1	1,2	2,2	2,7	1,5	0,1	1,2	2,5	4,2	2,7	1,5	1,5	2,5	4,2	2,2	0,1	1,4	3,2	2,2	1,2	1,0	3,5	4,7	4,1	3,3
37°	0,1	1,9	3,8	4,2	3,3	0,1	1,9	3,8	4,2	3,3	0,5	1,4	2,5	3,3	2,6	0,5	1,2	2,0	2,0	1,2	0,5	1,2	2,0	2,0	2,0
55°	0,1	1,4	2,5	3,3	3,3	0,1	1,4	2,5	3,3	3,3	0,5	1,4	2,5	3,3	2,6	0,5	1,2	2,0	2,0	1,2	0,5	1,2	2,0	2,0	2,0
Mittel	0,4	1,7	2,5	2,9		0,7	1,7	2,1	2,9		0,7	2,1	2,1	2,9	4,8		1,7	2,1	2,9		0,7	2,1	2,1	2,9	4,8

Aus dieser Tabelle geht mit voller Sicherheit hervor, daß der Einfluß der Wärme auf den Ablauf der Agglutination nicht sehr groß ist. Die nach gleicher Zeit bei verschiedener Temperatur abgelesenen Werte weichen nicht stark voneinander ab, wenn auch im großen und ganzen höhere Wärmegrade etwas höhere Ziffern liefern als niedrigere. Es besteht aber durchaus kein Parallelismus zwischen Höhe der Temperatur und der dabei abgelesenen Werte. Im Gegenteil bleiben die Zahlen, bei 55° gewonnen, fast überall hinter denen bei geringerer Wärme erhaltenen zurück. Jedoch finden sich unter den einzelnen Bakterienarten hinsichtlich des Wärmeverhaltens gewisse Unterschiede, besonders was das Temperaturoptimum für das Erreichen der Höchstwerte angeht. Die Typhusstämme, die unter sich hierin gleichartig erscheinen, bevorzugen die Brutschrankwärme; Zimmertemperatur ergibt aber kaum geringere Werte. Die Paratyphusstämme legen eine ausgesprochene Vorliebe für die letztere Temperatur an den Tag. Die Kruse- und Flexner-Stämme ergeben ebenfalls bei 20—37° die besten Resultate, *B. coli* hingegen bei höherer Wärme. Das Gegenteil zeigt der *Vibrio Metschnikow*. Cholera, *Prodigosus* und *Pyocyaneus* verhalten sich ziemlich gleichgültig. PDys und EntG bevorzugen höhere Temperaturen, Men niedere. Man kann daher wohl sagen, daß jede Bakterienart, im Normalserum wenigstens, eine Vorliebe für eine bestimmte Temperatur hat, bei der sie am stärksten agglutiniert wird. In voller Uebereinstimmung mit dieser Annahme steht die Tatsache, daß bei dem Bakterien-species-Temperaturoptimum die Agglutination regelmäßig am schönsten sichtbar wurde, indem dabei die Körnchen stets am größten waren, während bei gleichem Wert unter anderen Temperaturen die Körnchenbildung schwächer blieb. Also auch qualitativ macht sich für die verschiedenen Stämme die Wärme in gleicher Richtung bemerkbar. Ferner ergibt sich, daß die gemeinsame Wirkung von Wärme und Zeit nicht imstande ist, die Ziffern wesentlich zu verschieben. Da ein mäßiger beschleunigender Einfluß der Wärme durchweg statthat, könnte man erwarten, daß das Produkt aus Wärme und Zeit ungefähr konstant sei, und zwar so, daß ein Stamm um so eher seinen Höchstwert erreiche, je höher die einwirkende Temperatur sei; dem ist aber nicht so, vielmehr ist die Vorliebe der einzelnen Arten für bestimmte Temperaturen von maßgebender Bedeutung.

Erheblich größere Unterschiede, als sie durch Wärmeeinfluß bedingt werden, finden sich in der Wirkung der Zeit auf die Reaktion. Insbesondere ist die Gesetzmäßigkeit bemerkenswert, die in dieser Richtung sich bemerkbar macht. Bei allen Stämmen tritt ausnahmslos eine Steigerung der Werte mit verlängerter Beobachtungsdauer ein, die nach 3 Stunden gegenüber den nach 1 Stunde abgelesenen Ziffern schon erheblich ist und noch größer nach 14—16 Stunden wird; bis zu 24 Stunden erfolgt dann noch eine unwesentliche Zunahme. Dieses Verhalten ist die Regel; im einzelnen finden sich bei den Stämmen darin kleinere Abweichungen. So erfahren die Paratyphusstämme, die Dysenteriestämme, *Prodigosus* und *Meningococcus* nur noch eine unwesentliche Werterhöhung, wenn die Beobachtungsdauer über 16 Stunden ausgedehnt wird, während dadurch bei den Typhusstämmen, *B. coli*, Cholera und Enteritis-Stamm immerhin noch eine beachtenswerte Steigerung stattfindet. Nur beim *Vibrio Metschnikow* und *Bac. pyocyaneus* tritt bei ausgedehnter Beobachtungszeit ein ganz geringer Rückgang der Höchstwerte ein.

Der außerordentlich starke Einfluß der Zeit auf die Agglutination geht aus den Mittelzahlen hervor, die man erhält, wenn man den Durchschnitt aus den sämtlichen Werten aller Stämme in allen Seris bei den vier verwendeten Temperaturen nach bestimmter Zeit berechnet. Man erhält dann als Gesamtmittel nach

	1 Stunde	3 Stunden	16 Stunden	24 Stunden
	3,1	6,1	9,8	10,7
Ermittelt man in analoger Weise das Gesamtmittel bei den vier verschiedenen Temperaturen, so erhält man bei				
	7°	20°	37°	55°
	11,7	13,9	12,4	8,7

Selbstverständlich geht es nicht an, diese Gesamtmittelzahlen miteinander zu vergleichen, dazu sind die Voraussetzungen zu verschieden. Aber die Ziffern zeigen, soweit Zeit und Wärme in ihrer Wirkung auf die Reaktion überhaupt sich trennen lassen, doch den wichtigen Einfluß der beiden Faktoren. Die Ausdehnung der Versuche berechtigt wohl, zu sagen, daß die Zeit weitaus stärker auf die Reaktion wirkt als die Wärme.

Nachdem in der ersten Tabelle die verschiedenen Sera auf die Wirkung eines einzigen reduziert waren, während die einzelnen Bakterienstämme in den Originalmittelwerten erschienen, sind in der folgenden Tabelle die Mittelzahlen verzeichnet, die sich bei Umkehrung der Rechnung ergeben; nämlich die Bakterienstämme erscheinen hier auf die Einheit gebracht und die Sera in ursprünglicher Vielheit — also in Tabelle 1 die agglutinierende Substanz als Resultante, die agglutinable aber in Komponentenform, in Tabelle 2 umgekehrt, gewissermaßen als Kontrollrechnung. Waren die aus der ersten Tabelle abgeleiteten Folgerungen richtig, so muß die zweite Tabelle (p. 99) sie bestätigen.

Die Tabelle bestätigt durchaus die Ergebnisse der ersten Berechnung; der Einfluß der Wärme ist von weit geringerer Bedeutung als derjenige der Zeit. Die Durchschnittswerte der höheren Temperaturen bleiben zum Teil sehr erheblich hinter denen niedrigerer Wärmegrade zurück. Im allgemeinen erzielen die 3 niedrigsten Temperaturen gleiche Zahlen, nur das Kaninchen- und Enten-, etwas schwächer auch noch das Taubenserum zeigen schon bei 37° eine geringere Agglutinationskraft als bei 20°; die höchste Wärme bedingt aber auch bei diesen wie bei allen anderen Seris stark verminderte Werte. Die einzige Ausnahme bildet das Hundeserum, daß gerade bei der höchsten Wärme die besten Resultate liefert. Hinsichtlich der Zeitwirkung tritt wieder die gleiche Erscheinung wie in der ersten Tabelle hervor; die nach 3 Stunden abgelesenen Werte sind gegenüber den nach 1 Stunde erhaltenen bereits beträchtlich erhöht und steigen nach 16-stündiger Beobachtung noch erheblich; noch 24-stündigem Warten tritt dann noch eine kleine Zunahme ein. Allerdings verhalten sich nicht alle Sera hinsichtlich der Zeitwirkung gleich. Das Menschen- und Pferdeserum erfährt nach der längsten Beobachtungsdauer eine noch ziemlich lebhafteste Steigerung, während das Katzenserum dadurch sogar einen leichten Wertverlust erleidet. Wie für jede Bakterienart, so existiert auch für jedes Serum ein Temperatur-optimum, bei dem es am stärksten agglutiniert; jedoch zeigt sich diese Erscheinung bei der agglutinierenden Substanz in weit schwächerem Grade als bei der agglutinablen Substanz.

Berechnet man in analoger Weise wie bei der ersten Tabelle die Gesamtmittelzahlen, die sich aus allen bei den verschiedenen Zeiten in

Species	Mensch					Pferd					Rind					Ziege					Hammel												
	1			24		1			16		24		1			16		24		1			16		24		1			16		24	
	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel			
7°	0,0	0,8	2,2	4,0	1,7	6,6	15,9	23,5	27,1	17,7	5,6	8,8	8,8	9,5	8,2	0,3	1,1	1,9	2,2	1,3	9,7	21,7	32,3	33,0	24,1	14,0	22,0	29,5	32,6	24,5			
20°	0,0	1,3	3,6	5,5	2,6	6,4	18,7	25,6	33,6	21,0	4,5	8,0	11,2	11,8	8,8	0,2	1,0	3,2	3,5	2,2	14,0	22,0	29,5	32,6	24,5	14,0	22,0	29,5	32,6	24,5			
37°	0,0	2,2	4,8	7,0	3,5	7,3	20,4	30,4	38,6	24,1	3,5	6,1	9,0	10,3	7,2	0,0	1,7	3,1	3,3	2,0	14,0	22,0	29,5	32,6	24,5	14,0	22,0	29,5	32,6	24,5			
55°	0,0	2,6	4,6	5,5	3,1	10,2	15,4	18,9	21,7	16,5	1,8	6,6	5,1	4,5	4,5	0,0	0,4	2,4	2,9	1,4	11,5	19,4	28,1	31,0	22,0	11,5	19,4	28,1	31,0	22,0			
Mittel	0,0	1,7	3,8	5,5		7,6	17,1	24,6	30,0		3,8	7,3	8,5	9,0		0,1	1,0	2,6	2,9		12,3	22,8	30,8	33,5		12,3	22,8	30,8	33,5				

Species	Schwein					Hund					Katze					Kaninchen					Meerschweinchen												
	1			24		1			16		24		1			16		24		1			16		24		1			16		24	
	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel			
7°	9,7	13,2	17,3	16,4	14,1	3,2	4,7	9,6	8,7	6,5	4,8	6,6	7,2	7,6	6,4	1,6	5,0	9,4	11,2	6,8	0,7	2,5	8,0	7,2	4,6	0,7	2,5	8,0	7,2	4,6			
20°	10,1	15,1	20,0	19,4	16,1	3,3	4,7	11,2	10,3	7,3	5,0	7,0	7,7	7,3	6,7	1,6	5,3	9,2	10,0	6,0	0,9	2,9	3,5	4,4	2,9	0,9	2,9	3,5	4,4	2,9			
37°	8,2	10,2	14,8	18,5	12,9	2,2	3,2	6,0	8,3	5,4	4,3	6,6	7,8	7,0	6,4	0,6	2,5	4,2	4,2	2,8	0,9	3,6	3,0	3,0	2,6	0,9	3,6	3,0	3,0	2,6			
55°	3,3	3,0	4,4	5,1	3,9	2,2	4,5	13,7	13,7	8,5	2,2	2,2	2,3	2,1	2,2	0,3	1,1	2,8	3,2	1,8	0,9	2,1	2,1	2,1	1,8	0,9	2,1	2,1	2,1	1,8			
Mittel	7,8	10,3	14,6	14,8		2,6	4,2	10,1	10,2		4,0	5,6	6,2	5,8		1,0	3,4	6,4	7,1		0,8	2,7	4,2	4,4		0,8	2,7	4,2	4,4				

Species	Gans					Ente					Huhn					Tauben																	
	1			24		1			16		24		1			16		24		1			16		24		1			16		24	
	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel	1	3	16	24	Mittel			
7°	0,0	1,2	4,8	6,0	3,0	1,0	2,9	7,1	7,1	4,5	2,9	5,0	9,7	11,6	9,8	0,3	1,4	4,4	4,5	2,6	0,3	1,4	4,4	4,5	2,6	0,3	1,4	4,4	4,5	2,6			
20°	0,0	1,4	6,7	7,6	3,9	1,5	4,4	9,0	9,0	6,0	5,0	7,5	11,6	13,1	9,3	0,1	2,0	8,2	7,9	4,5	0,1	2,0	8,2	7,9	4,5	0,1	2,0	8,2	7,9	4,5			
37°	0,0	1,5	7,0	7,9	4,1	0,5	1,5	4,6	4,2	2,7	3,6	6,9	10,2	10,8	7,8	0,0	2,2	4,2	3,7	2,5	0,0	2,2	4,2	3,7	2,5	0,0	2,2	4,2	3,7	2,5			
55°	0,0	2,0	4,7	5,2	2,9	0,4	1,1	3,4	3,0	2,2	4,0	5,4	7,2	8,4	6,2	0,0	0,0	0,6	0,9	0,3	0,0	0,0	0,6	0,9	0,3	0,0	0,0	0,6	0,9	0,3			
Mittel	0,0	1,5	5,8	6,6		0,8	2,4	6,0	5,8		3,8	6,2	9,7	10,9		0,1	1,4	3,8	4,2		0,1	1,4	3,8	4,2		0,1	1,4	3,8	4,2				

allen Seris von allen Stämmen abgelesenen Ziffern ergeben, so bekommt man folgende Zahlen:

Nach Stunden	1	3	16	24
	3,0	6,6	9,7	10,1

Die in gleicher Weise ermittelten Gesamtdurchschnittsziffern bei den 4 verschiedenen Temperaturen lauten bei

7°	20°	37°	55°
7,9	8,7	8,0	5,5

Wie aus den oben angeführten Gesamtmittelzahlen, geht auch aus diesen hervor, daß bei der Normalserumagglutination die Länge der Beobachtungsdauer für das Ergebnis von ausschlaggebender Bedeutung ist, während der Wärme ein weit geringerer Einfluß zukommt; jedoch sind die Zimmertemperatur und Brutschrankwärme am zweckmäßigsten.

Mit wenig Worten können die Versuche gestreift werden, bei denen die Röhrchen zuerst 24 Stunden bei 7° und dann ebensolange bei 55° und umgekehrt standen; reichlich ein Viertel aller Versuche ist derart angestellt. Es zeigte sich, daß die höhere Temperatur einen mäßigen Rückgang, und die niedrigere eine geringe Steigerung verursachten, beides aber nur in engen Grenzen. Die Wärmewirkung trat also in gleicher Weise in die Erscheinung, wie in den anderen Versuchen.

Die Versuche mit Immunserum wurden in der gleichen Weise angestellt. Als Serum liefernde Tiere dienten ausschließlich Kaninchen. Die stärkste verwendete Serumkonzentration betrug 1 : 20, einmal, um mit dem Serumvorrat auszukommen, ferner aber auch, weil die Werte des normalen Kaninchenserums fast allen Stämmen gegenüber meistens weit unter 1 : 20 blieben, eine Steigerung des Agglutiningehaltes infolge der Immunisierung also nicht verborgen bleiben konnte. Folgende Immunsera fanden Verwendung:

- 1) 3 verschiedene Typhussera (1 : 400 000, 1 : 40 000, 1 : 10 000),
- 2) 2 " Paratyphus A-Sera (1 : 10 000, 1 : 5000),
- 3) 3 " B-Sera (1 : 20 000, 1 : 10 000, 1 : 15 000),
- 4) 1 Coli-Serum (1 : 2000),
- 5) 2 Shiga-Kruse-Sera (1 : 3000, 1 : 2000),
- 6) 2 Flexner-Sera (1 : 20 000, 1 : 5000),
- 7) 2 Choleraseras (1 : 20 000, 1 : 5000),
- 8) 1 Vibrio-Metschnikow-Serum (1 : 500),
- 9) 1 Pyocyaneus-Serum (1 : 1000),
- 10) 1 Prodigiosus-Serum (1 : 5000),
- 11) 1 Meningokokkenserum (1 : 2000).

Mit diesen Seris wurden folgende Bakterienarten untersucht:

- 1) 6 Typhusstämmen,
- 2) 2 Paratyphus A-Stämme,
- 3) 4 " B-Stämme,
- 4) 1 Coli-Stamm,
- 5) 2 Stämme Bact. enteritidis Gärtner,
- 6) 4 " Dysenterie Shiga-Kruse,
- 7) 4 " Dysenterie Flexner,
- 8) 2 " Cholera,
- 9) 1 Stamm Vibrio Metschnikowii,
- 10) 1 " Bact. Pyocyaneum,
- 11) 1 " Bact. Prodigiosum,
- 12) 2 Stämme Meningokokken.

Da sich aus den Protokollen über die Immunserumversuche Mittelzahlen wie bei den Normalseris nicht berechnen lassen, folgen die Tabellen

Stunden	7°						20°					
	0	1	3	6	14	24	0	1	3	6	14	24
Ty ₁	100 oberer 100 unterer	5 000 75	10 000 75	50 000 75	100 000 75	100 000 75	500 500	10 000 300	10 000 200	50 000 200	200 000 70	300 000 60
Ty ₂	200 oberer 200 unterer	20 000 75	20 000 75	50 000 75	200 000 75	500 000 75	500 500	20 000 400	20 000 300	70 000 200	200 000 75	600 000 60
Ty ₃	100 oberer 100 unterer	10 000 75	10 000 75	20 000 75	100 000 75	100 000 75	700 700	10 000 400	20 000 300	30 000 200	50 000 80	200 000 60
Ty ₄	200 oberer 200 unterer	10 000 75	10 000 25	10 000 25	20 000 20	20 000 20	400 400	5 000 200	10 000 100	10 000 70	5 000 60	5 000 50
Ty ₅	100 oberer 100 unterer	2 000 100	5 000 100	10 000 100	20 000 100	20 000 100	500 500	2 000 100	20 000 70	20 000 70	20 000 50	20 000 30
Ty ₆	50 oberer 50 unterer	2 000 75	2 000 75	20 000 75	20 000 75	50 000 75	50 50	500 50	10 000 50	10 000 30	10 000 30	10 000 30
Ty ₁	500 oberer 500 unterer	200 000 100	200 000 80	300 000 80	500 000 70	500 000 50	500 500	10 000 80	10 000 50	100 000 30	300 000 20	400 000 20
Ty ₂	500 oberer 500 unterer	20 000 100	20 000 70	200 000 70	400 000 50	400 000 30	500 500	10 000 80	10 000 50	200 000 20	600 000 20	500 000 20
Ty ₃	500 oberer 500 unterer	20 000 100	20 000 70	300 000 70	300 000 50	300 000 20	700 700	10 000 80	10 000 30	300 000 20	300 000 20	300 000 20
Ty ₄	400 oberer 400 unterer	10 000 100	10 000 50	20 000 50	20 000 30	20 000 20	400 400	5 000 100	5 000 50	10 000 50	100 000 50	20 000 50
Ty ₅	500 oberer 500 unterer	10 000 100	20 000 70	20 000 70	20 000 60	20 000 60	500 500	10 000 80	20 000 50	20 000 50	20 000 50	20 000 50
Ty ₆	50 oberer 50 unterer	5 000 50	10 000 50	10 000 50	20 000 50	20 000 50	50 50	10 000 50	10 000 50	10 000 50	10 000 50	10 000 50

55°

37°

unverkürzt, soweit sie Bemerkenswertes bieten; alle Versuche, deren Ergebnisse in den mitgeteilten Tabellen im wesentlichen enthalten sind, bleiben fort. Die Ablesungen erfolgten in kürzeren Zwischenräumen; 0 Stunden bedeutet den Zeitpunkt unmittelbar nach der Mischung von Serum und Bakterien.

Den Endwerten zufolge, die große Verschiedenheiten aufweisen, sind die Stämme 4—6 als schwer agglutinabel zu bezeichnen. Dabei macht sich die Zeitwirkung wieder lebhaft bemerkbar. Denn jeder Stamm erreicht seinen Höchstwert nach bestimmter Zeit, während die Temperatur ziemlich belanglos ist. Die schwer agglutinablen Stämme bleiben nach kurzer Beobachtungszeit nicht viel zurück, aber sie verharren dann auf den erreichten Ziffern, während die anderen Stämme mit zunehmender Zeit höhere Werte erreichen — also in der Tat eine schwere, keine langsame Agglutination. Lange Beobachtungsdauer bringt ferner nicht selten mäßige Rückgänge in den Endzahlen. Die Wärme wirkt nur etwas beschleunigend auf den Ablauf der Agglutination und erhöhend auf die sehr hohen Werte, während die mittleren Zahlen bei jeder Temperatur erreicht werden. Die schwer agglutinablen Stämme sind indifferent gegen Wärme als die leicht agglutinablen. Das Temperaturoptimum für die Typhusbacillen liegt bei 20—37°, wie im Normalserum.

Ein bemerkenswertes Verhalten tritt hinsichtlich der Agglutinoidzone zutage, die diesem Serum eigen war. Und hierin kommt eine sehr deutliche Wärmewirkung hervor. Bei 7° nach 0 Stunden zeigen stärkere Serumkonzentrationen positiven Ausfall, die nach der gleichen Zeit bei höherer Wärme negativ ausfallen, ja sogar, wie aus den Ergebnissen der nächst schwächeren Serumkonzentrationen hervorgeht, noch weit in die Hemmungszone hineinreichen. Mit verlängerter Beobachtungszeit verschwindet die Hemmungszone mehr und mehr, und zwar um so früher, je höher die Temperatur ist; bei 7° verändern sich dagegen die Werte nur wenig. Nur der 6. Stamm zeigt ein anderes Verhalten, als er von vornherein die Agglutinoidzone erheblich verkürzt angibt und daher auch ihre Abnahme weniger hervortreten läßt.

Besonderes Interesse bieten die Ergebnisse der Mitagglutination, die in der folgenden Tabelle enthalten sind. Es sind darin nur diejenigen Mikroben angeführt (das gilt auch für die folgenden Tabellen), die unter

Typhusserum 1:400000.

Stunden	7°						20°						37°						55°					
	0	1	3	6	16	24	0	1	3	6	16	24	0	1	3	6	16	24	0	1	3	6	16	24
PTA ₁	0	0	50	100	150	150	0	0	50	100	150	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTA ₂	0	0	100	100	100	100	0	0	100	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTyB ₁	0	0	30	30	30	30	0	0	50	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTyB ₂	0	0	50	50	50	50	0	0	75	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTyB ₃	0	0	50	50	50	50	0	0	100	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTyB ₄	0	0	50	100	150	150	0	0	50	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
G ₁	0	0	50	100	100	100	0	0	100	100	100	100	0	0	50	150	150	100	0	0	0	30	30	30
G ₂	0	0	100	200	200	200	0	50	200	200	300	400	0	100	200	300	400	500	0	100	200	200	500	500
K ₁	0	0	0	50	75	100	0	0	50	50	150	200	0	0	100	100	100	100	0	0	100	100	20	0
K ₂	0	0	0	50	50	100	0	0	50	50	100	100	0	0	100	100	100	100	0	0	100	50	20	20
K ₃	0	0	50	100	200	200	0	0	50	100	100	100	0	0	50	100	100	100	0	0	100	100	50	20
K ₄	0	0	50	50	50	50	0	0	50	50	75	100	0	0	100	100	100	100	0	0	100	100	50	0
F ₁	0	20	50	200	200	500	0	50	200	200	500	500	0	100	200	200	200	200	0	50	100	50	20	20
F ₂	0	50	100	150	200	200	0	50	100	200	200	200	0	50	100	100	100	100	0	50	50	30	30	0
F ₃	0	20	50	100	100	100	0	50	100	150	200	200	0	0	50	50	100	100	0	50	50	20	0	0
F ₄	0	20	50	50	100	100	0	50	100	150	200	200	0	20	50	100	100	50	0	50	50	50	20	20

irgend welchen Bedingungen bei 1 : 20 positiv reagierten, alle anderen Stämme werden nicht aufgeführt.

Die Mitagglutination erstreckt sich, wie zu erwarten stand, nur auf verwandte Bakterienarten. Wie wichtig für die genaue Ermittlung dieser Beziehungen die Temperatur ist, geht aus dem Verhalten der Paratyphusbacillen hervor, die bei 37 und 55° völlig refraktär bleiben und nur bei niedriger Temperatur agglutiniert werden, am stärksten bei 20°, schwächer bei 7°. Bei den übrigen Stämmen macht sich die Wärme nicht in so starkem Maße bemerkbar, aber auch für sie liegt das Optimum bei 20°. Die 55° Wärme läßt nicht nur die Endwerte wesentlich niedriger bleiben als die anderen Temperaturen, sondern bedingt auch bei längerer Beobachtungszeit fast immer einen Rückgang der Höchstziffern. — Hier ist also der Einfluß der Wärme sehr viel stärker als der der Zeit, wenn es auch erforderlich ist, längere Beobachtungsdauer zu benützen.

Die Ergebnisse der anderen, niedriger stehenden Typhussera deckten sich durchaus mit den vorstehenden Beobachtungen, nur waren die Unterschiede in den Endwerten der leicht und schwer agglutinablen Typhusstämmen weit geringer und die Ziffern der Mitagglutination niedriger; auch fehlten die Hemmungszonen.

Paratyphus A-Serum.

Stunden	7°						20°					
	0	1	3	6	16	24	0	1	3	6	16	24
A ₁	50	200	200	200	500	2000	100	500	500	1000	2000	2000
A ₂	50	200	200	500	2000	5000	100	500	500	1000	2000	5000
	37°						55°					
A ₁	100	1000	1000	2000	5000	10 000	100	1000	1000	1000	2000	2000
A ₂	100	1000	1000	2000	5000	10 000	100	1000	1000	1000	2000	2000

Die mittleren Temperaturen ergeben die besten Resultate; das Temperaturoptimum ist die Brutschrankwärme, während im Normalserum von den Paratyphus A-Bakterien die Zimmerwärme entschieden bevorzugt wurde. Die höchste Temperatur liefert die schlechtesten Ergebnisse; allerdings werden dabei mittelhohe Werte eher als bei 7° oder 20° erreicht; ein beschleunigender Einfluß auf den Ablauf der Reaktion besteht auch in diesem Serum. Bemerkenswert ist nur die ziemlich lange Zeit, die bis zum Erreichen der Höchstwerte vergeht; längere Beobachtungsdauer verbessert die Resultate in stärkerem Grade, als es bei den Typhusseren der Fall war.

Von der Notwendigkeit längerer Beobachtungsdauer, die in dieser Tabelle wieder sehr deutlich zutage tritt, abgesehen, zeigen sich die verschiedenen Temperaturen als sehr wichtig für die Ermittlung des Umfanges der Gruppenagglutination. Die Wärmegrade wirken aber in anderer Weise als im Typhusserum. Während dort gerade die niedrigeren Temperaturen erst die volle Ausdehnung der Serumwirkung auf die verwandten Stämme aufdecken, sind es hier umgekehrt die höheren. Bei einigen Arten, K und G, ist dazu die Brutschrankwärme am geeignetsten, bei den meisten wirkt aber die 55°-Temperatur ebenso gut. Die Kruse-Stämme ergeben im Typhusserum bei allen Wärmen ungefähr die gleichen Zahlen, vom Paratyphus A-Serum werden sie nur bei den mittleren Temperaturen agglutiniert. Die G-Stämme bevorzugen im

Paratyphus A-Serum 1:10 000.

Stunden	7°						20°						37°						55°					
	0	1	3	6	16	24	0	1	3	6	16	24	0	1	3	6	16	24	0	1	3	6	16	24
Ty ₁	0	0	0	0	20	50	0	20	20	50	200	200	0	0	20	50	200	200	0	0	20	50	200	200
Ty ₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	200	200	0	0	50	100	100	100
Ty ₃	0	0	0	50	100	200	0	0	50	50	100	200	0	0	50	50	200	200	0	0	50	100	200	200
Ty ₄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	50	50	200	200	0	0	50	100	200
Ty ₅	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	50	100	0	0	0	20	50	100
Ty ₆	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	50	100	
PTyB ₁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	50
PTyB ₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	20	20	0	0	0	20	50	100
PTyB ₃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	50	0	0	0	0	20	50	0	0	0	0	20	50
PTyB ₄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	20	50
K ₁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	0	0	0	20	20	20	0	0	0	0	0	0
K ₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	50	0	0	0	20	20	20	0	0	0	0	0	0
K ₃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	50	50	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	0	0
K ₄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F ₁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	100	200	0	0	0	100	200	200
F ₂	0	0	0	0	20	50	0	0	20	50	100	100	0	0	20	50	100	100	0	0	50	100	100	
F ₃	0	0	0	0	20	50	0	0	0	20	20	20	0	0	20	50	100	100	0	0	20	100	100	
F ₄	0	0	0	0	20	50	0	0	0	0	20	50	0	0	0	0	20	20	0	0	0	20	20	
G ₁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	0	0	20	50	100	200	0	20	20	50	100	
G ₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	0	0	20	100	200	200	0	20	20	50	100	

letzteren ausgesprochen die höheren, im ersteren gerade die niederen Wärmegrade.

Paratyphus B-Serum.

Stunden	7°						20°					
	0	1	3	6	16	24	0	1	3	6	16	24
B ₁	200	2000	2 000	2 000	5 000	5 000	500	2000	5000	5 000	5 000	5 000
B ₂	200	2000	3 000	5 000	10 000	10 000	500	2000	5000	5 000	5 000	5 000
B ₃	200	5000	10 000	10 000	10 000	1 000	500	5000	5000	10 200	10 000	10 000
B ₄	200	2000	5 000	5 000	5 000	5 000	500	1000	2000	2 000	5 000	5 000
37°							55°					
B ₁	500	2 000	2 000	2 000	2 000	2 000	500	1000	2 000	2 000	2 000	2 000
B ₂	500	5 000	10 000	10 000	10 000	10 000	500	2000	10 000	10 000	20 000	20 000
B ₃	500	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	500	2000	10 000	10 000	10 000	10 000
B ₄	500	2 000	5 000	5 000	5 000	5 000	500	5000	5 000	5 000	5 000	5 000

An dieser Tabelle ist hauptsächlich bemerkenswert, daß verlängerte Beobachtungszeit verhältnismäßig geringe Verschiebungen der Endwerte herbeiführt; man könnte also mit kürzerer Dauer der Beobachtung auskommen. In bezug auf die Wärme verhalten sich die Stämme etwas verschieden, höhere Temperaturen erscheinen als die zweckmäßigsten, sofern es auf möglichst hohe Werte ankäme; die gleichmäßigsten Resultate liefert aber die Zimmerwärme, so daß sie entschieden vorzuziehen ist.

Die Tabelle p. 105 ist ein Beispiel dafür, daß für die Ermittlung des Umfanges der Gruppenagglutination die Temperatur auch von ziemlich untergeordneter Bedeutung sein kann. Man bekommt die Werte bei allen Wärmegraden heraus, wenn man nur lange genug wartet. Die höchste Temperatur beschleunigt allerdings sowohl den Eintritt höherer Werte als auch steigert sie die Endziffern. Freilich zeigen andererseits wieder die Flexner-Stämme, besonders No. 4, daß die Wärme doch auch in diesem Serum eine sehr beachtenswerte Rolle spielen kann. Völlig gleiches Verhalten aller Bakterienarten in irgend einem Serum

Paratyphus B-Serum 1:20000.

Stunden	7°						20°						37°						37°											
	0	1	3	6	16	24	0	1	3	6	16	24	0	1	3	6	16	24	0	1	3	6	16	24						
F ₁	0	50	100	100	100	100	0	50	100	100	200	200	0	50	100	100	200	200	0	100	200	200	500	500	0	100	200	200	500	500
F ₂	0	100	100	100	100	100	0	100	100	100	100	100	0	100	200	200	500	500	0	100	500	500	500	500	0	100	500	500	500	500
F ₃	0	100	100	100	100	100	0	20	100	200	200	200	0	100	200	200	300	400	0	100	500	500	500	500	0	100	500	500	500	500
F ₄	0	100	100	100	100	100	0	20	50	50	50	100	0	100	100	100	200	200	0	50	100	200	300	400	0	50	100	200	300	400
F ₅	0	50	100	100	100	100	0	20	50	100	100	100	0	50	50	50	100	100	0	100	200	200	300	200	0	100	200	200	300	200
F ₆	0	50	50	50	50	50	0	20	20	50	100	100	0	50	50	50	100	200	0	50	100	200	200	400	0	50	100	200	200	400
F ₇	0	20	100	150	200	200	20	100	100	100	200	200	20	200	200	200	200	200	20	100	100	200	300	400	20	100	100	200	300	400
F ₈	0	50	200	200	200	200	20	200	200	200	200	200	20	100	100	100	200	200	20	200	200	200	300	400	20	200	200	200	300	400
F ₉	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	20	20
F ₁₀	0	50	50	50	75	100	0	50	50	50	100	100	0	50	100	100	100	100	0	0	50	50	50	50	0	0	50	50	50	50
F ₁₁	0	0	0	20	50	50	0	0	20	20	50	50	0	0	20	50	50	50	0	0	20	20	20	20	0	0	20	20	20	20
F ₁₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F ₁₃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	20	0	20	20	20	20	20	0	20	20	20	50	100
F ₁₄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	50	100	0	20	20	20	50	100

bei allen Temperaturen ist mir überhaupt in keinem Versuch begegnet; es wechselte lediglich die Wirkung der verschiedenen Wärmegrade und zwar qualitativ wie quantitativ.

Weitere Tabellen anzuführen, erachte ich für überflüssig; die Ergebnisse der übrigen Versuche finden in der Hauptsache ihr Spiegelbild in einer der mitgeteilten Tabellen. Ich beschränke mich deshalb darauf, über die anderen Versuche kurz zu berichten.

Das Coli-Serum ergab gegen den Autostamm bei allen vier Temperaturen gleiche Werte, nur um so eher, je höher die angewandte Wärme war. Bei 37° und noch früher bei 55° sank jedoch der Titer bis auf zwei Drittel der Maximalhöhe, wenn die Beobachtungszeit über 6 Stunden ausgedehnt wurde, bei 7 und 20° blieb der Wert bei langer Dauer der Beobachtung bestehen.

Die Mitagglutination erstreckte sich auf die Typhus- und Paratyphus A-Stämme. Die ersteren wurden am schnellsten bei 20 und 37° verklumpt, langsamer bei 7 und 55°. Die Höhe der Gruppenwirkung war bei den Temperaturen bis zu 37° gleich, bei 55° um die Hälfte niedriger. Die Paratyphusstämme wurden bei 7 und 30° gleich hoch und schnell agglutiniert, bei 37° ganz schwach und spät, bei 55° überhaupt nicht. Stets trat die Wirkung frühestens nach 3 Stunden auf.

Die Shiga-Kruse-Sera agglutinierten stets langsam, der Höchstwert wurde nicht vor 16 Stunden erreicht. Die beiden mittleren Temperaturen lieferten die Ergebnisse gleich schnell, die niedrigere etwas langsamer, die höhere etwas eher; die Endwerte waren bei den ersten drei Wärmegraden nach 24 Stunden gleich, bei dem höchsten um die Hälfte kleiner. Die Gruppenwirkung machte sich nur den Flexner-Bacillen gegenüber bemerkbar; sie trat am schönsten bei Zimmertemperatur hervor, fast gar nicht bei 55°; die anderen beiden Wärmegrade erwiesen sich annähernd von gleichem Einfluß wie 20°. Der Zeitpunkt der Körnchenbildung lag bei allen Temperaturen fast bei derselben späten Stunde.

Die Flexner-Sera wirkten schneller; nach 6 Stunden waren die Höchstwerte erreicht, nur bei 7° erst nach 16 Stunden; die Titerstellungen standen überall gleich. Bei 37 und 55° trat nach 6 Stunden Wertverminderung bis zu drei Viertel der Maximalhöhe herab ein.

Die Mitagglutination betraf zunächst die Kruse-Bacillen. Sie wurden bei 20 und 37° bis zu ein Zehntel der Titerstellung des Serums

agglutiniert, bei 7° etwas und bei 55° erheblich schwächer. Immer trat der Höchstwert erst nach 16 und mehr Stunden ein, bei den beiden mittleren Temperaturen gleich schnell, bei 7° langsamer, bei 55° etwas rascher. Ferner wurden die Typhusbacillen schwach beeinflusst, aber nur bei 37° und 55° und erst spät.

Die Cholerasera zeigten homologen Stämmen gegenüber bei 30° und noch weit mehr bei 37° eine schnell verlaufende Reaktion, während bei 7° der Titer weit geringer blieb und spät eintrat und bei 55° zwar schnell erreicht wurde, aber ebenfalls erheblich niedriger sich hielt. Hier stellte 37° weitaus das Temperaturoptimum dar. Die Gruppenwirkung erstreckte sich auf die Typhusbacillen, die ganz schwach und spät nur bei 37° und 55° agglutiniert wurden, ferner in gleicher Weise auf die G-Stämme, 2 Flexner-Stämme und die Meningokokken.

Das Vibrio Metschnikow-Serum verhielt sich dem eigenen Stamme gegenüber genau wie das Choleraserum. Mitbeeinflusst wurden: Cholera-vibrionen schwach bei 20–55°, Typhusbacillen schwach bei 37° und 55°, noch weniger bei 20°, gar nicht bei 7°, die Paratyphus A-Bacillen nur bei 7° und 20°, die Paratyphus B-Bacillen nur bei 37°, ebenso der Coli-Stamm, die Kruse-Stämme nur bei 37°, die Flexner-Bacillen dagegen bei 7–37°, die G-Stämme bei 20–55°, der Prodigiosus nur bei 37°, der Pyocyaneus nur bei 55°, der Meningococcus bei 37° und 55° — sämtlich nur ganz schwach und nicht vor 16-stündiger Ablesung.

Das Pyocyaneus-Serum agglutinierte den eigenen Stamm gleich hoch bei 37° und 55°, schwächer bei 20° und noch geringer bei 7°. Der Höchstwert wurde bei der höchsten Temperatur am schnellsten erreicht, doch erfolgte bei längerer Beobachtung Titerverminderung, bei 37° blieb der Wert konstant. Die Gruppenagglutination erstreckte sich auf Typhusbacillen, nur bei 20° und 37°, auf die Kruse- und Flexner-Stämme, nur bei 20°, auf Prodigiosus, nur bei 20° und 37°, auf Meningokokken nur bei 55° — sämtliche Werte lagen niedrig und wurden frühestens nach 6, meistens nach mehr Stunden erzielt.

Das Prodigiosus-Serum wirkte am besten gegen den eigenen Stamm bei 7° und 20°, in dem dabei der Höchstwert gleich schnell erreicht wurde. Bei 37° erhielt man denselben Titer, aber erst etwas später, bei 55° blieb er um ein Drittel geringer; auch wurde dieser Wert erst spät erreicht. Längere Beobachtungszeit war überhaupt erforderlich, um die Höchstwerte herauszubringen. Die Nebenagglutination war nur gering; sie betraf die Typhusbacillen, die in ausgesprochener Weise nur bei höherer Temperatur reagierten, und zwar am besten bei 37°, etwas schlechter bei 20° und 55°, fast gar nicht bei 7°; jedoch bestanden in dem Temperaturoptimum bei den einzelnen Stämmen leichte Unterschiede, sowohl was die Schnelligkeit anging, mit der der Höchstwert erreicht wurde, als auch dessen Höhe. Außerdem wurden die Enteritistämme ganz schwach bei 37° und 55° verklumpt, bei niedriger Temperatur überhaupt nicht, und ferner der Vibrio Metschnikow, der etwas stärker, aber umgekehrt nur bei 7–37° und nur noch ganz schwach bei 55° beeinflusst wurde. Regelmäßig traten die Werte erst nach längerer Zeit, 6–16 Stunden, deutlich hervor, erreichten aber die volle Höhe immer erst nach 24 Stunden.

Das Meningokokkenserum endlich war das einzige, das in Haupt- und Nebenagglutination, in Zeit- und Wärmewirkung ganz gleiche Verhältnisse aufwies. Homologen Stämmen gegenüber wirkte es am schnellsten

bei 55°, etwas schwächer bei 37°, noch schlechter bei 20°, und überhaupt fast nicht bei 7°. Die Höchstwerte bei 37 und 55° entsprachen sich, nur wurde die volle Titerhöhe bei dem höheren Wärmegrad eher erreicht, während die beiden niedrigeren Temperaturen auch den Höchstwert schwächer bleiben ließen. Ferner verging immer eine verhältnismäßig lange Zeit bis zum Erreichen der Titerhöhe; die gemeinsame Wirkung von Zeit und Wärme machte sich im gleichen Sinne, verstärkend und beschleunigend, regelmäßig bemerkbar. Das galt auch für die Mitagglutination, die schwache Werte gegenüber den Typhus-, Paratyphus B-, Flexner- und Enteritisbacillen, ferner den Choleravibrionen und den *Pyocyanus*-Stamm hervorbrachte. Immer verging lange Zeit bis zum Erscheinen der Reaktion, und, mit 2 geringen Ausnahmen, erfolgte die Verklumpung nur bei 37 und 55°, vereinzelt ganz schwach auch noch bei 20°, niemals bei 7°. Nur die Enteritis- und Flexner-Stämme hatten ihr Temperaturoptimum bei 37°.

Die verschiedenen Temperaturen waren von sehr wesentlichem Einfluß auf die Beschaffenheit des Aussehens der Röhrchen mit positiver Agglutination. Während in den Normalseris bei 55° fast nie Sedimentierung eingetreten war, erfolgte sie im Immunserum hierbei ziemlich häufig, allerdings nur bei positiver Körnchenbildung, während positiv ausgefallene Serumverdünnungen nicht mit gleicher Regelmäßigkeit wie das Normalserum Bodensatz zeigten, wenn man den Versuch bei 7° gehalten hatte. Die beiden extremen Temperaturen wirkten so, daß die niedrige regelmäßig eine sehr zierliche Verklumpung zeigte, die Größe der Bakterienhaufen nahm ganz allmählich mit dem Serumgehalt ab und ging unmerklich in die homogene Trübung über. Daher war die Ermittlung der Endwerte bei 7° weitaus am schwierigsten. Umgekehrt bedingte die höchste Temperatur einen sehr plötzlichen Abbruch der positiven Reihe; während die eine Serumkonzentration noch ausgesprochen positive Reaktion zeigte, erschien die nächst höhere Verdünnung bereits vollkommen negativ. Außerdem bildeten sich bei 55° fast immer statt der Körnchen größere oder kleinere Fetzen von Bakterienhaufen, besonders nach längerer Beobachtung, die sich beim Rückgang der Titerstellungen teilweise wieder auflösten; man war daher nicht selten ungewiß, ob man eine positive Reaktion oder Pseudoagglutination annehmen sollte. Die beiden mittleren Temperaturen hatten eine Wirkung, die in der Mitte zwischen den beiden eben genannten stand: ein regelmäßiger Parallelismus zwischen Stärke der Körnchenbildung und Serumgehalt der Röhrchen — eine regelrechte Skala, in der die Wirkung des Serums unstreitig am überzeugendsten sich aussprach. Die Zimmertemperatur zeichnete das Bild noch etwas besser als die Brutschrankwärme.

Eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse meiner Versuche führt zu folgenden Hauptpunkten:

- 1) Der Einfluß der Zeit auf die Agglutination ist weit wichtiger als der der Temperatur.
- 2) Für die Agglutination der Normalsera ist die Zeit von absolut ausschlaggebender Bedeutung, die Temperatur nahezu gleichgültig.
- 3) Für die Agglutination der Immunsera mit höheren Werten tritt der Einfluß der Zeit etwas zurück, derjenige der Temperatur steigt, ohne jedoch im entferntesten der Zeitwirkung gleichzukommen.
- 4) Für die einzelnen Normalsera existiert ein Temperaturoptimum, bei der sie am besten agglutinieren; die Unterschiede bei den einzelnen Species sind aber nicht erheblich.

5) Für die Immunsera ist die Vorliebe für eine bestimmte Temperatur stärker ausgesprochen.

6) Die Beobachtungsdauer, innerhalb der die Immunsera sicher einwandfrei arbeiten — das Innehalten des Temperaturoptimums vorausgesetzt — ist bei den einzelnen Seris verschieden; die Titerhöhe der Sera spielt dabei insofern eine bedeutende Rolle, als bei höherwertigen Seris die diagnostisch sicher verwertbare Hauptagglutination eher herauskommt als bei niedriger stehenden. Die Verwendung ungewöhnlich hochwertiger Sera bietet keine Vorteile.

7) Auch für die einzelnen Bakterienarten gibt es ein Temperaturoptimum, bei dem sie am stärksten agglutiniert werden.

8) Diese Tatsache zeigt sich am deutlichsten bei der heterologen Agglutination des Immunsersums; zugleich erkennt man daraus, daß das Temperaturoptimum der Bakterienarten in den einzelnen Seris nicht ganz konstant ist.

9) Daher ist für die Festlegung des Umfanges der Gruppen- oder Neben- oder heterologen Agglutination die Anwendung verschiedener Temperaturen unbedingt erforderlich.

10) Endlich ist die Verwendung verschiedener Temperaturen ratsam, wenn die Ausdehnung von Hemmungszonen genau vermittelt werden soll.

Aus diesen an einem großen Zahlenmaterial gewonnenen Tatsachen kann man m. E. für die Praxis der Agglutination gewisse Forderungen ableiten. Ueberwiegend wird heute wohl die makroskopische Methode angewendet, vielfach aber doch auch noch die mikroskopische. Ueber die unzweifelhafte Ueberlegenheit der Reagensglasmethode der mikroskopischen Methode gegenüber in bezug auf quantitative Genauigkeit braucht man kein Wort mehr zu verlieren; und daß allein quantitativ angesetzte Versuche einwandfrei arbeiten, ist ebenso unbestreitbar. Wenn nun, wie ich oben gezeigt habe, für die Agglutination der Normalsera die lange Beobachtungsdauer absolut ausschlaggebend ist, so muß sich dabei die Ueberzeugung aufdrängen, daß auch die Krankensera nur bei längerer Beobachtungsdauer wirklich sicher auf ihre agglutinierende Kraft einem mutmaßlichen Erreger gegenüber geprüft werden können. Will man doch gerade — wenn man nicht zur Blutkultur greift — die geringste, eben die spezifische Erkrankung beweisende Erhöhung der Agglutinationswerte nachweisen. Die Krankensera ähneln — das dürfte sich nach dem oben Gesagten wohl folgern lassen — in diesem Stadium lebhaft dem Normalserum; also sollten sie nur nach längerer Beobachtungsdauer endgültig beurteilt werden, etwa 12—16 Stunden. Das ist aber nur möglich bei Benutzung der makroskopischen Methode, die ich ausschließlich anzuwenden nach meinen Versuchen für ratsam und zweckmäßig halte. — Man könnte einwenden, daß dadurch ein Zeitverlust verursacht werde. Das ist manchmal gewiß der Fall; aber sollte nicht die Sicherheit der Entscheidung in vorderster Linie stehen? Und wenn nach einigen Stunden die Reaktion positiv ausgefallen ist, erübrigt sich die längere Beobachtung des Versuchs von selbst. Schließlich ist bei der praktisch für diese Frage am meisten in Betracht kommenden Infektionskrankheit, dem Abdominaltyphus, der Verlust eines Tages nicht sonderlich schlimm; die Antwort, ob Typhusbacillen in einem Stuhle enthalten sind, dauert ja im negativen Falle auch 24 Stunden, im positiven sogar noch länger. Auch scheint mir der etwa zu erhebende Einwand nicht stichhaltig zu sein, daß die makroskopische Methode zu viel Serum

beanspruche. Beginnt man mit der Verdünnung 1 : 50, so benötigt man noch nicht einmal 0,05 Serum. So viel ist nach den Erfahrungen an der Untersuchungsstelle des hiesigen Hygienischen Instituts aber fast immer in den eingesandten Blutproben enthalten; anderenfalls wäre durch eine Bitte an die einsendenden Aerzte diese Menge fraglos leicht für die Zukunft erhältlich.

Endlich könnte man noch bedenken, ob die quantitative Methode, trotz aller großen Vorteile nicht mehr Zeit beansprucht als die mikroskopische. Diese Frage verneine ich auf das bestimmteste. Allerdings muß man bei größerem Material von dem Verfahren absehen, in die Serumverdünnungen je eine Normalöse der Bakterien zu verreiben; das ist bei lebhaftem Betriebe der Untersuchungsstellen nicht durchführbar. Benutzt man statt dessen entweder stets gleich alte Bouillonkulturen oder, da diese von manchen Untersuchern nicht gern genommen werden, Emulsionen von Agarrasenkulturen, deren Dichte man unter Innehaltung gleichalteriger Kulturen und gleich großer Abschwemmungsflüssigkeitsmengen leicht konstant gestalten kann, so vollzieht sich die Mischung der Serums mit den Bakterien mittels Pipetten in sehr kurzer Zeit, und man hat den großen Vorteil, die so nötigen Endverdünnungen der positiven Reaktion in den meisten Fällen gleich ermitteln zu können, wenn man zunächst in 5 Röhrchen die Verdünnungen 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 500, 1 : 1000 untersucht, im 6. aber die Kochsalzlösungskontrolle hinzufügt. Die Abschwemmung einer oder mehrerer Petri-Schalen-Agarkulturen ist aber das Werk weniger Minuten und liefert Material für zahlreiche Versuche. Aus allen diesen Gründen erscheint mir die Forderung berechtigt, die Agglutination ausschließlich makroskopisch auszuführen.

Nachdruck verboten.

Sur une propriété d'un sérum préparé avec des exsudats streptococciques.

[Laboratoire de microbiologie de la santé publique Rome.
(Directeur Gosio).]

Par le docteur **Antonio Pricolo**.

Pendant les deux dernières années, la commission militaire pour l'étude des épizooties a travaillé à l'immunisation de trois chevaux contre le streptocoque de la gourme dans le but de produire un sérum anti-gourmeux. L'immunisation a été faite parfois à l'aide de cultures en bouillon et en bouillon-sérum, mais le plus souvent avec des exsudats pleuraux de cobayes morts à la suite de l'inoculation dans la cavité thoracique d'une dose mortelle de culture de streptocoque en bouillon ou en bouillon-sérum. Au début pour produire la mort des cobayes on devait inoculer jusqu'à 8 c. c. de culture: ensuite, au fur et à mesure que la virulence du streptocoque augmentait, la dose put être réduite jusqu'à 0,20 c. c. de culture en bouillon-sérum.

Les cobayes ainsi inoculés donnent environ 15 c. c. d'exsudat. Ces exsudats sont inoculés à l'état frais sous la peau des chevaux pour produire l'immunisation. Chaque fois on inoculait l'exsudat d'un ou de

deux cobayes. La réaction qu'ils provoquaient était plusieurs fois plus forte que celle causée par une dose égale de culture en bouillon-sérum. Je rapporte un expérience de la dernière période de l'immunisation:

Animal d'expérience	Inoculation intraveineuse de 100 c. c. de culture	Inoculation sous-cutanée de 30 c. c. d'exsudat
Cheval No. 5	Aucune réaction appréciable	Fièvre à 39,5°, durée de la fièvre 48 heures, inappétence, immobilité du cou

Une dose de 0,05 c. c. d'exsudat suffit pour produire la mort des cobayes, tandis qu'il faut au moins 0,20 c. c. de culture en bouillon-sérum pour avoir le même effet.

Je me suis proposé l'étude expérimentale des propriétés du sérum préparé comme il a été dit. J'ai employé dans ce but des cobayes, des lapins, des rats blancs et gris et des chiens. La question était de voir si ce sérum protégeait contre la culture du streptocoque homologue.

Premier expérience. Dix cobayes du poids moyen de 500 g ont été inoculés dans le péritoine avec 1 c. c. de sérum et dix autres cobayes à peu près du même poids ont reçu dans le péritoine 2 c. c. de sérum. Tous les animaux n'ont ressenti à la suite de la dite inoculation aucun trouble apparent dans leur santé. Donc le sérum est par lui seul inoffensif.

II. Expérience.

Table I.

Animal d'expérience	Date	Quantité de sérum inoculée	Date	Quantité de culture inoculée	Date	Exitus
I cobaye	5 avril 1907	1 c.c.	6 avril	0,5 c.c.	7 avril	mort
II "	"	2 "	"	0,5 "	7 "	"
III "	"	1 "	"	0,5 "	7 "	"
IV "	"	2 "	"	0,5 "	7 "	"
V "	"	1 "	"	0,5 "	7 "	"
VI "	"	"	"	0,5 "	8 "	"
VII "	"	"	"	0,5 "	12 "	survit

Dans cet expérience, comme dans tous les expériences suivants, l'inoculation de sérum était faite dans le péritoine tandis que l'inoculation de culture était opérée dans la cavité thoracique. L'inoculation de sérum, faite un jour avant l'inoculation de la culture de streptocoque homologue en bouillon-sérum n'a pas sauvé de la mort les cobayes inoculés. Même, le sérum a accéléré la mort chez ces animaux relativement aux témoins qui n'avaient reçu point de sérum. De plus un des témoins a résisté, c'est-à dire que la dose de 0,5 n'était pas certainement mortelle, mais l'inoculation préalable de sérum l'a rendue invariablement létale. Donc, le sérum a une action comparable à celle de l'agressine, car elle rend mortelle une dose de bactéries, qui par elle même ne l'est pas. Cette conclusion ressortira encore mieux des successifs expériences.

J'ai répété l'expérience en variant la dose ou l'intervalle entre les deux inoculations, ou autrement en injectant en même temps la culture et le sérum.

Voici les résultats Table II p. 111.

En augmentant la dose du sérum et en prolongeant de deux à neuf jours l'intervalle entre l'inoculation du sérum et l'injection de la culture, les résultats n'ont pas changé. Les cobayes traités par le sérum ont

Table II.

Animal d'expérience	Date	Quantité de sérum inoculée	Date	Quantité de culture inoculée	Date	Exitus
IX cobaye	10 avril	1 c.c.	18 avril	0,5 c.c.	19 avril	mort
X "	10 "	2 "	18 "	0,5 "	19 "	"
XI "	15 "	1 "	18 "	0,5 "	19 "	"
XII "	15 "	2 "	20 "	0,5 "	21 "	"
XIII "	15 "	3 "	20 "	0,5 "	20 "	mort en 12 heures
XIV "	15 "	3 "	20 "	0,5 "	20 "	" " 10 "
XV "			20 "	0,5 "	22 "	" " 50 "
XVI "			20 "	0,5 "	22 "	" " 56 "
XVI "			20 "	0,5 "	25 "	survit

succombé en 10, 12 et 24 heures, tandis que les témoins ont vécu 50 et 56 heures et un n'est pas mort.

Table III.

Inoculation en même temps de sérum et de culture.

Animal d'expérience	Date	Quantité de sérum inoculée	Quantité de culture inoculée	Date	Exitus
XVII cobaye	26 octobre	2 c.c.	0,25 c.c.	26 octobre	mort en 12 heures
XVIII "	"	2 "	0,25 "	27 "	mort
XIX "	"	2 "	0,25 "	27 "	"
XX "	"	"	0,25 "	28 "	mort en 56 heures
XXI "	"	"	0,25 "	5 mai	survit

En injectant en même temps la culture et le sérum on obtient les mêmes résultats: les cobayes traités par le sérum meurent invariablement en moins de 24 heures, tandis que les témoins résistent 56 heures ou survivent.

III. Expériment.

Table IV.

Animal d'expérience	Date	1 ^o inoculation de sérum	Date	2 ^o inoculation de sérum	Date	3 ^o inoculation de sérum	Date	Quantité de culture inoculée	Date	Exitus
XXII cobaye	1 oct.	1 c.c.	10 oct.	1 c.c.	20 oct.	1 c.c.	25 oct.	0,25	26 oct.	mort
XXIII "	"	1 "	"	1 "	"	1 "	"	0,25	26 "	"
XXIV "	"	1 "	"	1 "	"	1 "	"	0,25	26 "	"
XXV "	"	"	"	"	"	"	"	0,25	27 "	"

Il était intéressant de voir si avec ce sérum on pouvait conférer aux animaux une sorte d'immunité. Puisque ce sérum agit à la manière d'une agressive, il y avait lieu de chercher s'il possède toutes les propriétés d'une agressive.

L'expérience précédente démontre qu'il n'arrive rien de cela, car il ne s'établit aucune immunité.

J'ai répété les expériences sur des lapins. Les chevaux d'expérience avaient été traités quelquefois avec des exsudats tirés de lapins morts à la suite de l'inoculation thoracique de quelques centimètres cube de culture de streptocoque en bouillon-sérum. Voici les détails Table V p. 112.

L'inoculation de sérum chez les lapins ne trouble aucunement leur santé. La culture tue après 10 jours (Table VI p. 112).

IV. Expériment.

Table V.

Animal d'expériment	Date	Quantité de sérum inoculée	Date	Quantité de culture inoculée	Date	Exitus
Lapin I	1 juillet	2 c.c.			11 juillet	sain
" II	"	2 "			"	"
" III	"	2 "			"	"
" IV	"	3 "			"	"
" V	"	3 "			"	"
" VI			1 juillet	3 c.c.	"	mort
" VII			"	3 "	"	"

Table VI.

Animal d'expériment	Date	Quantité de sérum inoculée (2 ^e inoculation)	Date	Quantité de culture inoculée	Date	Exitus
Lapin I	15 juillet	1 c.c.	20 juillet	3 c.c.	21 juillet	mort en 20 heures
" II	"	1 "	"	3 "	20 "	" " 8 "
" III	"	1 "	"	3 "	21 "	" " 12 "
" IV	"	1 "	"	3 "	21 "	" " 15 "
" V	"	1 "	"	3 "	21 "	" " 18 "
" VIII			"	3 "	22 "	" " 48 "
" IX			"	3 "	26 "	mort après 6 jours

Aussi chez les lapins le sérum a la propriété de hâter la mort. Les témoins ne se sauvent pas, mais ils survivent plusieurs jours.

La culture était de beaucoup plus virulente que celle dont est question à la table V. Il suffirait d'employer de doses plus petites ou moins virulentes pour voir les témoins survivre. Cet expériment se rapporte seulement au sérum d'un cheval traité par des exsudats de lapin.

* * *

J'ai répété encore les expériment sur des rats blancs. Je ne me rappelle pas d'avoir jamais employé des exsudats de ces animaux pour l'inoculation des chevaux qui ont fourni le sérum.

V. Expériment.

Table VII.

Animal d'expériment	Date	Quantité de sérum inoculée	Date	Quantité de culture inoculée	Date	Exitus
Rat blanc I	1 novembre	0,5 c.c.	1 novembre	0,25 c.c.	2 novembre	mort
" II	"	0,5 "	"	0,25 "	2 "	"
" III	"	0,5 "	"	0,25 "	2 "	"
" IV	"	0,25 "	"	0,25 "	2 "	"
" V	"	0,25 "	"	0,25 "	2 "	"
" VI	"		"	0,25 "	3 "	"
" VII	"		"	0,25 "	3 "	"
" VIII	"		"	0,25 "	10 "	survit

Les rats blancs, qui avaient reçu une inoculation sous-cutanée de sérum en même temps qu'une inoculation péritonéale de culture, moururent tous en moins de 24 heures, tandis que des témoins, qui ne reçurent que la même quantité de culture en péritoine, un survit et deux survécurent 24 heures aux premiers.

Le fait que je venais de constater était bien intéressant. J'ai n'ai pas manqué d'expérimenter sur le chien, qui est bien éloigné de l'espèce cobaye. Car il me semblait que les résultats presque semblables obtenus chez les cobayes, les lapins et les rats blancs étaient redevables à l'affinité de ces espèces.

VI. Expériment.

Table VIII.

Animal d'expériment	Date	Quantité de sérum inoculée	Quantité de culture inoculée	Date	Exitus
Chien I	1 décembre	10 c. c.	250 c. c.	2 décembre	mort
" II	"	10 "	250 "	7 "	"

Le témoin a survécu 5 jours au chien traité par le sérum. Les deux chiens étaient presque de la même taille et du même poids et ils avaient le même âge.

Enfin je relaterai un expériment fait sur les rats gris (*Mus decumanus*). Chez le rat gris le sérum ne hâte pas la mort, au contraire il a souvent une action protective.

VII. Expériment.

Table IX.

Animal d'expériment	Date	Quantité de sérum inoculée	Quantité de culture inoculée	Date	Exitus
Rat gris I	1 novembre	1,0 c. c.	0,25 c. c.	2 novembre	mort
" " II	"	0,5 "	0,25 "	10 "	survit
" " III	"	0,5 "	0,25 "	4 "	mort
" " IV.	"	0,5 "	0,25 "	10 "	survit
" " V	"	"	0,25 "	2 "	mort
" " VI	"	"	0,25 "	2 "	"
" " VII	"	"	0,25 "	2 "	"

On voit que chez le rat gris le sérum dans un cas a retardé la mort de 48 heures et dans un autre cas a assuré la survie de l'animal.

Conclusions.

Le sérum des chevaux traités longtemps par des inoculations sous-cutanées d'exsudats pléuraux de cobayes morts à la suite de l'injection en cavité thoracique d'une dose mortelle de *Streptococcus equi*, inoculé aux cobayes en même temps ou avant l'inoculation d'une dose du dit streptocoque, hâte la mort si la dose était mortelle par elle même, provoque la mort si la dose n'était pas léthale par elle même, mais bien proche de la dose mortelle.

Ce même sérum, inoculé aux lapins, aux rats blancs et aux chiens en même temps qu'une dose mortelle de streptocoque homologue, a le pouvoir de hâter la mort des animaux traités relativement aux témoins qui reçoivent la même dose de bactéries.

Ce sérum se comporte à cet égard comme une agressive. Cependant on ne peut assimiler les propriétés du sérum avec celles des agressives, car on ne réussit pas à produire une immunité anti-agressinique, comme il est démontré par l'expériment relaté à la table IV.

Il faut admettre dans ce sérum des substances antagonistes de l'alexine, des anticompléments, qui dépriment l'immunité naturelle des

individus et qui paralysent aussi les vertus spécifiques et protectives du sérum.

Trois mois après la dernière inoculation d'exsudat de cobaye, le sérum de cheval ne possédait plus vis-à-vis des cobayes la propriété de hâter la mort ou de causer la mort avec une dose sous-léthale de streptocoque.

Rome, 8 juin 1908.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der bakteriziden Eigenschaften der Pyocyane.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien (Vorstand: Regimentsarzt Dozent Dr. R. Doerr).]

Von R.-A. Dr. **Hugo Raubitschek** und R.-A. Dr. **Viktor K. Russ**.

Von den zahlreichen antagonistischen Wirkungen einzelner Mikroorganismen ist die wachstumshemmende und bakterizide Eigenschaft von *Pyocyaneus*-Kulturen speziell gegenüber Milzbrandbacillen lange bekannt und vielfach studiert worden.

Schon im Jahre 1888 hat Bouchard (1) sich mit dieser Frage beschäftigt und bald folgen Arbeiten von Charrin und Guinard (2), Woodhead und Wood (3) etc., in welchen übereinstimmend über diese Erscheinung in vitro und im Tierkörper berichtet wird.

Freudenreich (4) fand, daß auch Kulturfiltrate des *Bac. pyocyaneus* entwicklungshemmend auf andere Mikroorganismen einwirken, und konnte einerseits durch Einengen des Filtrats im Vakuum auf $\frac{1}{10}$ des ursprünglichen Volumens den wirksamen Körper konzentrieren, andererseits durch steigende Verdünnung die bakterizide Kraft vermindern. Freudenreich glaubte durch seine Versuche die Theorie stützen zu können, daß das Nichtwachsen eines anderen Mikroorganismus in einem sterilen Kulturfiltrat auf Erschöpfung des Nährbodens beruhe.

Diese Tatsachen lagen bereits vor, als Emmerich und Loew (5, 6) daran gingen, deren Ursachen näher zu studieren. In mehreren Arbeiten suchten sie für die auch von ihnen bestätigte bakterizide Wirkung der *Pyocyaneus*-Kulturen und ihrer keimfreien Filtrate eine Erklärung zu geben, und glaubten auf Grund der von ihnen im Reagenzglas und Tierversuche gefundenen Resultate verschiedene noch dunkle Vorgänge in der Immunitätslehre verständlich machen zu können.

Es liegt nicht im Rahmen dieser Arbeit, auf die Hypothesen Emmerichs und seiner Mitarbeiter hinsichtlich der Immunproteidine einzugehen; wir wollen hier nur die bakterizide Wirkung der *Pyocyaneus*-Kulturfiltrate in vitro und ihre Ursache näher besprechen.

Emmerich und Loew halten den wirksamen bakteriziden Körper für ein verdauendes Ferment (Nuklease) und stützen diese Annahme nicht zum geringsten auf die von ihnen gemachte Beobachtung, daß in *Pyocyaneus*-Bouillonkulturen die gebildeten Bakterienagglomerate immer wieder aufgelöst werden, also gleichsam einer Verdauung unterliegen, wodurch dann nach längerer Zeit die Kultur sich klärt und eine schleimig-flüssige Konsistenz annimmt.

Die genannten Autoren glauben, die Enzymnatur des bakteriziden Körpers weiterhin auch dadurch sichergestellt zu haben, daß dessen Wirkung proportional der Zeit und der Konzentration und umgekehrt proportional der Menge der Bakterienaussaat erfolge. Weiter konnten sie zeigen, daß das „bakteriolytische Enzym“ bei alkalischer Reaktion wirkt, also den Trypsinen scheinbar nahesteht, und sich durch eine typische Agglutination homöoformer Bakterien auszeichnet.

Entsprechend den üblichen Bezeichnungen, nennen Emmerich und Loew den bakteriziden Körper „Pyocyanase“.

Dieser Ausdruck hat sich weiter erhalten und wird nun auch für ein Produkt der chemischen Industrie, das eine Modifikation resp. Konzentration der Pyocyanase-Kulturfiltrate darstellt, angewendet.

Die Wichtigkeit der Fragen, die Emmerich und seine Mitarbeiter aufwerfen, und die Bedeutung ihrer Erklärungsversuche für die Immunitätslehre hat eine Reihe von Autoren veranlaßt, die Untersuchungen Emmerichs nachzuprüfen.

Alle diese Arbeiten brachten eine Bestätigung der bakteriziden Wirkung der Pyocyanase. Gegen die Erklärung der Erscheinung jedoch, die Emmerich und Loew mit der Fermentwirkung gegeben zu haben glaubten, nahmen besonders Dietrich (7) und Klimoff (8) Stellung.

Vor allem war die schon früher bekannte hohe Koktostabilität der Pyocyanase für Dietrich und Klimoff im Gegensatz zu Emmerich mit Recht ein schwerwiegendes Argument gegen die Fermentnatur des bakteriziden Körpers. Der Versuch Emmerichs, Loews und Korschuns (9), die Thermostabilität der Pyocyanase mit der Hitzebeständigkeit anderer Fermente (Papayotin etc.) zu analogisieren, muß als mißglückt bezeichnet werden. Denn diese Fermente vertragen wohl in völlig trockenem Zustande, ohne Schaden zu leiden, Temperaturen selbst bis zu 120° C, in Lösungen jedoch werden sie durch Siedetemperatur wie andere Fermente zerstört.

Sicherlich ist Dietrich durch exakte Versuchsanordnung und richtige kritische Beurteilung der Resultate Emmerichs und seiner Mitarbeiter die Beweisführung gegen die Enzymnatur des wirksamen Körpers in der Pyocyanase gelungen. Seine Annahme jedoch, daß die bakterizide Wirkung der Pyocyanase auf osmotischen Störungen beruhe, schien ebenfalls kaum wahrscheinlich.

Die ganze Streitfrage hatte bis vor nicht langer Zeit nur theoretisches Interesse und gewann erst dann wieder eine andere Art von Bedeutung, als die Pyocyanase in die Therapie einiger Infektionskrankheiten eingeführt werden sollte und eine Reihe von Kliniken über gute Heilresultate bei Anwendung dieses Mittels berichteten.

Da weder die Hypothese Emmerichs und seiner Mitarbeiter noch die Dietrichs uns hinlänglich gestützt zu sein schien, sahen wir uns veranlaßt, den Gegenstand aufzugreifen und zu versuchen, die Ursache der bakteriziden Wirkung der Pyocyanase auf einem anderen Wege klarzulegen.

Wir konnten in einer kurzen Mitteilung (10) zeigen, daß durch kräftiges Ausschütteln der Originalpyocyanase mit Aether, Benzol, Benzin, Petroläther und Chloroform die wirksame Substanz größtenteils extrahiert werden kann. Weiter gelang es uns auch, den Nachweis zu erbringen, daß der ätherlösliche Stoff hinsichtlich seiner bakteriziden Wirkung sich genau so thermostabil erweist wie die Originalpyocyanase selbst, und endlich, daß in eiweißhaltiger Lösung das Phänomen der Thermolabilität resp. der Inaktivierbarkeit bei 70° C eintritt.

Körper mit ähnlichen Eigenschaften und Löslichkeitsverhältnissen haben schon Noguchi (11), Landsteiner und Ehrlich (12), Landsteiner und Raubitschek (18), Raubitschek (19) und Bassenge (13) beschrieben. Einige dieser Stoffe gehören sicher in die Gruppe der Lipoide und zeichnen sich im allgemeinen durch cytotoxische Eigenschaften (Hämolyse und Bakterizidie) aus.

Auf Grund der von uns bei der Pyocyanase gefundenen Tatsachen glaubten wir annehmen zu können, daß auch hier die bakterizide Wirkung auf ein Lipoid und nicht auf ein Ferment zurückzuführen sei.

Gegen unsere Versuchsanordnung in der genannten Arbeit wenden sich nun Emmerich und Loew in einem Artikel (14) und suchen auf Grund von einigen Experimenten und theoretischen Erwägungen unsere Annahme, daß es sich bei der Pyocyanasebakterizidie um das Wirken eines Fettkörpers handle, zu entkräften¹⁾.

Da wir sofort (15) die Einwürfe Emmerichs und Loews entsprechend widerlegen konnten, so erübrigt es sich, nochmals auf diese Kontroverse hier näher einzugehen. Ganz kurz nur wollen wir auf einen Punkt hinweisen, der uns wichtig genug erscheint, um neue diesbezügliche Versuche hier anzuführen.

Wir hatten früher mitgeteilt, daß die in physiologischer Kochsalzlösung emulgierten Aetherrückstände der Pyocyanase bakterizide Kraft besitzen.

Emmerich und Loew weisen nun darauf hin, daß physiologische Kochsalzlösung allein schon bakterizid wirke. Schon der erste Blick auf Tabelle I unserer ersten Arbeit (10) läßt erkennen, daß die Bakterien in den Kontrollröhrchen, bestehend aus Bouillonätherextrakt, emulgiert in physiologischer Kochsalzlösung, sich stark vermehrt haben.

Im folgenden wollen wir einen der angestellten Versuche mitteilen, welcher zeigt, daß der mit Aether extrahierbare Körper auch dann seine volle Wirksamkeit entfaltet, wenn man ihn, in steriler Bouillon emulgiert, auf Milzbrandbacillen einwirken läßt (s. Versuch I p. 117).

Der Ausfall dieses Versuches zeigt eindeutig, daß der Aetherrückstand, in Bouillon aufgenommen, sich durch starke keimtötende Eigenschaften, die sofort in Erscheinung treten, auszeichnet.

1) Während des Druckes der vorliegenden Arbeit erschien neuerdings ein Artikel von Emmerich und Löw (Wien. klin. Wochenschr. No. 36 vom 3. Sept. 1908), der im wesentlichen eine Bestätigung unserer ersten Beobachtungen (10) enthält; die beiden Autoren konnten diesmal eine Abnahme der bakteriziden Eigenschaft ihrer Pyocyanase nach Behandlung mit fettlösenden Agentien beobachten und mußten unsere Angaben bestätigen, daß durch Behandlung der Pyocyanase mit den genannten Extraktionsflüssigkeiten und durch Verdampfen derselben ein Rückstand gewonnen werden kann, der sich durch eine hohe keimtötende Eigenschaft gegenüber Milzbrandbacillen auszeichnet. Schließlich mußten Emmerich und Löw auch die Richtigkeit unserer Beobachtung zugeben, daß der bakterizide Körper durch fettlösende Agentien nicht quantitativ aus der Pyocyanase zu extrahieren ist.

Die Autoren bekämpfen diesmal hauptsächlich die Verwendung des Wortes „Lipoid“ für Stoffe, die im allgemeinen durch organische Lösungsmittel aus tierischen oder pflanzlichen Geweben extrahiert werden können (vergl. Fränkel, S., XXV. Kongreß für innere Medizin. Wien 1908).

Es sei daher bemerkt, daß mit dieser Bezeichnung nur eine vorläufige Einreihung dieser Stoffe auf Grund ihrer Löslichkeitsverhältnisse gegeben sein soll. Für die Immunitätslehre ist es ja zweifellos besonders wichtig, derartige Körper durch ihre Löslichkeitsverhältnisse von den Fermenten resp. der größten Mehrzahl der Antigene zu trennen. Andererseits erscheint es uns für die Bedeutung des wirksamen Agens nicht gleichgültig zu sein, wenn es sich zeigt, daß die Pyocyanase im Wesen ihre bakterizide Eigenschaft mit anderen, mehr gewöhnlichen Substanzen, wie Fette, Fettsäuren oder Seifen teilt.

Versuch I¹⁾.

1 ccm Originalpyocyanase wird mit 150 ccm Aether kräftig geschüttelt, der Aether am Wasserbade verjagt, der Rückstand nochmals in Aether aufgenommen, dieser in gleicher Weise entfernt und nun der Rest in 2 ccm steriler Bouillon aufgeschwemmt. Als Kontrolle diente ein in gleicher Weise mit derselben Aethermenge hergestellter Rückstand von 10 ccm steriler Bouillon.

Tabelle I.

Material	sofort	nach 3 Stunden	nach 6 Stunden
Pyocyanase-Aetherrückstand	200	0	0
Bouillon-Aetherrückstand	1400	8000	unzählbar
Bouillon (Kontrolle)	1500	5300	"

Wir wollen nun zuerst zu den Ergebnissen von Versuchen übergehen, die wir angestellt haben, um den Nachweis zu führen, daß bei der Pyocyanasebakterizidie nicht die Wirkung eines Fermentes in Betracht kommen kann.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß Fermente durch Ammonsulfat aussalzbar sind, und Emmerich und Loew, desgleichen Vaerst (16) geben an, die bakterizide Substanz der Pyocyanase sei durch Ammonsulfat fällbar. Auf Grund des nachstehend angeführten Versuches können wir dies nicht bestätigen, denn die in Ammonsulfat lösliche Fraktion zeichnet sich durch wesentlich stärkere bakterizide Wirkung aus als die durch Ammonsulfat fällbaren Körper. Dieser Unterschied in der Intensität der bakteriziden Wirkung der beiden Fraktionen wird noch bedeutend größer zugunsten des in Ammonsulfat löslichen Teiles, wenn man den Niederschlag mehrmals umfällt.

Versuch II.

40 ccm Pyocyanus-Bouillonkulturfiltrat wird mit Ammonsulfat in Substanz bis zur Vollsättigung bei 37° C gefällt, durch Papier filtriert. Der Niederschlag wird in 40 ccm destilliertem Wasser aufgelöst und derartig 5mal umgefällt. Die gewonnenen Filtrate werden gesammelt, auf $\frac{1}{10}$ des Volumens eingedampft, vom auskristallisierten Ammonsulfat durch Filtration getrennt und so lange dialysiert, bis Proben mit Nesslerischem Reagens und Bleisalzen negativ ausfielen („Pyocyanus löslich“).

Der durch mehrfaches Aussalzen gereinigte ammoniumsulfatunlösliche Anteil der Pyocyanase wird in destilliertem Wasser gelöst und entsprechend lange dialysiert („Pyocyanus fällbar“).

Hierauf werden beide Fraktionen am Wasserbade zur Trockene eingedampft, der Trockenrückstand in 40 ccm Bouillon aufgenommen und je eine Probe abermals mit Nesslerischem Reagens und Bleisalzen mit negativem Erfolg geprüft.

In ganz analoger Weise werden 40 ccm auf $\frac{1}{10}$ Volumen eingengt Bouillon behandelt und als Kontrollen verwendet.

Zu je 2 ccm jeder Probe wird 0,1 ccm einer Emulsion von 24 Stunden alten Anthraxbacillen auf Schrägagar zugefügt und in gewöhnlicher Weise der bakterizide Versuch angestellt.

Tabelle II.

Material	Aussaat		
	sofort	nach 3 Stunden	nach 6 Stunden
Pyocyanus (löslich)	0	0	0
Pyocyanus (fällbar)	600	13 600	∞
Bouillon (löslich)	500	11 500	∞
Bouillon (fällbar)	400	13 000	∞
Bouillon (Kontrolle)	500	10 400	∞

1) Die Technik aller im nachstehenden angeführten Versuche gestaltete sich folgendermaßen:

Die auf Bakterizidie zu prüfenden Flüssigkeiten wurden in Mengen von 2 ccm in sterile Eprouvetten gefüllt und mit 0,1 ccm einer völlig homogenen Milzbrandbacillen-

Für die Wirksamkeit der Fermente ist weiter die Reaktion der Flüssigkeit von besonderer Bedeutung, und es finden sich nur wenige dieser Körper, die sowohl bei saurerer als auch bei alkalischer Reaktion aktiv sind. In solchen Fällen jedoch läßt sich immer noch ein Optimum der Wirksamkeit bei einer oder der anderen Reaktion nachweisen. Dietrich und nach ihm Emmerich und Loew konnten zeigen, daß die Pyocyanase bei neutraler und alkalischer Reaktion bakterizid wirkt.

Aus dem folgenden Versuch geht hervor, daß die Kraft des keimtötenden Körpers der Pyocyanase auch in saurerer Lösung unvermindert erhalten bleibt.

Versuch III.

1 ccm Pyocyanase wird auf den Phenolphthaleinneutralpunkt gebracht und mit ebenso reagierender steriler Bouillon auf 6 ccm aufgefüllt, die in 3 Eproutetten zu je 2 ccm verteilt werden. In eines der Röhren werden nun 6 ccm phenolphthaleinneutraler Bouillon, in ein zweites 5 ccm ebensolcher Bouillon + 1 ccm Normalsalzsäure, in das dritte 5 ccm Bouillon und 1 ccm Normalkalilauge nachgefüllt. In ganz analoger Weise werden die Kontrollproben mit saurerer, neutraler und alkalischer Bouillon hergestellt, so zwar, daß sämtliche Flüssigkeiten aufeinander eingestellt sind, mit anderen Worten, daß nicht nur 1 ccm der saureren Pyocyanase dieselbe Menge der alkalischen Pyocyanase, sondern auch der alkalischen Bouillon völlig neutralisiert und umgekehrt.

Tabelle III.

Material	Aussaat	
	sofort	nach 6 Stunden
Pyocyanase (sauer)	1500	⊕
Pyocyanase (alkalisch)	2000	⊕
Pyocyanase (neutral)	1200	⊕
Bouillon (sauer)	3000	∞
Bouillon (alkalisch)	3500	∞
Bouillon (neutral)	3000	∞

Schließlich möchten wir noch eine Versuchsreihe anführen, die in Verbindung mit den von uns bereits festgestellten Tatsachen auch danach angetan ist, unsere Gründe gegen die Fermentnatur der Pyocyanase zu stützen.

Bekanntermaßen ist die Wirkung der Fermente im allgemeinen auch eine Funktion der Temperatur, und wir mußten uns daher darüber Klarheit verschaffen, ob die Pyocyanase gleich intensiv bakterizid bei 0° und bei 37° C wirkt. Allerdings ist es uns wohlbekannt, daß auch viele andere chemische Reaktionen, die nichts mit fermentativen Prozessen zu tun haben, von der Temperatur stark beeinflußt werden, und daß sehr viele chemische Desinfektionsmittel bei 0° wesentlich schwächer wirken als bei 37° C.

Würde demnach die Pyocyanase bei 0° schlecht oder gar nicht bakterizid wirken, so wäre das selbstverständlich kein Beweis für die Fermentnatur. Da jedoch, wie der nachstehende Versuch zeigt, die Intensität der Wirkung von der Temperatur nicht stärker abhängig ist als die chemischer Desinfektionsmittel, so spricht dies unseres Erachtens gegen die Fermentnatur des bakteriziden Körpers.

emulsion beschickt, die durch Abspülen einer 20–24 Stunden alten Schrägagarkultur mit steriler Bouillon gewonnen war. Von dem Gemisch wurde nach bestimmten Zeiträumen je 1 Oese in flüssigen Agar von 45° C übertragen und dieser zur Platte ausgegossen. Die Zählung der Platten erfolgte nach 24- und 48-stündigem Aufenthalt im Thermostaten.

Versuch IV.

Originalpyocyanase wird 1:25 mit steriler Bouillon verdünnt und davon je 2 ccm in 2 Röhren gefüllt. Ebenso werden je 2 Proben sowohl von 0,5-proz. Karbolsäure wie von 1-prom. Acid. oleicum, beide in steriler Bouillon, als Kontrollen hergestellt. Eine Serie der Röhren wird bei 0° im tauenden Eis, die andere Serie bei 37° C im Thermostaten gehalten und sofort, nach 2 und 6 Stunden Aussaaten in Gelatine vorgenommen.

Die nachstehende Tabelle zeigt das gewonnene Resultat.

Tabelle IV.

Material	Temperatur	Aussaat		
		sofort	nach 2 Std.	nach 6 Std.
Pyocyanase 1:25	0° C	400	∅	∅
0,5-proz. Acidum carbolicum		80	∅	∅
0,1-proz. Acidum oleicum		180	∅	∅
Bouillon (Kontrolle)		320	300	280
Pyocyanase 1:25	37° C	450	∅	∅
0,5-proz. Acidum carbolicum		360	∅	∅
0,1-proz. Acidum oleicum		520	∅	∅
Bouillon (Kontrolle)		750	1700	∞

Der wirksame bakterizide Körper der Pyocyanase entspricht demnach in den wichtigsten Punkten nicht jenen Eigenschaften, die den Fermenten gewöhnlich zukommen. Es muß also die keimtötende Kraft der Pyocyanase auf ein anderes Moment zurückgeführt werden können.

Die in unseren früheren Versuchen ermittelten Resultate haben uns den Weg gezeigt, auf dem wir eine befriedigende Lösung der Frage erhoffen können und unsere Auffassung über das Wesen des bakteriziden Körpers bestätigt.

Es gilt nun, neue Anhaltspunkte für die chemische Beschaffenheit der bakteriziden Substanz der Pyocyanase zu finden.

Außer den bereits mehrfach erwähnten Versuchen, durch Schütteln der Pyocyanase mit fettlösenden Mitteln das wirksame Agens zu extrahieren, ist es uns auch gelungen, durch entsprechende Behandlung der Pyocyanase mit heißem Alkohol den bakteriziden Körper aus der alkohollöslichen Fraktion zu gewinnen, d. h. zu zeigen, daß dieser zum größten Teil in die alkohollösliche Portion übergeht¹⁾. Aus einem später angeführten Versuch (siehe Tab. VI) geht hervor, daß der alkoholunlöslichen Fraktion nur geringe entwicklungshemmende Eigenschaften zukommen.

Versuch V.

1 ccm Originalpyocyanase wird mit 9 ccm steriler Bouillon verdünnt, das Gemisch mit der 10-fachen Menge heißen absoluten Alkohols durch langsames Zusetzen desselben gefällt, 24 Stunden bei 50° C gehalten und klar filtriert. Das deutlich grün gefärbte klare Filtrat am Wasserbad zur Trockne eingedampft, der Trockenrückstand in 25 ccm heißen Alkohols abermals aufgenommen, klar filtriert und wie oben eingedampft. Der Trockenrückstand wird in 2 ccm Bouillon fein emulgiert (Pyocyanase-Alkoholextrakt).

Völlig analog hergestellter Alkoholextrakt (125 ccm absoluter Alkohol) aus 20 ccm Bouillon wird auch in 2 ccm Bouillon aufgenommen (Bouillon-Alkoholextrakt).

Tabelle V.

Material	Aussaat		
	sofort	nach 3 Stunden	nach 6 Stunden
Pyocyanase-Alkoholextrakt	38	1	∅
Bouillon-Alkoholextrakt	580	5500	∞
Bouillon (Kontrolle)	700	5300	∞

1) Vgl. Raubitschek (19).

Es schien uns weiter interessant, durch genaueres Studium der Löslichkeitsverhältnisse dieses bakteriziden Körpers einen Weg anzubahnen, auf dem dessen chemische Reindarstellung späterhin versucht werden kann.

Versuch VI.

25 ccm Originalpyocyanase werden unter langsamem Zusetzen mit 500 ccm siedenden absoluten Alkohols gefällt und filtriert; der Filtrerrückstand mehrmals mit siedendem Alkohol gewaschen, getrocknet und in 25 ccm destillierten Wassers gelöst (alkoholunlöslicher Teil). Das klare alkoholische Filtrat wird am Wasserbade abgedampft, nochmals mit dem gleichen Volumen absoluten Alkohols aufgenommen, wieder filtriert. Dieses Filtrat wird nun in 3 gleiche Portionen geteilt:

Die erste Portion wird am Wasserbade abgedampft und der resultierende Rückstand in 8 ccm Bouillon aufgenommen (alkohollöslicher Teil).

Die zweite Portion wird mit 500 ccm Aceton versetzt, worauf ein dichter Niederschlag entsteht. Filtration bis zur Klärung; Filtrerrückstand (alkohollöslicher, acetonfällbarer Teil) wird getrocknet und in 8 ccm Bouillon gelöst; das klare Filtrat am Wasserbade eingedampft und auch in 8 ccm Bouillon emulgiert (alkohollöslicher, acetonlöslicher Teil).

Die dritte Portion wird mit 500 ccm Aether versetzt, wodurch ebenfalls ein dichter Niederschlag entsteht. Wie oben, erfolgt auch hier eine Trennung durch Filtration in einen alkohollöslichen, ätherfällbaren und einen alkohollöslichen, ätherlöslichen Teil.

In ganz gleicher Weise werden aus 250 ccm Bouillon, die auf $\frac{1}{10}$ Volumen eingedampft und dialysiert wurden, entsprechende Kontrollen hergestellt.

Tabelle VI.

Material		Aussaat		
		sofort	nach 4 Stunden	
Pyocyanase	alkoholunlöslich	3700	7250	
	alkohollöslich	alkohollöslich	650	ϕ
		acetonlöslich	3800	ϕ
		acetonunlöslich	4200	7400
		ätherlöslich	40	ϕ
		ätherunlöslich	3200	7700
Bouillon	alkoholunlöslich	3500	∞	
	alkohollöslich	alkohollöslich	4100	∞
		acetonlöslich	4000	∞
		acetonunlöslich	3750	∞
		ätherlöslich	3900	∞
		ätherunlöslich	4200	∞
Bouillon		4000	∞	

Wie aus vorstehender Tabelle ersichtlich ist, läßt sich der bakterizide Körper nicht nur in Alkohol, sondern aus diesem auch in Aether und Aceton überführen, wodurch derselbe leicht von den in der Pyocyanase noch sonst vorkommenden, nur alkohollöslichen Substanzen getrennt werden kann. Immerhin scheinen Spuren dieses bakteriziden Körpers nicht nur der alkoholunlöslichen, sondern auch der alkohollöslichen, aber äther- und acetonfällbaren Fraktion anzuhafte, wie man aus der geringen, aber deutlichen Entwicklungshemmung gegenüber den Kontrollen mit Bouillon sehen kann.

Weiter haben wir versucht, den bakteriziden Körper, den Emmerich und die anderen genannten Autoren nur in älteren Kulturen¹⁾ und deren Filtraten nachweisen konnten, aus den Bakterienkulturen selbst darzustellen [vgl. Krause (16) und Landsteiner und Raubitschek (18)].

1) Grosz und Kraus (20) konnten beobachten, daß schon eine 2-tägige Pyocyanus-Bouillonkultur und Pyocyanus-Agarkultur eine starke wachstumshemmende und bakterizide Wirkung auf Gonokokken ausübt.

Versuch VII.

Eine 48 Stunden alte Agarmassenkultur eines stark farbstoffbildenden *Pyocyanus*-Stammes (St. „Leiche“) wird mit 50 ccm absoluten Alkohols ab gespült und die Emulsion 15 Minuten lang auf Siedetemperatur erhitzt, durch Papier klar filtriert, das Filtrat am Wasserbade bis zur Trockene abgedampft; der so entstandene Trockenrückstand in 25 ccm warmen Alkohol abermals aufgenommen, nochmals durch Papier klar filtriert und das Filtrat wieder eingedampft. Der jetzt entstandene Rückstand wurde in 2 ccm Bouillon aufgenommen (Kultur-Alkoholextrakt).

Der zu diesem Versuch verwendete absolute Alkohol (75 ccm) wurde hinsichtlich einer eventuellen bakteriziden Wirkung seines Rückstandes geprüft. Der Rückstand, in Bouillon aufgenommen, zeigte weder bakterizide noch entwicklungshemmende Eigenschaften gegenüber Anthraxbacillen.

Tabelle VII.

Material	Aussaat		
	sofort	nach 3 Stunden	nach 6 Stunden
Kultur-Alkoholextrakt	200	1	∅
Bouillon	740	5300	∞

Wie aus vorstehender Tabelle zu ersehen ist, läßt sich also auch aus den Bakterienleibern selbst durch entsprechende Alkoholbehandlung der bakterizide Körper gewinnen, der an Schnelligkeit und Intensität der Wirkung weder der Originalpyocyanase noch deren Alkohol- resp. Aetherextrakten nachsteht.

Auf Grund dieser Versuche können wir uns nicht der Ansicht Emmerichs und Loews anschließen, daß der bakterizide Körper ein Sekretionsprodukt der Bakterienzelle ist, welches sich vorzüglich in alten Bouillonkulturen vorfindet. Wir halten es vielmehr nicht für unwahrscheinlich, daß die Zunahme der bakteriziden Kraft alter *Pyocyanus*-Kulturen in einem gewissen Zusammenhange mit der bekanntlich sehr starken Auflösung der Bakterienleiber in der Kulturflüssigkeit steht.

Aus unseren Versuchsergebnissen ergeben sich nachstehende Schlußfolgerungen:

1) Die bakterizide Wirkung der Pyocyanase ist nicht auf das Vorhandensein eines Fermentes zurückzuführen, da der wirksame Körper unabhängig von Temperatur und Reaktion seine bakterizide Kraft entfaltet, weder durch Ammonsulfat, noch durch Alkohol fällbar ist, und außerdem eine bei Fermenten sonst nie beobachtete hohe Kocktostabilität besitzt.

2) Die bakterizide Wirkung der Pyocyanase beruht vielmehr auf dem Vorhandensein eines Körpers, der sich durch hohe Thermostabilität und durch seine Löslichkeit in Alkohol, Aether, Benzol, Benzin, Aceton, Petroläther und Chloroform auszeichnet. Ob jedoch dieser Körper als reines Lipoid oder als bakterizid wirkende Seife (Noguchi) in der Pyocyanase vorhanden ist, müßten weitere chemische Untersuchungen zeigen.

Inwieweit eine derartige Bakterizidie therapeutisch verwertbar erscheint, darüber möchten wir uns hier nicht äußern.

Wien, im Juli 1908.

Literatur.

- 1) Bouchard, Acad. sciences. 1888.
- 2) Charrin u. Guinard, Compt. rend. de l'acad. T. CVIII. 1889.
- 3) Woodhead u. Wood, Compt. rend. de l'acad. T. CIX. 1889.

- 4) v. Freudenreich, Ann. des micrographie. 1889.
- 5) Emmerich u. Loew, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI.
- 6) — —, Ibid. Bd. XXXVI.
- 7) Dietrich, Arb. a. d. Tübinger Pathol. Institut. Bd. III. 1901.
- 8) Klimoff, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901.
- 9) Emmerich, Loew u. Korschun, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXI.
- 10) Raubitschek u. Russ, Wien. klin. Wochenschr. 1908. Heft 8.
- 11) Noguchi, Biochem. Zeitschr. Bd. VI.
- 12) Landsteiner u. Ehrlich, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV.
- 13) Bassenge, Dtsche med. Wochenschr. 1908.
- 14) Emmerich u. Loew, Wien. klin. Wochenschr. 1908. Heft 23.
- 15) Raubitschek u. Russ, Wien. klin. Wochenschr. 1908. Heft 23.
- 16) Krause, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXI.
- 17) Vaerst, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXI.
- 18) Landsteiner u. Raubitschek, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV.
- 19) Raubitschek, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLVI.
- 20) Grosz u. Kraus, Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. XLV. 1898.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Züchtung und Isolierung von Anaërobiern.

[Aus der Königl. bakteriologischen Untersuchungsanstalt in Saarlouis.]

Von Dr. **Fehrs**, Leiter der Anstalt
und Oberarzt Dr. **Sachs-Mücke**, Assistent der Anstalt.

Mit 3 Figuren.

Soeben hat H. Liefmann¹⁾ ein Verfahren zur Anaërobenzüchtung unter Verwendung von Petri-Schalen, Glimmerplatten und Spezialnährböden angegeben, die auf dem ursprünglich von Robert Koch beschriebenen Versuche²⁾ sich aufbaut. Wir können gleich bestätigen, daß sich eine solche Methode gut zur Züchtung und Isolierung von Anaëroben eignet, da wir bereits im vorigen Jahre auf der hiesigen Untersuchungsstation ein ähnliches, im folgenden kurz zu schilderndes Verfahren mit Erfolg angewendet haben. Dabei gingen wir von dem Gedanken aus, bei Anwendung der gewöhnlichen Nährböden (Agar und Gelatine) und mit jeder Zeit vorhandenen Utensilien die Marpmannsche „anaërobe, zylinderförmige Plattenkultur“³⁾ mit dem Kochschen Glimmerplättchenversuch zu vereinigen. Wir benutzten hierzu die bei der Typhusbekämpfung üblichen, großen v. Drigalski-Conradischen Schalen. In den erstarrenden, mit Bakterienmaterial beschickten oder auf den bereits erstarrten und mittelst des Drigalski-Spatels beimpften gewöhnlichen Agar setzten wir eine nur wenig kleinere Glasschale oder auch eine Petri-Schale fest ein bzw. auf. So zeigt Fig. 1 in einer Anordnung, bei welcher der Agar in den Schalendeckel gegossen, die Schale selbst darin eingedrückt und der Raum zwischen den Schalenwänden mit Agarmasse aufgefüllt ist, das Wachstum einer Reinkultur von *Bacillus botulinus*. Fig. 2 stellt unter Verwendung einer Petri-Schale einzelne Kolonien des Tetanusbacillus mit ihrem charakteristischen federartigen Aussehen dar.

1) Ein einfaches Verfahren zur Züchtung und Isolierung anaërober Keime. (Diese Zeitschr. Bd. XLVI. 1908. Heft 4.)

2) Berliner klinische Wochenschr. 1884. p. 480.

3) Diese Zeitschr. Bd. XXIII. 1898. p. 1090.

Eine weitere Vereinfachung erzielten wir durch Auflegen großer sterilisierter Glasplatten auf die Oberfläche des vor oder nach dem Erstarren beimpften Nährbodens. Alte photographische Platten, welche heutzutage überall leicht zu haben sind, sind gut geeignet. Sie haben vor den Glasschalen eine vollständig ebene Fläche voraus und legen sich, wenn man sie zunächst auf der einen Kante aufsetzt und dann mit der Pincette langsam auf den Nährboden niedersenkt, überall fest und dicht ohne Blasenbildung an. Während des Niedersenkens übt man zweckmäßig mit einer zweiten sterilen Pincette auf die Glasplatte einen vor-

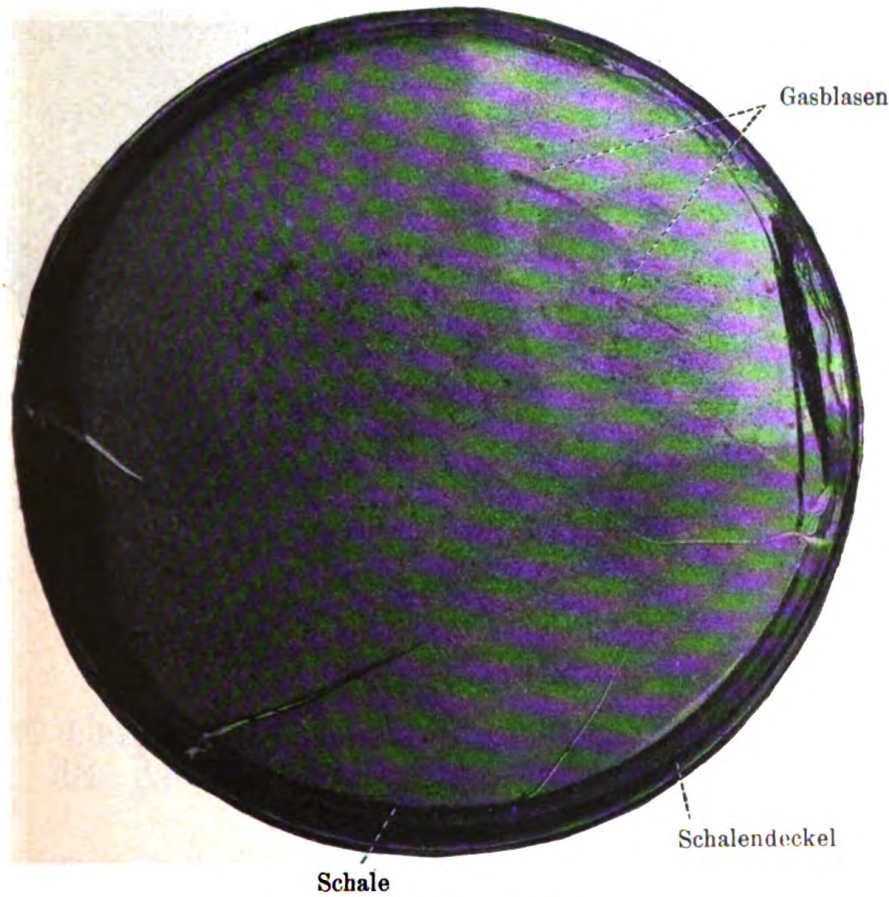
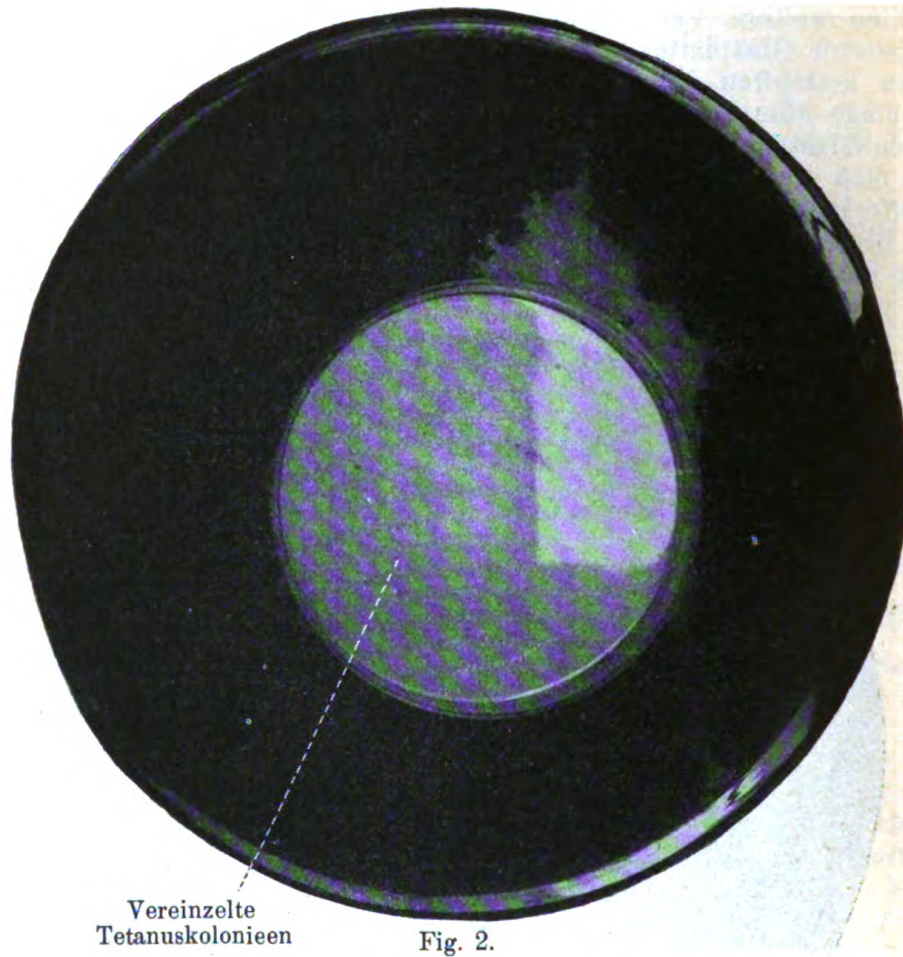


Fig. 1. $\frac{1}{2}$ natürl. Größe.

sichtigen Druck aus, welcher von der zuerst aufgesetzten Kante langsam nach der gegenüberliegenden fortschreitet. Der Nährboden darf nicht zu feucht sein, er muß frisch ausgekocht und mit vollständig ebener Oberfläche erstarrt sein. Die Glasplatten lassen sich nach Reinigung mit Schwefelsäure beliebig oft wieder benutzen. Die Platten haften so fest an dem Nährboden an, daß man die Schalen auch umgekehrt in den Brütöfen stellen kann, was bekanntlich mannigfache Vorteile in sich schließt. Fig. 3 und 4 sind Photographieen so erhaltener Kulturen.

Unser Verfahren scheint gegenüber dem Liefmannschen insofern Vorzüge zu haben, als

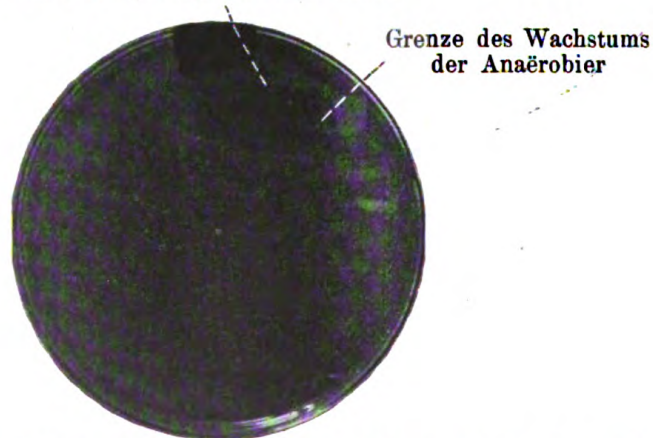
1) statt der teureren Glimmerplatten die billigen, stets leicht erhältlichen photographischen Platten zur Verwendung kommen,



Vereinzelte
Tetanuskolonien

Fig. 2.

Rand der photographischen Platte



Grenze des Wachstums
der Anaërobier

Fig. 3a. 36 Stunden nach Beimpfen photographiert. $\frac{1}{3,6}$ natürl. Größe.

2) die beimpfte Fläche, insbesondere die dem Sauerstoff der Luft unzugängliche Zone, viel größer ist,

3) infolge des letzteren Umstandes die Anwendung der gewöhnlichen, frisch ausgekochten Nährböden ohne Zusatz reduzierender Substanzen möglich ist.

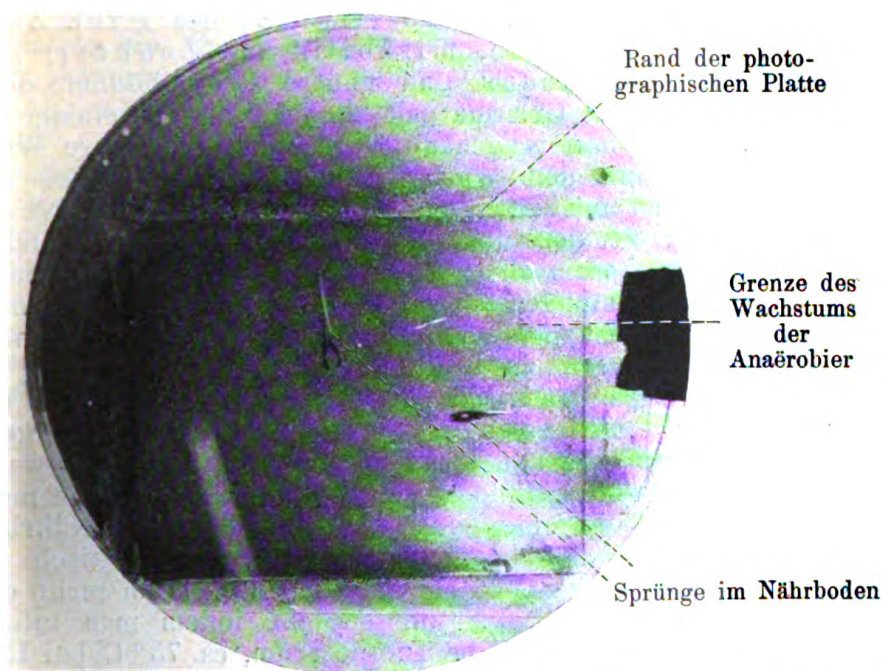


Fig. 3 b. Dieselbe Kultur, nach 4 Tagen photographiert. $\frac{1}{2,25}$ natürl. Größe.

Sowohl die von Liefmann als ganz besonders auch die von uns geübte Methode, welche beide auf dem gleichen Prinzip beruhen, dürften die Züchtung und Isolierung von Anaërobien in ganz außerordentlicher Weise für die allgemeine Praxis erleichtern.

Nachdruck verboten.

Ueber elastikotropische Erscheinungen beim Wachstum des Bac. anthracis und verwandter Bacillen auf Serumnährböden.

[Aus dem k. k. Hygienisch-bakteriolog. Institute der Jag. Universität in Krakau (Vorstand: Prof. O. Bujwid).]

Von Dr. **Philipp Eisenberg**, Assistenten am Institute.

Mit 2 Figuren.

Die interessante Eigentümlichkeit des Bact. Zopfii, auf schräger Gelatine federkielartig zu wachsen, war seit ihrer Entdeckung durch Kurth Gegenstand mehrfacher Untersuchungen und zum Teil divergenter Deutungen. Boyce und Evans, Zikes sowie Sergent in seiner ersten Arbeit halten sie für den Ausdruck negativer Geotaxis, Beijerinck betrachtet kleine Temperaturunterschiede an verschiedenen Stellen der Kultur für die Ursache des richtenden Einflusses. In neuester Zeit hat nun Jacobsen auf Grund eingehender und sehr sinnreicher Versuche dargetan, daß die Erscheinung wohl am besten als Wirkung von „Elastikotropie“ aufzufassen ist, und ihm schließt sich Sergent auf Grund seiner neuesten Versuche vollkommen an. Jacob-

sen fand außerdem, daß auch einige Verwandte des *Bact. Zopfii*, und zwar *Proteus vulgaris*, *mirabilis* und *Zenkeri*, sodann *Bac. mycoides*, *ochraceus* und andere Sporenbildner dieselbe Wachstumsart aufweisen. Gelatine galt bis jetzt als das einzige Nährmedium, auf dem die bereits genannte „Elastikotropie“ ihre Wirkung ausüben kann, Agar setzt dem Wachstum der Fäden zu großen Widerstand entgegen und ist auch zu wenig elastisch (Jacobsen). Nun habe ich während meiner Studien über die Kapselbildung des Milzbrandbacillus in erstarrtem Serum einen Nährboden kennen gelernt, auf dem tropische Wachstumsrichtungen sich ebenfalls kenntlich machen, und möchte hier meine diesbezüglichen Erfahrungen in kurzen Worten wiedergeben.

Um federkielartiges Wachstum des Milzbrandbacillus auf schräg erstarrter Serumfläche zu erzielen, impft man ihn in einem geraden Impfstrich in der Mittellinie und läßt ihn 1—4 Tage bei 37° C wachsen. Ich verwendete dazu Pferde-, Rinder- und Menschenserum sowie menschliche Ascitesflüssigkeit, es muß jedoch bei Herstellung des Nährbodens darauf geachtet werden, daß er genügend weich und elastisch bleibt. Das erreicht man am besten dadurch, daß man das Serum nicht eigentlich koagulieren, sondern nur gelatinieren läßt, indem man möglichst niedrige Temperaturen (ca. 70° C bei Pferdeserum, ca. 75° C bei Rinderserum), natürlich längere Zeit hindurch, einwirken läßt. Das Serum muß dabei durchsichtig resp. stark durchscheinend bleiben und, was das Wichtigste ist, recht weich. Die Durchsichtigkeit ist von Bedeutung, da die Zeichnung nur bei durchfallendem Licht gut zur Geltung kommt, bei auffallendem dagegen kaum sichtbar ist. Der Nährboden muß den Bakterien gut zusagen, auch sieht man oft erst nach 2—3-tägigem Wachstum die Bildung der Seitenästchen einsetzen — ein Ausdruck der stattgehabten Anpassung der Keime an den Nährboden und dadurch gesteigerter Wachstumsintensität. Wird das Serum bei zu hoher Temperatur erstarrt, also etwa gewöhnliches Loeffler-Serum, so wird die Aestchenbildung verkümmert oder unterbleibt auch ganz, Zusatz von 10 Proz. Glycerin oder Traubenzucker verzögert sie, während die Verwendung von mit Bouillon zur Hälfte verdünntem Serum sie begünstigt. Es scheinen dabei auch andere unkontrollierbare Einflüsse mit im Spiele zu sein, da zuweilen ohne ersichtliche Ursache die Erscheinung ausbleibt, zuweilen aber nur partiell zur Entwicklung kommt, indem ein Teil des Impfstreiches Aestchen treibt, der Rest aber ungefedert bleibt. Bezüglich der Stammesverschiedenheiten habe ich beobachten können, daß virulente lebenskräftige Stämme sich gut zur Federkielbildung eignen, während schwachvirulente öfter versagen, was wohl mit der Wachstumsintensität auf Serum zusammenhängen dürfte.

Es lag natürlich nahe, auch andere aërobe Sporenbildner sowie die *Proteus*-Gruppe daraufhin zu untersuchen, ob sie auf erstarrtem Serum dem Richtungseinfluß der Elastikotropie folgen würden. Tatsächlich zeigten der *Bac. mycoides*, *tumescens*, *ruminatus*, *Ellenbachensis*, verschiedene nicht genau bestimmte aërobe Sporenbildner aus Eibisch- und Quittenwurzel, roten Rüben, Pepton, Hämoglobin und Gelatine das *Bact. Zopfii* sowie verschiedene Stämme von *Proteus mirabilis* und *Proteus Zenkeri* federkielartiges Wachstum auf genanntem Nährboden. Negative Resultate hatte ich bis jetzt beim *B. subtilis* und *B. subtilis* α , *cohaerens*, *silvaticus*, *alvei*, *asterosporus*.

Andererseits habe ich versucht, bei Milzbrand- und anderen Bacillen auf Gelatine ein ähnliches Wachstum zu erzielen, doch sind alle bisherigen Versuche trotz Verwendung von Gelatine und 10 Proz. Peptonzusatz (Jacobsen) an der raschen Verflüssigung des Nährbodens gescheitert.

Bezüglich des Mechanismus der eigentümlichen Wachstumsart glaube ich nach meinen Beobachtungen, mich der Ansicht von Jacobsen voll anschließen zu können, der elastische Zugkräfte als maßgebend ansieht. Zweierlei Faktoren beeinflussen die Wirkung dieser Kräfte — das Austrocknen des Nährbodens an den Rändern und im oberen sich verjüngenden Teil des Nährbodenkonus, andererseits die Schwerkraft, die ein Abrutschen des Nährbodens zur Folge haben müßte, wenn er nicht am oberen verjüngten Ende an das Glas angetrocknet, auf diese Weise



Fig. 1.

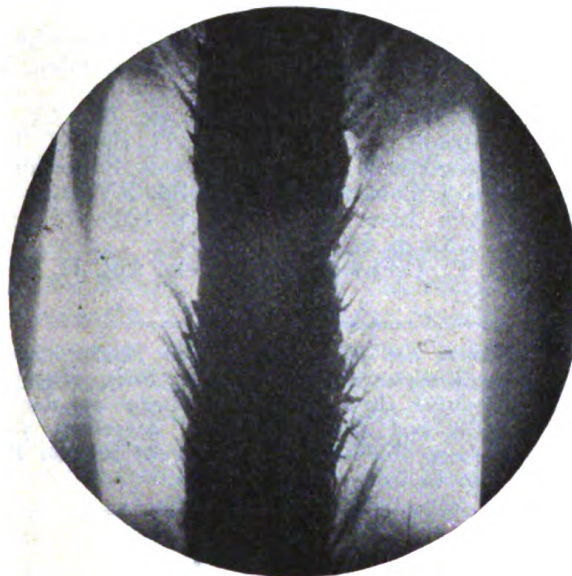


Fig. 2.

Phot. 1. Milzbrandkultur auf schräg erstarrtem Pferdeserum, 3-tägig, nat. Größe, bei Auerlicht aufgenommen.
Phot. 2. Andere Kultur auf demselben Nährboden, ebenso aufgenommen, 5-fache Vergr.; zeigt sekundäre Aestchen.

quasi aufgehängt wäre. Die Zugkraft des Aufhängepunktes ist nun vertikal nach oben gerichtet, diejenige der austrocknenden Ränder horizontal nach außen, der schräg nach oben und außen gerichtete Verlauf der Aestchen stellt somit die aus beiden Richtungen resultierende Diagonale dar, wie beigegebene Fig. 1 dies zeigt. Entsprechend der größeren Festigkeit des Serums sowie der starken Aërophilie der hier untersuchten Arten erfolgt das verzweigte Wachstum in unserem Fall fast nur auf der Oberfläche, nicht aber im Inneren des Nährbodens, wie beim *B. Zopfii* auf Gelatine.

Unter besonderen Umständen sind nun die Aestchen nicht schräg nach oben und außen gerichtet, sondern entweder horizontal oder vertikal, und zwar vor allem auf Serum, das in Kollé-Schalen erstarrt wurde. Das Serum war in der Mitte geimpft, und die Schale wurde bei der Bebrütung senkrecht gehalten. Hier kam es nun vor, daß die Verzweigungen ganz wagrecht vom Impfstich nach außen wuchsen — augen-

scheinlich war hier nur die Austrocknung der beiden Ränder wirksam. Andererseits wuchsen aus dem infizierten Kondenswasser Aestchen direkt nach aufwärts, nur dem Feuchtigkeitsunterschied des Nährbodens folgend, d. h. den trockenen Partien zustrebend (s. Fig. 2).

Endlich möchte ich noch bemerken, daß ich bei 2 Stämmen von *Oidium lactis* auf schräger Gelatine eine zierliche, stets horizontal nach außen gerichtete Verzweigung beobachtet habe, die wohl auf andere Faktoren zurückzuführen wäre (negative Chemotaxis der älteren Kulturbestandteile?).

Für die Anfertigung der wohl gelungenen Photogramme bin ich meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. O. Bujwid, zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

Literatur.

- Kurth, Bot. Zeitschr. 1883. p. 409. Zit. bei Jacobsen.
 Boyce, R. and Evans, E., Proc. Roy. Soc. London. Vol. LIV. 1893. p. 300. Zit. bei Jacobsen.
 Beijerinck, M. W., Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XV. 1894. p. 799.
 Zikes, H., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XI. 1903. p. 59.
 — —, Ueber geotaktische Bewegungen des Bacterium Zopfii. Wien (Hölder) 1906. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. p. 547.)
 Sergent, E., Ann. Inst. Past. T. XX. p. 1005—1017.)
 — —, Ibid. T. XXI. p. 842—850.
 Jacobsen, H. C., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. p. 52—64.

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>Altana, Giuseppe, Ueber einen vom Meer-schweinchen isolierten Tetrageus, p. 42.
 Bazzola, Carlo, Ueber die sogenannten „tierischen Bacillen“ (Bail), p. 36.
 Eisenberg, Philipp, Ueber elastikotropische Erscheinungen beim Wachstum des <i>Bac. anthracis</i> und verwandter Bacillen auf Serumnährböden, p. 125.
 Fehrs u. Sachs-Mücke, Beitrag zur Züchtung und Isolierung von Anaërobiern, p. 122.
 Galli-Valerio, B. u. Rochas de Jongh, J., Zur Frage der Eier von <i>Culex cantans</i>, p. 91.
 Kemp, Ueber Versuche, aus Gärungsstühlen den <i>Granulobacillus saccharobutyricus</i> zu züchten, p. 54.
 Klimenko, W. N., Die Aetiologie des Keuchhustens, p. 64.
 Konrich, Ueber den Einfluß von Wärme und Zeit auf den Ablauf der Agglutination, p. 92.</p> | <p>Lipschütz, B., Ueber mikroskopisch sichtbare, filtrierbare Virusarten. (Ueber <i>Strongyloplasma</i>), p. 77.
 Marx, E., Ueber eine Paratyphus B-Epidemie beim Infanterieregiment Hessen-Homburg No. 166, nebst Bemerkungen über das Jakobsthalsche Serumpapier (Merck), p. 29.
 Mählens, Dahm u. Fürst, Untersuchungen über Bakterien der Enteritis-Gruppe (Typus Gärtner und Typus Flügge), insbesondere über die sog. „Fleischvergiftungserreger“ und die sog. „Rattenschädlinge“, p. 1.
 Pricolo, Antonio, Sur une propriété d'un sérum préparé avec des exsudats streptococciques, p. 109.
 Raubitschek, Hugo u. Buss, Viktor K., Zur Kenntnis der bakteriziden Eigenschaften der Pyocyanase, p. 114.
 Enata, Guido Q., Der Ursprung der Pneumokoniosen, p. 44.</p> |
|--|---|

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLVIII. Heft 2.

Nachdruck verboten.

Fortgesetzte Studien über das Wachstum einiger pathogener Bakterien in sterilisierten und nichtsterilen Abfallstoffen.

[Mitteilung aus dem Hygienischen Institute zu Stockholm.]

Von **Gerda Troili-Petersson**, Stockholm.

In dieser Zeitschrift, Bd. XLV. p. 5, habe ich einige Studien über die Vermehrung der Typhus- und Cholerabakterien in verschiedenen Abfallstoffen veröffentlicht. Es hat sich gezeigt, daß diese Bakterien sich in sterilen Extrakten von verschiedenen Düngern¹⁾ sowie in gewissen Sinkstoffen und im, bei der Reinigung von Wasserfiltern weggenommenen Algenschlamm reichlich vermehren können. Auch bei Anwesenheit und gleichzeitigem Wachstum von Wasserbakterien findet eine starke Vermehrung der Typhusbakterien in vorher sterilisiertem Filterschlamm statt. Die Konkurrenz mit den Wasserbakterien scheint den Cholerabakterien schwieriger zu sein. Indessen gelang es, bei zwei Versuchen eine Vermehrung zu konstatieren.

Der Zweck dieser Arbeit ist, einen weiteren Beitrag zu unseren Kenntnissen von dem Verhalten einiger pathogener Bakterien zu gewissen natürlichen Nährmedien zu bringen. Kulturversuche wurden angestellt mit Typhus-, Cholera-, Dysenterie-, Pseudodysenterie-, Paratyphus- und Coli-Bakterien in faulendem oder mit Algen bewuchertem, in Wasser sterilisiertem Holz und mit den vier letztgenannten Bakterienarten in sterilem wasserhaltigen Filterschlamm. Schließlich wurden Versuche über die Konkurrenzfähigkeit der Cholerabakterien und der Pseudodysenteriebakterien mit den Wasserbakterien angestellt, sowie auch über Wachstumsfähigkeit in nichtsterilen Nährböden.

Nachstehende Bezeichnungen der Nährböden und der Bakterienstämme werden im folgenden gebraucht:

Nährböden:

St = Wenig verfaulten, von Algen überwucherten Holzabfall aus dem See bei Stockholm.

St 1 = Verfaultes Holz.

Oer = Faulendes Holz aus dem Mälarsee bei Svartsjö (Wasser sehr wenig unreinigt).

M 3 = Filterschlamm von einem kleinen Wasserwerk (Höganäs, Skåne), weniger gutes Rohwasser, 1905.

M 10 = do., 1907.

M 8 = Filterschlamm vom Stockholmer Wasserwerk, 1905.

M 9 = do., 1907.

Bakterienstämme:

Ny = Typhusbakterie, Stockholm, Dr. Jacobaeus.

P 12 = Typhusbakterie, Helsingborg, Dr. Pettersson.

C 1 = Alte Kultur des Hygienischen Institutes Stockholm.

C 3 = Virulente Cholerabakterie, Königsberg, Dr. Pettersson.

D 4 = Pseudodysenteriebakterie, Dr. Lentz²⁾.

D 10 = Pseudodysenteriebakterie, Bonn, Prof. Kruse²⁾.

D 9 = Dysenteriebakterie, do.²⁾.

1) Vergl. Almqvist, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LII. p. 179. — Koraen, Nordiskt med. Arkiv. 1907.

2) Vergl. Kruse, Rittershaus, Kemp u. Metz, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LVII. p. 417.

Pa 15 = Paratyphusbakterie B, Neunkirchen, Dr. Conradi.
 Cc 1 = *B. coli commune*, Hyg. Institut Stockholm.
 Cc 2 = do.

Untersuchungsmethoden bei Versuchen mit sterilem Nährboden.

Zu den Kulturen mit Holz wurden große Reagenzröhren von ca. 25 mm Durchmesser verwendet. Das Holz wurde teils in verhältnismäßig größeren Stückchen und Splintern in die Gläser gelegt, teils wurde es mit einem Messer in kleine Späne zerschnitten. Im letzteren Falle wurde so viel Wasser in die Gläser gegossen, daß das Wasser über das Holz hinausreichte, während im vorigen die Holzstückchen nicht ganz vom Wasser bedeckt waren.

Dem Filterschlamm wurde in gewöhnlichen Reagenzröhren so viel Wasser zugesetzt, daß das Wasser ein wenig über der Schlammoberfläche stand.

Das Sterilisieren geschah im Autoklaven bei 120°.

Jedem Rohre wurde eine Oese einer Bakterienemulsion in Kochsalzlösung zugesetzt. Eine Oese, 3,6 mg, der geimpften Kultur wurde nach Umrühren sogleich zum Plattengießen benutzt, wodurch die Zahl der eingeimpften Bakterien per Oese bestimmt wurde. Nach verschiedenen Zeitintervallen wurden quantitative Platten, wenn nötig von Verdünnungen, angelegt. Die Kulturen wurden bei 17--19° aufbewahrt.

Versuche über das Wachstum im sterilen Nährboden.

Die Typhusbakterie.

Herr Prof. E. Almquist, der Holzkulturen der Typhusbakterie untersuchte, hat mir gütigst die in der folgenden Tabelle zusammengestellten Resultate mitgeteilt.

Tabelle I.
 Wachstum der Typhusbakterie in Holznährboden bei 17—19°.

Nährboden	Bakterienstamm	Kolonien per Oese nach der Impfung	Kolonien per Oese nach					
			Tagen		Tagen		Tagen	
Oer Holzstückchen	P 12	350	2	108	9	21 600	18	21 500
St Splitter	P 12	11	5	22 000	12	11 000	21	14 500
St „	Ny	11	5	4 700	12	2 200	21	1 100
St „	P 12	30	3	9 400	7	29 000	26	22 000

Eine bedeutende Vermehrung hat also in den beiden verwendeten faulenden Holzsorten stattgefunden. Nach 3 Wochen ist mit einer Ausnahme die Bakterienzahl dem Maximum noch nahe.

Um meine früheren Angaben über reichliches Wachstum in sterilem Filterschlamm zu vervollständigen, teile ich hier mit, daß das Wachstum der Typhusbakterie im Filterschlamm M 10 im Vergleich mit den Resultaten der in meiner vorigen Mitteilung beschriebenen Versuche mit Filterschlamm gering war.

Die Cholerabakterie, Stämme C 1 und C 3, ist in den verschiedenen Holznährböden nicht gewachsen.

Die Dysenteriebakterie.

Wiederholte Versuche, die Dysenteriebakterie in den verschiedenen Holznährböden zu kultivieren, sind ohne Erfolg geblieben. Dagegen ist

diese Bakterie im Filterschlamm gewachsen und findet sich, wie folgende Zahlen zeigen, noch nach einem Monat in bedeutender Anzahl vor.

Tabelle II.
Wachstum der Dysenteriebakterie in Filterschlamm bei 17—19°.

Nährboden	Kolonien per Oese nach der Impfung	Kolonien per Oese nach									
		Tagen		Tagen		Tagen		Tagen		Tagen	
M 9	90	5	> 30 000	12	4 800	19	3000	31	1400		
M 9	200	4	27 500	13	16 000	19	7500	25	7000	35	7500
M 3	135							25	1800	35	2700

Im Filterschlamm M 10 hat kein Wachstum stattgefunden.

Die Pseudodysenteriebakterie.

Die Vermehrung dieser Bakterie in den Holznährböden sowie in den verschiedenen Proben von Filterschlamm wird in der folgenden Tabelle veranschaulicht.

Tabelle III.
Wachstum der Pseudodysenteriebakterie bei 17—19°.

Nährboden	Bakterienstamm	Kolonien per Oese nach der Impfung	Kolonien per Oese nach											
			Tagen		Tagen		Tagen		Tagen		Tagen			
Filterschlamm	D 4	140	3	> 30 000	5	170 000	12	550 000	19	75 000			45	50 000
"	D 4	200	4	270 000			13	110 000	19	36 000	25	55 000	35	70 000
"	D 4	115	3	0	5	0								
"	D 4	105	4	0							25	0		
"	D 4	75	4	300 000			13	65 000	19	100 000	25	80 000	35	4 000
"	D 10	90	3	> 30 000	5	45 000	12	3 600	19	600			31	400
"	D 10	240	4	140 000			13	24 000	19	17 000	25	17 500	35	10 000
"	D 10	53	3	0	5	0								
"	D 10	55	4	250 000			13	31 500	19	12 500	25	15 000	35	16 000
Holzsplitter	D 4	38			5	500 000	7	380 000	9	700 000	19	300 000		
"	D 4	77			5	40 000	7	150 000	9	300 000	19	250 000		
Holzspänchen	D 4	100			5	265 000	7	150 000	9	220 000	19	150 000		
"	D 4	40			5	60 000	7	50 000	9	40 000	19	25 000		
"	D 10	25	4	65 000					16	37 000			30	100 000
Holzstückchen	D 10	50			5	> 35 000					19	190 000	34	210 000
Holzsplitter	D 10	25			5	60 000	7	250 000	9	340 000	19	250 000		
"	D 10	15			5	300 000	7	250 000	9	400 000	19	150 000		

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Pseudodysenteriebakterie sich sowohl im Filterschlamm als auch im Holznährboden vorzüglich entwickelt hat. Die Bakterienzahl hält sich einige Wochen hindurch bei sehr hohen Werten. Eine Ausnahme macht, wie bei den vorher erwähnten Arten, der Filterschlamm M 10. Das Holz scheint der Pseudodysenteriebakterie besonders zusagend zu sein.

Die Paratyphusbakterie.

Folgende Tabelle zeigt, daß die Paratyphusbakterie sich sowohl im Filterschlamm als auch im Holznährboden reichlich entwickeln kann.

Das verschiedene Verhalten der Holzsorte St 1 ist wahrscheinlich durch die verschiedene Provenienz und Art der Verfaulung dieser Holzart, nicht aber durch Verteilung derselben verursacht. In anderen Fällen

Tabelle IV.
Wachstum der Paratyphusbakterie bei 17—19°.

Nährboden	Kolonien per Oese nach der Impfung	Kolonien per Oese nach					
		Tagen		Tagen		Tagen	
M 9 Filterschlamm	420	6	200 000	13	90 000		
M 8 "	150	3	200 000	15	1 000 000	29	1 000 000
St 1 Holzstückchen	100	6	0	13	0	25	0
Oer Holzspänchen	50	4	180 000	16	150 000	30	130 000
St Holzsplitter	65	4	160 000	16	400 000	30	450 000

hat nämlich eine Vermehrung stattgefunden, auch wenn, wie bei dieser Probe, möglichst große Holzstückchen benutzt wurden.

Colibakterien.

Die Vermehrung der zwei untersuchten Stämme des *Bact. coli commune* ist, wie Tabelle V zeigt, sowohl in Filterschlamm- als auch in Holzkulturen eine sehr starke. Auch der Filterschlamm M 10 bildet hier keine Ausnahme.

Tabelle V.
Wachstum von Colibakterien bei 17—19°.

Nährboden	Bakterienstamm	Kolonien per Oese nach der Impfung	Kolonien per Oese nach									
			Tagen		Tagen		Tagen		Tagen			
M 9 Filterschlamm	Cc 1	150	3	> 30 000	7	130 000	14	140 000	26	28 000	40	500
M 10 "	Cc 1	120	3	> 30 000	7	1 000 000	14	800 000	26	360 000		
M 9 "	Cc 2	370	3	200 000			15	85 000	29	25 000		
M 10 "	Cc 2	200	3	300 000					29	1 200 000		
Oer Holzstückchen	Cc 1	50			7	600 000	14	600 000	29	300 000	40	1000
Oer Holzspänchen	Cc 1	36	4	220 000			16	1 000 000	30	450 000		
St Holzsplitter	Cc 1	20	4	160 000			16	700 000	30	660 000		
Oer Holzspänchen	Cc 2	110	3	600 000			15	1 200 000				
St Holzsplitter	Cc 2	45	3	100 000			15	600 000	29	660 000		

Versuche, die Typhusbakterie und die Pseudodysenteriebakterie in sterilem Holz aus gebrauchten, aber reinen häuslichen Geräten zu züchten, fielen negativ aus.

Versuchsanordnungen bei der Kultur von pathogenen Bakterien bei Anwesenheit von Saprophyten.

Das Holz wurde, in kleine Späne oder in größere Splitter zerteilt, in weiten Reagenzröhren im Autoklaven sterilisiert. Nach dem Erkalten wurde nichtsteriles Wasserleitungswasser mit oder ohne Kochsalzzusatz zugesetzt. Einige Versuche wurden auch mit nichtsterilem Holz sowie mit unsterilem Filterschlamm ausgeführt. Der Filterschlamm wurde jedoch, wie das Holz, bei den meisten Versuchen im Autoklaven sterilisiert und mit nichtsterilem Wasserleitungswasser versetzt. Es wurde der Schlamm in gewöhnliche Reagenzröhren zu etwa 10 ccm gefüllt; nach dem Sterilisieren wurden 7 ccm Wasserleitungswasser zugesetzt. Geimpft wurde mit einer Oese einer Bakterienemulsion in Kochsalzlösung, deren Bakteriengehalt durch Plattengießen festgestellt wurde. Die Kulturen wurden bei 17—19° aufbewahrt.

Nach verschiedenen Zeitintervallen wurden quantitative Blauagarplatten (v. Drigalski und Conradi) von Verdünnungen einer Oese, 3,6 mg, der durchgemischten Holz- oder Filterschlammkultur angelegt. Die ausgewachsenen Kolonien wurden genau besichtigt, einige, die das Aussehen respektiver pathogener Bakterienart zeigten, wurden auf Agglutinabilität geprüft, nach Bedürfnis auch auf Nähragar und Kartoffeln kultiviert usw., um ihre Identität festzustellen. Wenn diese Proben positiv ausfielen, wurden auch die übrigen typischen Kolonien als zu derselben Art gehörend gerechnet.

Von einer Kultur der echten Dysenteriebakterie bei Anwesenheit anderer Bakterien mußte auf Grund der Schwierigkeiten der Identifizierung zurzeit abgestanden werden.

Im nichtsterilen Holz kam eine saprophytische Bakterienart oft vor, die in Pseudodysenterieserum agglutinierte, was das Untersuchen der Kulturen sehr erschwerte.

Versuche über das Wachstum bei Anwesenheit von Saprophyten.

Die Cholera-bakterie.

Wie vorher erwähnt, war es einigemal gelungen, eine Vermehrung der Cholera-bakterie im Filterschlamm bei Anwesenheit von Wasserbakterien zu konstatieren. Mehrere ähnliche Versuche, die Cholera-bakterie in sterilisiertem Filterschlamm mit Zusatz von nichtsterilem Leitungswasser zu kultivieren, fielen aber negativ aus. Es wurden darum Kulturen unter Zusatz von 2,5 Proz. Kochsalz zum nichtsterilen Leitungswasser angelegt. Es hat sich gezeigt, daß dieser Zusatz unter den gegebenen Umständen der Cholera-bakterie vorteilhaft war.

Die folgende Tabelle zeigt, daß die Vermehrung der Cholera-bakterie in sterilisiertem Filterschlamm mit unsterilem Leitungswasser und 2,5 Proz. Kochsalz eine bedeutende ist. Nur eine Probe (mit M 3) fiel negativ aus.

Tabelle VI.

Wachstum der Cholera-bakterie „C1“ bei Anwesenheit von Wasserbakterien bei 17—19°.

Nährboden	Kolonien per Oese nach der Impfung	Kolonien von Cholera-bakterien per Oese nach							
		Tagen		Tagen		Tagen		Tagen	
M 9 Filterschlamm	60	8	55 000	13	1 900				
M 9 "	60	8	70 000	13	2 100				
M 9 "	575	8	2 000	13	viele	20	5 000	25	1) 400 2) 500
M 9 "	575	8	40 000	13	22 500	20	1 700	25	1) 9000 2) 200
M 10 "	60	8	24 000	13	500				
M 10 "	60	8	30 000	13	0				
M 10 "	575	8	13 000	13	4 000	20	0		
M 3 "	575	8	0	13	0				
M 8 "	575	8	80 000	13	viele	20	32 500	25	1) 16 500

Der Zusatz von Kochsalz hat die Entwicklung der Wasserbakterien nicht verhindert, wie die überaus zahlreichen Kolonien derselben auf den Blauagarplatten zeigten.

Die Pseudodysenteriebakterie.

Bei den wenigen Versuchen, die Pseudodysenteriebakterie in nichtsterilem Holz und Leitungswasser zu kultivieren, wurde nur einmal ein deutliches Wachstum sicher konstatiert. Die Zahl der eingimpften

Bakterien war 60 per Oese, nach 6 Tagen fanden sich 600, nach 10 Tagen 2500, nach 20 Tagen 200 Dysenteriebakterien per Oese. In einigen Versuchen war eine Vermehrung wahrscheinlich.

In Kulturen mit sterilisiertem Holz und nichtsterilem Leitungswasser kann die Vermehrung der Pseudodysenteriebakterie eine bedeutende sein, wie die folgende Tabelle zeigt. Die Versuche mit negativem Resultate, die zu ungefähr derselben Anzahl wie die positiven vorkamen, sind darin nicht angeführt. Eine Regelmäßigkeit der Resultate ist bei dieser Versuchsanordnung nicht zu erwarten, da sowohl die Zusammensetzung des Holzes als auch die Arten der im Wasser vorhandenen Bakterien wechseln.

Tabelle VII.
Wachstum der Pseudodysenteriebakterie „D4“ bei Anwesenheit von Wasserbakterien bei 17–19°.

Nährboden	Kolonien per Oese nach der Impfung	Kolonien von der Pseudodysenteriebakterie per Oese nach											
		Tagen		Tagen		Tagen		Tagen					
Oer Holzspänchen ¹⁾	50	4	16 500	6	30 000	11	20 000	15	40 000	36	18 000	70	1700
Oer „ ²⁾	40					11	2 100	13	3 100				
Oer „ ³⁾	30			6	4 000			22	2 000				
St Holzsplitter ⁴⁾	16			10	100 000			27	0				
St „ ¹⁾	52			8	7 000	13	7 000	20	> 1 600	25	1 700		
St „ ²⁾	68			8	60 000	13	80 000	20	12 000	25	10 000		
St „ ³⁾	40			11	1 100	13	200						

1) 10 ccm Leitungswasser. — 2) 15 ccm Leitungswasser. — 3) 20 ccm Leitungswasser. — 4) 25 ccm Leitungswasser.

In sterilisiertem Filterschlamm mit nichtsterilem Wasser kann also eine starke Vermehrung stattfinden. Diese scheint durch Zusatz von 2,5 Proz. Kochsalz zum Leitungswasser befördert zu werden, was durch die folgende Zusammenstellung veranschaulicht wird.

Tabelle VIII.
Wachstum der Pseudodysenteriebakterie „D4“ bei Anwesenheit von Wasserbakterien bei 17–19°.

Nährboden	Kolonien per Oese nach der Impfung	Pseudodysenteriekolonien per Oese nach											
		Tagen		Tagen		Tagen		Tagen					
M 9 } Filterschlamm ohne	280	8	9 500	13	8 000								
M 9 } Kochsalzzusatz	280	8	6 000	13	1 300	20	600	25	900				
M 9 } Filterschlamm mit	280	8	45 000	13	18 500	20	1 000	25	100				
M 3 } Kochsalzzusatz	90	11	viele	13	140 000	17	85 000						

Die Wasserbakterien sind nach einigen Tagen sowohl in den Holzkulturen als auch in den Filterschlammkulturen sehr zahlreich.

Zusammenfassung der Resultate.

Die Typhusbakterie hat sich in einem sterilen Nährboden von faulendem Holz und Wasserleitungswasser bedeutend vermehrt.

Die Kultur der Cholera- und Dysenteriebakterien im Holznährboden ist nicht gelungen.

Im sterilen Filterschlamm hat eine Vermehrung der Dysenteriebakterie stattgefunden.

Die Pseudodysenterie-, Paratyphus- und Colibakterien haben sich im sterilen Holznährboden sowie im Filterschlamm sehr reichlich entwickelt.

Die Cholera Bakterie hat sich in sterilisiertem Filterschlamm bei gleichzeitigem Wachstum von Wasserbakterien nach Zusatz von Kochsalz bedeutend vermehrt.

Die Pseudodysenteriebakterie ist bei gleichzeitigem Wachstum von Wasserbakterien im Holznährboden zu guter Entwicklung gelangt. Auch im Filterschlamm hat unter denselben Umständen Wachstum stattgefunden.

Besonders beachtenswert ist, daß ein Zusatz von Kochsalz zum Leitungswasser der Cholera Bakterie die Konkurrenz mit den Wasserbakterien bedeutend erleichtert. Die Cholera Bakterie ist ja gerade an der Mündung eines Flusses einheimisch, wo das Flußwasser sich mit dem Salzwasser vermischt.

Nachdruck verboten.

Die begünstigende Reizwirkung kleinster Mengen von Bakteriengiften auf die Bakterienvermehrung.

[Aus der hygienisch-chemischen Untersuchungsstelle beim Sanitätsamt II. Armeekorps.]

Von Stabsarzt Dr. Hüne, Stettin.

Überall in der Natur kann man die Beobachtung machen, daß die lebende Zelle, Tier- wie Pflanzenzelle, in einer gewissen Gesetzmäßigkeit in Beziehung zur Außenwelt tritt. Sind diese Beeinflussungen zu gering, so sind keinerlei Veränderungen der Lebenstätigkeit zu beobachten. Erst von einem gewissen Schwellenwerte dieses Reizes an lassen sich Veränderungen sowohl an den Zellen selbst, wie auch an ihrer Lebenstätigkeit bzw. Lebensäußerung nachweisen. Zunächst tritt eine günstige Wirkung ein, die sich bis zu einem Optimum steigert, dann meistens bei weiterer Reizzunahme plötzlich nachläßt und schließlich zur Schädigung, unter Umständen zur Abtötung der Zelle führt.

Schon Boecker schreibt in bezug auf Arzneiwirkung: „Wir sind gewohnt, von kleinen Dosen kleine, von größeren bedeutende Wirkungen der Arzneien zu erwarten, müssen aber bedenken, daß es Umstände geben könne, unter welchen kleine Arzneigaben das Umgekehrte von größeren hervorbringen.“ Die hierin enthaltene Beschränkung darf für Arzneigaben, wie auch wohl für alle Beziehungen der lebenden Zelle zur Außenwelt fortfallen. Hiervon überzeugt überall in der belebten Natur die nähere Beobachtung. Licht, Temperatur, Nährstoffe, Salze wirken in entsprechend geringer Menge wohltuend und fördernd, in mehr und mehr konzentrierter Form nachteilig auf das lebende Protoplasma. Hierauf hat in weitgehendster Verallgemeinerung Arndt zur Begründung seines biologischen Grundgesetzes hingewiesen: „Schwache Reize fachen die Lebenstätigkeit an, mittelstarke fördern sie, stärkste heben sie auf.“

Ohne mir ein Urteil über die weitgehende Anwendung dieses Gesetzes zu erlauben, scheint mir Arndt in dem Kapitel: „Die Heilkunst und das biologische Grundgesetz“ seine Lehre am besten begründet zu

haben. Ganz im Arndtschen Sinne hat auf dem Gebiete der Arzneikunde H. Schulz gearbeitet und veröffentlicht. Er schreibt in seiner ersten Arbeit hierüber: „Die Veränderungen, welche ein Medikament in der Tätigkeit eines Organes hervorruft, können sich unter bestimmten Bedingungen in Wirkungsbildern präsentieren, die einander völlig entgegengesetzte sind. Ein und dasselbe Organ von ein und demselben Agens beeinflußt, sehen wir entweder ausgeprägte, vermehrte, physiologische Leistungen verrichten oder im Gegenteil mit entschieden herabgesetzter Energie und deutlich verminderter Tätigkeit seine Existenz nach außen hin kenntlich machen.“ Wie die Erfahrung lehrt, steht diese Verschiedenheit der Wirkung zunächst in einem direkten Abhängigkeitsverhältnisse zu der Dosis des angewandten Medikaments. Sie hängt davon ab, ob von irgend einem Arzneimittel viel oder wenig mit den Elementen eines Organes in Berührung tritt. Als Parallele zu der Arzneiwirkung führt Schulz das Pflügersche Zuckungsgesetz an. Von den mannigfaltigen angeführten Beispielen der Arzneimittellehre möge auf eins, die Wirkung des Ipecacuanha, hier hingewiesen werden. In Mengen von 0,015—0,05 wirkt es appetitanregend, von 0,1 an appetitvermindernd, von 0,5—1,0 ruft es Erbrechen und Diarrhöe hervor und von 3,0—5,0 kehrt sich diese Wirkung in eine antidiarrhöische um. Früher hat schon Binz über die Umkehrung der Digitaliswirkung bei steigender Dosis berichtet, ähnliche Beobachtungen machten andere über Kampfer, Physostigmin, Arsen, Phosphor, Quecksilber (Kalomel und Sublimat), Adstringentien (Gefäßverengerung und -erweiterung).

Nach Nasse bewirkt Kochsalzzusatz (etwa 3,85 Proz.) eine Steigerung der Fermentwirkung; größere Kochsalzmengen vermindern sie. Doch nicht nur auf die Organe, auf Zellkomplexe höherer Lebewesen findet das „biologische Grundgesetz“ Anwendung, sondern auch auf die Lebensäußerungen einzelliger Individuen.

Nach Wirgin befördert Kochsalz, in 5 Proz. und weniger den Nährböden zugesetzt, die Entwicklung gewisser Bakterien. Stutzer und Burri bestimmten für viele Bakterien ein Minimum, Optimum und Maximum des Salzzusatzes zu der Nährflüssigkeit. Viele andere Autoren haben nach ihnen ähnliche Beobachtungen gemacht. Außer bei diesen für das Leben aller Zellen notwendigen Substanzen (auch Eiweiß und Zucker gehören hierher) findet das Arndtsche bzw. Schulzsche Gesetz auch auf Stoffe Anwendung, welche wir im allgemeinen als Zellgifte anzusehen gewohnt sind; auch die Industrie macht hiervon ausgiebigen Gebrauch, indem sie Kupfersulfat, Salicylsäure, Sublimat etc. Hefe und anderen Kulturen hinzufügt.

Bereits Nägeli hat bei Bakteriengiften eine wachstumsbefördernde Wirkung beobachtet: „So gibt es Gifte oder antiseptische Substanzen, welche in gewöhnlicher Konzentration die beste Nährlösung zur Ernährung untauglich machen, während sie in geringer Menge selbst als Nahrung dienen.“ Zur Nahrung werden die Bakteriengifte wohl höchst selten dienen; vielleicht käme hier z. B. Alkohol in Frage.

Auch Pasteur erwähnt in seiner Arbeit über Essigbildung eine ähnliche Beobachtung.

Nach Raulin bewirkt Zusatz von kleinen Mengen Zink und Eisensulfat erhöhtes Wachstum, bei doppelter Menge wieder Keimverminderung.

Hoffmann fand, daß Gasbildung von Hefen in Zuckerlösungen durch größere Mengen Ameisensäure gehemmt, durch kleinere Mengen gesteigert würde (Optimum 0,01 Proz.). Aehnliches stellte Gottbrecht

für Thallintartrat bei der Hefegärung, Thal bei organischen nicht aromatischen Säuren (Optimum 0,1 Proz.) bei der Gärung und Fäulnis fest.

Die Essigbakterien sollen nach Wirgin bei sonst gleichbleibenden günstigen Bedingungen bei 3—5-proz. Alkoholzusatz am besten wachsen, ebenso *Bact. fluorescens* bei einem solchen von 4,5 Proz., *Bact. pyocyaneum* bei einem solchen von 1,5 Proz.

Von Schulz und seinen Mitarbeitern sind für eine Reihe von „Zellgiften“ die Mengen festgestellt, welche auf die Hefegärung den günstigsten Einfluß ausüben sollen. Ueber Einzelheiten und die hierbei angewandten Methoden und Apparate ist in den Originalarbeiten nachzulesen. Hier mögen nur die gefundenen Optima dieser Zusätze Platz finden, d. h. diejenigen Verdünnungen der Zellgifte, in welchen letztere den günstigsten Einfluß ausüben:

Sublimat	1 : 500 000 bis 1 : 700 000
Jod	1 : 600 000
Jodkalium	1 : 100 000
Brom	1 : 300 000
Salicylsäure	1 : 4000
Ameisensäure	1 : 2000.

Bei Nachprüfungen mit einfachen Gärröhrchen und *B. coli* haben sich mir für Sublimat etwas höhere Verdünnungen als ein die Gärung begünstigendes Optimum ergeben. Schulz hat zur Begründung seines „Reiz“-Gesetzes in einwandfreier Weise eine bestimmte Lebensäußerung gewisser einzelliger Lebewesen, die Gärung bei Hefe, herangezogen. Weit besser scheint es mir, wenn die allen lebenden Zellen zukommende Tätigkeit, die Zellteilung, welche in der Keimvermehrung zum Ausdruck kommt, herangezogen wird. Hiermit lassen sich genaue Vergleichswerte durch das Plattenverfahren gewinnen. Meines Wissens hat Wirgin als erster in dieser Weise seine hierher gehörenden Untersuchungen gemacht. Wirgin ließ seine beschickten Röhrchen bis zur Untersuchung auf Keimzahl meist einen oder mehrere Tage stehen. Bei der kurzen Generationsdauer der Bakterien (20 Minuten) erschien es mir wichtig, nach kürzerer Einwirkungszeit den ausgeübten Reiz des Zellgiftes zu prüfen. Am vorteilhaftesten hat sich die Dauer von 4 Stunden bei 37° erwiesen. Ferner war die Wirkung am stärksten bei geringer Einsaat ($\frac{1}{200000}$ Oese) zu beobachten.

Die bei meinen Keimtötungsversuchen angewandte Methode und ihre Begründung findet sich in einer früheren Arbeit. Bei den dort mitgeteilten Versuchen fiel es mir auf, daß geringe Mengen von spezifischem bakteriziden Serum eine begünstigende Wirkung auf das Wachstum der Bakterien ausübten, daß also die Keimzahl in den mit diesen geringen Mengen versetzten Röhrchen größer war, als die der Kontrollröhrchen ohne Serum. Die begünstigende Wirkung hatte meistens ihr Optimum bei einer Serumverdünnung von 1:1—10 Millionen. Bei Choleravibrionen kam das Phänomen mehr zum Ausdruck wie bei Typhusbacillen und bei diesen mehr als bei Paratyphus, etwa entsprechend ihrer sonstigen Empfindlichkeit gegen äußere Einwirkungen. Es möge hier der Versuch 21 aus der angeführten Arbeit über „Bakterizidie im Reagenzglas“ Platz finden, um das Ergebnis mit den später anzuführenden vergleichen zu können. Die Einzelheiten des Versuches sowie die Deutung des Ergebnisses sind in der angeführten Arbeit nachzusehen:

Bouillon-Kochsalzkontrolle nach 3 Stunden 270 000
 „ „ und Kan.-Normalserum 1:15 nach 3 Stunden 110 000

Verdünnung des spezifischen Serums	Kolonieenzahl nach 3 Stunden
10	748
100	1213
1000	194
3000	0
10 000	0
30 000	1728
100 000	31 000
1 000 000	200 000
10 000 000	1 500 000
100 000 000	800 000
1 000 000 000	180 000

Das damals bei allen spezifischen Series und Bakterien beobachtete Reizphänomen war auch bei anderen als „Zellgiften“ bekannten organischen und anorganischen Substanzen zu vermuten. Diese Annahme hat sich außer durch die oben angeführte Literatur auch durch meine daraufhin angestellten Versuche bestätigt.

Diese Versuche wurden, wenn nichts Besonderes vermerkt ist, folgendermaßen angestellt: In Reagenzröhrchen kam je 1,0 einer Flüssigkeit, welche in Kochsalzlösung das Zellgift in abgestufter Menge in Lösung enthielt, dann 0,2 Bouillon (nach meinen früheren Untersuchungen gehen beim Ueberimpfen von Bakterien in Kochsalzlösungen, die $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{5}$ Bouillon enthielten, am wenigsten Keime zugrunde) und schließlich 1 Tropfen einer Bakterienaufschwemmung (physiologische Kochsalzlösung und $\frac{1}{6}$ Bouillon) 1:10000. Nachdem die vorher noch leicht geschüttelten Reagenzgläser 4 Stunden bei 37° gestanden hatten, wurden in sie hinein 8,0 Gelatine von etwa 30° geschüttet und dann mit dem gesamten Inhalt Gelatineplatten gegossen. Diese standen 3 Tage bei Zimmertemperatur. Die Zählung wurde mittelst des Wolfhügelschen Zählapparates vorgenommen. Im übrigen wurde die früher erprobte Versuchstechnik verwertet. Bemerken möchte ich noch, daß alle Versuche mit zweifelhaftem oder auffallendem Ergebnis wiederholt nachgeprüft wurden.

Vor allen Dingen schien es mir wichtig, folgende Fragen zu beantworten:

- 1) Zeigen alle Bakteriengifte wachstumsbefördernde Wirkung?
- 2) Welche Verdünnungen der Bakteriengifte wirken am günstigsten?
- 3) Ist eine Verschiedenheit bei den einzelnen Bakterienarten zu beobachten?
- 4) Wie verläuft die Reizwirkung in den verschiedensten Zeitabschnitten und nach welcher Zeit ist sie am besten zu beobachten?

Von den angestellten Versuchen mögen folgende zur Beantwortung der gestellten Fragen hier Platz finden (s. Tabelle I, II, III).

Außer den im Versuch 1 angeführten „Bakteriengiften“ wurden noch andere nachgeprüft und bei allen eine wachstumsbefördernde Wirkung nachgewiesen, wenn sie in entsprechender Verdünnung zugesetzt wurden. Naturgemäß war diejenige Verdünnung, bei der das Optimum der Vermehrung am meisten begünstigenden Reizes festgestellt wurde, bei den einzelnen Substanzen sehr verschieden. Wie aus den angeführten Versuchen hervorgeht, bewegt sie sich bei den starkwirkenden Substanzen, z. B. auch bei Sublimat, zwischen 1:300 000 bis

Tabelle I.
Kontrolle sofort 15
nach 4 Std. 2520 Bakterienaufschwemmung von Coli $\frac{1}{300000}$ Oese.

Fluor	Cupr. sulf.		Thymol		Alkohol		Aether		Spanischer Pfeffer 1 Schote in 10,0 Kochsalzl.		
	Ver- dünnung	Kolonien- zahl	Ver- dünnung	Kolonien- zahl	Ver- dünnung	Kolonien- zahl	Ver- dünnung	Kolonien- zahl	Verdünnung	Kolonien- zahl	
1:10 000	—	1:10 000	—	1:1000	2100	1:10	480	1:10	26	0	20
1:30 000	1200	1:30 000	2140	1:3000	3210	1:30	2820	1:30	2120	1:3	8400
1:100 000	6480	1:100 000	7560	1:10 000	5700	1:100	3540	1:100	3900	1:10	9140
1:300 000	5160	1:300 000	5120	1:30 000	6200	1:300	5800	1:300	3620	1:100	7200
1 Mill.	4860	1:1 Mill.	4740	1:100 000	5460	1:1000	9240	1:1000	3040	1:1000	5340
10 Mill.	3100	1:10 Mill.	3900	1:1 Mill.	4160	1:3000	6820	1:3000	2520	1:10 000	3200
100 Mill.	2520	1:100 Mill.	2860	1:10 Mill.	2880	1:10 000	3540	1:10 000	2310	1:100 000	2860

Tabelle II.
Formalineinwirkung 4 Stunden 37°. $\frac{1}{300000}$ Oese.

Formaldehyd- Verdünnungen	Typhus	Coli	Cholera	Ruhr
1:10 000	—	—	—	—
1:100 000	240	105 300	3 900	35
1:1 000 000	8640	127 980	286 960	57 320
1:10 000 000	34 560	550 660	751 680	90 720
1:100 000 000	13 120	469 800	427 680	68 040
1:1 000 000 000	10 540	288 800	240 640	61 280
1:10 000	10 080	215 900	262 880	58 320
Kontrolle	10 280	207 800	241 620	55 400

Tabelle III.
Bacterium coli. Einsaatmenge: $\frac{1}{30000}$ Oese.

Formaldehyd- Verdünnungen	Nach $\frac{1}{4}$ Stund.	Nach $\frac{1}{2}$ Stund.	Nach 2 Stunden	Nach 4 Stunden	Nach 7 Stunden	Nach 11 Stund.	Nach 20 Stund.
1:3000	210	—	—	—	—	—	—
1:10 000	8100	1280	440	—	—	—	—
1:100 000	11 340	10 260	7020	11 200	1 555 200	4 776 000	45 680 000
1:1 000 000	11 760	11 340	15 120	18 260	1 832 800	7 880 000	51 000 000
1:3 000 000	10 800	16 200	44 280	22 680	2 090 400	18 200 000	48 000 000
1:10 000 000	9820	14 160	55 100	129 600	2 782 000	38 920 000	96 640 000
1:100 000 000	9610	6210	21 260	61 300	2 054 000	25 480 000	75 210 000
Kontrolle	9720	6340	17 300	36 400	140 000	17 200 000	50 207 000

1:10 000 000. Im Versuch 2 verhalten sich die Bakterien der Reizwirkung gegenüber eigentlich alle gleich, häufig habe ich bei Cholera eine stärkere, bei Coli eine schwächere Wirkung beobachtet; zwischen beiden stand Typhus. — Versuch 3 zeigt den zeitlichen Verlauf eines 20 Stunden lang fortgesetzten Versuches. Bei einem auf mehrere Wochen ausgedehnten Versuch war eine viel raschere Abnahme der Keimzahl gerade in den Röhrchen zu bemerken, in denen in der ersten Zeit die begünstigende Reizwirkung des hinzugefügten Bakteriengiftes (Formalin) am größten gewesen war.

Vergleicht man nun die Ergebnisse der Versuche mit Immunsrum und Komplement mit den zuletzt angeführten 3 Versuchen, so vermißt

man die erste Erhebung der Keimzahl in den Verdünnungen mit mehr wirksamer Substanz (1 : 10—1 : 1000). Dieses Wechsberg'sche Phänomen ist, wie in meiner früheren Arbeit näher ausgeführt wurde, in den beim Komplementüberfluß erst allmählich sich zu wirksamen Ketten aneinanderlagernden 3 Substanzen: Rezeptor — Ambozeptor — Komplement, bedingt. Bei den Bakteriengiften einfacher Art tritt naturgemäß die ganze Menge der wirksamen Substanz auf einmal in Tätigkeit. Ferner habe ich bei allen Versuchen einen viel steileren Abfall der Keimmenge, von der höchsten zu der niedrigsten (0) Zahl, bei Immuneris als bei den übrigen Bakteriengiften beobachtet. Bei der Besprechung der ersteren konnte ich zeigen, daß die anfangs flache Kurve nach den schwächeren Verdünnungen hin in den einzelnen Zeitabschnitten immer steiler wurde. Gerade die Röhren, welche anfangs (nach $\frac{1}{2}$ —1 Stunde) weniger Keime aufwiesen, übertrafen dann später (nach etwa 4 Stunden) die Kontrolle bei weitem. Gerade hierin drückte sich besonders deutlich das Reizphänomen aus. Bei den übrigen Bakterien habe ich die immer steiler werdende Kurve nicht so schön wie bei Cholera und Typhus zum Ausdruck kommen sehen.

Die angestellten Versuche haben somit mit aller Deutlichkeit ergeben, daß das Arndt-Schulz'sche Gesetz: „Schwache Reize regen die Lebenstätigkeit an, stärkere fördern sie, stärkste heben sie auf“, auch dadurch zum Ausdruck kommt, daß in den mit geringen Mengen von Bakteriengiften versetzten Röhren eine stärkere Keimvermehrung stattfindet als in denen ohne Bakteriengifte (den Kontrollen).

Literatur.

- Alexander, mitgeteilt in Jörg, Materialien zu einer künftigen Arzneimittellehre. Bd. I. 1825.
- Arndt, Biologische Studien. I. „Das biologische Grundgesetz“. Greifswald.
- Binz, Vorlesungen über Pharmakologie. p. 280.
- Boeker, Archiv für Pharmakodynamik. Bd. I. 1856. p. 98.
- Gottbrecht, Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Thallins. [Inaug.-Diss.] Greifswald 1880.
- Heinz, Virch. Arch. Bd. 116. 1889. p. 220.
- Hoffmann, Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung der Ameisensäure. [Inaug.-Diss.] Greifswald 1884.
- Hüne, Untersuchungen über Bakterizidie im Reagenzglas. (Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 1907.)
- Lewandowsky, Ueber das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLIX. 1904. p. 47.)
- Nägeli, Ueber oligodynamische Erscheinungen in lebenden Zellen. (Neue Denkschrift. d. allgem. schweizer. Gesellsch. f. d. gesamte Naturwissenschaft. Bd. XXXIII. I. 1893.)
- Nasse, Pflügers Arch. Bd. XI. 1875. p. 138.
- Reed, Med. and Surg. Reporter 1888.
- Schulz, Zur Lehre von der Arzneiwirkung. (Arch. f. pathol. Anat. Bd. CVIII. 3. 1877.)
- , Ueber Hefegifte. (Arch. f. d. gesamte Physiologie. Bd. XVII. 1888.)
- , Aufgaben und Ziel der modernen Therapie. (Deutsch. med. Wochenschr. 1890. No. 1—4.)
- , Grenzen der Arzneiwirkung. (Aerztl. Rundsch. 1902. 13.)
- , Ein Apparat zur graphischen Darstellung von Gärungsvorgängen. (Arch. f. d. gesamte Physiologie. Bd. CXX. 1907.)
- Stutzer und Burri, Untersuchungen über die Cholera asiatica. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XIV. 1893. p. 153.)
- Wirgin, Zur Wirkung des Aethylalkohols auf Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XL. 1902. p. 307.)

Nachdruck verboten

Weitere Mitteilungen über gramnegative Diplokokken der Bindehaut, besonders über einen Fall von echten Weichselbaumschen Meningokokken.

[Aus der Universitäts-Augenklinik Freiburg i. Br.
(Dir. Prof. Dr. Th. Axenfeld.)]

Von Dr. C. Brons, Dortmund, früherem Assistenten der Klinik.

Es ist bekannt, daß neben dem *Gonococcus* auf der Bindehaut noch andere gramnegative Kokken von typischer Gestalt und Lagerung vorkommen, die bei Unterlassung des Kulturverfahrens differentialdiagnostische Schwierigkeiten gegenüber dem *Gonococcus* machen können. Ich habe durch frühere Untersuchungen¹⁾ nachweisen können, daß in vielen Fällen der *Micrococcus catarrhalis* Pfeiffer in Frage kommt, dessen kulturelle Unterscheidung von Gonokokken und auch von den nahe verwandten Meningokokken leicht zu bewerkstelligen ist.

Sehr viel schwieriger, ja in manchen Fällen unmöglich, ist die Unterscheidung der 3 Arten im mikroskopischen Bilde des Ausstrichpräparats. Während es bei Präparaten, die von wenig oder gar nicht krankhaft veränderten Bindehäuten stammen, immerhin noch möglich ist, den unter dem Bilde eines typisch schmarotzenden Keimes auftretenden *Catarrhalis*, von den hauptsächlich intracellulären, gleichmäßig angeordneten und geformten Gonokokken zu unterscheiden, kann dies vollständig unmöglich werden, wenn eine stärkere Sekretion besteht. Hier können sich nämlich Gonokokken, Meningokokken und *Catarrhalis* in ganz genau der gleichen Weise intracellulär in Haufen vorfinden. Entscheidung kann hier nur die Kultur bringen.

Gelegentlich der in den letzten Jahren beobachteten Genickstarre-epidemien wurden auch von verschiedenen Seiten Mitteilungen über das Vorkommen des *Diplococcus intracellularis meningitidis* Weichselbaum auf der Bindehaut gemacht. Immerhin liegen nach Axenfeld²⁾, der alle Fälle gesammelt und einer Kritik unterzogen hat, nur wenige wirklich zuverlässige Beobachtungen vor. Wo wirklich echte Meningokokken gefunden wurden, da bestand auch eine leichte Conjunctivitis, und zwar bei Personen, die entweder selbst an Meningitis erkrankt waren, oder die mit solchen Kranken in Berührung gekommen waren [Koplik³⁾, Smith⁴⁾, Gabrielidès⁵⁾, E. Thomson⁶⁾ und G. Canbry Robinson⁷⁾]. Der neuerdings mitgeteilte Fall von Moissonnier⁸⁾ ist nach Morax kulturell nicht einwandfrei. Es wurden oft nur in einem Teil der bei Genickstarre beobachteten Conjunctivitisfälle

1) Klin. Monatsblätter f. Augenheilkunde. Bd. XLV. 1907. p. 1 ff.

2) Axenfeld, Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. Jena 1907. p. 204.

3) Koplik, Amer. med. Assoc. Washington 1904.

4) Smith, Arch. of Ophth. Vol. XXXIV. 1905. p. 48.

5) Gabrielidès, Ophthalmologie microbologique. Konstantinopel (Christidis) 1906. p. 111.

6) Thomson, E., Amer. med. Assoc. 1906.

7) Robinson, Amer. Journ. of med. Sciences. 1906. Ref. Ophthalmology. Vol. II. 1906. p. 659.

8) Moissonnier, Pariser ophth. Gesellsch. 3. Juli 1907. (Ref. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. I. 1908. p. 190.)

positive Meningokokkenbefunde erhoben. Robinson (l. c.) konnte Meningokokken unter 4 Fällen nur 1mal nachweisen.

Daß man auch bei Meningitiskern, die Conjunctivitis haben, nicht jeden gramnegativen typisch geformten Diplococcus, den man auf der Bindehaut findet, schlankweg als Meningococcus ansprechen darf, beweist ein Fall, den ich zu beobachten Gelegenheit hatte. Es fanden sich hier im Sekret der leichten Conjunctivitis eines Genickstarrekranken zwar typische gramnegative semmförmige Diplokokken vor, allein die genaue Untersuchung ergab den Micrococcus catarrhalis. Es ist der Fall „Boscetti“, den ich in einer früheren Arbeit (l. c. p. 5 u. 6) eingehend beschrieben habe.

Bei einem weiteren Meningitiskranken fand sich als Erreger einer Conjunctivitis der Pneumococcus. Ganz besonders möchte ich dabei noch hervorheben, daß in beiden Fällen aus der Spinalflüssigkeit echte Meningokokken gezüchtet wurden (Hyg. Institut Freiburg).

Bezüglich des Infektionsweges ist wohl am wahrscheinlichsten anzunehmen, daß mit dem Speichel die Keime an die Hände gelangen und nun durch Wischen usw. in das Auge eingepfropft werden; besitzen sie genügend Virulenz, dann kommt es zu einer Conjunctivitis.

Ob diese Genickstarreconjunctivitis auch auf endogenem Wege entstehen kann, ist noch nicht festgestellt. Zweifellos gehen die Erreger auch in den allgemeinen Blutkreislauf über (Schottmüller, Dieudonné, Martini und Rhode); es wäre also nicht ausgeschlossen, daß auch bei Genickstarre eine endogene Conjunctivitis, analog derjenigen bei Gonorrhöe (Morax, van Moll) vorkäme. Besonders in den Fällen, die mit negativem bakteriologischen Befunde einhergehen, ist daran zu denken.

Es ist bemerkenswert, daß bisher nur noch wenige Male der Nachweis der Meningokokken auf die Bindehaut gelungen ist, besonders wenn man in Rechnung zieht, daß im Rachen sowohl Genickstarrekranker als Gesunder, die mit solchen in Berührung waren, häufig echte Meningokokken vorhanden sind [Weichselbaum¹⁾, Albrecht u. Ghon²⁾, Jäger³⁾, Flügge⁴⁾, Goodwin u. Stolly⁵⁾, v. Lingelsheim⁶⁾, Westenhoefer⁷⁾, Jacobitz⁸⁾ und Hasslauer⁹⁾]. Größere Serien müßten, falls etwa wieder Epidemien auftreten sollten, gemacht werden. Bisher sind nur bei Genickstarrekranken und ihrer Umgebung echte Meningokokken auf der Bindehaut beobachtet worden. Ob sie sich überhaupt bei völlig Gesunden außerhalb eines solchen Zusammenhanges finden, müßte um so mehr zweifelhaft erscheinen, als auch im Rachen unter solchen Umständen Meningokokken in einwandfreier Weise bisher noch nicht nachgewiesen wurden [Flügge l. c., Westenhoefer l. c.,

1) Weichselbaum, Handbuch von Kolle u. Wassermann, Bd. III. 1903. u. Bd. IV. 1904. — Wien. klin. Wochenschr. 1901.

2) Albrecht u. Ghon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV und Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 24.

3) Jäger, Bibliothek von Coler. Berlin 1901.

4) Flügge, Klin. Jahrb. Bd. XV. 1906. p. 357.

5) Goodwin u. Stolly, Journ. of inf. Diseases. 1901. p. 51. zit. nach Lehmann-Neumann. 1907. p. 218.

6) v. Lingelsheim, Klin. Jahrbuch. Bd. XV. 1906. p. 398ff. und Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 1017 u. 1217.

7) Westenhoefer, Berl. Klin. Wochenschr. 1905. p. 792 und Klin. Jahrb. 1906. Bd. XV. p. 702.

8) Jacobitz, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 45.

9) Hasslauer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. p. 632, 723, 796 ff.

Jacobitz l. c., v. Lingelsheim l. c., p. 408, Ostermann¹⁾, Dieudonné²⁾].

Zwar behaupten Slavyk-Heubner³⁾ und van Steenberghe u. Grysez⁴⁾, daß der Meningococcus auch bei ganz Gesunden sich häufig finde, nach letzteren Autoren soll er sogar so häufig sein, wie die Pneumokokken in der Mundhöhle. Diese Befunde sind aber zu ungenau in der Kultur, als daß mit Sicherheit andere Keime ausgeschlossen werden könnten. Denn auch hier finden sich nach den Untersuchungen von v. Lingelsheim l. c., Weichselbaum u. Ghon⁵⁾ und Dieudonné (l. c.) und anderen zahlreiche andere gramnegative Keime, vor allem wieder der *Micr. catarrhalis*, die zu Verwechslungen mit Meningokokken Veranlassung geben können.

Bei allen künftigen Untersuchungen muß deshalb, wie von vielen Seiten (Axenfeld, Dieudonné, Lehmann u. Neumann, v. Lingelsheim usw.) gefordert wird, auf diese Keime ganz besondere Rücksicht genommen werden und eine peinlich genaue kulturelle Untersuchung stattfinden.

Daß in der Umgebung von Meningitiskranken kurze Zeit gesunde Meningokokkenträger vorkommen, ist bekannt, ebenso daß sich der Keim wegen seiner Empfindlichkeit gegen Austrocknung für gewöhnlich nicht lange außerhalb des Körpers halten kann. Axenfeld (l. c. p. 205) glaubt jedoch, man müsse doch unter besonderen Umständen ein längeres latentes Vorkommen auf den Schleimhäuten, auch ohne nachweisbare Verbindung mit Epidemien annehmen, da die sporadischen Genickstarrefälle mit echtem Meningokokkenbefunde nicht zu erklären seien.

Gelangen dann diese Keime in einen disponierten Körper, so entfalten sie wieder ihre pathogenen Eigenschaften.

So oder ähnlich müssen wir uns auch einen bemerkenswerten Fall von stark sezernierender Conjunctivitis bei einem an pädatrophischer Xerosis conjunctivae und Ceratomalacie leidenden Kind erklären, bei dem als Erreger dieser Eiterung echte Weichselbaumsche Meningokokken gefunden wurden. Da es der erste Fall ist, bei dem in einwandfreier Weise bei einem Menschen, der nachweislich nicht mit Meningitiskranken in Berührung gekommen war, Meningokokken auf der Bindehaut nachgewiesen wurden, sei er hier ausführlicher besprochen, trotzdem er bereits in Axenfelds Bakteriologie des Auges (l. c. p. 205) mit einer Abbildung angeführt wurde.

Zehr, Stephan, 11 Wochen, klin. Journal No. 536/06, wurde am 11. Okt. 1906 in sehr elendem Zustande in die Klinik gebracht. Das zur richtigen Zeit in gutem Kräftezustande geborene Kind erhielt als Nahrung mit Fencheltee versetzte Kuhmilch. Bald stellten sich Durchfälle ein, die trotz Wechsels der Nahrung (Nestles Kindermehl) nicht aufhörten und das Kind furchtbar in der Ernährung herunterbrachten. Am 8. Lebenstage sind angeblich die Augen rot gewesen. Genaueres weiß aber die Mutter nicht anzugeben, da die Rötung bald wieder von selbst verschwand.

In der 8. Lebenswoche, als der Durchfall schon längere Zeit bestanden hatte, wurden die Augen ganz matt, später wurden auch Flecke auf den Sternen bemerkt. Da sich der Zustand immer mehr verschlimmerte, kommt die Mutter mit dem Kind in die Klinik. Weder in der Familie noch in der näheren oder weiteren Umgebung des

1) Ostermann, Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 11.

2) Dieudonné, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. p. 421.

3) Slavyk fc. Heubner, Deutsche med. Wochenschr. 1897. Vereinsbeil. p. 109.

4) van Steenberghe u. Grysez, Annales de l'Institut Pasteur. 1906. No. 1. zit. n. Dieudonné l. c.

5) Weichselbaum u. Ghon, Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 24.

Kindes finden sich Personen, die an Genickstarre leiden. Das Kind selbst ist sicher frei davon.

Bei der Aufnahme fand sich ein außerordentlich in der Ernährung herabgekommenes Kind, das an Durchfall leidet.

Augenbefund: Beide Augen werden nicht frei geöffnet. Die Conjunktiva palp. ist gerötet, die des Bulbus hat beiderseits eine vollständig matte typisch xerotische Beschaffenheit. Im unteren Teil beider Corneae findet sich ein ca. 2 mm großes, rundes, schmierig belegtes Geschwür, dessen Ränder scharf sind, sonst aber keine besonderen Merkmale bieten. Beide Bindehäute sondern ein mäßig reichliches, schleimig-eitriges Sekret ab, in dem sich neben einzelnen kleinen gramnegativen Stäbchen vom Typus der Influenzabacillen zahlreiche typische Pneumokokken fanden.

Tags darauf, am 12. Oktober 1906, ist die Sekretion etwas stärker geworden, im Sekretpräparate finden sich noch immer vorwiegend typische Pneumokokken, daneben aber einzelne feine gramnegative semmelförmige Diplokokken, die zum Teil intracellulär liegen.

Es wurden nun noch einmal die Präparate des vorhergehenden Tages auf das genaueste nach diesen gramnegativen Diplokokken untersucht — ohne Ergebnis.

Am 13. Oktober 1906 hat die Sekretion ganz erheblich zugenommen. Beim Öffnen der während des Mittagsschlafes verklebten Lider quillt ein dicker Strom gelbrahmigen Eiters aus der Lidspalte, ganz wie bei einer Gonorrhöe; nur war auffallend, daß die Lider nicht im mindesten geschwollen oder stärker gerötet waren, und daß auch die Bindehaut keine Schwellung zeigte, ebenso waren die Geschwüre nicht fortgeschritten. Um so bemerkenswerter war daher das Sekretpräparat. Es fand sich nämlich, daß die Pneumokokken ganz in den Hintergrund getreten waren, indem sich nur noch einzelne Exemplare vorfanden, die gramnegativen feinen Stäbchen ganz verschwunden waren, dagegen nun die gramnegativen semmelförmigen Diplokokken massenhaft vorhanden waren und das Bild völlig beherrschten. Sie lagen in Schwärmen von 15 und mehr innerhalb der Eiterzellen, aber auch außerhalb von ihnen, haben ganz die Form der Gonokokken und sind streng gramnegativ. (Bezüglich der Gram-Färbung wurde nach der in der vorigen Arbeit angegebenen Methode verfahren.)

Nach diesem Befunde wurde die Wahrscheinlichkeitsdiagnose mit Gonoblenorrhöe gestellt, wenngleich wegen der, mit der profusen Eiterung in gar keinem Verhältnis stehenden, fast völligen Reizlosigkeit von Lidern und Bindehaut schon Zweifel an der Diagnose laut werden mußten.

Die Kultur lieferte denn auch den strikten Beweis, daß es sich nicht um eine Gonorrhöe, sondern um eine durch den echten Meningococcus intracellularis Weichselbaum bedingte Conjunctivitis handelte.

Durch Protargoleinträufelungen gelang es, die profuse Sekretion schon in wenigen Tagen sehr stark einzuschränken, dabei trat nie eine stärkere Schwellung oder gar Oedem der Bindehäute ein, sondern diese zeigten nach Abputzen des Eiters nur eine sammetartige Rötung. Immerhin konnten in dem immer spärlicher werdenden Sekret noch bis zum 26. Oktober 1906, also fast 2 Wochen lang, die Meningokokken nachgewiesen werden, und zwar nicht nur im Ausstrichpräparat, sondern auch kulturell. Vom 26. Oktober 1906 wurde die Sekretion so spärlich, daß der Mikrobenachweis nicht mehr gelang. Gleichzeitig wurde durch eine streng individuelle Ernährungstherapie ein sehr günstiger Einfluß auf den allgemeinen Kräftezustand erzielt; die Einschmelzung der Hornhaut machte nach der Fläche keine Fortschritte, wohl aber nach der Tiefe, so daß beide Ulcera zur Perforation kamen, auch die Xerose der Conjunctiven besserte sich so, daß bei der Entlassung des Kindes, mit überhäutetem Prolaps beiderseits, die Bindehäute fast überall glänzend waren.

Kultur.

Während die am 12. Okt. 1906 auf Ascitesagar und Glycerinagar angelegten Kulturen nur auf Ascitesagar eine Unmasse typische Pneumokokkenkolonien und daneben nur 2–3 Kolonien auf jedem Röhrchen aufgehen ließen, die sich als gramnegative Kokken herausstellten, boten die am 13. Oktober 1906 angelegten Kulturen ein ganz anderes Bild. Es wurden mehrere Ascitesagar und Peptonagarröhrchen, letztere mit sehr reichlichem Material, beschickt; auf beiden Nährböden waren nach 24 Stunden neben ganz wenigen Pneumokokkenkolonien zahlreiche grünlich durchscheinende, saftig-glänzende Kolonien von Stecknadelkopfgröße bis zur Größe eines Millimeters sichtbar. Die Kolonien hatten eine feuchte, schleimige Beschaffenheit und ließen sich mit der Nadel gut abheben und zu einem feuchten Brei verreiben. Bei Lupenvergrößerung zeigten sie mittelgroße Granulierung und meist ganz glatten, hin und wieder auch leicht gezackten Rand.

Im allgemeinen waren die Kolonien auf Ascitesagar viel größer und üppiger, als auf gewöhnlichem Agar, wo sie sich hauptsächlich auf den Teilen des Nährbodens

fanden, die mit viel Eiter bestrichen waren. Im Laufe der nächsten Tage nahmen diese Kolonien noch an Größe zu, so daß einzelne, allein stehende, bis zu 2 mm im Durchmesser erreichten. Im Kondenswasser bildete sich dann ein schleimiger Bodensatz und auf der Oberfläche ein Häutchen.

Die von diesen Kolonien angefertigten Präparate zeigten streng gramnegative semmelförmige Diplokokken, die meist zu zweit, oft auch in Tetraden gelegen waren und am 1. Tage einheitliche Kerngröße und große Färbbarkeit zeigten. Die älteren Kolonien wurden in ihrer Zusammensetzung unregelmäßiger, indem neben gut tingierbaren, teilweise sehr großen Doppелеlementen und Tetraden, zahlreiche kleinere und mehr schattenhaft gefärbte Doppelkokken vorhanden waren; teilweise fanden sich auch detritusartige Häufchen.

Es gelang leicht, von diesen Kolonien auf Ascitesagar Reinkulturen zu erzielen; dagegen gelang es nicht, auch von den ursprünglich auf gewöhnlichem Pepton-Agar erhaltenen Kolonien wieder ein Wachstum auf gewöhnlichem Agar zu erhalten. Von Ascitesagar-Reinkulturen begnügte sich anfangs eine Generation mit gewöhnlichem Agar, es war aber nicht möglich, diese wieder mit Erfolg auf gewöhnlichem Agar zu übertragen. Erst von der 10. Generation an fand auch auf gewöhnlichem Agar dauernd gutes und üppiges Wachstum statt.

Die Reinkulturen verhielten sich nun folgendermaßen:

Ascitesagarplatten: oberflächliche Kolonien: grau durchscheinend, im durchfallenden Licht leicht irisierende Kolonien; nach 24 Stunden von Stecknadelkopfgröße (isolierte Kolonien werden später größer, bis zu 1—2 mm im Durchmesser (l. c. p. 9). Der Rand ist glatt. Tiefe Kolonien sehr schwach entwickelt, oft nur punktförmig.

Mikroskopisch. (Zeiss A. Ok. 2) grau durchscheinende, meist feine, manchmal etwas gröber granuliert Kolonien, deren Zentrum etwas dunkler, gelbgrau schimmert. Der Rand ist meist etwas wellig und glatt, manchmal zart gezackt, unterscheidet sich jedoch sehr von der groben Zackung von Kolonien des *Micrococcus catarrhalis*. In der Mitte der Kolonien finden sich oft kristallinische Auflagerungen.

Tiefe Kolonien dunkel, meist rund, manchmal wetzsteinförmig.

Ascitesagarstrich: Grauweiß durchscheinende üppige, feuchtglänzende Auflagerung mit etwas perlmuttartigem Schimmer. Der Rand ist etwas erhaben und ganz fein gezackt. Das Kondenswasser ist leicht getrübt mit teils schleimigem, teils flockigem Bodensatz, der sich aber beim Schütteln ganz homogen verteilen läßt. Bei ganz ruhigem Stehen bildet sich an der Oberfläche des Kondenswassers ein ganz zartes Häutchen, das sich aber auch bei ganz leisem Schütteln schon im Kondenswasser unter vermehrter Trübung desselben auflöst.

Mit der Oese kann man sowohl von den einzelnen Kolonien der Agarplatte wie vom Agarstrich gut etwas abheben, dabei ist die schleimige, breiige Konsistenz der Kulturen in die Augen fallend. Man kann sich von den Kulturen ohne Mühe eine völlig homogene Aufschwemmung herstellen.

Peptonagar 2-proz.: Ebenfalls grauweiß durchscheinende schleimige, leicht verreibbare Kolonien mit feiner Granulierung und glattem Rand. Kolonien sind in der späteren Generation ebenso üppig wie auf Ascitesagar.

Gelatine: Kein Wachstum bei Zimmertemperatur.

Milch: Kein Wachstum.

Kartoffel: Ganz zarter, meist nur mikroskopisch nachweisbarer durchscheinender Belag.

Bouillon: Langsames Wachstum unter zarter Trübung und Absetzen eines teils flockigen, teils schleimigen Bodensatzes, der sich auch in dünnster Schicht an der Wand des Röhrchens findet. Der Niederschlag steigt beim Schütteln in zähem Wirbel empor, er löst sich aber trotzdem nach einigem Schütteln zu einer homogenen Trübung auf. Bei ruhigem Stehen bildet sich ein zartes graues Häutchen auf der Oberfläche.

Blutplatte: Grau durchscheinende Kolonien ohne Hämolyse. Das Wachstumsoptimum liegt bei 35—37°. Bei Zimmertemperatur findet kein Wachstum statt.

In der ersten Zeit sterben die Kulturen, besonders die auf gewöhnlichem Agar angelegten, schon nach 48 Stunden auch beim Aufenthalt im Brutschrank ab. Außerhalb des Brutschranks aufbewahrte Kulturen gingen schon früher ein. Später wurde die Lebensdauer immer größer, bis zuletzt gelang es noch, die Kulturen 2—3 Wochen lebensfähig zu halten, besonders wenn man sie durch ein Häutchen aus Gummi vor Austrocknung bewahrte. Vor kurzer Zeit ging der Stamm ohne jeden ersichtlichen Grund ein.

Morphologisch zeigten die Kulturen folgende Besonderheiten: Die Kokken sind streng gramnegativ.

Aus jungen Kulturen erhält man regelmäßig gestaltete semmelförmige Diplokokken, die absolut den Gonokokken gleichen. Sie sind im allgemeinen von gleicher Kerngröße

und Farbe, es fallen aber einzelne Paare durch viel leuchtendere Farbe auf, diese pflegen dann auch meistens etwas größer im Korn zu sein. Je älter die Kultur wird, desto mehr findet man solche leuchtend gefärbte Elemente, die zwischen großen Massen schlecht gefärbter, oft nur in schattenhaften Umrissen wahrnehmbarer Individuen liegen. Es finden sich auch wohl Tetraden oder ganz vereinzelt auch große Doppelkugeln. Ganz alte Kulturen bestehen fast nur aus detritusartigen Kokkenhäufchen, zwischen denen hier und da einzelne gut gefärbte Diplokokken oder auch Tetraden liegen. Kettenbildung ist nie vorhanden.

Die sichere Trennung vom *Gonococcus* war ein so wichtiges Erfordernis, daß die beiden zurzeit für die Praxis wichtigsten Identifizierungsverfahren der Agglutination und der Zuckervergärung nach v. Lingelsheim zur Entscheidung herangezogen wurden.

Zur Agglutination wurde ein hochwertiges Meningokokken-Serum vom Titre 1:1500, das mir das Kgl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin gütigst zur Verfügung stellte, benutzt. Der Stamm agglutinierte noch in einer Verdünnung von 1:500.

Mit Kochsalzlösung und normalem Pferdeserum keine Agglutination.

Mit demselben Serum hatte ich kurz vorher¹⁾ mehrere aus der Spinalflüssigkeit von Meningitikern stammende Meningokokkenstämme und aus der Urethra gezüchtete Gonokokkenstämme agglutiniert.

Diese *Meningococcus*-Stämme gaben auch in Verdünnungen von 1:1500 bzw. 1:1200 positives Resultat, während die Gonokokken nur noch bei 1:10 agglutinierten.

Solche Schwankungen in den Agglutinationswerten scheinen dem *Meningococcus* eigentümlich zu sein. Pick²⁾ erhielt in verschiedenen Versuchsreihen sogar bei ein- und demselben Stamm Unterschiede von der Hälfte. Bei Ditthorn u. Gildemeister³⁾ schwankten die Werte zwischen 1:100 bis 1:2000, meist erhielten sie bei 1:500 Agglutination. Ähnlich lagen die Verhältnisse bei den Stämmen, die Kolle u. Wassermann⁴⁾ untersuchten. Sie verlangen Kontrolle mit dem normalen Serum des Tieres, dem das agglutinierende Serum entstammt, und nehmen dann Meningokokken als sicher an, wenn ein spezifisch agglutinierendes Meningokokkenserum den betreffenden Stamm in beträchtlich höherer Verdünnung typisch agglutiniert, als es das normale Serum des betreffenden Tieres vermag. Unser Stamm ging mit normalem Pferdeblutserum keine Agglutination ein, wohl aber mit dem spezifischen Meningokokkenserum in einer Verdünnung von 1:500. Wir sind daher berechtigt, ihn als echten *Meningococcus* anzusehen.

Auch auf die von Kutscher⁵⁾ gefundene Tatsache, daß es echte Meningokokkenstämme gibt, die bei 37° völlig inagglutinabel sind, dagegen bei 55° doch noch typisch auch in höheren Verdünnungen agglutinieren, wird man Rücksicht zu nehmen haben. Ebenso muß beachtet werden, daß es manchmal möglich sein kann, auch Gonokokken mit spezifischem Meningokokkenserum zur Agglutination zu bringen, ebenso umgekehrt,

1) Brons l. c. Tabelle p. 15.

2) Pick, Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 30 u. 31.

3) Ditthorn u. Gildemeister, Klin. Jahrb. Abt. I. Bd. XVII. 1907.

4) Kolle u. Wassermann, Klin. Jahrb. Bd. XV. 1906. Siehe auch über diese Frage: Kolle u. Hetsch, Experimentelle Bakteriologie und Infektionskrankheiten. Berlin-Wien (Urban u. Schwarzenberg) 1906.

5) Kutscher, Ein Beitrag zur Agglutination der Meningokokken. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 1849.)

und zwar in sehr hohen Werten [cf. Vannod¹⁾]. In solchen Fällen werden aber die Ambozeptoren des Gonokokkenserums von den Meningokokken ebenso wenig gebunden wie umgekehrt, so daß also der Nachweis spezifischer Ambozeptoren in vitro der Agglutinationsprobe überlegen ist (Vannod).

Die Prüfung unseres Stammes mit den von v. Lingelsheim²⁾ Zuckernährböden bewies ebenfalls seine Zugehörigkeit zu den Meningokokken, da nur Dextrose und Maltose vergärt wurden. Dieses v. Lingelsheimsche Verfahren, das ich auch schon bei Gelegenheit meiner früheren Untersuchungen über gramnegative Kokken mit großem Nutzen verwendet habe, ist von einer Reihe anderer Autoren, so Kutscher³⁾, Ditthorn u. Gildemeister⁴⁾ und Pick⁵⁾ nachgeprüft und die v. Lingelsheimschen Resultate sind von diesen bestätigt worden. Bezüglich des Verhaltens des Gonococcus auf diesen Nährböden habe ich durch Versuche an einigen Stämmen gefunden, daß nur Dextrose vergärt wird. Ob auch von seiten der anderen Autoren derartige Gonokokkenprüfungen vorliegen, ist mir nicht bekannt, in den angezogenen Arbeiten finde ich jedenfalls nichts darüber.

Durch Kultur, Morphologie, Agglutination und Zuckervergärung nach v. Lingelsheim ist demnach unser Stamm als ein echter Weichselbaumscher Meningococcus sichergestellt worden.

Das Merkwürdige des Falles ist nun, daß sich die Infektion mit dem Meningococcus allein auf die Conjunctiva beschränkte, ohne daß an anderen Körperteilen weder vorher noch gleichzeitig, noch auch später irgend welche Krankheitserscheinungen, die durch Meningokokken verursacht sein könnten, vorhanden gewesen wären.

Es ist nicht anzunehmen, daß die Affektion des Magendarmkanals, die gleichzeitig bestand, eine Meningokokkenaffektion, wie sie von Radmann und Göppert⁶⁾ beschrieben ist, darstellt. Nach der Untersuchung der Universitäts-Kinderklinik hier handelt es sich um eine durch Milchübernahrung und Mehl dyspepsie verursachte Magenstörung, die auch durch geeignete Nahrung rasch behoben wurde.

Solche Meningokokkeninfektionen einzelner Organe ohne Beteiligung der Meningen sind schon von anderer Seite beobachtet; so erwähnt Schottmüller⁷⁾ eine ulceröse Endocarditis durch Meningokokken ohne Meningitis und Jacobitz⁸⁾ teilt 2 Fälle von Pneumonie und 2 von Bronchitis mit, die durch den Meningococcus bedingt waren, und die sich durch völliges Fehlen jeglicher Krankheitszeichen von seiten des Zentralnervensystems auszeichneten.

Auch Kiefers⁹⁾ Fall von Rhinitis mit Meningokokken gehört in gewisser Weise hierher, wenngleich es sich hier um eine Laboratoriumsinfektion handelte.

1) Vannod, Ueber Agglutination und spez. Immunkörper im Gonokokkenserum. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 49.)

2) v. Lingelsheim, Klin. Jahrb. Bd. XV. 1906. p. 410 ff.

3) Kutscher, Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 1849.

4) Ditthorn u. Gildemeister l. c.

5) Pick l. c.

6) Radmann und Göppert, zit. nach Pick l. c.

7) Schottmüller, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 34—36.

8) Jacobitz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LVI. 1907. Heft 2.

9) Kiefer, Berl. klin. Wochenschr. 1896. p. 628.

Neuerdings beschreiben V. Hanke und R. Tertsch¹⁾ einen interessanten Fall von einseitiger Panophthalmie durch echte Meningokokken, bei dem sich ebenfalls sichere Zeichen einer Infektion anderer Organe nicht fanden. Allerdings läßt sich nicht ganz von der Hand weisen, daß eine gleichzeitig bestehende Lungenentzündung vielleicht eine abortive Form der Cerebrospinalmeningitis darstellte, die Wahrscheinlichkeit spricht aber gegen diese Annahme.

Wie in unserem Falle der Infektionsmodus zu erklären ist, kann nur vermutet werden. Das Kind war sicher nicht meningitiskrank, es war auch nie mit solchen in Berührung gekommen. Ebensowenig konnte eine Uebertragung durch Dritte nachgewiesen werden. In der Heimat des Kindes waren nie Genickstarrekranken vorgekommen, und auch die wenigen in Freiburg beobachteten sporadischen Fälle lagen monatelang zurück.

Zwar konnten am Tage der Einlieferung selbst keine Meningokokken im Sekret nachgewiesen werden, und es wurden auch, da sich nur Pneumokokken und Stäbchen vorfanden, keine Kulturen angelegt, jedoch schon am Vormittag des nächsten Tages fanden sich einzelne Meningokokken und brachte auch die Kultur von diesem Tage schon Kolonien.

Es müssen also die Keime schon vor der Aufnahme in die Klinik im Conjunctivalsack vorhanden gewesen sein. Vielleicht sind sie schon seit längerer Zeit latent gewesen und erst durch das Auftreten der Keratomalacie zur vollen Entwicklung und zum Entfalten pathogener Eigenschaften gelangt. Daß sie letztere sicher hatten, beweist die Zunahme der Eiterung progressiv mit dem vermehrten Auftreten der Meningokokken im mikroskopischen Bilde und in der Kultur, bei gleichzeitigem Verschwinden der anfangs vorhandenen Pneumokokken und gramnegativen Stäbchen. Daß es sich etwa um eine Ueberhandnahme saprophytischer Keime, ähnlich wie man es am 2. resp. 3. Tage einer akuten Pneumokokkenconjunctivitis beobachten kann, gehandelt habe, ist nicht anzunehmen, dazu ist die progressive Zunahme der Eiterung doch zu auffällig, außerdem war auch das klinische Bild nicht im entferntesten einer akuten Pneumokokkenconjunctivitis ähnlich.

Sehr bemerkenswert ist der äußerst milde Verlauf. Bei der schon gleich am 1. Tage bestehenden Keratomalacie würde, falls es sich um eine echte Gonokokkeninfektion gehandelt hätte, zweifellos eine völlige Zerstörung beider Hornhäute zu erwarten gewesen sein. So trat nur das ein, was noch als der günstigste Ausgang erhofft werden konnte. Es kam zu einer umschriebenen Perforation der ulcerierten Stellen, die mit einem überhäuteten Prolaps ausheilten, und zwar ohne daß eine Ausdehnung der Ulcera nach den Seiten hin stattgefunden hätte. Es fehlte auch eine stärkere Beteiligung der Lider, nichts von Schwellung oder prallem Oedem wie bei Gonorrhöe, nur die Conjunktiva zeigte an ihrer sammetartigen Auflockerung, daß der Prozeß sich hier im wesentlichen oberflächlich abspielte. Bezüglich der Differentialdiagnose kommt neben diesen (vielleicht typischen??) klinischen Zeichen nur die Kultur in Frage, aus dem Sekretpräparat allein ist sie nicht mit Sicherheit zu stellen. Zu beachten ist immer, daß neben diesen beiden auf der Conjunktiva noch eine ganze Reihe anderer gram negativer Keime vorkommt, von denen der *Micrococcus catarrhalis* wohl am häufigsten ist.

Seit meiner letzten Mitteilung über diesen Gegenstand habe ich noch

1) Hanke u. Tertsch, Einige seltene Infektionen des Auges. (Klin. Monatsbl. Augenheilkunde. Bd. II. p. 548.)

eine ganze Reihe Catarrhalisstämme von der menschlichen Bindehaut isolieren können. Es handelte sich vorwiegend um höchstens leicht katarrhalisch erkrankte Bindehäute mit geringer Sekretion, besonders von Personen in höherem Alter. Es würde zu weit führen, alle diese Fälle namentlich mitteilen zu wollen, es genügt, nochmals auf das relativ häufige Vorkommen dieses Keimes auf der Bindehaut hinzuweisen. Es ist aber zu betonen, daß gewiß nicht alle gramnegativen Kokken notwendigerweise mit dem *Micr. catarrhalis* identisch sein müssen, wenngleich ich auch der Ueberzeugung bin, daß es in der großen Mehrzahl der Fälle doch so ist. Es gibt noch manche andere gramnegative Keime, die zwar nicht alle als Bewohner der Bindehaut, sondern meistens als solche der oberen Luftwege beschrieben sind. Ihr gelegentliches Erscheinen auf der Bindehaut ist sicher möglich. Es kommen vor allem in Betracht die von v. Lingelsheim¹⁾ beschriebenen Arten: *Micrococcus cinereus*, *Diplococcus pharyngis* I, II und III, sowie *Diplococcus siccus*. Ich²⁾ selbst konnte im Tränensack einen gramnegativen *Diplococcus* nachweisen, der von allen bisher genannten Arten verschieden war. Genaue Kulturangaben habe ich dort niedergelegt.

Bisher konnte ich dem *Catarrhalis* eine ausgesprochene Pathogenität nicht nachweisen, in letzter Zeit hatte ich jedoch Gelegenheit, einen Fall von stark sezernierender Conjunctivitis, die durch diesen Keim hervorgerufen wurde, zu beobachten.

10. Okt. 1907. Balzani, Mario 3 Jahr. Freiburg. Journal No. 597 1907. Seit 3 Tagen ist das rechte Auge, seit 2 Tagen auch das linke, entzündet. Die Eltern lehnen eine Genitalerkrankung ganz entschieden ab. In derselben Wohnung schlafen nur noch die Eltern und ein jüngerer Bruder. Das Kind besucht einen Kindergarten. 10. Okt. 08 Aufnahme. Status: Sehr kräftiger Knabe mit starkem diffusen Bronchialkatarrh, im Rachensekret reichlich gramnegative Kokken neben zahlreichen anderen Mikroben. Kulturell: *Micrococcus catarrhalis*. Beide Lider sind stark geschwollen und gerötet, rechts so prall, daß sie fest über dem Bulbus zusammengepreßt sind. Aus der Lidspalte quillt bordeauxrote, mit gelben Flocken vermischte Flüssigkeit hervor. Conjunctiva beiderseits mächtig geschwollen, mit eitrigen Flocken bedeckt, keine Membranen. Flocken liegen nur lose auf. Auf der Cornea beiderseits ein stecknadelkopfgroßer nicht infiltrierter Epitheldefekt etwas unterhalb der Mitte.

Therapie: Kaltsche Spülungen. 15-proz. Protargolinstillationen. Scopolamin.

11. Okt. Schwellung nur noch auf die Oberlider beschränkt, die blaurot über die Unterlider herüberhängen. Eiterung viel geringer.

Rechts leichte Infiltration des zentralen Epitheldefekts.

12. Okt. Lider heute weich. Fast keine Sekretion mehr, nur geringer fibrinöser Belag auf der Conjunctiva der Oberlider, nur noch Protargol.

13. Okt. Nachmittags werden beide Augen weit geöffnet. Schwellung sehr erheblich abgenommen. Infiltrat in Heilung begriffen. Zink.

14. Okt. Schwellung verschwunden. Augen werden weit geöffnet. Infiltrat geheilt.

15. Okt. Seit 3 Tagen keine Bakterien mehr. Mit Zink entlassen.

Sekretpräparat: 10. Oktober. Im reichlich Fibrin enthaltenden Eiter finden sich geradezu massenhaft kleine, typisch semmelförmige gramnegative Diplokokken, die zum allergrößten Teil in Einzelpaaren oder in kleinen Gruppen extracellulär liegen. Man findet auch hin und wieder eine ganze Zelle von Kokken vollgepropt, so daß an einzelnen Stellen Schwärme von 15 und mehr Paaren intracellulär liegen. Freilich muß man nach solchen Bildern oft eine ganze Anzahl Gesichtsfelder vergeblich durchmustern. Etwas häufiger findet man schon einige Kokkenpaare innerhalb der Zellen. Nie Ketten. Keine Tetraden. Die Kerngröße der Individuen ist anscheinend etwas kleiner, als die der Gonokokken und Meningokokken. Schon 2 Tage später, nachdem eine energische Therapie eingeleitet war, konnten die gramnegativen Kokken nicht mehr nachgewiesen werden.

1) v. Lingelsheim l. c.

2) Brons l. c. Fall 7.

Kultur: Gleich zu Anfang gutes Wachstum auf gewöhnlichem Agar: Anfangs hellgraugelblich, glattrandig, fein granuliert und etwas schleimiges Gefüge. Später bei zunehmender Größe der Kolonien immer undurchsichtiger, weißgelblich mit dunklerem Zentrum, gröbere Granulation, zackiger Rand und trockene bröckelige Beschaffenheit.

Im Kondenswasser, bröckeliger Niederschlag, auf der Oberfläche bei ruhigem Stehen Häutchen. Ebenso verhält sich die Kultur in Bouillon, nur tritt hier häufig anfangs eine diffuse Trübung auf, die sich allmählich zu Boden setzt. Dieser Bodensatz ist nicht durch Schütteln homogen zu lösen.

Im Gelatinestich auch bei Zimmertemperatur mäßig gutes Wachstum, keine Verflüssigung.

Auf Ascitesagar etwas hellere Kolonien.

Auf Serum üppiges Wachstum.

Milch keine Veränderung.

Kartoffel ganz spärliches Wachstum.

Keine Gasbildung, kein Indol. Bouillon wird alkalisch.

Spontane Agglutination.

Zuckernährböden nach v. Lingelsheim: Keine der Zuckerarten wird vergärt.

Tierpathogenität: Weiße Maus wird durch intraperitoneale Injektion innerhalb 24 Stunden getötet. Tod an Toxinvergiftung. Blut steril. Im Peritonealeiter massenhaft gramnegative Diplokokken.

Meerschweinchen wurde auch durch größere, intraperitoneal einverleibte Dosen nicht alteriert.

Kaninchen. Durch Infektion einer Hornhauttasche mit 1 Oese Kultur entsteht großes Ulcus mit Hypopyon. Heilung mit Leukom.

Injektion einer Emulsion in die Vorderkammer: Eitrige Iritis, Heilung mit hint. Synechien.

Injektion einer Emulsion in den Glaskörper eitrige Hyalitis und Cyclitis, Schwartenbildung. Phthisis bulbi.

Nach diesen kulturellen Ergebnissen kann man mit Sicherheit annehmen, daß es sich um *Micrococcus catarrhalis* gehandelt hat. Trotzdem anfangs im Aussehen der einzelnen Kolonien einige Abweichungen vom normalen Typus vorhanden waren. Später glichen sich diese kleinen Differenzen aber aus. Interessant ist, daß sich auch aus dem Rachen mit Leichtigkeit *Micrococcus catarrhalis* züchten ließ. Da gleichzeitig eine diffuse Bronchitis bestand, ist es wahrscheinlich, daß die Infektion der Conjunctiva durch Verschleppung in den Bindehautsack, z. B. mit den Fingern oder dem Taschentuch, entstanden ist.

Besonders bemerkenswert ist, daß bei der Aufnahme des Kindes beiderseits kleine Epitheldefekte auf der Cornea bestanden, die rechts zu einem ganz oberflächlichen Infiltrat führten. Allerdings trat schon nach ganz kurzer Zeit wieder völlige Heilung ein, ohne daß eine Spur dieses Infiltrats zurückblieb, aber es scheint doch, als wenn auch bei diesen sonst für harmlos geltenden Keimen, vielleicht einmal bei ganz hoher Virulenz, tiefere Schädigungen nicht ganz ausgeschlossen wären. Der ganze Verlauf der Erkrankung war aber auch hier ein sehr milder und die Heilung in der kurzen Zeit von 4 Tagen eine vollständige. Die Mikroben schwanden schon am 2. Tage nach Einsetzen der Therapie.

Aus beiden Fällen geht hervor, welchen Täuschungen man ausgesetzt sein kann, wenn man sich bei der Beurteilung solcher eitrigen Entzündungen allein auf das Sekretpräparat verläßt. Wenn auch der milde Verlauf beider Erkrankungen schon nach kurzer Zeit die Sachlage klärte, so wird doch jeder zugeben, daß ein Conjunktivakatarrrh mit intracellulär gelegenen gramnegativen Diplokokken im Sekret immer etwas sehr Verdächtiges hat, und folgerichtig wird man sein Verhalten so einrichten, als ob wirklich echte Gonorrhöe vorläge, zumal auch die einzuschlagende Therapie keinen Schaden anrichten kann, und das maßgebende Urteil der Kultur frühestens in 24 Stunden zu erwarten ist. Bis dahin kann

natürlich bei sorglosem Verhalten schon viel verdorben sein. Ein gewisser geringer Unterschied ist freilich auch schon in den Sekretpräparaten festzustellen, mir scheint, als wenn in solchen Fällen viel mehr Individuen außerhalb der Zellen zu finden sind, als bei echter Gonorrhöe. Diese Unterschiede im mikroskopischen Bilde sind aber so gering, unterliegen sicher auch mannigfachem Wechsel, so daß man sich nicht auf sie verlassen darf, ebensowenig auf die Verschiedenheiten in der Größe der einzelnen Doppelpaare.

Durch den letzten Fall ist nunmehr festgestellt, daß auch der *Micr. catarrhalis* für die Bindehaut direkt pathogen sein kann, und zwar in ähnlicher, wenn auch vielleicht milderer Art als seine Stammesgenossen. Dadurch gewinnt es an Wahrscheinlichkeit, daß die früher veröffentlichten Fälle von Abelsdorff-Neumann¹⁾ und Krukenberg²⁾ gleichfalls auf eine Infektion mit ihm zurückzuführen sind. In beiden Fällen wurden die Untersuchungen zu einer Zeit angestellt, in der genaue Mitteilungen über den *Micr. catarrhalis* überhaupt noch fehlten.

Ob *Meningococcus* und *catarrhalis* stets nur milde Infektionen auszulösen imstande sind, oder ob sie auch ernstere Komplikationen, besonders von seiten der Cornea machen können, kann aus diesen wenigen Beobachtungen nicht beurteilt werden.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Axenfeld für die gütige Anregung zu dieser Arbeit und das ständige, liebenswürdige Interesse, das er ihr entgegengebracht hat, ergebenst zu danken.

Nachdruck verboten.

Einige histologische Untersuchungen über die Geschwülste und ihre Metastasen in den Lymphdrüsen.

[Laboratorium für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität zu Bologna (Direktor Prof. G. Tizzoni).]

Ausgeführt unter der Leitung von Dr. L. Panichi.

Von Dr. C. Jorio.

Zur Untersuchung der histologischen Veränderungen der Lymphdrüsen, die in Beziehung zu den Neubildungsprozessen stehen, hat mich sowohl die Wichtigkeit des Gegenstandes selbst als auch der Umstand veranlaßt, daß derartige Untersuchungen seit einigen Jahren vollkommen vernachlässigt worden sind. Letzteres hat vielleicht seinen Grund darin, daß unsere Kenntnisse von der Aetiologie und Pathogenese der Geschwülste in früheren Jahren nicht so umfangreich waren, als sie es heute sind. Außerdem kannte man damals in der Technik nur wenige Untersuchungsmethoden, während es heute viele verschiedene giebt. Gerade diese letzten Betrachtungen suchte ich gewissermaßen als Richtschnur für meine Untersuchungen zu nehmen.

Halten sich dieselben auch nur in einem ganz bescheidenen Rahmen, so sind sie meiner Meinung nach doch nicht ganz nutzlos für denjenigen, der zur größeren Aufklärung dieser Frage etwas beizutragen wünscht.

1) Abelsdorff-Neumann, Arch. f. Augenheilk. Bd. XLII. 1901. p. 78.

2) Krukenberg, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1899. p. 271.

Als Untersuchungsmaterial verwandte ich 6 Geschwülste, und zwar einen Tumor der Parotis, einen des Magens, einen der Niere und drei der Brustdrüse. Alle wurden mit Ausnahme von zweien, die ich erst bei der Autopsie erhielt, bei der Operation gewonnen. Da meine Untersuchungen gerade zu einer Orientierung dienen sollten, so hielt ich eine Beschränkung derselben auf eine einzige Geschwulstart und auf ein bestimmtes Organ für unnötig. Um ferner die Untersuchung nach mehreren Richtungen hin auszudehnen, wandte ich außer dem verschiedenen Material auch noch verschiedene Methoden sowohl der Fixierung als auch der Färbung der Gewebe an, da man vorher nicht wissen konnte, welche Resultate sich dabei ergeben würden. Als Fixierungsflüssigkeit gebrauchte ich Alkohol, essigsäures Sublimat, Formalin, Orthsche, Flemmingsche und Müllersche Flüssigkeit. Die Stücke wurden alle in Paraffin eingeschlossen.

Wenn ich auch der doppelten Färbung mit Eosin und Hämatoxylin den Vorzug gegeben habe, so gebrauchte ich doch auch die Methode von Mann in der Modifikation von Fasoli (Eosin, Alkohol, Methylenblau), die Methode von Weigert-Pal für das Nervensystem (Hämatoxylin) und von Heidenhain (Eisenhämatoxylin). Ich verwandte auch das Safranin.

Der erste von mir untersuchte Fall war der Parotistumor. Derselbe hatte sich bei einer 33-jährigen Frau entwickelt, die sonst anscheinend sehr gesund war. Er war vor 2 Jahren entstanden, hatte anfangs die Form eines kleinen, oberflächlichen, harten Knötchens, das keine Schmerzen verursachte. Er trat darauf sehr rasch in nahe Beziehung zu der Haut, die dann an dieser Stelle in kurzer Zeit ulcerierte. Zur Zeit der Operation sah man bei der Patientin in der rechten Regio submastoidea eine kraterförmige Ulceration von der Größe eines silbernen 5 Lire-Stückes, die sich auf einer etwas erhöhten Gewebspartie befand. Die Ränder des Ulcus waren unregelmäßig, ziemlich erhaben, fahlrosa gefärbt und stark und tief infiltriert. Das Innere des Ulcus erschien im großen und ganzen trichterförmig, war ungefähr 3 cm tief und von einem flüssigen, grau-gelblichen Detritus bedeckt. Bei der Palpation erwiesen sich die Lymphdrüsen der Parotis-, Mastoideal- und Carotisgegend als stark infiltriert; ihre Konsistenz war ziemlich hart. Die Kranke wurde im Dezember 1906 operiert und verließ das Hospital anscheinend geheilt.

Der Fall schien mir sehr interessant zu sein, da die Geschwülste der Speicheldrüsen nicht sehr häufig sind.

Waldeyer behauptet, daß diese Tumoren zuerst von ihm selbst in einer im Jahre 1872 in Virchows Archiv publizierten Arbeit beschrieben sind (er übergeht hierbei die von Gluge in seinem Atlas der pathologischen Histologie Fig. 58 gegebene Beschreibung, da dieselbe ziemlich kümmerlich und in gewissen Punkten geradezu unvollständig ist). Ich glaube indessen, daß der erste, der sich mit diesen Geschwülsten beschäftigt und sie beschrieben hat, Billroth gewesen ist, und zwar 13 Jahre früher als Waldeyer, d. h. im Jahre 1859. Auf alle histologischen Einzelheiten in der meisterhaften Arbeit Billroths werde ich weiter unten eingehen, wenn ich die feine Struktur des von mir beobachteten Tumors beschrieben haben werde.

Histologische Untersuchungen. Bei einem Schnitte durch den Tumor sieht man zwischen den von Bindegewebe umgebenen Drüsenlappen solide, unregelmäßig angeordnete Epithelzapfen, die von umfang-

reichen Zellen mit reichlichem Protoplasma und bläschenförmigem Kerne gebildet werden. Dieselben stehen untereinander in wirklich epithelialer Verbindung (ohne dazwischen liegende Kittsubstanz); viele von ihnen befinden sich in typischer und atypischer Karyokinese. Die Zapfen sind von embryonalem und erwachsenem Bindegewebe begrenzt. Nekrotische Erscheinungen fehlen.

Man kann also sagen, daß der Tumor aus Elementen besteht, welche den Typus des Drüsenepithels, und zwar vornehmlich den den Acinis eigentümlichen wiederholen. Man muß allerdings sagen, daß diese Wiederholung keine identische ist und auch nicht sein kann, denn in der normalen Drüse funktioniert das Epithel, während sich hier in der Geschwulst die Zellen unter atypischen Bedingungen befinden.

Einen Ursprung der Geschwulst aus den histologischen Bestandteilen der Ausführungsgänge muß man ausschließen, da in diesem Falle der Tumor cylindrische oder kubische Zellen besitzen müßte.

Allerdings läßt sich nicht mit gleicher Sicherheit eine Abstammung der Neubildung aus irgendwelchen Resten des Kiemenbogens ausschließen, wenigstens soweit man aus den untersuchten Schnitten einen Schluß ziehen kann. Die Behauptung wäre möglich und richtig gewesen, wenn man Knorpelreste gesehen hätte, wie in demjenigen Falle, den J a b o u l a y in einer Mitteilung in der Gazette des hôpitaux des Jahres 1906 beschrieben hat. Er sagt hier nämlich, daß der Tumor der Parotis, der bei einem 65-jährigen Manne entstanden war, eine ziemlich harte Konsistenz hatte und in seinem Inneren ein reichliches Knorpelgewebe erkennen ließ.

Die von mir beobachtete Geschwulst war, wie gesagt, bis zur Haut vorgedrungen. Auf Schnitten, die einem seiner subepidermalen Knötchen entsprechen, kann man sehen, daß die Bindegewebsräume von Krebszellen angefüllt sind, die sich in Karyokinese befinden. An der Peripherie des Knötchens sind die Gefäße injiziert; man kann dort alte und frische Hämorrhagieen unterscheiden. Diese Erscheinungen veranlassen uns, an die Möglichkeit eines Transportes der Geschwulst auf dem Blutwege zu denken, da man dieselbe ja doch heute, außer für das Sarkom, auch für das Carcinom annimmt.

Die Haut zeigt an der Stelle, wo die Neubildung sitzt, sekundäre Veränderungen.

Bei der Untersuchung der dem Tumor zunächstliegenden Lymphdrüsen findet man nur Oedem des Gewebes mit Vermehrung des perivasalen und Stützbindegewebes, Erscheinungen, welche eine chronische und akute, durch Reizung bedingte Adenitis annehmen lassen.

Billroth berichtet über 12 Fälle von Tumoren der Speicheldrüsen und bemerkt dabei, daß diese Geschwülste niemals sehr große Dimensionen, sondern höchstens die Größe eines Enteneies erreichen. Die Geschwülste der Parotis sind häufiger als die der Glandula submaxillaris und sublingualis.

Nachdem Billroth die makroskopischen Eigenschaften der Speicheldrüsentumoren beschrieben hat, teilt er dieselben in vier verschiedene Gruppen ein:

- 1) Geschwülste, in denen Knorpelgewebe vorherrscht.
- 2) Geschwülste, in denen eine weiche, gallenähnliche oder vollkommen flüssige Masse vorwiegt; es bleibt jedoch die felderförmige Anordnung mit dünnen Fäden bestehen und nur die Form der Zellen variiert, da diese nämlich sternförmig und eckig werden und auch unter-

einander durch Fortsätze anastomosieren können. Diese beiden Arten von Geschwülsten, nämlich diejenige mit knorpeligem und diejenige mit schleimigem Typus können sich auch miteinander vereinigt und in verschiedenen Kombinationen vorfinden.

3) Geschwülste, in welchen die Zellen ausschließlich die Form von Spindeln und Drähten haben. In diesen Fällen, wo die Bindegewebsbündel sehr dicht und gedrängt verlaufen, werden die Zellen so verlängert, daß sie das Aussehen von Muskelzellen annehmen können. Unter solchen Strukturverhältnissen können sich die Zellen manchmal derartig verlängern, daß man beim ersten Anblicke glauben könnte, die Geschwulst bestände nur aus Faserbündeln.

4) Geschwülste, in welchen die Zellen eine polygonale Form haben und regellos nebeneinander liegen. In allen Speicheldrüsentumoren trifft man ferner Bündel elastischer und stark glänzender gewöhnlicher Bindegewebsfasern.

Das von mir beobachtete und beschriebene neoplastische Gewebe kann meiner Ansicht nach also nicht in eine dieser besonderen Gruppen, in welche Billroth die Speicheldrüsen Geschwülste eingeteilt hat, untergebracht werden; man könnte es höchstens in die Nähe des Typus der vierten Gruppe stellen.

Bei den 12 von Billroth beobachteten Fällen fand die Entwicklung des Tumors zwischen dem 20. und 46. Jahre statt. Die Geschwülste verursachten keine Schmerzen, nicht einmal bei Druck. Ihr Wachstum ging langsam vor sich, in einem Zeitraume zwischen 3 und 10 Jahren. Dieses langsame Wachstum bildet einen starken Gegensatz zu der Zellwucherung, die in solchen Geschwülsten stattfindet, und dieser Gegensatz macht sich auch noch deutlicher bemerkbar, wenn man ihre reiche innere Organisation und das seltene Auftreten regressiver Metamorphosen in ihnen in Betracht zieht. In manchen Fällen traten Rezidive auf, aber niemals auf den zurückgebliebenen Narben, sondern immer durch Affektion neuer Drüsenacini.

Die Lymphdrüsen waren in keinem der beobachteten Fälle angegriffen.

Ich wollte diese Einzelheiten anführen, da viele von ihnen ein Seitenstück in den Eigenschaften des von mir beobachteten Tumors finden, und da sie die Richtigkeit der von Billroth beobachteten Tatsachen so recht hervortreten lassen.

Warum entstehen bei diesen Geschwülsten keine Infiltrationen der Lymphdrüsen?

Warum wiederholen sich zahlreiche Rezidive an der Stelle der Geschwulst und niemals in den inneren Organen?

Billroth gesteht, daß er auf diese Fragen keine Antwort geben und auch nicht unterscheiden kann, ob der operative Eingriff dem Verlaufe der Krankheit ein Ende macht oder ihn verlängert. Bestimmter sind die Behauptungen Webers; derselbe unterscheidet bei der Parotis ein tubulöses Carcinom, welches von den Ausführungsgängen der Drüse, und ein alveoläres, welches von dem Alveolarepithel abstammt. Waldeyer will dagegen niemals Carcinome der Parotis gesehen haben, die von den Drüsentubulis herrührten. Alle von ihm untersuchten Tumoren nahmen den Eigenschaften ihrer Bestandteile nach ihren Ursprung aus den Drüsenalveolen, wie er es in der Tat später bei einem Krebs der Glandula submaxillaris beschrieb.

In seiner Arbeit aus dem Jahre 1872 fügte er noch hinzu, daß das Verhalten der Parotiskrebse ganz eigentümlich ist, da diese Tumoren wie

die Mischgeschwülste in der verschiedensten Art und Weise auftreten, und zwar betrifft dieses variable Verhalten nicht nur die Zellen, sondern auch das Stroma der Geschwulst selbst. Man weiß in der Tat, daß, wie Billroth und Weber beschrieben haben, das Carcinom der Parotis zusammen mit verschiedenen anderen Geschwulstformen, wie dem Myxom, Enchondrom, Sarkom und Fibrom vorkommen kann. Es wiederholt sich hier eine Erscheinung, die sonst nur bei einem anderen Organ, dem Hoden, vorkommt; hier lassen sich nämlich oft auch Beispiele von Mischgeschwülsten finden.

Den Bemerkungen der erwähnten Autoren hinsichtlich des Verlaufes und der Metastasen derartiger Tumoren fügt Steinhaus nur noch wenig hinzu; den Verlauf nennt er gutartig, von den Metastasen behauptet er, daß sie nicht selten sind, und ferner hat er Rezidive beobachtet. Aber er erwähnt einige histologische Besonderheiten, bei denen ich verweilen will. Er hat in den meisten Fällen die Bildung von langen Zellfäden beobachtet, die sich zu einem Netze untereinander vereinigen. In diesem Komplex von Epithelzellen kann man runde und ovale Durchschnitte der Drüsenlumina sehen, um welche sich regelmäßig schichtweise Epithelzellen anordnen, wie die Epithelzellen der Drüsen. Die Lumina sind manchmal offen, bisweilen sind sie aber mehr oder weniger von einer hyalinen, schleimigen Substanz oder von degenerierten Zellen angefüllt. In allen den Fällen, wo die Lumina vollkommen angefüllt sind, scheinen die an sie grenzenden Zellen verschwunden zu sein. Die zelligen Elemente können zylindrisch sein; meistens nehmen sie durch den gegenseitigen Druck polygonale und spindelähnliche Formen an.

Ich glaube nun, daß diese von Steinhaus gegebene Beschreibung am meisten auf den von mir beobachteten Tumor paßt.

Die histologischen und objektiven Bemerkungen über die 5 anderen von mir untersuchten Fälle lassen sich kurz in folgender Weise zusammenfassen:

Der Magentumor¹⁾ stammte von einem ungefähr 53 Jahre alten, sehr schlecht ernährten Individuum, dessen Klagen schon mehr als 2 Jahre zurückreichten. Auch bei der Palpation, die ziemlich lebhaft Schmerzen verursachte, ließ sich der Tumor abgrenzen. Längs des Thorax, in den Supraclavicular- und Subaxillargegenden konnte man ziemlich dicke Lymphgefäßstränge und harte, nicht schmerzhaft bewegliche Lymphdrüsen finden, von denen manche größer als eine Bohne war. Der Kranke starb am Ende des verflossenen Jahres.

Mikroskopischer Befund. Die zelligen Elemente sind ziemlich klein, oft rund, manchmal polygonal und liegen in Haufen beieinander; das Stroma ist sehr spärlich und bildet enge Maschen (kugeliges Carcinom und kleine Alveolen).

In den untersuchten Lymphdrüsen besitzen die Lymphsinus zahlreiche Elemente, deren Eigenschaften denen des ursprünglichen Tumors ähnlich sind. Uebrigens befinden sich dieselben hier manchmal im Zustande der hydropischen Degeneration. Auf manchen Schnitten sieht man, wie die Lymphdrüse völlig von dem Krebsgewebe umwachsen ist, auf anderen wieder ist von der Lymphdrüse nur eine kleine Insel übrig geblieben, während die übrige Fläche durch das neugebildete Gewebe

1) Medulläres Carcinom des Magens.

gebildet wird. In letzterem kann man manchmal das Vorkommen einiger Riesenzellen feststellen.

In einem Drüsenschnitte fanden sich, abgesehen von Krebszellen, Ablagerungen von Pigment (Kohle).

Der erste Brustdrüsentumor¹⁾ stammte von einer sehr kräftigen 48-jährigen Frau. Die Geschwulst hatte sich vor 10 Monaten bemerkbar gemacht und war jetzt ulceriert. Nur oberflächlich waren in der Supraclaviculargegend einige vergrößerte Lymphdrüsen bemerkbar. Die Geschwulst hatte die Größe einer Männerfaust und eine ziemlich weiche Konsistenz.

Die Diagnose des Tumors wurde erst durch die Untersuchung der Lymphdrüsen genau gestellt, denn die Schnitte durch die Geschwulst zeigten Befunde, die in Anbetracht der vorhandenen kleinzelligen Infiltrationen auf eine Mastitis schließen lassen konnten. Augenscheinlich war von dem Schnitte gerade derjenige Teil des Gewebes getroffen worden, in welchem das Adenom sich noch nicht in das Carcinom umgewandelt hatte.

Bei den untersuchten Lymphdrüsen waren auf manchen Schnitten die neugebildeten Elemente nur an der Peripherie der Drüse erkennbar; in ihrem Inneren bemerkte man einen Zerfall der Lymphzellen, hämorrhagische Infiltration und Blutpigment. Dieselbe Zerstörung des Parenchyms mit hämorrhagischer Infiltration und Gefäßerweiterung beobachtete man auch in anderen Lymphdrüsen, bei denen meistens Krebsmetastasen in den zentralen und peripherischen Sinus vorhanden waren, und der Tumor auch das die Drüse umgebene Bindegewebe infiltriert hatte.

Der zweite Brustdrüsentumor²⁾ stammte von einer anderen Frau, die älter als die vorhergehende war (52 Jahre). Er hatte sich seit ungefähr 3 Jahren bemerkbar gemacht und war fast so groß wie der Kopf eines Fötus; seine Konsistenz war sehr hart. Die Haut war ebenfalls verhärtet und hing mit der darunterliegenden Neubildung eng zusammen. Bei der Palpation bemerkte man keine Infiltration der Lymphdrüsen.

Mikroskopische Untersuchung. Die Entwicklung der Zellennester ist im Vergleiche zu derjenigen des Stromas beschränkt; sie sind mit runden oder polymorphen, großen und kleinen Epithelzellen angefüllt.

Die Lymphdrüsen lassen auf Schnitten in den Lymphsinus neugebildete Elemente erkennen; unter diesen befinden sich zahlreiche gut erhaltene rote Blutkörperchen, ohne daß die übrigen Gefäße der Lymphdrüse sehr geschwollen sind. Die Krebszellen scheinen in die zentralen Sinus reichlicher als in die peripherischen eingedrungen zu sein. Die letzte Erscheinung kann übrigens von der zufälligen Lage des Schnittes abhängen.

Ueber den letzten, dritten Tumor der Brustdrüse³⁾ kann ich nicht viel Bemerkungen machen, da die Frau außerhalb Bolognas operiert worden war. Ich weiß nur, daß sie schon ziemlich alt war, und daß die Neubildung schon seit fast einem Jahre bestand.

Die mit diesem Tumor in Zusammenhang stehenden Lymphdrüsen zeigten bei der Untersuchung den Beginn pathologischer Veränderungen. Bei einer von ihnen fand man eine Vergrößerung der Follikel und eine

1) Adenocarcinom der Brustdrüse.

2) Krebs der Brustdrüse in vorwiegend cirrhöser Form.

3) Typischer medullärer Krebs der Brustdrüse.

Vermehrung der eigentlichen Drüsenelemente, während die neugebildeten Zellen fehlten; man konnte also eine akute Adenitis diagnostizieren. Bei einer anderen Drüse sah man außer den Merkmalen einer akuten Adenitis eine Anhäufung von neoplastischen Zellen in den peripherischen Lymphsinus, welche mit großer Wahrscheinlichkeit darauf zurückzuführen war, daß die eingedrungenen Zellen infolge der Vermehrung der Drüsenzellen zusammengedrängt wurden.

Der letzte von mir untersuchte Fall betraf einen auf dem Sektionsstische gewonnenen Nierentumor. Er hatte sich bei einem 62-jährigen Individuum, das in sehr schlechtem Ernährungszustande war, entwickelt. Die rechte Nierennische war ganz und gar von einer großen Geschwulst eingenommen, die nach oben bis zur Zwerchfellkuppel und nach unten fast bis zur Crista iliaca reichte. Die Oberfläche dieses Tumors war glatt, glänzend, ziemlich regelmäßig und sehr reich an blutgefüllten Gefäßen. Auf der Schnittfläche konnte man nur mit Mühe Spuren des Organs, das ganz und gar von der neugebildeten Masse durchdrungen war, unterscheiden. Die Farbe war infolge der regressiven Veränderungen (Hämorrhagieen, fettige Degeneration, Nekrose, schleimige Erweichung) verschiedenartig; ebenso war die Konsistenz nicht überall gleich.

Histologisch entsprach die Geschwulst den Angaben, die Borst für den Typus eines Adenocarcinoma papillare der Niere gemacht hatte.

Die entsprechenden Lymphdrüsen zeigten Erweiterungen der Sinus, Bindegewebsneubildung, Ablagerungen von Blutpigment und Anschwellung der Gefäße. Die Invasion der neoplastischen Zellen wiederholte sich in den peripherischen und den zentralen Sinus.

Nach Vorausschickung dieser Bemerkungen über die einzelnen Tumoren will ich die Resultate zusammenfassen, die ich hinsichtlich des Vorkommens der sogenannten Russelschen Körperchen in den Krebszellen erhalten habe. Ohne hier die Angaben über ihre Entdeckung, ihre Natur usw. wiederzugeben, will ich gleich bemerken, daß ich mich zu ihrem Nachweise nicht nur mit der Methode von Steinhaus begnügt, sondern auch die Methode von Fasoli, die derselbe zur Färbung der Negrischen Körperchen bei der Wut vorgeschlagen hat, und das Heidenhainsche Hämatoxylin angewandt habe. Bei der ersten Methode werden die Körperchen mehr oder weniger intensiv rot, das Protoplasma der Zelle himmelblau und der Kern blau oder violett gefärbt. Es ist also hier ein sehr guter Farbenkontrast vorhanden. Mit dem Heidenhainschen Hämatoxylin färben sich dagegen sowohl die Körperchen als auch der Zellkern schwarz; ist die Differenzierung gut gelungen, so kann man im Kern der Zelle einige differenzierte Teile unterscheiden, in den eingeschlossenen Körperchen aber sieht man keine Differenzierung, sondern eine völlige Gleichartigkeit der Farben. Durch den Kontrast, der zwischen diesem gefärbten Teile und dem übrigbleibenden entfärbten Teil besteht, kann man die Zeichnung einer Figur erhalten, die ebenso deutlich ist, wie bei der Fasolischen Methode.

Nach der Vorschrift von Consorti, der sich der von Weigert für das Nervensystem angegebenen Methode bei der Untersuchung eines Myrabdosarkoms bediente, habe ich mit dem Weigert-Palschen Hämatoxylin Schnitte durch den Tumor und die entsprechende Lymph-

drüse gefärbt; ich habe allerdings dabei dem Karmin eine Grundfarbe hinzugesetzt.

Wenn auch das Resultat durch die Klarheit der Farbe und den Kontrast zwischen den verschiedenen Teilen sehr gut ausfällt, so unterscheidet es sich doch nicht von demjenigen, das man mit dem Heidenhainschen Eisenhämatoxylin erhält.

Mit den von mir angewandten Farben fand ich immer in allen Tumoren die Russelschen Körperchen, und zwar sowohl im Kerne wie auch im Protoplasma. Ich konnte indessen nicht alle die feinen von Steinhaus beschriebenen Einzelheiten auffinden; dies war vielleicht durch einen Mangel an Beobachtungsvermögen oder durch einen Fehler in der Methode bedingt. Uebrigens war es auch gar nicht das Ziel meiner Untersuchung, die innerste Struktur dieser Einschlüsse zu beobachten.

Einige Autoren hatten das Vorhandensein derartiger Körper in den metastatischen Zellen der Lymphdrüsen geleugnet und dies sogar als Beweis gegen die parasitäre Theorie der Geschwülste angeführt. Dies gilt jetzt nicht mehr, denn auch in den metastatischen Zellen lassen sich derartige Körperchen beobachten. Man trifft sie hier nur in viel geringerer Menge als in dem ursprünglichen Tumor. Auch hier können sie im Kerne und im Protoplasma liegen; ihre Formen sind etwas verschieden, es überwiegt indessen immer die rundliche oder eiförmige.

Der Umstand, daß die Mannsche Methode elektiv für die Färbung der von Negri in den Nervenzellen wutkranker Tiere beschriebenen Körperchen ist, veranlaßte mich, das Verhalten der Russelschen und Negrischen Körper gegenüber den gleichen Färbungsmethoden zu untersuchen. In diesen Vergleich habe ich noch ein drittes Element hineingezogen, nämlich die Guarnierischen Körperchen in der Hornhaut des mit Vaccinevirus infizierten Kaninchens. Ich habe also der Mann-Fasolischen und der Heidenhainschen Färbung die Negrischen, Guarnierischen und Russelschen Körperchen unterworfen. Als Resultat dieser Untersuchung ergab sich, daß alle drei Formen von Körpern sich in gleicher Weise gut mit den Farben der beiden Methoden färben, und daß sie sowohl hinsichtlich der Intensität der Färbung als auch des Aussehens das gleiche Verhalten zeigen. Mehr als eine weitere Beschreibung in Worten sagen die auf der Tafel wiedergegebenen Figuren. Die drei Körper würden also dasselbe Aussehen haben, obgleich ihre Natur verschieden sein müßte, wenn sie wirklich die Erreger so sehr verschiedener Krankheitsprozesse wären.

Diese Tatsache, daß nämlich sowohl die Guarnierischen als auch die Negrischen und Russelschen Körperchen dieselbe Fähigkeit in der Annahme der Farben zeigen, scheint mir in gewisser Beziehung eine Stütze für einige Betrachtungen Borrel's zu sein (*Le problème du cancer. Bulletin de l'Institut Pasteur. No. 12. 30. Juni 1907*). Indem dieser Autor die Krebsgeschwulst mit der Vaccinegeschwulst vergleicht, fügt er hinzu, daß die Einschlüsse der letzteren hinsichtlich ihres Ursprunges sehr an die sarkoplasmatischen Bildungen in den Krebszellen erinnern (p. 503); und derselbe Autor legt sich die Frage vor, ob die Negrischen Körperchen nicht Anhäufungen von granulären Elementen derselben Art seien, wie man sie im *Molluscum contagiosum* und im *Epithelioma contagiosum* der Vögel findet (p. 511).

Schon Salmon hatte eine identische färberische Affinität zwischen den folgenden drei Arten von Elementen festgestellt, den Kernkörperchen manchmal, den parasitären Körperchen (*Cytoryctes vaccinae*) und den wandernden Leukocyten immer (Recherches sur l'infection dans la vaccine et la variole par M. Paul Salmon. Annales de l'Institut Pasteur. Année XI. 1897. p. 299).

In Uebereinstimmung mit den Resultaten Zehnders, der sich mit der sekundären Entwicklung der Tumoren in den Lymphdrüsen in Fällen von Brustdrüsenkrebs beschäftigt hat, konnte auch ich leicht das reichliche Auftreten von Kernteilungsfiguren in den metastatischen Krebszellen feststellen. Man kann sogar aus dem reichlichen Vorhandensein oder dem Fehlen der Kernteilungsfiguren die frischen von den älteren Herden unterscheiden. Ferner läßt sich in diesem letzten Falle, wenn der Tumor fast ganz und gar die Stelle der Lymphdrüse eingenommen hat, leicht eine deutliche Kompression des Drüsengewebes beobachten. Durch diese Kompression wird das Netzwerk enger, ohne daß jedoch dadurch die Maschen zum Verschwinden gebracht werden; die Lymphzellen liegen dann dichter beieinander. In anderen Fällen dagegen, namentlich wenn der Neubildungsprozeß die ganze Drüse ergriffen hat, ist es nicht schwer, regressive Vorgänge von seiten der Krebszellen selbst zu beobachten. Diese Erscheinungen erklären sich leicht durch die Annahme, daß die Ernährung des Herdes infolge entzündlicher Prozesse gestört werden kann, so daß die Zellen sterben und dann jene bekannten grauen käsigen Massen der Lymphdrüsen bilden.

Nach Zehnder sind auch die Veränderungen der Gefäße ziemlich erheblich; die Intimazellen sowohl der Arterien als auch der Venen sind im allgemeinen vergrößert, so daß sie einen Vorsprung im Gefäßlumen bilden. Die Tunica media ist infolge der Verminderung der Muskelfasern entweder ganz und gar verschwunden oder sehr verdünnt; die Muskelfasern ferner können entweder eine normale Anordnung behalten oder durch Verflechtung der einzelnen Fasern ein eigenartiges Aussehen annehmen. Der erste, der diese Gefäßveränderungen eingehend beschrieben hat, ist Gussenbauer. Ich habe diese Angaben bei meinen Untersuchungen nicht nachprüfen können, da dies nicht im Rahmen meines Programmes lag. Aber die Häufigkeit der Zirkulationsstörungen (starke Gefäßfüllung, Hämorrhagieen, Blutpigment), die ich beobachtete, bestätigen in indirekter Weise diese Angaben.

Ueber die Frage des ersten Infektionsweges der Lymphdrüsen sind nunmehr alle einer Meinung. Schon Bozzolo hatte beobachtet, daß die ersten Krebsherde sich an der Peripherie der Drüse befinden. Auch Gussenbauer und Zehnder behaupten, Krebszellen in den Lymphgefäßen gesehen zu haben. Uebrigens war die Kenntnis von der Uebertragung des Krebses auf dem Lymphwege schon ziemlich alt. Die Histologie hat der klinischen Beobachtung nur eine anatomische Grundlage gegeben. In der Tat ist es mir niemals gelungen, metastatische Zellen in den zuführenden Lymphgefäßen aufzufinden, indessen habe ich in vielen Präparaten beobachten können, daß sich die ersten Herde an den perifollikulären Lymphgefäßen entwickeln. Hat sich einmal erst die Anhäufung von Krebszellen gebildet, so kann man leicht begreifen, daß dieselben, die den anderen Drüsenzellen fast völlig fremd sind, sich durch Proliferation durch die ganze Dicke der Drüse verbreiten können.

Einige Beobachter, nämlich jene, welche noch an dem Uebergange der Lymphzellen in Krebszellen festhalten (unter denen Volkmann der erste war), behaupten, in der Grenzzone zwischen dem gesunden und dem neugebildeten Gewebe jene Zellen gesehen zu haben, welche verschiedene Stadien des Ueberganges einer Zellart in die andere darstellen. Zehnder gesteht, niemals einen ähnlichen Befund gemacht zu haben. Seiner Angabe nach wird mittels Flemmingscher Flüssigkeit der Umriß der Zelle und ihre Beziehung zu dem umgebenden Gewebe so intakt erhalten, daß es leicht gelingt, selbst die kleinste Infiltration der Endothel- oder Lymphzellen zu erkennen. Nun begegnet man wohl manchmal unmittelbar an der Peripherie des Krebsherdes, wenn sich auch die Lymphzellen und das Bindegewebe im normalen Zustande befinden, hier und dort einigen spärlichen Zellen, die zweifellos carcinomatöser Natur sind; aber man muß annehmen, daß diese einzelnen Zellen infolge der Ausbreitung des Herdes gewissermaßen gewaltsam mitten unter die normalen Elemente geraten sind, und man darf sie sicher nicht als Lymphzellen, die sich in epithelialer Umwandlung befinden, betrachten.

C. Bozzolo bekämpft in einer vorläufigen Mitteilung, der dann eine andere ausführlichere Arbeit nicht mehr gefolgt ist, ebenfalls die Vorstellung, daß die Entstehung sekundärer Krebsknötchen in den Lymphdrüsen auf die Proliferation einiger normalerweise in den Drüsen enthaltener Bindegewebszellen zurückzuführen sei.

Auf Grund seiner Beobachtungen an Drüsen, die sich im Anschlusse an die Entwicklung eines Plattenepithelkrebses sekundär vergrößert haben, kommt er zu folgenden Schlüssen: das erste Auftreten der Krebszellen in den Drüsen findet in den Sinus der Rindensubstanz statt; die Krebszellen sind oft schon von Anfang an gut entwickelt und von Hornsubstanz infiltriert; die Endothelzellen, welche die Sinus und die Bälkchen des Netzwerkes bekleiden, zeigen nichts, was eine Bildung von Krebszellen andeuten könnte. Durch diese Tatsachen wird die Ansicht wahrscheinlich gemacht, daß die Krebszellen der Lymphdrüsen absolut nichts mit einer Proliferation der bindegewebigen, in den Drüsen selbst enthaltenen Zellen zu tun haben. Derselben Ansicht ist Petrick (Deutsche Zeitschrift für Chirurgie, 1891), indessen nur so weit, als es die Epitheliome betrifft; nach seiner Meinung trifft man in den Metastasen der Sarkome eine Anschwellung der lymphatischen Endothelien mit Beteiligung derselben an der Tumorbildung.

Fasse ich die von mir beobachteten Tatsachen noch einmal kurz zusammen, so lassen sich daraus folgende Schlüsse ziehen:

1) Die der Neubildung zunächst liegende Drüse zeigt die Eigenschaften einer akuten Adenitis, noch bevor die neoplastischen Elemente in sie eingedrungen sind.

2) Wie schon andere Untersucher beobachtet haben, gelangen diese hierher durch Transport von der Peripherie zum Zentrum der Drüse. Diesen Vorgang konnte man deutlich bei der Untersuchung derjenigen Drüsen feststellen, die zu dem von mir untersuchten fünften Tumor gehörten.

3) In allen metastatischen Herden der Lymphdrüsen trifft man reichlich Kernteilungsprozesse an.

4) Das Vorkommen der Krebszellen in der Lymphdrüse ist oft oder fast immer in den von mir beobachteten Fällen entweder von einer ein-

fachen Gefäßerweiterung oder von wahren hämorrhagischen Erscheinungen begleitet.

5) Man kann nicht annehmen, daß die Bildung der metastatischen Herde in den Lymphdrüsen auf die Proliferation einiger Bindegewebszellen zurückzuführen ist, die normalerweise in diesen Drüsen enthalten sind.

6) Das Fehlen einer Verpflanzung der neoplastischen Zellen in den Lymphdrüsen, welche zu dem von mir beschriebenen Parotistumor gehören, entspricht den Kenntnissen, die wir über diesen Punkt besitzen. Vielleicht läßt sich die langsame Entwicklung des Tumors dafür verantwortlich machen. In der Tat hatten in dem von mir beschriebenen Falle die Lymphdrüsen die für eine akute und chronische Reizung charakteristischen anatomischen Merkmale, wenn in ihnen neoplastische Zellen auch nicht nachweisbar waren. Bei dem Befunde an den zum fünften Falle gehörigen Lymphdrüsen, die unter dem Einflusse des Tumors sich im Anfange der Reaktion befanden, sind es gerade die Erscheinungen einer Adenitis, die als Vorboten des drohenden Uebergreifens des Tumors auf die zugehörige Lymphdrüse auftreten.

Also kann man von den Lymphdrüsen, die ich in dem Falle der Parotischgeschwulst untersucht habe, in Folge des Vorhandenseins von Eigenschaften einer akuten und chronischen Adenitis annehmen, daß diese Drüsen sich in jenem Zustande der Reaktion befinden, der dem Auftreten der neoplastischen Zellen vorherzugehen pflegt.

7) Die Russelschen Körperchen finden sich sowohl in den Zellen des primären Tumors als auch in denjenigen der Lymphdrüsenmetastasen.

8) Die Russelschen, Negrischen und Guarnierischen Körperchen haben dieselbe Fähigkeit, Farben anzunehmen, wenn man gleiche Färbungsmethoden (die Mannsche in der Modifikation von Fasoli, die Heidenhainsche und die Weigertsche) anwendet.

Bologna, Juni 1907.

Bibliographie.

- Zehnder, Ueber regenerative Neubildung der Lymphdrüsen. (Virchows Archiv. Bd. CXX. 1890.)
 Löwenbach, Beitrag zur Kenntnis der Geschwülste der Submaxillar-Speicheldrüse. (Virchows Archiv. Bd. CL. 1897.)
 Zehnder, Ueber Krebsentwicklung in Lymphdrüsen. (Virchows Archiv. Bd. CXIX. 1890.)
 Waldeyer, Die Entwicklung der Carcinome. (Virchows Archiv. Bd. LV. 1872.)
 Billroth, Beobachtungen über Geschwülste der Speicheldrüsen. (Virchows Archiv. Bd. XVII. 1859.)
 Steinhaus, Ueber Carcinomeinschlüsse. (Virchows Archiv. Bd. CXXVI. 1891.)
 —, Ueber die Mischgeschwülste der Mundspeicheldrüsen. (Virchows Archiv. Bd. CLXVIII.)
 Jaboulay, Tumeur mixte de la parotide. (Gazette des Hôpitaux. No. 145. 1906.)
 Oberndorfer, Ueber Multiplizität von Tumoren. (Münchener med. Wochenschr. 1905. No. 31.)
 Grawitz, Ueber multiple Primärtumoren. (Leistungen und Fortschritte. 1905. Bd. I. Tl. 2.)
 Petrick, Ueber die Verbreitung des Carcinoms in den Lymphdrüsen. Erlangen 1891.
 Bozzolo, C., Sulla diffusione dei tumori cancerosi alle ghiandole linfatiche. [Comunicazione preventiva.] L'osservatore. (Gazz. delle cliniche. No. 20.)

Nachdruck verboten.

Ein Trypanosoma des Wisent von Bielowesch.

Von **K. J. Wrublewski.**

Mit 1 Tafel.

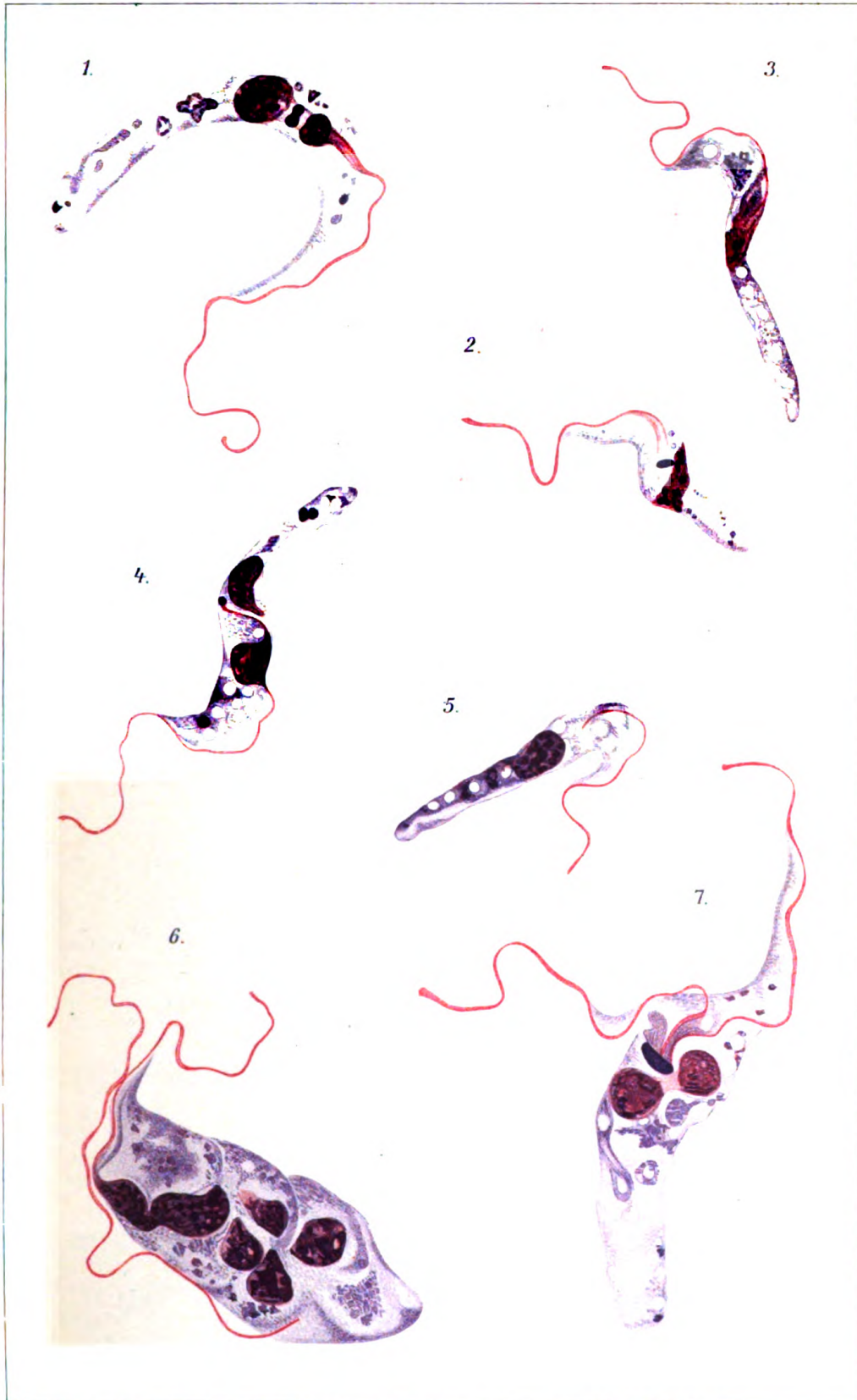
Von den für Säugetiere pathogenen Trypanosomen sind in der gemäßigten Zone bisher bekanntlich nur zwei Arten beobachtet worden, und zwar das *Tr. Rougeti* in Frankreich und Ungarn und das *Tr. Theileri* neuerdings in Transkaukasien und Transbaikalien. Um so mehr dürfte es von Interesse sein, daß es mir gelungen ist, beim Wisent (*Bonassus*, *Bison*), welches noch in Lithauen im Walde von Bielowesch lebt, ein *Trypanosoma* aufzufinden.

Die Verhältnisse, unter denen Untersuchungen an dieser Tierart ausgeführt werden können, sind leider die denkbar ungünstigsten. An eine Blutentnahme von lebenden Wisents ist bei deren Wildheit gar nicht zu denken. Aus diesem Grunde bin ich ausschließlich auf die Untersuchung gefallener Exemplare angewiesen gewesen, wobei mir nicht einmal immer frische Kadaver zur Verfügung standen, sondern meist ältere, schon in der Zersetzung begriffene. Noch eine Anzahl äußerer erschwerender Umstände kam hinzu, welche es mir bisher unmöglich machten, ein vollkommen befriedigendes Material zu gewinnen, an dem ich die morphologischen und biologischen Eigenschaften des gefundenen *Trypanosoma* in gewünschter Weise hätte studieren können. Deshalb sind die nachstehenden Mitteilungen auch nur als erste Schritte auf dem Wege zur Erforschung dieser Flagellate zu betrachten.

Das Blut, von dem ich an Ort und Stelle Ausstrichpräparate anfertigte, enthielt nur noch selten unveränderte rote Blutkörperchen und wimmelte meist von allerhand Bakterien. Die nach Giemsa gefärbten Präparate, deren endgültige Untersuchung ich in St. Petersburg in der epizootologischen Abteilung des K. Institutes für experimentelle Medizin, unterstützt von deren Leiter, Herrn Dr. A. Wladimiroff und dessen Assistenten, Herrn W. Yakimoff, ausgeführt habe, wiesen noch eine genügende Anzahl wohlhaltener Trypanosomen auf, um ihre morphologischen Besonderheiten festzustellen und sie mit den im genannten Laboratorium lebend unterhaltenen oder in Präparaten konservierten pathogenen Trypanosomen zu vergleichen. Die beigefügten Abbildungen verdanke ich Frau Nina Kohl-Yakimoff.

Was zunächst die Länge der Wisenttrypanosomen betrifft, so schwankt dieselbe zwischen 30 und 50 μ (nach genauen Messungen 29,75—49 μ), wodurch ihnen eine Mittelstellung zugewiesen wird zwischen den kleineren pathogenen Trypanosomen (*Brucei*, *Evansi*, *Duttoni*, *Castellani*, *Rougeti*, *Elmassiani* etc.) und den großen wie *Tr. Theileri* und *Lingardi* (*indicum*).

In morphologischer Beziehung bietet das *Trypanosoma* folgendes Bild. An das auffallend langgezogene, stumpf abgerundete hintere Leibesende schließt sich eine zur Mitte hin bedeutend breiter werdende Partie, welche bei einzelnen Individuen einer fast runden Erweiterung gleicht. In diesem Mittelteil befindet sich der Kern und in dessen unmittelbaren Nähe — aber, was besonders hervorzuheben ist, in der Richtung zum Geißelende — das Centrosoma in Gestalt eines quer-



Nina Kohl gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith Anst v Johannes Arndt, Jena.

gelagerten, an den Enden schwach abgerundeten Stäbchens. Noch etwas weiter nach vorn beginnt die Geißel mit einer kolbenförmigen Anschwellung und geht in einen feinen, nach Giemsa lebhaft rot gefärbten Faden über, der etwa bis zur Hälfte seiner Länge mit dem Trypanosomenleibe durch eine zarte, schwach färbbare undulierende Membran verbunden ist. Eine Besonderheit der Geißel besteht ferner darin, daß sie an ihrem freien Ende wiederum eine Verbreiterung aufweist, welche indes nicht bei allen Individuen deutlich zu erkennen ist, vornehmlich nicht immer bei den kleineren Exemplaren. Diese Verbreiterung ist keine symmetrische, sondern befindet sich nur an einer Seite des Geißelendes und hat die Form eines Kolbens oder Blattes. Um den Kern herum sieht man Anhäufungen dunkelgefärbter Granula. Einzelne stärker gefärbte Teilchen sind über den ganzen Trypanosomenleib, sowohl den vorderen als auch den hinteren Abschnitt zerstreut. Dazwischen finden sich regellos eingesprengt (freilich nicht bei allen Exemplaren) kleine, runde, scharf umschriebene vakuolenartige Gebilde, von denen zunächst unentschieden bleiben muß, ob sie etwas für diese Trypanosomenart Kennzeichnendes darstellen, oder eventuell nur als Artefakte zu betrachten sind. Andere morphologische Details müssen erst noch durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

Die soeben beschriebene Wuchsform ist augenscheinlich diejenige der erwachsenen Individuen, welche sich in den Präparaten sowohl isoliert als auch zu großen Haufen agglomeriert vorfinden. Außerdem werden aber auch andere, offenbar einem Jugendstadium angehörende rundliche Formen angetroffen, von geringen Dimensionen, mit und ohne Geißel. Die Teilung der Trypanosomen geht augenscheinlich auf verschiedenem Wege vor sich, denn neben der Längsteilung in zwei Individuen wurden in den Präparaten auch Teilungsbilder gefunden, wo der Kern in mehrere (bis 6) Stücke zerfällt.

In denjenigen Fällen, wo es gelang, die Trypanosomen in lebendem Zustande zu beobachten, zeigten sie eine äußerst energische Vorwärtsbewegung mit der Geißel voran. Im hängenden Tropfen laufen sie mit außerordentlicher Geschwindigkeit durch das Gesichtsfeld, die roten Blutkörperchen auf ihrem Wege heftig auseinanderschleudernd. Im allgemeinen ist die Bewegung eine schraubenförmige, was besonders deutlich zu erkennen ist, wenn irgend welche fremde Partikel ihrem Körper anhaften. Werden sie durch irgend ein Hindernis auf ihrem Wege aufgehalten, so führt der vordere mit Geißel und Membran ausgestattete Körperabschnitt besonders starke Verbiegungen aus, während die Bewegung des freien Geißelteiles bald einen peitschenden, bald einen krampfhaft vibrierenden Charakter trägt.

Ohne die Frage entscheiden zu wollen, glaube ich doch nach Vergleichung des von mir gefundenen Trypanosoma mit den übrigen bisher beschriebenen Arten annehmen zu müssen, daß dasselbe eine besondere selbständige Art darstellt. Ob dieses Trypanosoma für das Wisent pathogen ist oder nicht, will ich vorderhand noch dahingestellt sein lassen.

Bemerkung zur vorstehenden Mitteilung Wrublewskis.

Von **A. Wladimiroff** und **W. Yakimoff**.

Nach sorgfältigem Studium der von Herrn K. J. Wrublewski angefertigten und nach Giemsa gefärbten Blutpräparate sind wir zu der Ueberzeugung gelangt, daß das beim Wisent gefundene Trypanosoma sich von allen bisher bekannten Säugetiertrypanosomen nicht nur durch seine Größe, sondern auch durch die Konfiguration des hinteren Leibesendes, die Lage des Centrosoma im vorderen Abschnitt und die besondere Gestalt der Geißel unterscheidet. Auf Grund dieser morphologischen Eigentümlichkeiten halten wir das von Wrublewski beim Wisent gefundene Trypanosoma zweifellos für eine neue Species und proponieren dasselbe zu Ehren seines Entdeckers Trypanosoma Wrublewskii zu nennen.

Nachdruck verboten.

Die Identität der Oestridengattungen Gyrostigma und Spathicera.

Von Dr. **Arminius Bau**, Bremen.

Als E. Corti (1) im Jahre 1895 die Oestridengattung *Spathicera* beschrieb, trat die Frage auf, welcher der bisher nur im Larvenzustande bekannten afrikanischen Oestriden diese Imago angehören mochte. Er, wie besonders Friedrich Brauer (2), wiesen darauf hin, daß *Spathicera* nach ihrem ganzen Habitus, hauptsächlich auch nach ihrem Flügelgeäder, den Magenbremsen zugeteilt werden müsse, von denen damals einige Vertreter des *Gastrophilus* (aus dem Zebra), die Elefantenbremse *Cobboldia* und die im Magen von Nashörnern schmarotzende Gattung *Gyrostigma* in der Larvenform gekennzeichnet waren. Die noch nicht als Imago gezüchteten *Gastrophilus*-Arten schieden aus dem Grunde aus, weil *Spathicera* von diesem Genus, wie auch von allen bekannten Oestriden, durch das Fehlen der Ocellen und durch die fast rudimentären Pulvillen scharf getrennt ist, während die Larve von *Cobboldia*, welche Brauer zu der Zeit noch nicht als Fliege gezüchtet hatte, nach ihm so erhebliche Abweichungen von den übrigen gastricolen Larven zeigt, daß sie jedenfalls nicht als ein früheres Entwicklungsstadium der *Spathicera* angesprochen werden könne. Diese Voraussage konnte Brauer (3) später durch die gelungene Züchtung der *Cobboldia* glänzend beweisen. Es bestand demnach die Vermutung, daß *Gyrostigma* die Larvenform von *Spathicera* sei. Indessen brachten Brauers Vorschläge, wie auch diejenigen Enderleins (4) eine Aufklärung nicht. Beide Autoren meinten, es müsse für Forschungsreisende leicht sein, in den Exkrementen oder an den Aesungsplätzen von Rhinozeronten *Gyrostigma*-Larven aufzusuchen und zu züchten. Daß ein solcher Rat schneller auf dem Papier gegeben, als in Wirklichkeit ausgeführt ist, ergibt die Tatsache, daß bisher nur einmal in der Literatur [siehe Enderlein (4)] die Angabe verzeichnet wird, es seien zwei reife *Gyrostigma*-Larven in der Losung eines Nashorns gefunden, jedoch nicht zur Weiterentwicklung gebracht worden.

Erst Yngve Sjöstedt (5) gelang es, auf seiner in den Jahren 1905 und 1906 nach dem Kilimandscharo, dem Meru und den umgebenden Massaistepfen Deutsch-Ost-Afrikas ausgeführten Forschungsreise die erwähnte Frage aufzuklären, indem er, abweichend von den eben genannten Vorschlägen, die Züchtung der Larven in anderer Weise versuchte. Sein Erfolg bedeutet ein Ereignis ersten Ranges auf dem Gebiete der Oestridenforschung, nicht allein durch den nunmehr endgültig erbrachten Beweis der Identität der Genera *Spathicera* und *Gyrostigma*, sondern auch durch seine kühne Methode, fast ausgereifte Larven dem Magen eines getöteten Rhinoceros zu entnehmen und zur Entwicklung zu bringen. Bisher galt es nämlich als eine wissenschaftliche Tatsache, daß sich niemals eine vorzeitig, d. h. vor dem freiwilligen Abgang vom Wirte, entfernte Oestridenlarve zur Imago ausbilde.

In einem am 4. März 1906 in der Meruniederung erlegten *Rhinoceros bicornis* fand Sjöstedt eine erhebliche Anzahl *Gyrostigma*-Larven, von denen die meisten groß, dunkel gefleckt und deshalb anscheinend reif waren. Einige derselben wurden vorsichtig von der Magenwand gelöst, mit einer Handvoll Mageninhalt in eine leere Konservenbüchse gelegt und nach der Kilimandscharostation gebracht. Hier wurden sie sorgfältig gepflegt, indem man sie stets warm und feucht hielt. Nach etwa 7 Tagen verpuppten sich einige, aus denen sich nach ca. 6 Wochen, am 24. April, leider nur eine Fliege, eine echte *Spathicera* entwickelte, da die anderen Puppen abgestorben waren.

Ueber die Schwierigkeit, in der Wildnis solche Versuche durchzuführen, wird in dem oben zitierten Werke ausführlich berichtet. Der Liebenswürdigkeit des Herrn Professors Sjöstedt verdanke ich noch folgende private Mitteilungen, welche die zu einem Erfolg führenden notwendigen Bedingungen beleuchten. Zuerst muß der Jäger, welcher in der afrikanischen (oder in einer anderen) Wildnis Oestriden suchen soll, auch vollständiger Entomolog sein und während der Aufregung, welche in einer Karawane entsteht, wenn ein Rhinoceros erlegt wird, seine Kaltblütigkeit bewahren. Denn neben dem Suchen nach eventuell vorhandenen Endoparasiten ist die Haut und das Skelett des erbeuteten wertvollen Tieres zu präparieren.

Zweitens muß nicht nur das Tier die Schmarotzer beherbergen, sondern lätztere müssen sich auch im Stadium der Reife befinden. (Wann dies der Fall ist, war bisher unbekannt; für die Niederungen des Kilimandscharo- und Meru-Gebietes dürfte diese Zeit für *Gyrostigma*-Larven in den März fallen, während sie für das Gallaland (Giuba), in welchem *Cortis Spathicera pavesii* im Mai erbeutet wurde, fast einen Monat später liegen würde.)

Drittens müssen die Larven sehr sorgsam von der Magenwand entfernt werden, damit nicht die Mundhaken gebrochen werden.

Viertens darf man vom Lager nicht zuweit entfernt sein, um den Larven gleich die richtige Pflege angedeihen zu lassen, in bezug auf Wärme und Feuchtigkeit. (Diese Bedingungen lassen sich während eines Marsches nicht sorgfältig genug innehalten; auch scheinen Oestridenpuppen der Ruhe zu bedürfen, welche auf einer weiter ausgedehnten Expedition ausgeschlossen ist. — Wenigstens wurden aus den von mir bisher mit der Post versandten lebenden *Gastrophilus pecorum*-Puppen, die sachgemäß verpackt waren, Imagines nicht gezüchtet. Bau.)

Die von Sjöstedt aufgefundene *Gyrostigma*-Larve gehört einer neuen Art an, welche dieser Forscher, gemäß seiner erfolgreichen Züch-

tung, *Spathicera meruensis* genannt hat, da der zwar ältere Gattungsname *Gyrostigma* nur für die Larvenform gegeben wurde, da es aber in der Systematik üblich ist, die Gattung prinzipiell auf die ausgebildete Form zu beziehen. Weil die letztere zuerst den Namen *Spathicera* erhalten hat, werden wir in Zukunft *Gyrostigma* als Synonym zu *Spathicera* setzen, ohne den verdienstvollen Forschungen Brauers und anderer Abbruch zu tun¹⁾.

Die Gattungsdiagnose von *Spathicera* erfährt durch die Entdeckung Sjöstedts wertvolle Bereicherungen und Berichtigungen. Es sei zunächst erwähnt, daß auch bei *Spathicera meruensis* die Ocellen fehlen und daß die Pulvillen rudimentär sind. Die eigenartige Bildung des zweiten Fühlergliedes ist ein Gattungsmerkmal, während es vorher noch zweifelhaft war, ob dieselbe ein Kennzeichen für das Genus oder nur für die spezielle Art *Spathicera pavesii* sei. Das zweite Fühlerglied stellt einen beiderseits tief eingeschlitzten Becher oder eine Glocke dar, es ist auf der Oberseite breit und flach vorgezogen und bedeckt das dritte Glied; auf der Unterseite verlängert sich ein breiter flacher Ansatz in ein schmales dünnes gleichbreites palpenförmiges Band, welches von unten her über das dritte Glied übergreift.

Diesen palpenförmigen Anhang schrieb Corti dem dritten Fühlergliede zu, während Brauer die nunmehr als richtig erkannte Vermutung äußerte, daß derselbe zum zweiten Gliede gehört.

Die Fühler liegen nicht, wie irrtümlich auch in den Genera *Insectorum* (6) von mir bemerkt ist, in einer Fühlergrube, sondern in zwei getrennten Fächern. Die Fühler sind von der Stirn her durch ein kurzes dreieckiges Schild geschieden, welches sich nach unten in einen zwar nicht allzu hohen, aber recht deutlichen Kiel verlängert. Dieses Merkmal wurde bei dem Exemplar Cortis bisher übersehen; weicht man die *Spathicera pavesii*, welche nur als Unikum existiert, aber auf und hebt die Fühler hoch, so fällt dieser Kiel sogleich ins Auge.

Die Beine sind schlank und besonders in den Schenkeln der Hinterbeine nicht so stark verdickt, als es sich nach Brauers (2) Zeichnung annehmen läßt. Daß die letztere auch in einigen anderen Punkten nicht genau dem Typus der *Spathicera pavesii* entspricht, hebt Sjöstedt ausdrücklich hervor. Die von Sjöstedt veranlaßten Abbildungen von *Spathicera meruensis* und die photographische Wiedergabe eines Stückes der mit diesen Parasiten behafteten Magenwand sind vorzüglich.

Von den Magenbremsen der Nashörner sind zurzeit folgende bekannt:

Als Imago:

Spathicera pavesii Corti (1), Afrika; Larve zurzeit noch unbekannt; die Möglichkeit ist vorhanden, daß zu dieser Art eine der unten aufgeführten Larvenformen gehört.

Spathicera meruensis Sjöstedt (5), Afrika; Larve Puppe. Imago bekannt. Wohntier der Larve *Rhinoceros bicornis*.

Als Larven:

Spathicera (Gyrostigma) sumatrensis Brauer (7), Asien.
Spathicera (Gyrostigma) rhinocerontis bicornis Brauer (3). Afrika.
Spathicera (Gyrostigma) conjungens Enderlein (4), Afrika.

Aus dem afrikanischen Gebiete sind also drei bis vier Arten der in Rhinozeronten lebenden gastricolen Oestriden der Wissenschaft zugänglich

1) Dem strengen Prioritätsgesetz zufolge müßte dieser Gattung der Name *Gyrostigma* vorbehalten bleiben. Bau.

geworden, aus dem asiatischen Faunengebiete bisher nur eine. Nach dem Vergleiche mit den aus dem Pferde gezüchteten fünf *Gastrophilus*-Arten und den in *Equus böhmi* ebenfalls aufgefundenen fünf verschiedenen Magenbremsenlarven (Siehe Sjöstedt, l. c., p. 21) ist es anzunehmen, daß unsere Kenntnis von den Magenbremsen der Nashörner sich noch keineswegs einem Abschlusse zuneigt. Allerdings ist das weiter zu beackernde Gebiet der Oestridenforschung ein äußerst schwieriges, welches aber den vom Glück begünstigten Forscher zu befriedigen vermag. Außer den Parasiten der Nashörner gibt es auch bei anderen Großtieren, ganz abgesehen von den zahlreichen mit Hautöstriden geplagten Zweihüfern, noch manches zu erkunden; ich erinnere nur an die Rachenbremse des Elefanten (*Pharyngobolus* Brauer) und die des Nilpferdes (*Rhinoestrus hippopotami* Grünberg).

Literatur.

- 1) Corti, E., *Annali del Museo civico di Genova*. 2. Serie. Vol. XV. 1895. p. 144.
- 2) Brauer, Fr., *Sitzungsberichte der Akademie Wien. Math.-nat. Klasse. Bd. CIV. Abt. I.* 1895. p. 583. Tafel.
- 3) — —, *Denkschriften der Akademie Wien. Bd. LXIV.* 1897. p. 262 (der Separatdruck erschien 1896). Tafel.
- 4) Enderlein, G., *Archiv für Naturgeschichte*. 1901. Beiheft. p. 23, 38. Tafel.
- 5) Sjöstedt, Y., *Wissenschaftliche Ergebnisse der schwedischen zoologischen Expedition nach dem Kilimandscharo etc.* Herausgegeben von der Kgl. Schwedischen Akad. d. Wissensch. 10. Diptera. 2. Oestridae. p. 11. Uppsala 1908. Tafel I u. II.
- 6) *Genera Insectorum* (Wytsman): Fasc. 43. Bau: Diptera. Subfamilie Oestridae. 1906. p. 9. Tafel I.
- 7) Brauer, Fr., *Verhandl. zool.-bot. Gesellsch. Wien. Bd. XXXIV.* 1884. p. 269. Tafel.

Anmerkung: Die hier nicht aufgeführte Literatur über *Spathicera* (*Gyrostigma*) ist in den Abhandlungen von Brauer, Enderlein, Sjöstedt, sowie in den „*Genera Insectorum*“ verzeichnet.

Nachdruck verboten.

Ueber eine durch Milben hervorgerufene Erkrankung von Ratten.

[Institut für experimentelle Therapie in Düsseldorf (Direktor: Prof. Wendelstadt)].

Von Dr. W. Schürmann, Assistenten des Institutes.

Mit 7 Figuren.

Bei den Ratten des Institutes beobachteten wir eine eigenartige Hauterkrankung, die durch Milben hervorgerufen war. Da diese Erkrankung bei Ratten, soweit ich feststellen konnte, in der Literatur nicht erwähnt ist, so schien mir eine Beschreibung gerechtfertigt.

Die ersten Erscheinungen bestehen in einem deutlich erkennbaren starken Juckreiz, der die Tiere in große Unruhe versetzt und oft so heftig wird, daß die Tiere sich im Kreise herumdrehen. Eine Rötung der Haut an den befallenen Stellen tritt bald auf, hervorgerufen teils durch die Kratzeffekte, teils durch Entzündung durch die Milben. Die betreffenden Hautpartien schwellen an, es bilden sich Knötchen, Pusteln und Borken. Am deutlichsten treten die Krankheitserscheinungen an den unbehaarten oder nur schwach behaarten Körperpartien auf, den

Füßen, der Nase, dem Schwanz und den Ohren. Auf dem Rücken ist nur Haarausfall zu beobachten. Die genannten Stellen (Füße, Schwanz, Nase, Ohren) waren von einem rädigen Ausschlage bedeckt, d. h. rote, oberflächlich erhabene Knötchen auf stark gerötetem entzündlichen Grund mit dazwischen gestreuten Bläschen wechselten ab mit Borken und

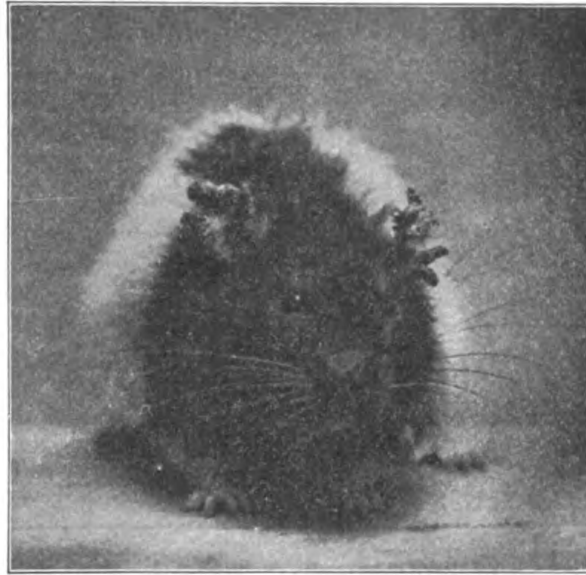


Fig. 1.

Krustenbelag. Die Ohr-ränder waren von kleinen, kugeligen, sich hart anfühlenden Gebilden besetzt, die ebenfalls leichte Krustenbedeckung aufwiesen und eine gewisse Aehnlichkeit mit spitzen Kondylomen zeigten. Die Nase trug auf ihrer Spitze einen kleinen Höcker, der stark mit Krusten belegt war, den die älteren Tiere sich des öfteren abstießen, der aber immer wieder sich regenerierte (siehe Abbildung). Die Tiere fraßen sich gegenseitig die Borken und Höcker häufig ab. Mit bloßem Auge waren keine Milben zu erkennen, erst beim Zer-zupfen der Verdickungen

fanden sich bei mikroskopischer Untersuchung Milben, auf deren Beschreibung ich später eingehe.

Die Durchschnitte der erkrankten Partien ergaben folgenden Befund :

Das Stratum corneum ist zerfasert. Das Stratum granulosum umgibt die Milben; die wunderbare Körnung des Zellprotoplasmas — Keratohyalin — dieser Zellen ist verschwunden. Sie haben ein helles Aussehen und erweisen sich im Zustande der Verhornung. Keratinisiert sind auch meistens die benachbarten Zellen des Stratum germinativum; eine deutliche Hypertrophie der Zellen der Stachelschicht und der Papillarkörper liegt vor. Allgemein haben die Milben ihre Gänge nur in der Hornschicht; im Ohrschnitt ist aber deutlich das Weiterwandern der Milben bis zum Ohrknorpel, also in das tieferliegende Bindegewebe, zu erkennen. Die Milbengänge verlaufen schräg und zwar in Etagen übereinander und bilden somit ein Höhlensystem, ähnlich dem Bau eines Bergwerkes, in dem vereinzelte Milben, Eier und eine Unmenge Faeces angetroffen werden. Auf den beigegebenen Abbildungen ist auch die Verdickung des Hornhautepithels zu sehen; als Vergleich dient ein Schnittpräparat durch ein gesundes Rattenohr (siehe Abbildung).

Die Schnitte durch das Horn auf der Nase ergaben mikroskopisch nichts weiter als verhornte Epithelien, wie bei den Cornua cutanea.

Die Milben wiesen bei mikroskopischer Untersuchung eine schildkrötenförmige Gestalt, einen hufeisenförmigen Kopf, der vom Thorax abgesetzt ist, mit den zwei stark entwickelten Scherenkiefern, 8 fünfgliedrige Beine mit den tulpenförmigen Haftscheiben auf.

Dem ganzen Aussehen nach, was Gestalt und Form, was die Anordnung der Haftscheiben an den Beinen anbetrifft, handelt es sich bei der Erkrankung um die Grabmilbe, *Sarcoptes* (Die tierischen Parasiten von Dr. Zürn), siehe nebenstehende Abbildung. Die einzelnen Kennzeichen stimmen genau überein.

Beim Männchen sitzen hier ebenso wie bei der Grabmilbe die Haftscheiben am ersten, zweiten und vierten, beim Weibchen jedoch nur am ersten und zweiten Fußpaare.

Beim Männchen sitzen am Ende der Füße feine scharfe Krallen außer den Haftscheiben. Am dritten Fußpaare des Männchens befinden sich Borsten. Der lange Körper ist mit einem Chitinpanzer bedeckt, der feine Rillen, Höcker und Schuppen trägt. Mit bloßem Auge waren die Milben weder auf schwarzem Untergrunde noch in flüssigem Medium trotz ihrer Bewegungen zu erkennen. In den Zupfpräparaten übertrafen die Weibchen an Zahl die Männchen.

Die Länge der Milbe betrug 0,27 mm, die Breite 0,21 mm, die Größe der Eier 0,12 mm.

Zur Beobachtung der Uebertragungsmöglichkeit wurde eine Versuchsreihe angestellt. Es gelang die Uebertragung durch Kontakt

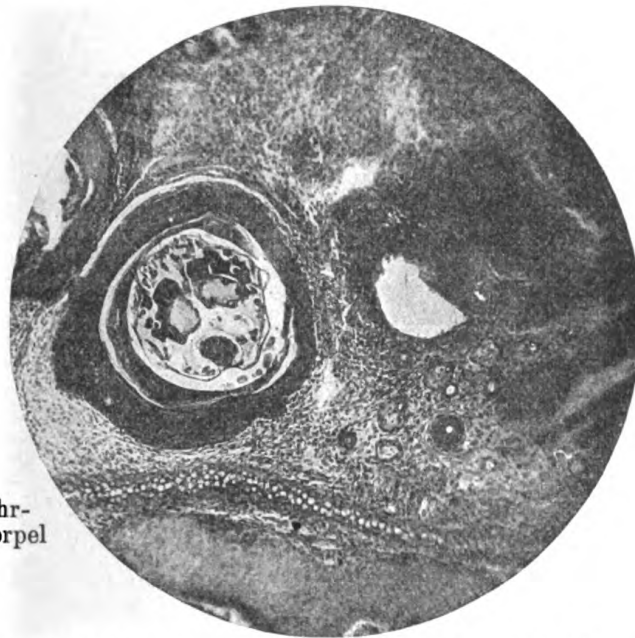


Fig. 2. Schnitt durch ein erkranktes Rattenohr. Man erkennt zwei Milbengänge. Der eine Gang ist bis an den Ohrknorpel herangerückt.

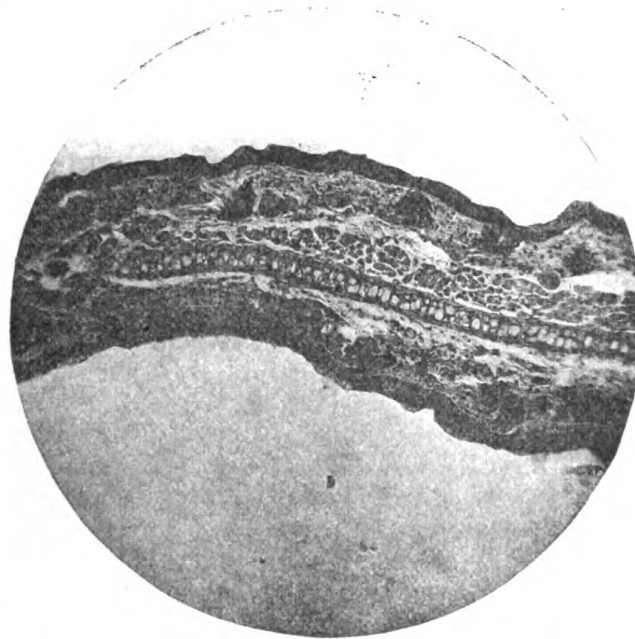


Fig. 3. Schnitt durch ein normales Rattenohr.



Fig. 4. Schnitt durch einen erkrankten Rattenschwanz.

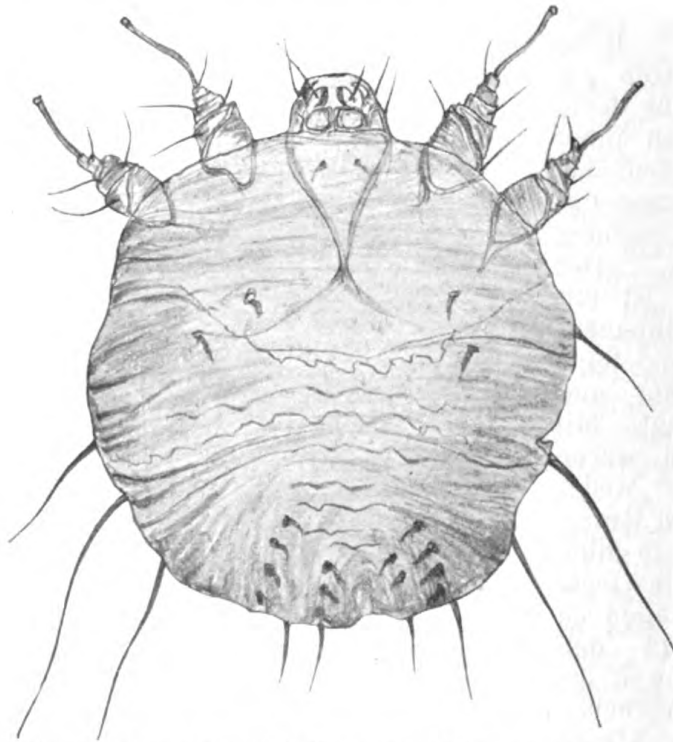


Fig. 5. Sarcoptes-Weibchen vom Rücken aus gesehen.

1) bei der Ratte. Schon nach 10 Tagen war die Infektion deutlich; es zeigte sich eine Rötung der Nasenspitze und beider Ohrränder mit Krustenbelag. Füße und Schwanz boten das Bild eines beginnenden Ekzems. Neben Schwellung der Haut zeigten sich an den Füßen punkt-

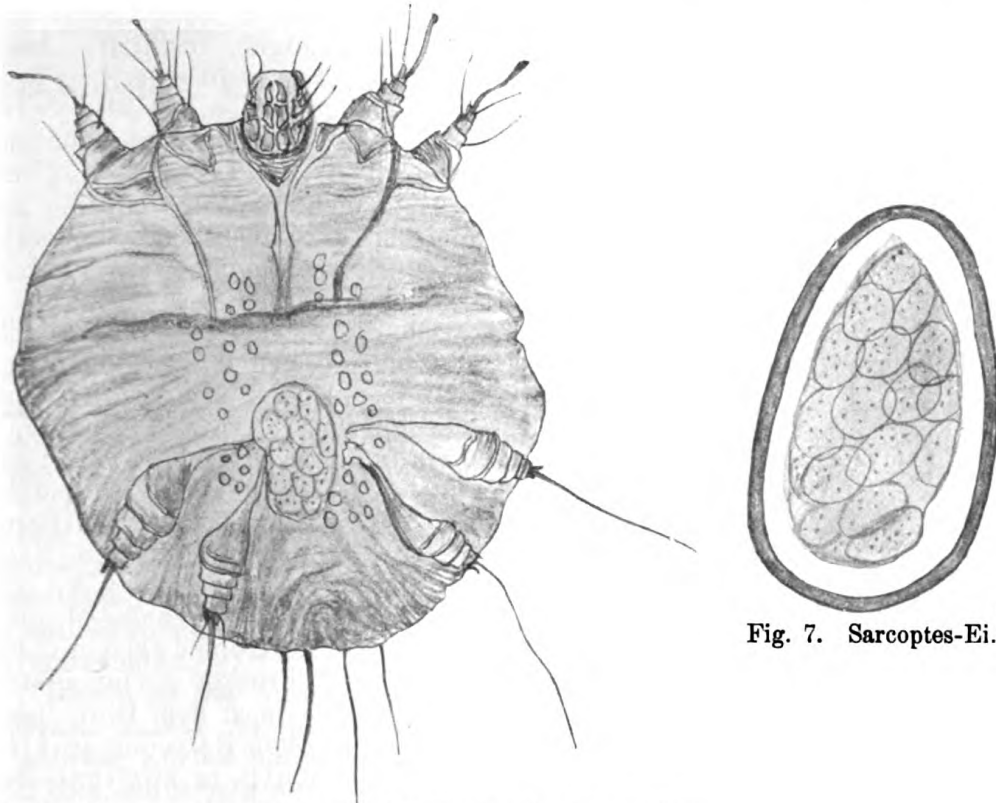


Fig. 6. *Sarcoptes*-Weibchen von der Bauchseite aus gesehen.

Fig. 7. *Sarcoptes*-Ei.

förmige Erhabenheiten von gelbrotem Aussehen. Nach 2 Tagen konnte man bei der Ratte den ununterbrochenen Juckreiz als sicheres Uebertragungsmerkmal beobachten; er schien mit der Vermehrung der Parasiten an Intensität zuzunehmen.

2) bei Mäusen. Nach 4 Tagen leicht rotgepunktete Ohrränder; Juckreiz wurde erst nach 2–3 Wochen beobachtet; das einzig in die Augen Fallende war die leichte, durch die etwas lichter werdende Behaarung im Nacken und oberen Rückenteile durchschimmernde Rötung der Haut. Eine weitere Veränderung war an den Tieren nicht zu beobachten.

3) Die Uebertragung durch Kontakt gelang nicht bei Hunden, Meerschweinchen und Kaninchen.

Einreiben von zerzupftem Material auf die gesunde Haut führte bei Hund, Meerschweinchen und Kaninchen zu keinem positiven Ergebnis.

Subkutane Injektionen von milbenhaltigem Organbrei und das Einpflanzen von milbenreichen Organstücken unter die Haut bei Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen und Hund fielen negativ aus.

Das negative Resultat der meisten Versuche durch Einreiben und subkutane Einpflanzung des Infektionsstoffes führte ich auf die gesunde Oberfläche zurück, wodurch den Milben vielleicht die Möglichkeit des rascheren Eindringens genommen worden sei. Da durch den enormen Juckreiz, der die Tiere befällt, wenn die Milben die Haut verletzen, die Tiere sich selbst neue Kratzeffekte beibringen, machte ich durch Einritzen und Reiben an den Ohren und im Nacken von Kaninchen, auf dem Rücken von Meerschweinchen und am Ohr von einem Hund kleine Wunden, bestrich diese reichlich mit Milben, legte auf größere Wund-

flächen Organstücke, die ich mit einem durchlöcherten Heftpflaster, um dem Sauerstoffbedürfnis der *Sarcoptes* zu genügen, festhielt. Aber auch hier zeigten die genannten Tiere nach 4 Wochen nicht eine Spur von Uebertragung. Kein Tier ist an der Infektion gestorben.

Eine Uebertragung der Infektion auf den Menschen ist möglich. Der die Tiere fütternde Diener hatte nach 8—10 Tagen sich einen Krätzeausschlag auf dem rechten Handrücken geholt. Eine zufällig gefangene wilde Ratte war von dem gleichen Hautausschlage bedeckt; sämtliche bei unseren Ratten aufgetretenen Erscheinungen waren aufzuweisen und in den Zupfpräparaten die gleichen Milben festzustellen.

Eine Reihe von Versuchen machte ich, um festzustellen, wie sich die Milben verschiedenen chemischen und thermischen Reizen gegenüber verhalten. Die Lebensdauer der Milbe ist je nach der Temperatur, dem Feuchtigkeitsgehalt der Luft eine verschiedene.

In Glyzerin lebten sie 2—3 Tage, in verdünntem Glyzerin (1:30) nach 1 Woche herabgesetzte Lebenstätigkeit, in Kochsalzlösung (physiol.) nach 1½ Woche noch Leben. Benzin tötete sie nach 5 Minuten, konzentrierte Essigsäure nach 10 Sekunden, Schwefelsäure 1:25 nach 15 Minuten, Sublimat 1:10 nach 8 Minuten, Aether nach ½ Minute, Lysol nach 1 Minute, Natronlauge 1:10 nach 5 Minuten, konzentrierte Karbolsäure nach 1 Minute.

Nur zu stark sich bewegenden Tierchen setzte ich tropfenweise mit der Pipette unter gleichzeitiger Betrachtung durch das Mikroskop die genannten Arzneimittel zu. Die Bewegungen waren meistens nach dem Eintropfen des Mittels sehr lebhaft gesteigert; bei Hinzufügen von Natronlauge 1:10 sistierten die Bewegungen sofort, um nach 5 Minuten in zitternde Bewegungen überzugehen und nach einigen Sekunden ganz zu verschwinden.

In einem abgeschnittenen, der Vertrocknung überlassenen Ohrstück lebten die Erreger noch nach 6 Tagen. In erhöhter Temperatur bei 42° erfolgte rasches Absterben nach 12 Minuten. Auch schien, wie ich öfters beobachten konnte, ein ½-stündiges Stehenlassen der Flüssigkeiten im Brutschrank bei 37° reges Leben in den Milben hervorzurufen; die Bewegungen der Füßchen waren ebenso lebhaft, wie nach sofortiger Isolierung aus dem eben abgeschnittenen Ohrstück. Die Bewegungen aber ließen nach 1½-stündigem Stehenlassen bei kühler Zimmerluft auf Steintischunterlage sofort wieder nach; bei raschem Temperaturwechsel erfolgt sehr bald der Tod. Abschluß von Sauerstoff tötete die Tierchen nach 54—56 Stunden.

Eine Behandlung mit Perubalsam und Alkohol $\bar{a}\bar{a}$ wurde vorgenommen. Nach 4-maliger Einreibung des ganzen Körpers war der Ausschlag vollständig verschwunden und ist bisher noch nicht wieder aufgetreten. Beim Menschen gelang eine glatte Heilung ebenso.

Nachträglich möchte ich noch bemerken, daß in dem von Prof. Canestrini und Prof. Kramer bearbeiteten Werke „Das Tierreich“. Lief. 7 über Demodicidae und Sarcoptidae eine Milbenart „*No-toedres*“ genannt wird, die bei *Mus rattus* und bei *Mus decumanus* vorkommt. Sie erzeugt eine gutartige Krätze an den Ohren und den äußeren Genitalien. Bei unseren Ratten war niemals eine Infektion an den Genitalien zu konstatieren.

Eine andere Arbeit von Tiraboschi: *Les rats, les souris et leur parasit. cutanées* (Archives de parasitologie. T. VIII. 1904) konnte ich trotz vieler Bemühungen nicht zur Einsicht bekommen.

Nachdruck verboten.

Ueber einen neuen Apparat für Versuche über das Saugen der Insekten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität zu Genua
(Prof. P. Canalis).]

Von Privatdozent Dr. G. Zirolla.

Mit 1 Figur.

Bei meinen Untersuchungen über die Uebertragbarkeit des Pestbacillus vermittelt der Flöhe¹⁾ bin ich bei den Versuchen auf große Schwierigkeiten gestoßen, aus Mangel an einem geeigneten Apparate zur Sicherung des Fanges und der Erhaltung der Insekten, nachdem sie das Blut der Pest behafteten Mäuse eingesogen hatten.

Die von den Forschern bisher bei diesen Studien²⁾ oder bei ähnlichen Untersuchungen über andere Keime und mit verschiedenen Insekten angewandten Methoden und Apparate, die ich zu beschreiben unterlasse, setzen uns nicht in den Stand, das Insekt im Momente, wo es das Blut aussaugt, noch wenn es ein anderes Subjekt sticht, de visu zu beobachten.

Das aber ist notwendig, um die Gewißheit zu haben, daß das betreffende Insekt durch den Stich den mit dem Blute eingesaugten und in seinem Körper aufbewahrten Keim tatsächlich einimpfen kann.

Das einfachste Mittel wäre, eine Glasröhre, in der sich das Insekt befindet, umzukehren und auf den Körper des infizierten oder gesunden Tieres zu legen.

Die Schwierigkeit aber besteht darin, die Röhre, nachdem das Insekt gesogen hat, abzunehmen und zu verstopfen, ohne Gefahr zu laufen, daß das Insekt in diesem Augenblicke entflieht, so schnell und aufmerksam man auch operiert.

Man weiß nunmehr, daß ein von der Pest angestecktes Insekt eine ernste Gefahr für die Verbreitung der spezifischen Keime darstellt, eine Gefahr, die man beseitigen muß.

Es war also nötig, ein Mittel ausfindig zu machen, um die Röhre zu verstopfen, ohne sie vom Leibe, auf welchen sie gelegt wurde, abzunehmen, und zu dem Zwecke habe ich seit dem Jahre 1904 nach vielen Versuchen einen Apparat erfunden und konstruieren lassen, dessen ich mich mit bestem Erfolge bediene.

Der Apparat besteht:

1) Aus einer kleinen Glasröhre, welche in eine Nickeleinfassung eingesetzt ist, die mit einer sehr dünnen und leicht verschiebbaren, ebenfalls aus Nickel bestehenden Scheibe versehen ist, um das Öffnen und Schließen der Röhre zu ermöglichen;

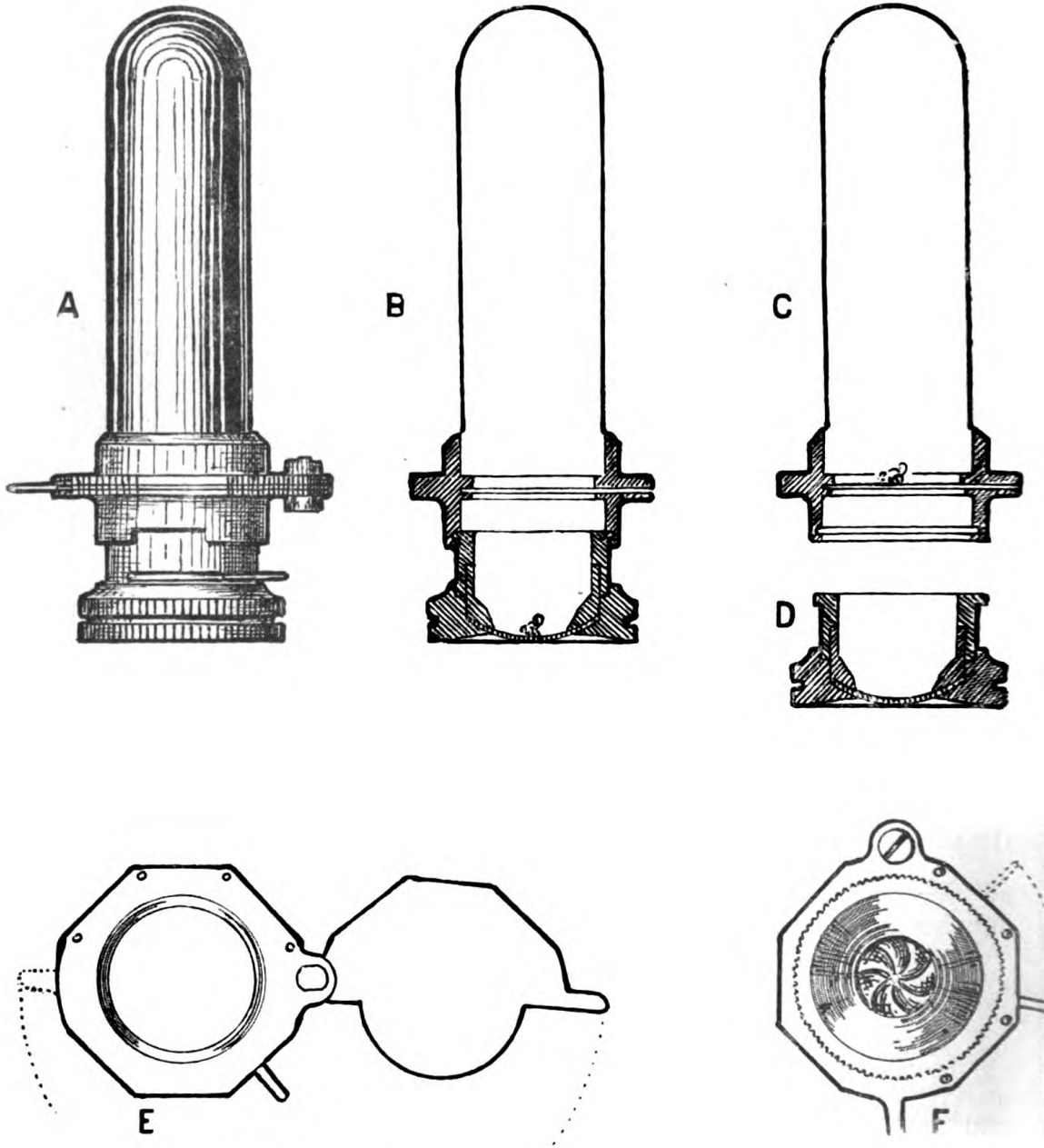
2) aus einem aus demselben Metalle bestehenden Gestell, welches an der Basis ein Irisdiaphragma mit unterer konvexer Fläche besitzt. Die Glasröhre mit ihrer Einfassung wird durch ein einfaches Zahnwerk auf das Diaphragmagestell eingesetzt. Wenn das Diaphragma geschlossen

1) Zirolia, Der Pestbacillus im Organismus der Flöhe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXI. No. 14. p. 687.)

2) Reports on plague investigations in India. (The Journal of Hygiene. Vol. VI. No. 4. Plate IV—VI—VIII.)

ist, befindet sich der Punkt seiner äußersten Wölbung in derselben Ebene, wie die des unteren Randes des Gestells.

Beifolgende Figur stellt den Apparat in Naturgröße und sowohl im Querschnitte als in den Einzelheiten dar.



Wie wird der Apparat gebraucht?

Haben wir ein Insekt gefangen und wollen wir es das Blut eines Tieres oder eines Menschen saugen oder dieselben stechen lassen, so setzen wir die Röhre C in die Stütze D ein, und legen den Apparat auf den Leib des Tieres, hierauf öffnen wir das Fenster der Röhre und des Diaphragmas und so setzt sich das Insekt auf die Haut und saugt das Blut. Wenn wir es wegnehmen wollen, so haben wir nichts anderes

zu tun, als das Diaphragma langsam zu verschließen, und da es wegen seiner äußeren Krümmung die Haut des Tieres streifen muß, so wird das Insekt genötigt sein, sich unversehrt zurückzuziehen.

Dann nehmen wir den Apparat weg, kehren ihn um, um das Insekt auf den Boden der Röhre fallen zu lassen und machen das Fenster zu. Wenn wir ebensoviele Röhren zur Verfügung haben, als Insekten da sind, die wir stechen oder saugen lassen wollen, so brauchen wir nur je eine Röhre auf die Diaphragmastütze einzusetzen und das Verfahren in ähnlicher Weise zu wiederholen.

Wir können auf diese Weise die Insekten sehr gut für die weiteren Versuche in diesen Röhren erhalten, welche zwar einen Verschuß besitzen, der geeignet ist, das Entfliehen der Insekten zu verhindern, jedoch das Eindringen der zum Atmen erforderlichen Luft zu gestatten.

Der ganze Apparat kann durch Karbollösung oder Formaldehyd desinfiziert werden.

Er kann für Versuche mit verschiedenen Insekten dienen, und füllt, wie es mir scheint, eine bestehende Lücke aus im Gebiete der Technik dieser Art von Versuchen, welche in den letzten Jahren so viel Licht auf die Uebertragbarkeit von verschiedenen durch einen vermittelnden Träger der spezifischen Keime verursachten Infektionskrankheiten geworfen haben.

Gen u a, 16. Juli 1908.

Nachdruck verboten.

Studien über das Verhalten einiger pathogenen Mikroorganismen bei niedriger Temperatur.

Von Prof. Ernst Almquist (Stockholm).

Mit 22 Figuren.

In mehreren Aufsätzen habe ich das Verhalten einiger pathogenen Bakterien unter wenig bekannten Verhältnissen studiert. Ich untersuchte das Wachstum in neuen Nährmedien, und fand, daß sie sehr gut in gewissen Nährmedien fortkommen, die früher nicht untersucht und zum Teil vorher als zu nahrungsarm angesehen waren.

Bei einigen dieser Untersuchungen konnte ich die Bildung von keimenden Kugeln feststellen; neulich habe ich dieselben „Bakterienkonidien“ genannt¹⁾. Ich habe diese interessante Fruktifikation durch mehrere Methoden hervorbringen können und brachte ihre Bildung in Zusammenhang mit dem Kulturmedium, annehmend, daß sie mit dem Wachsen in gewisser verunreinigter Erde gewissermaßen verbunden war. Dieses ist ja auch manchmal offenbar der Fall, so z. B. bei dem Hervorbringen von keimenden Kugeln auf dem Erde-Agar-Agar.

Beim Studium über das Verhalten derselben Bakterien in einem Panums Thermostaten²⁾ bei 9—11° habe ich nunmehr in der niedrigen Temperatur ein Hauptmittel gefunden, um diese Fruktifikation zustande zu bringen. Hierüber will ich nachstehend berichten.

1) Diese Zeitschrift Abt. I. Bd. XLV. p. 494.

2) Klöcker, Die Gärungsorganismen. p. 32. 2. Aufl. Stuttgart 1906.

Unter hoher Zimmertemperatur verstehe ich 20° und darüber, unter niedriger Zimmertemperatur etwa 15° und darunter.

1. Das Cholera-spirillum.

Meine erste Beobachtung über keimende Bakterienkugeln betraf eine Reinkultur in düngstoffreicher Erde, mit Bouillon versetzt, die eine Woche bei niedriger Zimmertemperatur gestanden hatte¹⁾. Die Versuche sind leicht auszuführen. Man braucht dafür jedoch niedrige Temperatur; bei höherer scheint der Versuch nicht zu gelingen. Jetzt brauchte ich Erde vom Eingange eines Viehstalles. Nach Sterilisieren bei 120° setzte ich etwas Bouillon hinzu, impfte und ließ die Kultur zuerst 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Danach wurde das Kölbchen bei 10—11° plaziert, da die Bildungen nach 6 Tagen fertig zu studieren waren und während einiger Wochen beobachtet werden konnten.

Zuerst will ich 2 Photographieen vorführen. Fig. 2 zeigt Haufen von Spirillen und Kugeln, die sich jedoch nur andeuten. Aber auch im Mikroskope sind die Einzelheiten nicht so leicht zu beobachten. In der Umgebung der Haufen sieht man indessen Kugeln und Kommabacillen,

und es ist offenbar, daß die Haufen aus dergleichen sowie aus größeren Fäden gebildet sind. Fig. 3 weist dasselbe in der Handzeichnung auf.

Fig. 1 gibt die Bildung der Kugeln wieder. Wir sehen 2 Spirillen und die seitlich entstandenen Kugeln.

1) Diese Zeitschrift. Abt. I. Bd. XXXVII. p. 19.

Fig. 1.

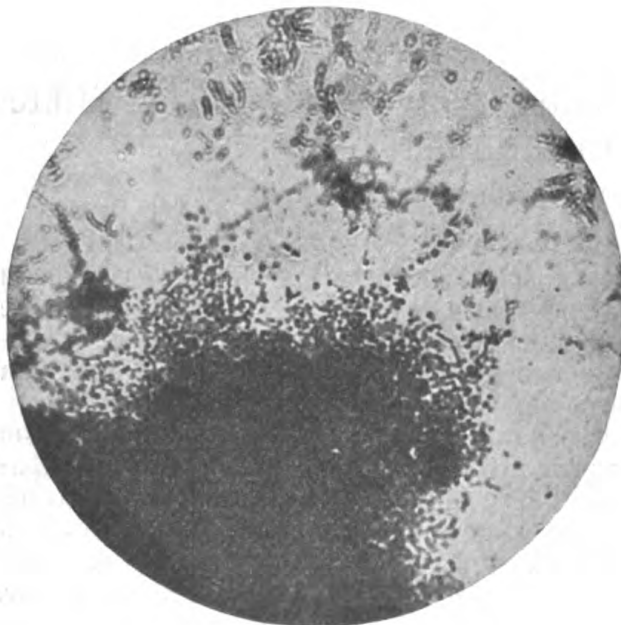


Fig. 2.

Fig. 4 veranschaulicht die ungleichen Formen, seitdem das Spirillum 7 Tage in obengenannter Mischung von Bouillon und Erde bei 11° gewachsen ist. Wir sehen bei *a* ein Häufchen sowie auch freie Kugeln, kleinere und größere Spirillen, einige mit einer Kugel am Ende und schließlich einen recht breiten Faden mit zwei seitlich ansitzenden Kugeln. Nach kurzer Zeit finden wir in demselben Präparat in einem hängenden Bouillontropfen die Kugeln keimend. Ein ganz feines Spirillum ist aus der Kugel hervorgesprossen (bei *b*).

Fig. 5 zeigt dieselben Bildungen aus derselben Kultur wie Fig. 4. Wir sehen die gröberen Fäden und Spirillen mit Kugeln an ihrer Seite oder Spitze. Ein Faden hat drei Kugeln, ein anderer zwei. Hier und da eine freie Kugel. Innerhalb 4 Stunden haben bei hoher Zimmer-temperatur einige Kugeln im Bouillontropfen gekeimt; eine neue Kugel,



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 7.

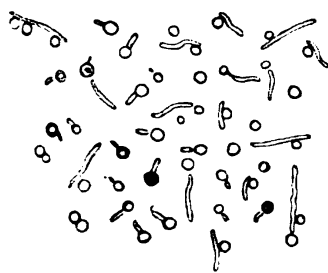


Fig. 5.

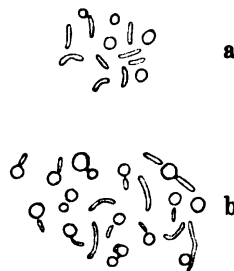


Fig. 6.

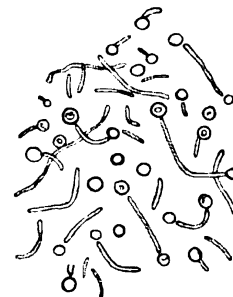


Fig. 8.

aber gewöhnlich feinste Spirillen, sprießen aus der Kugel hervor, wie die Zeichnung veranschaulicht.

In einer anderen gleich verfertigten Kultur bei 10° fand ich nach einer Woche die gröberen, kugelbildenden Fäden vorherrschend. Im hängenden Tropfen bei 20—30° keimen die Kugeln in wenigen Stunden zu feinen Spirillen aus. Mehrmals habe ich die Spirillen sich von der Kugel lösen gesehen, da die Kugel mit einer kleinen Spitze zurückblieb. Manchmal sah ich auch die auskeimenden Spirillen weiterwachsen, ohne daß es von der Kugel sich gelöst hatte. Dabei sah ich es auch manchmal sich teilen.

Da ich den hängenden Tropfen einige Stunden bei 30° beobachtet hatte, plazierte ich ihn bis zum nächsten Tag in einer Temperatur von 10—15°. Kugelbildung und Keimung wiederholten sich danach und alle Formen zeigten sich nacheinander. Nicht selten sah ich, daß eine Kugel eine andere kleinere Kugel hervorsprossen ließ.

Aehnliche Kulturen wurden auch mit gewöhnlichem Schrägagar gemacht. In Fig. 6 sehen wir gröbere und feinere Spirillen nebst zahlreichen, meistens freien Kugeln. Das Agarrohr hat 7 Tage bei 11° gestanden. Seitdem wir den hängenden Tropfen während weniger Stunden bei etwa 25° beobachtet hatten, fanden wir bei *b* viele Kugeln keimend. Entweder hatte die Kugel eine kleinere Kugel oder ein Spirillum hervorsprossen lassen. Die Keimung mit Bildung von Spirillen ist in Fig. 7 sehr hübsch.

Fig. 8 zeigt denselben hängenden Tropfen wie in der vorhergehenden Zeichnung, der während eines Tages bei 10° aufbewahrt war. Wir sehen darin Fäden, Spirillen und Kugeln.

Ich habe also zwei verschiedene Methoden, das Choleraspirillum zu kultivieren, gefunden, das bei etwa 10° nach etwa 1 oder 2 Wochen neue Formen in reichlicher Anzahl hervorbringt. Wir finden dann in den Kulturen viele Fäden und Kugeln zusammen mit den Spirillen. Die Kugeln wachsen gewöhnlich von der Seite des Fadens aus.

Die Kugeln haben verschiedene Größe. Die großen messen 1—2 μ . Kleine Körnchen sind oft in den Präparaten vorhanden. Einige ganz kleine Kügelchen sieht man gleich den größeren keimen; wenigstens kann ein Teil der Körnchen als keimende Kügelchen aufgefaßt werden. Die bei 10° hervorgebrachten Kugeln sind völlig unbeweglich und deshalb leicht zu beobachten.

Die Keimung dieser Kugeln ist einfacher zu verfolgen als die der Typhuskugeln. Die Ursache liegt zum Teil daran, daß die Keimlinge größer sind. Freie Kugeln keimen bei hoher Zimmertemperatur oder Körperwärme in Bouillon in einigen Stunden aus. Der Keimling ist entweder ein Spirillum, der gewöhnliche Kommabacillus, oder eine neue Kugel. Das ausgekeimte Spirillum löst sich bald von der Kugel oder verlängert und teilt sich in zwei Spirillen, bevor es von der Kugel losläßt. Die erst hervorgebrachte Generation dieser Spirillen ist auch durchweg unbeweglich. Da die Kugeln bei etwas höherer Temperatur gebildet sind, sind alle Formen von Anfang an sehr beweglich.

Die Kugeln verbleichen und verschwinden schnell, oft unter dem Auge des Beobachters. Nach einem Tage sieht man bei Zimmer- oder Körpertemperatur kaum Spuren von der Erscheinung.

2. Der Typhusbacillus.

Die Beobachtung, daß die keimenden Kugeln sich bei niedriger Temperatur entwickeln, hat meine Forschung sehr erleichtert. Die früher beschriebene Erde-Agarkultur hat wohl bei Zimmerwärme zum Ziel geführt¹⁾, verwickelt jedoch die Untersuchung nicht unbedeutend. Jetzt benutze ich gewöhnlichen Schrägagar oder Bouillon und lasse die Kultur bei etwa 10° eine Zeitlang stehen.

Die Bouillonkultur bei 10° habe ich derart ausgeführt, daß sie, um eine genügende Anzahl von Individuen zu geben, zuerst einen Tag bei höherer Temperatur wuchs. In einem Versuch, da die Kultur zuerst einen Tag bei Zimmertemperatur gestanden hatte, fand ich nach 1—2 Wochen bei 10° hauptsächlich Fäden mit einigen Stäbchen und einzelnen Kugeln gemischt. In den nächst darauffolgenden Wochen blieb die Kultur unverändert. Im hängenden Tropfen bei höherer Temperatur sah

1) Diese Zeitschrift. Abt. I. Bd. XLV. p. 492.

ich nur wenige Kugeln hervorsprießen. Allmählich veränderten sich die Fäden in der Kultur bei 10° derart, daß sie wie leer aussahen.

In einer anderen Bouillonkultur bei 10°, die zuerst einen Tag bei 37° gestanden hatte, fanden sich nach 2—4 Wochen zahlreiche Stäbchen zusammen mit einigen Fäden. Nach kurzer Erwärmung bei 37° zeigten sich im hängenden Tropfen bewegliche Stäbchen und Konidien, manchmal an der Seite eines beweglichen Stäbchens auswachsend. Die Kugeln keimten gleich, einige freie Kugeln waren beweglich.

In Fig. 9 sehen wir lange, unverzweigte Fäden, dieselben, die ich als Myceloid bezeichnet habe¹⁾. Das Myceloid ist charakteristisch für das Wachstum bei niedriger Temperatur. Zwischen den dicken Fäden finden wir recht zahlreiche Stäbchen. Hier und da sitzt eine gestielte Kugel am Ende eines Fadens. Die Kultur war einen Monat alt, auf Agar-Agar gewachsen.

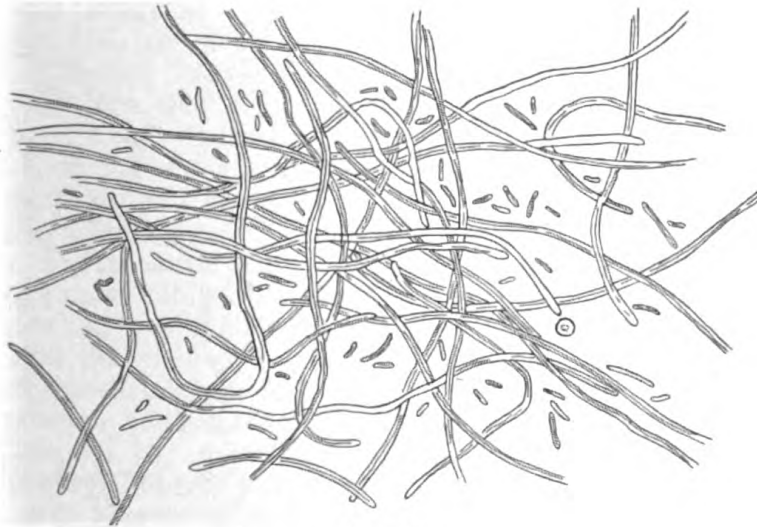


Fig. 9.

Fig. 10 zeigt eine ähnliche Kultur bei einem anderen Typhusstamm. Die Agarkultur ist einen Monat bei 10° gewachsen; dann habe ich daraus mit Bouillon einen hängenden Tropfen verfertigt, der eine Stunde bei 37° gestanden hat. Wir sehen nun recht viele Kugeln, die an den Fäden, und zwar gewöhnlich an den Enden, festsitzen. Zwischen den Fäden liegen Stäbchen und die feinen „sporenähnlichen Bildungen“.

Fig. 11 stammt von derselben Kultur; der hängende Tropfen ist nur eine halbe Stunde bei 37° erwärmt worden. Hier sind auch freie Kugeln zu finden. Den nächsten Tag ist das Präparat, das bei Zimmertemperatur stand, ganz verändert; keine Kugeln machen sich bemerkbar und die Fäden sind teilweise deutlich leer. In Fig. 12, die dies veranschaulicht, sind die gewöhnlichen Typhusstäbchen fortgelassen.

Die Fig. 13 und 14 sind von einem dritten Typhusstamm gezeichnet. Wie die vorhergehenden Typhuspräparate, haben die Kulturen etwa einen Monat bei 10° gestanden. Die hängenden Tropfen sind unmittelbar in hoher Zimmertemperatur untersucht worden, aber die Beobachtung wurde 4 Stunden lang fortgesetzt. Während dieser Zeit sahen wir die Kugeln keimen.

1) Daselbst. Bd. XXXVII. p. 21.

Die Keimung ist von der Entwicklung der Cholerakugeln verschieden. Beim Typhus schießt gewöhnlich eine sehr feine Bildung hervor, nicht selten mehrere dergleichen nacheinander. Da diese neuen Bildungen winzig klein sind und zusammenhängen, bildet sich ein Nadelchen, manchmal auch eine kurze Perlenschnur. Dieselben Bildungen können dazwischen auch direkt aus dem Faden ausspießen. Da die neugebildete Kugel größer ist, ist die Anzahl der hervorgesprossenen Bildungen mehr begrenzt. In Fig. 13 sehen wir links oben einen Faden mit einer leeren Kugel am Ende. Leere Kugeln sind nicht selten zu sehen, der Inhalt ist dann verschwunden. Die leere Kugelschale ist jedoch schwer sichtbar und entzieht sich öfters der Aufmerksamkeit.

Fig. 15 zeigt, wie das zuletzt besprochene Präparat nach einem Tage bei 11° aussah. Wir finden darin viele leere Fäden.

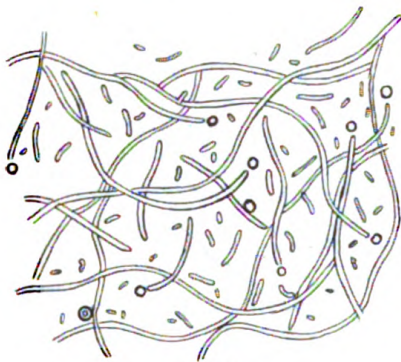


Fig. 10.



Fig. 11.



Fig. 12.



Fig. 13.

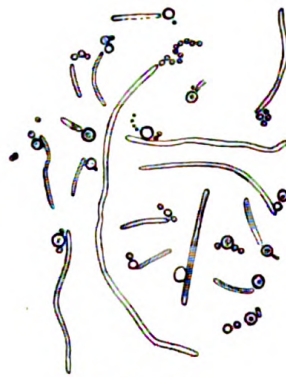


Fig. 14.

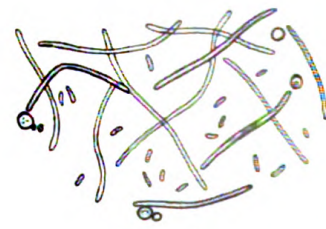


Fig. 15.

Der Typhusbacillus wächst sehr unbedeutend bei 10° C, aber man kann jedoch dabei wichtige Veränderungen des Organismus feststellen. Er verlängert sich sehr und fruktifiziert. Da ich nun eine Zusammenfassung meiner Erfahrung hierüber gebe, so fange ich mit einigen Kulturen ohne Resultat an. Ich habe nämlich mehrere Versuche mit Typhusbakterien bei 10° in sterilem Wasser, auf Agar-Agar ohne Pepton und überhaupt ohne Nährstoff angestellt. Dabei habe ich nie eine Neigung zur Fruktifikation feststellen können. — Die Untersuchungen über die Fruktifikation des Typhusbacillus werden durch die Kulturen bei 10° sehr erleichtert. Ein Hauptvorteil dabei ist, daß alle Bildungen unbeweglich sind und während des nächsten Weiterwachsens unbeweglich bleiben. Ich halte die Methode mit Schrägagar und 10° für die bequemste für die betreffenden Studien und habe auf diesem Wege die Hauptfaktoren bei der Fruktifikation feststellen können.

Ich habe sowohl mit Agarröhren gearbeitet, die gleich nach der Impfung in den Thermostaten bei 10° gestellt wurden, wie auch mit Röhren, die zuerst 1 Tag bei Zimmerwärme gestanden hatten. Mit zu vielem Material darf nicht geimpft werden, und es ist vorteilhaft, einen trockenen Agar-Agar zu benutzen. Nach 1—2 Wochen findet man, daß die Stäbchen zum Teil zu Fäden ausgewachsen sind und daß sich einzelne Kugeln gebildet haben. In den nächsten darauffolgenden Wochen geht dieselbe Entwicklung weiter; man sieht nunmehr selten bewegliche Stäbchen, die Fäden sind häufig, ebenso die Kugeln und nicht selten sieht man auch zahlreiche feinste Nadelchen, „sporenähnliche Bildungen“.

Wenn also in der 3. oder 4. Woche vom Schrägagar hängende Tropfen mit Bouillon verfertigt werden, so sieht man gleich im Präparat unter anderem Fäden und einzelne Kugeln, die letztgenannten gewöhnlich frei. Hat das Präparat eine kurze Weile in Zimmertemperatur oder bei 37° gestanden, so sieht man zahlreiche Kugeln an den Enden von Fäden und Stäbchen hervorsproßen und unmittelbar darauf die feinen Keimlinge, die von den Kugeln auswachsen. Diese neuen Bildungen sind so winzig klein, daß man, um sie zu entdecken, genau nachsehen muß. Die Keimung kann eintreten, bevor die Kugel frei ist, sie wird auch bei freien Kugeln beobachtet.

Ich habe also festgestellt, daß der Typhusorganismus bei niedriger Temperatur Fäden sowie eine Fruktifikation hervorbringt. Dabei entwickeln sich auch zahlreiche kleine, „sporenähnliche Bildungen“. Die letztgenannten sind sekundär und können aus den Kugeln oder auch direkt aus den Stäbchen oder Fäden hervorstammen. Auch mit anderen als den jetzt beschriebenen Methoden habe ich das direkte Auswachsen aus den Stäbchen beobachtet¹⁾.

Wenn die bei 10° gewachsenen Organismen nach 2—4 Wochen in neue Nahrung bei höherer Temperatur versetzt werden, so geschieht die Umwandlung in Kugeln unmittelbar, und darauf folgt gleich die Keimung. Ich habe teils allein und teils zusammen mit Herrn Dr. N. A. Wange diese Erscheinung im Mikroskop beobachtet. Die Bildung der Kugeln ist einfach zu konstatieren, und dabei gibt das Stäbchen oder der Faden seinen Inhalt der Kugel ab. Dr. Wange hat beobachtet, daß der Inhalt nach der Bildung von einer Kugel verschwinden kann; der Faden kann auch vor der Entleerung noch eine Kugel entwickeln. Schließlich kann der Faden nach der Entwicklung einer Kugel in einem Teil fortleben.

Ofters sieht man, daß eine einzige feine Bildung aus der Kugel auswächst, manchmal sproßen auch mehrere gleichzeitig aus derselben Kugel hervor. Dr. Wange hat beobachtet, daß die feinen Bildungen sich von der Kugel lösten, worauf eine neue ähnliche Bildung aus dem an der Kugel gebliebenen Stiel hervorsproß. Dies hat sich bei einer Kugel 3mal nacheinander wiederholt. Manchmal blieben die Bildungen an der Kugel und aneinander festsitzen, so daß eine Art Perlenschnur entstand (Fig. 13 und 14).

Die Kugeln verschwinden schnell. Den nächsten Tag sieht man kaum etwas von ihnen, wie auch das Präparat verwahrt wird. Die Kugel kann bersten, und nur die Schale bleibt übrig (Fig. 13). Manchmal geschieht dies plötzlich unter den Augen des Mikroskopikers, ohne daß vor-

1) Diese Zeitschr. Bd. XXXVII. p. 22. — Zeitschr. f. Hygiene etc. Bd. LII. p. 192.

her eine Keimung beobachtet wurde. Nach der Keimung sahen wir die Kugel verbleichen und fast unsichtbar werden.

Daß die eben beschriebenen Keimlinge nicht als kleine Typhusstäbchen aufzufassen sind, scheint mir sicher zu sein. Manchmal sah ich eine Kugel eine fast ebenso große neue Kugel hervorbringen (Fig. 14 und 15). Im allgemeinen aber gingen aus den Kugeln sehr feine Bildungen hervor, die ich öfters für nadelförmig hielt. Dazwischen sah aber der Keimling wie ein winzig kleiner Coccus aus oder vielleicht eher wie ein Doppelkokkus oder eine kurze Perlenschnur.

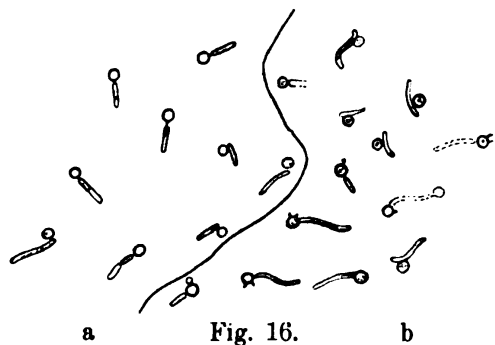
Sowohl direkt in der Kultur bei 10^0 als auch da, wo dieselbe bei höherer Temperatur weiterwuchs, bildeten sich oft so viele „sporenlähnliche Bildungen“, daß es mir wahrscheinlich vorkommt, daß diese Bildungen bei der Keimung der Kugeln hervorgebracht werden. Daß ich auch dabei neue Kugelbildung, also eine Hefekonidienbildung, beobachtet habe, habe ich schon erwähnt.

3. Die Dysenteriebacillen.

Herr Professor Kruse hat die Güte gehabt, mir sowohl den für Kaninchen so giftigen Dysenteriebacillus, als auch seinen Pseudodysenteriebacillus zu senden. Den letztgenannten Bacillus habe ich auch von anderer Provenienz untersucht.

a) Kruses Dysenteriebacillus.

In Fig. 16 sehen wir Stäbchen mit daran sitzenden Kugeln, die bei *b* zum Teil zu keimen angefangen haben. Das Präparat stammt von einer Agarkultur, die 3 Wochen bei 10^0 gehalten und nachher in Bouillon im hängenden Tropfen beobachtet worden ist. Die Stäbchen bei *a* sind



a

Fig. 16.

b

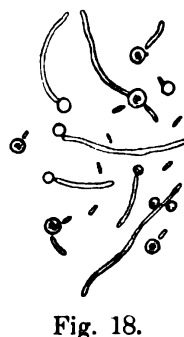


Fig. 18.

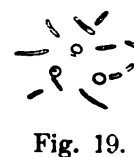
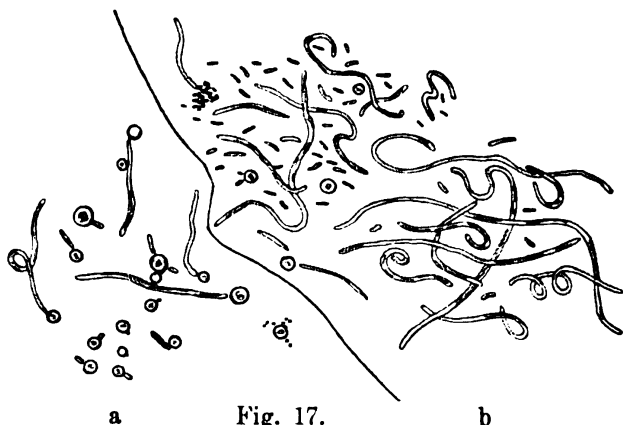


Fig. 19.



a

Fig. 17.

b



Fig. 20.



Fig. 21.

gefunden, seitdem das Tropfenpräparat 1 Stunde bei 37° gestanden hatte; die keimenden Kugeln bei *b* entwickelten sich bei Zimmertemperatur später aus den vorher bei *a* abgebildeten Stäbchen.

Fig. 17 zeigt denselben Bacillus aus einer Agarkultur, die zuerst 1 Tag bei Zimmertemperatur und darauf 2½ Wochen bei 10° gewachsen ist. Gleich im hängenden Tropfen beobachtet, finden wir im Präparate geschlängelte Fäden, die ein Myceloid bilden, sowie Stäbchen, meistens freie Kugeln und sehr feine Nadelchen (*a*). Innerhalb weniger Stunden hat sich das Präparat verändert, wir sehen nunmehr zahlreiche Kugeln, teils freie, teils an den Enden von Fäden und Stäbchen und teils an den Seiten derselben. Eine Menge Kugeln zeigt kleine Bildungen an der Seite, gewöhnlich jede Kugel nur eine, einige auch ein Paar davon (*b*).

In Fig. 18 werden ähnliche Bildungen in einem anderen hängenden Tropfen derselben Kultur vorgeführt, nachdem das Präparat ¾ Stunde bei 32° gestanden hatte. Auch hier sehen wir Fäden, Stäbchen, keimende Kugeln und feinste Nadelchen.

b) Kruses Pseudodysenteriebacillus.

In Fig. 19 sind einige Stäbchen und Kugeln abgebildet, die aus einer 14-tägigen Agarkultur bei 10° geholt worden sind. Fig. 20 zeigt dasselbe aus einer 4 Wochen alten Kultur. Fig. 21 weist aus derselben Kultur Stäbchen, zum Teil mit seitlichen Auswüchsen, auf. Die letztgenannten habe ich nur bei Kulturen bei 10° getroffen.

Kruses beide Dysenteriearten verhalten sich bei Kultur auf Agar-Agar bei 10° ziemlich gleich. Wohl habe ich üppigere Fadenbildung bei der zuerst beschriebenen Art gesehen, aber ich halte es für sehr wohl möglich, daß auch die andere Art dasselbe hervorbringen kann. Die Ähnlichkeit dieser Arten mit dem Typhusbacillus ist auffallend. Da dieser durch die niedrige Temperatur für einige Zeit unbeweglich gemacht worden ist, so gibt es, soviel ich bis jetzt gefunden habe, bei der betreffenden Entwicklung nur kleine Unterschiede. Auch die Dysenteriebakterien wachsen schwach bei 10°. In Bouillonkulturen verändern sich auch diese Stäbchen, so daß sie keimende Kugeln hervorbringen können.

Die Dysenteriebacillen bilden nach 1 oder 2 Wochen auf Agar-Agar bei 10° Fäden, zahlreiche Kugeln und feine Nadelchen. Wenn diese Bildungen in neue Nahrung bei höherer Temperatur versetzt werden, so entwickeln sich an Fäden und Stäbchen neue Kugeln, und die Kugeln keimen rasch.

Gleichzeitig sieht man die kugelbildenden Stäbchen verbleichen und unsichtbar werden, was wir in den Fig. 16 und 18 veranschaulicht finden. Die Kugeln können plötzlich verschwinden. Bei höherer Temperatur verschwinden sie innerhalb weniger Stunden.

Die in Agarkulturen bei 10° zahlreich gebildeten feinen Nadelchen scheinen, wenigstens zum Teil, direkt von den Seiten der Stäbchen auszuwachsen (vergl. Fig. 21). Es scheint mir wahrscheinlich zu sein, daß dieselben Bildungen auch aus den Kugeln bei deren Keimung hervorgehen. Auch die Hefekonidienbildung scheint vorzukommen.

4. Die Paratyphusbacillen.

Die untersuchten Paratyphusbacillen weichen von den vorher behandelten Bakteriengruppen in der Hinsicht ab, daß sie bei 10° üppig auf Agar-Agar wachsen. Sie stimmen hierin mit dem *B. coli* überein.

In Fig. 22 habe ich einige Paratyphusstäbchen abbilden lassen, die sich auf Schrägagar bei 10° in 6 Tagen entwickelt hatten. Dort sehen wir 2 kugelbildende Stäbchen, fast die einzigen, die ich bei Paratyphus überhaupt angetroffen habe. Nach Kultur auf Schrägagar bei 10° bilden sich also dergleichen Kugeln ungemein selten.

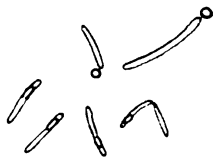


Fig. 22.

Dagegen traf ich öfters in längeren, fadenähnlichen Stäbchen Bildungen, die sehr an Endosporen erinnerten. Sie kommen in den Kulturen bald zum Vorschein, besonders, wie gesagt, in langen Stäbchen. Ich habe mehrere Versuche gemacht, um die Widerstandsfähigkeit dieser Bildungen festzustellen. Da die betreffenden Kulturen bei 60° schnell abgetötet werden, so ist es wahrscheinlich, daß sie nichts mit den Endosporen gemeinsam haben. Eine Keimung habe ich auch nicht beobachten können.

Diese endosporenähnlichen Bildungen beanspruchen jedoch ein gewisses Interesse, weshalb ich sie abgebildet habe. Ich habe dergleichen auch bei Typhusbacillen beobachtet, aber nur gelegentlich und nicht in Kulturen bei 10°.

5. Aehnliche Entwicklung der Erreger von Cholera, Typhus und Dysenterie.

Die Fruktifikation bei den Bakterien der genannten 3 Krankheiten bietet sehr große Aehnlichkeiten. Sie wird durch niedrige Temperatur befördert und durch Bildung von gröberen Formen, zum Teil langen Fäden, eingeleitet. Gleichzeitig oder bald darauf erscheinen die Kugeln, die, direkt oder indirekt, wieder die feineren Formen, feine Spirillen, feine Stäbchen oder gewöhnliche Stäbchen entwickeln.

Wenn die gröberen Bildungen, das Myceloid oder die groben Stäbchen, innerhalb gewisser Zeit in neue Nahrung bei höherer Temperatur versetzt werden, so bilden sich schnell zahlreiche Kugeln, die gleich keimen. Bei der Keimung wird manchmal eine neue Kugel hervorgebracht, wie es scheint, jedoch öfters andere Bildungen.

Hier tritt der Unterschied zwischen dem Choleraerreger und den anderen behandelten Arten deutlich hervor. Die Choleraerregung bilden unmittelbar den Kommabacillus; aus den Typhuskugeln und Dysenteriekugeln sprießen dagegen ganz kleine, feine Bildungen hervor. Von den Formen des Choleraspirillums hat man in den Laboratorien von Anfang an die feine Form studiert, bei Typhus und Dysenterie hat man dagegen hauptsächlich grobe Stäbchen gekannt.

Die Fruktifikation scheint bei niedriger Temperatur nicht ohne Nahrung zustande zu kommen. Jedenfalls gelang es mir nicht, wenn die Bakterien in sterilem Wasser aufgeschwemmt oder auf nahrungsfreien Agar-Agar gestrichen waren, sie zur Fruktifikation zu bringen.

Der von mir entdeckte Entwicklungsgang der 3 Krankheitserreger führt also bei allen in dieselbe Richtung. Bei niedriger Temperatur entwickeln sich grobe Formen und sogar ein Myceloid. Diese Formen zeigen eine große Neigung, in feinere Formen überzugehen; bei höherer Temperatur und neuer Nahrung geht der Uebergang sehr schnell vor sich.

Es scheint mir, daß die Neigung zur Fruktifikation dann entsteht, wenn die Temperatur so niedrig ist, daß das Wachstum minimal wird. Wahrscheinlich ist es, daß ähnliche Neigung bei vielen Bakterien sich vorfindet und daß die Erscheinung große Bedeutung hat. Sie kommt bei allen von mir untersuchten Cholera- und Dysenteriestämmen vor,

nicht aber konnte ich die Fruktifikation bei allen Typhusrassen hervorbringen. Es ist jedoch möglich, daß bei ihnen durch andere Methoden üppige Kugelbildung hervorgebracht werden kann.

Die Bedeutung des gefundenen Entwicklungsganges kann ich nur durch Vermutungen beleuchten. Bei niedriger Temperatur wächst die Zelle langsam und die Haut wird dick, die Zelle unbeweglich. Vielleicht gibt die dicke Haut und die lange, grobe Bildung in der Außenwelt bessere Aussicht gegen Vernichtung. Bei höherer Temperatur in passender Umgebung wachsen die Organismen schnell und es bilden sich kleine, bewegliche Zellen. Die letztgenannten Bildungen haben natürlicherweise größere Chancen als die groben Formen, in die Darmwand und durch dieselbe zu dringen. Die bekannten Untersuchungen von Calmette haben gezeigt, daß feine, gut emulgierte Tuberkelbacillen leicht die Darmwand passieren, und v. Esmarch, Lourens u. A. haben feinste Bakterien sogar durch Lehmfilter durchgehen sehen¹⁾.

Schlußfolgerungen.

1) Die untersuchten Stämme von Paratyphusbakterien und *B. coli* wachsen auf Schrägagar üppig bei 10° C; die Erreger von Cholera, Typhus und Dysenterie wachsen dabei kümmerlich.

2) Die letztgenannten, die Erreger von Cholera, Typhus und Dysenterie, bilden bei Kultur in genannter Temperatur gröbere Formen, die keimende Kugeln bilden.

3) Wenn diese gröberen Formen innerhalb gewisser Zeit in neue Nahrung und höhere Temperatur übergeführt werden, so bilden sich übermäßig schnell keimende Kugeln, und die Keimung fängt gleich an. Die dabei zuerst gebildeten Formen sind unbeweglich.

4) Die Cholerakugeln keimen rasch zu Kommabacillen aus, sie können auch neue Kugeln hervorbringen.

5) Die Typhuskugeln können neue Kugeln bilden, gewöhnlich keimen aber feinste Bildungen hervor, die wahrscheinlich den von mir beschriebenen „sporenhähnlichen Bildungen“ entsprechen und zu neuen Stäbchen auswachsen.

6) Die Dysenteriekugeln keimen gleich den Typhuskugeln.

7) Denselben Entwicklungsgang fand ich bei den beschriebenen Methoden bei allen untersuchten Stämmen der Cholera- und Dysenterieerreger, nicht aber bei allen Typhusstämmen.

8) Bei niedriger Temperatur vollzieht sich der Uebergang von feineren zu gröberen und wieder zurück zu den feineren Formen sehr allmählich. Bei wechselnder Wärme und Kälte wiederholt sich dieser Entwicklungsgang mehrmals.

9) Wenn die gröberen, bei niedriger Temperatur entwickelten Formen in neue Nahrung bei höherer Temperatur geraten, geschieht der Uebergang in feine Formen innerhalb einiger Stunden.

1) Diese Zeitschr. Bd. XXXII. p. 561, Bd. XLIV. p. 630.

Beschreibung der Figuren.

Alle Figuren, sowohl die 2 Photographieen wie auch die Zeichnungen, bilden die Organismen bei 1000-facher Vergrößerung ab. Man kann also das Millimetermaß auf die Organismen legen und direkt ihre Größe in μ ablesen. Alle die gezeichneten Organismen sind lebend und ungefärbt im Mikroskop von Fräulein Ingeborg Malmqvist gezeichnet worden.

Fig. 1—8. Choleraspirillen.

Fig. 1. Die Photographie zeigt 2 Choleraspirillen, die eben je 1 Kugel gebildet haben. Fuchsinfärbung.

Fig. 2. Photographie eines großen Haufens von Kugeln und Spirillen, der nach 1—2 Wochen bei niedriger Zimmertemperatur in Erde-Bouillon sich gebildet hatte. Vor der Fuchsinfärbung waren die freien Organismen zum Teil beweglich.

Fig. 3. Zeichnung von zwei Haufen von Choleraorganismen, die in Erde-Bouillon bei 10° in 6 Tagen sich entwickelt haben.

Fig. 4. Dieselbe Kultur nach 7 Tagen. *a* unmittelbar mikroskopiert und gezeichnet; *b* einige Stunden später, da das Präparat bei hoher Zimmertemperatur gestanden hatte.

Fig. 5. Ein anderes Präparat, gleichzeitig aus derselben Kultur wie Fig. 4 gefertigt. Direkt sowie nach einigen Stunden bei hoher Zimmertemperatur gezeichnet.

Fig. 6. Von einer 7-tägigen Agarkultur bei 10° . *a* unmittelbar, *b* nach 2 Stunden bei hoher Zimmertemperatur gezeichnet.

Fig. 7. 2 keimende Choleraorganismen aus dem eben besprochenen Präparate, nach 4 Stunden angetroffen.

Fig. 8. Gleichzeitiges Präparat aus derselben Kultur, im hängenden Bouillontropfen 1 Tag bei 10° C gestanden.

Fig. 9—15. Der Typhusbacillus.

Fig. 9. 1 Monat alte Kultur auf Schrägagar bei 10° C.

Fig. 10. 1 Monat alte Kultur auf Schrägagar bei 10° , 1 Stunde bei 37° im hängenden Bouillontropfen entwickelt.

Fig. 11. Von derselben Kultur, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° im hängenden Tropfen.

Fig. 12. Aus demselben Präparat wie Fig. 11, 1 Tag bei Zimmertemperatur verwahrt.

Fig. 13. 1 Monat alte Agarkultur, im hängenden Bouillontropfen bei hoher Zimmertemperatur während 3 Stunden beobachtet.

Fig. 14. Wie voriges Präparat, 1—3 Stunden beobachtet.

Fig. 15. Dasselbe Präparat wie Fig. 14, nach 1 Tag bei 10° .

Fig. 16—21. Die Dysenteriebacillen. Fig. 22. Paratyphusbacillen.

Fig. 16. 3 Wochen alte Kultur von Dysenteriebacillen auf Schrägagar bei 10° . Im hängenden Bouillontropfen bei hoher Zimmertemperatur beobachtet. *a* zuerst, *b* später.

Fig. 17. Derselbe Bacillus aus einer 15-tägigen Kultur auf Schrägagar bei 10° . *a* sogleich im hängenden Bouillontropfen beobachtet, *b* nach einigen Stunden bei hoher Zimmertemperatur.

Fig. 18. Dieselbe Kultur nach $\frac{3}{4}$ -stündiger Entwicklung im hängenden Bouillontropfen bei 32° .

Fig. 19. Der Pseudodysenteriebacillus aus einer 15-tägigen Kultur auf Schrägagar bei 10° , bei hoher Zimmertemperatur im hängenden Bouillontropfen beobachtet.

Fig. 20. 1 Monat alte Kultur von Pseudodysenteriebacillen auf Schrägagar bei 10° . Im hängenden Bouillontropfen nach 4 Stunden bei 37° beobachtet.

Fig. 21. Aus derselben Kultur, die 15 Tage alt war, im hängenden Bouillontropfen beobachtet. Das Präparat war zuerst untersucht worden, darauf stand es 1 Tag bei 10° .

Fig. 22. Paratyphusbacillen, die 6 Tage auf Schrägagar bei 10° gewachsen sind.

Nachdruck verboten.

Ueber die Thermoresistenz der vegetativen Formen der aerober Sporenbildner.

[Aus dem k. k. hygienisch-bakteriologischen Institut der Jag. Universität
in Krakau. Vorstand: Prof. O. Bujwid.]

Von Dr. **Philipp Eisenberg**, Assistenten am Institut.

Als Tötungstemperatur der vegetativen Bakterienformen wird zu-
meist eine solche von 50–60° C angesehen (ich spreche nur von meso-
philen Arten), nur wenige Arten widerstehen eine Zeitlang der Tempe-
ratur von 60° C, um erst bei 70° resp. 80° C abgetötet zu werden, so
Tuberkelbacillen, Staphylokokken, Sarcinen, vielleicht auch Rotzbacillen.
Freilich sind hier die Angaben verschiedener Forscher je nach der an-
gewandten Technik und je nach dem untersuchten Stamm zum Teil recht
abweichend, so z. B. für *B. typhi* Abtötungszeit einmal 1 Minute bei
50° (van Geuns), das andere Mal 15–30 Minuten bei 70° C (Cur-
rier), für *Coryneb. mallei* einmal 10 Minuten bei 55° (Wladimi-
roff), resp. 30 Minuten bei 80° C (Bromberg). Bei den sporen-
bildenden Bacillen ist dieses Merkmal relativ wenig beachtet worden,
wohl deshalb, weil die biologischen Eigenschaften der Sporen das Inter-
esse für sich in Beschlag nehmen. Doch wird auch hier im allgemeinen
eine Temperatur von 60° bei 5–15 Minuten langem Erhitzen als ge-
nügung zum Abtöten angesehen. Nach A. Meyer werden Oidien von
B. asteroporus bei 80° C in 30 Sekunden sicher abgetötet. Bezüg-
lich des Milzbrandbacillus, der uns hier am meisten interessiert, werden
40 Minuten bei 55° für vegetative Formen angegeben (Roux und
Chamberland), für Bacillen in frischem Milzbrandblut sogar 1 Stunde
bei 55° (M o m o n t), was wohl auf die schützende Eigenschaft des eiweiß-
haltigen Milieus zurückzuführen ist. Weil fand für sporenfreie Bouillon-
kulturen folgende Zahlen: 5½ Minuten bei 65°, 4 Minuten bei 70°,
3 Minuten bei 75°, 1½ Minute bei 79°, 1 Minute bei 80°. Von den
Autoren, die eine höhere Resistenz der vegetativen Bacillenformen be-
hauptet haben, kommt van Geuns eigentlich nicht in Betracht, da er
sich von der Sporenfreiheit seines Materials nicht überzeugt hat, und
Bormanns steht mit seiner Angabe, daß die Bacillenform zuweilen
selbst eine 1-stündige Erhitzung auf 80° C schadlos erträgt, ziemlich
vereinzelte da.

Ich möchte nun ganz kurz über einige Versuche berichten, die ich
gelegentlich anderer Untersuchungen an Milzbrandbacillen angestellt habe,
und deren Resultate den oben kurz skizzierten Anschauungen nicht ent-
sprechen. Den Ausgangspunkt dieser Untersuchungen bildete die Be-
obachtung, daß junge Milzbrandkulturen in menschlicher Ascitesflüssig-
keit durch 1-stündiges Erhitzen auf 55° resp. 60° C nicht abgetötet
wurden. Die Injektion solcher erhitzter Kulturen führte gegen mein
Erwarten den Tod der Meerschweinchen an typischem Milzbrand herbei;
die inzwischen aufbewahrte erhitzte Kultur ergab sodann auf Agar
Wachstum von Milzbrandbacillen. Selbst bei Zusatz von 0,25 Proz.
Natronlauge waren solche Kulturen nach 1-stündiger Einwirkung von
60° C nicht abgetötet, wohl aber bei Zusatz von 0,5–5 Proz. In einem
anderen Versuche zeigte sich eine mit 1 Proz. NaOH versetzte Ascites-

kultur nach halbstündiger Einwirkung von 60°, 70° und selbst 80° C noch entwicklungsfähig, erst viertelstündige Erhitzung auf 90° resp. 98° C tötete sie ab. Sporen waren für dieses Verhalten nicht verantwortlich zu machen, wie die mikroskopische Untersuchung der Kultur zeigte; es ist übrigens bekannt, daß in solchen Kulturen Sporenbildung, wenn überhaupt, jedenfalls erst nach Tagen und recht spärlich eintritt. Ich war damals geneigt, diese große Resistenz als Ausdruck einer Schutzwirkung der Kapseln anzusehen, die in solchen Kulturen an der überwiegenden Mehrzahl der Stäbchen zu sehen sind. Doch eingehendere Kontrollversuche mit Agar- und Bouillonkulturen scheinen nicht in diesem Sinne zu sprechen.

Bezüglich der Technik dieser Versuche sei folgendes hervorgehoben: Sollte tatsächlich eine höhere Resistenz der Kultur einwandfrei auf vegetative Formen zurückgeführt werden, so müßte man nach Möglichkeit trachten, mit sporenfreiem Material zu arbeiten. Zu diesem Zwecke wurden vor allem sehr junge Agarkulturen benutzt, wissen wir doch aus den Untersuchungen von Schneider, daß unter optimalen Bedingungen schon nach 16 Stunden Sporenbildung eintreten kann, es wurden also meistens 8—12-stündige Kulturen verwendet. Doch wäre hier die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß im Material, das zur Impfung dieser Röhren diente, Sporen enthalten wären, die nun in den 8—12 Stunden des Wachstums nicht alle ausgekeimt wären, so daß man also selbst in diesem jungen Material zwar nicht autochthon gebildete, aber übertragene und nicht ausgekeimte Sporen vor sich hätte. Es wurden also Agarkulturen in kurzen Zwischenräumen von 8—13 Stunden einigmal umgeimpft, und erst solche Kulturen lieferten das Versuchsmaterial. Sodann wurde zumeist Glycerinagar (4—6 Proz. Glycerin) verwendet, da bekanntlich auf diesem Nährboden Sporenbildung überhaupt nur ausnahmsweise, sehr spät und spärlich eintritt. Von solchen Kulturen wurden nun Aufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, etwa 1 Oese auf 0,5 ccm Flüssigkeit und sodann mittels einer Kapillarpipette in kleine, enge Reagensröhren (von ca. 0,8 cm Durchmesser) zu je 0,5 ccm eingefüllt. Es wurde dabei sorgsam darauf geachtet, die Wände der Eprovette nicht zu berühren, um kein Bakterienmaterial auf ihnen zu deponieren, das dann nicht gleichmäßig erhitzt würde (van Geuns). Die Gläschen kamen dann in ein Wasserbad, und zwar so, daß der Wasserspiegel das Niveau der Flüssigkeit in den Eprovetten um 1—1,5 cm überragte. Angesichts der geringen Flüssigkeitsmengen und der zumeist längeren Einwirkungsdauer konnte eine gleichmäßige Durchwärmung des Materials füglich angenommen werden. Nach Beendigung der Erwärmung wurde das erhitzte Material mittels einer Pipette in das Kondenswasser eines Agarröhrchens übertragen und sodann durch Neigen des Röhrens mit diesem die Agaroberfläche gespült und das Röhren 24 Stunden bei 37° bebrütet. War zu dieser Zeit kein Wachstum sichtbar, so wurde die Oberfläche noch einmal mit dem Kondenswasser übergossen, im Bedarfsfall zum dritten Mal nach 48 Stunden; nach 4—5 Tagen wurde die Beobachtung abgebrochen. Es ist nun freilich diese Untersuchungsmethode speziell nach der quantitativen Seite hin nicht ganz befriedigend; die Zahl der aufgehenden Kolonien, der Zeitpunkt ihres Erscheinens geben natürlich nur ein approximatives Bild der Abtötungsvorgänge. Für die Wahl dieses Untersuchungsmodus war jedoch die Tatsache bestimmend, daß bei Versuchen, die Zahl der überlebenden Keime durch das Plattenverfahren zu er-

mitteln, nur negative Resultate erzielt wurden. Es ist ja schon seinerzeit bei Gelegenheit von bakteriziden Versuchen der Buchnerschen Plattenmethode seitens der Baumgartenschen Schule der Vorwurf gemacht worden, daß durch das Serum osmotisch geschädigte Bakterien durch den Akt des Plattengießens noch weiter in ihrer Lebensfähigkeit beeinträchtigt werden und deshalb auf den Platten nicht auskeimen. Es scheint also, daß auch durch Hitze geschädigte Keime die mit dem Plattengießen verbundene Schädigung nicht zu ertragen vermögen, während sie auf der Agarfläche resp. im Kondenswasser noch fortkommen resp. noch zu infizieren imstande sind. Aehnliches ist bezüglich der Pestbakterien von Albrecht und Ghon sowie von Gotschlich beobachtet worden, bei denen erhitzte Kulturen sich noch zuweilen als virulent erwiesen, auf künstlichen Nährböden aber nicht mehr angingen. Als Beispiel der mit dieser Versuchstechnik erlangten Resultate sei folgender Versuch angeführt:

Versuch vom 26. März 1908.

Von einer 12-stündigen Glycerinagarkultur von Milzbrandbacillen (Stamm Asc. 5) wird auf gewöhnlichen Agar, Glycerinagar und Bouillon überimpft. Nach 8-stündiger Bebrütung bei 37° C wird von den Agarbelägen eine Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, und zwar je 1 Oese auf 0,5 ccm, ebenso von einer 3-tägigen Agarkultur mit zahlreichen Sporen; von der Bouillon werden die unteren bacillenhaltigen Schichten herauspipettiert und Aufschwemmung wie Bouillon à 0,5 ccm in je 4 kleine Eprouvetten vorsichtig gefüllt, im Wasserbade 15 Minuten auf 70°, 15 Minuten auf 80°, 5 Minuten auf 90° sowie 5 Minuten auf 98° C (kochendes Wasser) erhitzt, sodann mit der Pipette in das Kondenswasser je eines Agarröhrchens übertragen und damit die Agaroberfläche übergossen. Nach 6-stündigem Aufenthalt bei 37° C wird diese Prozedur wiederholt. Nach 13-stündigem Aufenthalt bei 37° ist folgendes Resultat zu verzeichnen:

Material von	Erhitzung			
	15 Min. — 70° C	15 Min. — 80° C	5 Min. — 90° C	5 Min. — 98° C
Sporenarag	dichter Rasen	dichter Rasen	ca. 500 Kol.	4 Kol.
Gewöhnlicher Agar	ca. 200 Kol.	ca. 100 Kol.	0	0
Glycerinagar	ca. 200 Kol.	ca. 100 Kol.	0	0
Bouillon	0	0	0	0

Nach Ablauf von 24 Stunden wurde das Kondenswasser in den steril gebliebenen Röhrchen noch einmal über die Oberfläche gegossen. Nach 37 Stunden bei 37° folgendes Resultat:

Material von	Erhitzung			
	15 Min. — 70° C	15 Min. — 80° C	5 Min. — 90° C	5 Min. — 98° C
Sporenarag	dichter Rasen	dichter Rasen	ca. 500 Kol.	8 Kol.
Gewöhnlicher Agar	ca. 200 Kol.	ca. 100 Kol.	28 Kol.	0
Glycerinagar	ca. 200 Kol.	ca. 100 Kol.	3 Kol.	0
Bouillon	16 Kol.	ca. 100 Kol.	0	0

Nach 62 Stunden bei 37° C bleibt das Resultat unverändert.

Derartige Versuche wurden in größerer Anzahl mit annähernd gleichem Resultat ausgeführt. In der Mehrzahl der Versuche zeigte sich Bouillonmaterial dem Agarmaterial an Resistenz unterlegen, was wohl auf die ungenügende Aeration der Bouillonkulturen und die dadurch hervorgerufene biologische Minderwertigkeit der Ernte zurückzuführen ist; die Bacillen aus solchen Kulturen sind meist dünner als diejenigen der Agarkulturen, bilden nur ausnahmsweise Kapseln, und Sporenbildung ist bei ihnen verspätet und unvollkommen. Dementgegen

scheinen Kulturen auf erstarrtem Pferdeserum mit Traubenzucker- oder Glycerinzusatz oder auch ohne Zusatz eine etwas höhere Resistenz aufzuweisen, ebenso Kulturen in menschlicher Ascitesflüssigkeit (alle natürlich auf Sporenfreiheit kontrolliert). — Die Anwesenheit von Eiweiß, die zweifellos resistenzerhöhend wirkt, kann dafür nicht ausschließlich verantwortlich gemacht werden, da seine Menge in den Aufschwemmungen von erstarrtem Serum wohl nur minimal sein kann, vielmehr scheinen die Kapseln hier eine Rolle zu spielen, was wohl ziemlich plausibel sein dürfte. Die Resultate sind zumeist regelmäßig, ab und zu kommen unmotiviert Verlaufsunregelmäßigkeiten vor, was übrigens angesichts der etwas primitiven Methode nicht wunder nehmen kann. Die Erhitzung auf 90° konnte in einer Reihe von Versuchen bis auf 15 Minuten ausgedehnt werden, ohne die Bacillen definitiv abzutöten, dagegen waren bei halbstündigem Erhitzen auf 90° C die Resultate durchweg negativ.

Um sich weiterhin noch zu vergewissern, daß Sporen in den bisher beschriebenen Ergebnissen nicht mit im Spiele sind, wurden zu den Versuchen 3 asporogene Milzbrandstämme herangezogen, und zwar ein durch längere Züchtung bei 42° C degenerierter Stamm, ein alter Meer-schweinchen- und ein alter Mäusevaccin. Auch von diesen wurden junge Kulturen verwendet — Agar sowie Bouillon mit demselben Ergebnis wie oben. In einem Versuch mit Bouillonkulturen wurden die beiden Vaccine selbst nach 15 Minuten bei 98° C nicht abgetötet. Hier der betreffende Versuch:

Versuch vom 27. Mai 1908.

Je 1 ccm 9-tägiger Bouillonkultur von Milzbrand Asp., Vacc. Maus, Vacc. Meer-schweinchen werden in kleine Eprouvetten gefüllt, je 15 Minuten lang auf 70°, 80°, 90° und 98° C erhitzt, in Kondenswasser gebracht und die Oberfläche damit bespült. Nach 17-stündiger Bebrütung bei 37°:

Material von	Erhitzung			
	15 Min. — 70° C	15 Min. — 80° C	15 Min. — 90° C	15 Min. — 98° C
Aspor. Milzbrand	80 Kol. u. Saum	19 Kol. u. Saum	0	0
Vacc. Maus	0	0	0	0
Vacc. Meersch.	0	0	0	0

Nach nochmaligem Uebergießen und 64 Stunden bei 37° C:

Material von	Erhitzung			
	15 Min. — 70° C	15 Min. — 80° C	15 Min. — 90° C	15 Min. — 98° C
Aspor. Milzbrand	80 Kol. u. Saum	19 Kol. u. Saum	50 Kol. u. Saum	0
Vacc. Maus	1 Kol. u. Saum	5 Kol. u. Saum	Saum	14 Kol. u. Saum
Vacc. Meersch.	17 Kol. u. Saum	ca. 100 Kol. u. Saum	80 Kol. u. Saum	Saum

NB. Saum bedeutet Belag über dem Kondenswasser.

Aehnliche Resultate wie die früher angeführten ergaben ferner Versuche mit einem von mir gezüchteten Erdbacillus (wahrscheinlich *Bac. tumescens* Zopf) sowie mit zwei alten, als *Bac. megatherium* und *Bac. ramosus liquefaciens* bezeichneten Kulturen unserer Instituts-sammlung; die beiden letzteren waren infolge Degeneration ebenfalls asporogen geworden.

Wenn wir diese Versuche überschauen, müssen wir uns einige Fragen betreffs der biologischen Bedeutung dieser Tatsachen vorlegen.

Sollten weitere Untersuchungen zeigen, daß tatsächlich auch vegetative Formen eine nicht unbeträchtliche Resistenz an den Tag legen können, wofür meine Versuche zu sprechen scheinen, so muß man sich fragen, ob alle die Kultur bildenden Individuen diese Eigenschaft aufweisen. Das scheint nun nicht der Fall zu sein; wohl kommt bei unserer Methode nur ein Teil der im Kondenswasser entwickelten Keime auf der Agarfläche zum Wachstum, aber auch so müßte im Falle, daß alle Stäbchen so thermoresistent wären, ein dichter Rasen entstehen, während wir in Wirklichkeit meistens nur isolierte, zum Teil spärliche Kolonien aufgehen sehen. Ich glaube also, daß es nur sogenannte „Ausnahmszellen“ sind, die diese hohe Resistenz aufweisen, oder richtiger gesagt, daß es in einer Kultur eine ganze Stufenleiter von verschieden resistenten Individuen gibt, an deren Spitze die durch höchste Resistenz ausgezeichneten „Ausnahmszellen“ kämen. Dafür spräche die mit der Höhe der Erhitzungstemperatur zumeist regelmäßig abnehmende Keimzahl auf der Agarfläche. Eine andere Frage wäre die, ob dieser Resistenz dieselbe biologische Bedeutung zukäme wie derjenigen der Sporen; ich möchte glauben, daß das nicht zutrifft, denn in allen Kontrollversuchen haben sporenhaltige Kulturen sich resistenter gezeigt, d. h. höhere Temperaturgrade resp. eine längere Erhitzungsdauer vertragen. Auch ist es fraglich, ob diese Resistenz und Lebensfähigkeit der vegetativen Formen so lange andauert wie diejenige der Sporen. Ueberimpfungsversuche, die Růžicka mit alten Glycerinagarkulturen von Milzbrand angestellt hat, scheinen nicht dafür zu sprechen. Sollten sich diese Vermutungen weiter bestätigen, so stünden wir vor einer interessanten Tatsache, daß zur Sporenbildung befähigte Bacillen auch in ihren vegetativen Formen ein relativ sehr resistentes Protoplasma führen, in dem die Eigenschaften der Sporen zum Teil bereits vorgebildet wären. Man hätte dann in der Spore nur die höchste, durch besondere physiko-chemische Struktur potenzierte Entwicklung einer immanenten Eigenschaft der betreffenden Species zu sehen. Auch wäre dann natürlich eine Ausdehnung dieser Versuche auf anaerobe Sporenbildner sowie andere nichtsporogene Arten erwünscht.

Krakau, 22. Juli 1908.

Nachdruck verboten.

**Bemerkung zu meiner Arbeit: Die Bindungsverhältnisse
der Organgewebe gegenüber Toxinen und ihre klinische
Bedeutung für Inkubation und natürliche Immunität
in Bd. XLVII. Heft 1 u. 2 dieser Zeitschr.**

Von **A. Wolff-Eisner**, Berlin.

Im Jahre 1904 habe ich in diesem Centralblatt Bd. XXXVII in einer Arbeit, betitelt Grundgesetze der Immunität, zwei Grundgesetze mitgeteilt:

1) Die Injektion einer jeden körperfremden Eiweißsubstanz bewirkt die Entstehung einer Ueberempfindlichkeit, nicht einer Immunität, wie man fälschlich allgemein annahm. Es gelten für Bakterien, Organ- und Serumeiweiß die gleichen Gesetze. Die von Pfeiffer nur für Typhus

und Cholera gefundenen Gesetze über Endotoxine hatten damit eine über diese Beschränkung weit hinausgehende allgemeine Bedeutung erlangt. Da die genannten Stoffe sich nur in quantitativer Beziehung unterscheiden, bestand die Möglichkeit, alle körperfremden Eiweißstoffe als endotoxische Substanzen aufzufassen.

2) Eine Allgemeinwirkung dieser Stoffe (und hier sind sogar die Toxine mit einzubeziehen) tritt nur ein, wenn die betreffenden Stoffe zur Resorption kommen und an das Zentralnervensystem gelangen. Die zwischen Injektionsstelle und Zentralnervensystem gelegenen Organe versuchen mit mehr oder weniger Erfolg, die Giftstoffe vom Zentralnervensystem fernzuhalten.

Die Versuche, auf denen diese Anschauung experimentell basierte, sind in der im Titel erwähnten Arbeit ausführlich mitgeteilt worden und sind zugleich neue Aufschlüsse über die Art und das Wesen dieser Organbindung gewonnen worden.

Wo jetzt diese Anschauungen wohl als bewiesen gelten dürfen, und beginnen, teils alte Anschauungen langsam zu beseitigen, teils heuristischen Wert zu entfalten, hat die historische Entwicklung ein besonderes Interesse.

Beim Studium der Literatur ist mir die Arbeit von E. v. Behring über Aetiologie und ätiologische Therapie des Tetanus in Heft 7 seiner Beiträge zur experimentellen Therapie 1904 entgangen, die also gleichzeitig mit der erwähnten ersten Arbeit erschienen ist. Der berühmte Forscher hat an verschiedenen Stellen verwandte, von der herrschenden Ansicht absolut divergierende Anschauungen geäußert.

p. 17. „Inzwischen scheint mir das eine schon jetzt sicher zu sein, daß wir die immunisierende Leistungsfähigkeit eines gegebenen Tetanusgiftes zwar auf verschiedene Art erhöhen können, daß aber alle derartigen Methoden darauf hinauslaufen, das Gift von dem zentralen Nervensystem abzulenken und soviel wie möglich statt dessen auf periphere Teile des Organismus einwirken zu lassen.“

Als Stütze führt er zwei (p. 18) noch nicht publizierte Versuche von H. Meyer an: „durchschneidet man nämlich bei einem Kaninchen die Hauptnervenstämme eines Hinterbeins und injiziert dann unter die Haut des gelähmten Gliedes Tetanusgift, so kann es nicht, wie sonst, durch die Nerven dieser Extremität zum Zentralnervensystem aufsteigen und dieses vergiften, sondern wird, soweit es nicht in den peripherischen, abgeschnürten Nervenstrecken und Endapparaten haften bleibt, langsam durch die Lymphbahnen zu den Blutgefäßen fortgeführt, um erst auf diesem Umwege intakte motorische Nervenbahnen und damit schließlich das Zentralnervensystem zu erreichen. Unter solchen Umständen werden viel größere Giftmengen als sonst ohne krankmachende Wirkung ertragen, und es hat den Anschein, daß nur ein sehr kleiner Bruchteil des Giftes zum zentralen Nervensystem gelangt, der bei weitem größere aber anderweitig im Organismus festgehalten wird.“

Dabei vermerkt er den interessanten Befund, daß bei einem der so behandelten Kaninchen nach wiederholter Giftinjektion eine Lokalreaktion an der Injektionsstelle beobachtet wurde, wie sie sonst bei Kaninchen nicht, wohl aber bei überempfindlich gewordenen Pferden aufzutreten pflegt, wenn diese einen bedeutenden Antitoxingehalt im Blute haben.

Die Behringsche Annahme, daß die Größe der immunisierenden Leistungsfähigkeit eines Tetanusgiftes von der Verhinderung des Giftein-

tritts in die zentralen Nervenorgane abhängt, zwingt eigentlich zu der Annahme, daß den anderen Organen eine bedeutsame Rolle bei der Immunitätsentstehung zukommt, wie es unsere Versuche mit großer Beweiskraft zeigen. Auch Meyer glaubt, aus dem mitgeteilten Versuch dies annehmen zu dürfen, während Behring (p. 31) an der Ehrlich'schen Anschauung festhält, daß die hypothetischen tetanustoxingeführenden Elemente bei Säugetieren nur innerhalb von Zellen des Nervensystems vorkommen.

Die Behring'sche Annahme der Fernhaltung des Toxins vom Zentralnervensystem ist ohne Basis, wenn man nicht Rezeptoren für die Giftmoleküle in anderen Organen annimmt. Unsere Versuche haben über die Natur dieser bindenden Gruppen bei den verschiedenen Tierarten weitgehenden Aufschluß gebracht.

Einen weiteren Unterschied bedingt, daß dieser Immunitätsmechanismus nicht nur für Tetanustoxin, sondern für alle Toxine und, wie ich betonen möchte, auch für Endotoxine Geltung hat. Für letztere bietet der exakte Beweis sehr große experimentelle Schwierigkeiten, welche ich an den beiden zitierten Stellen ausführlich besprochen habe (cf. auch Typhustoxin, Typhusendotoxin. Berl. kl. Wochenschr. Sept. 1907); doch bin ich allmählich in den Besitz sehr beweisenden Materials gelangt, das ich demnächst mitteilen werde.

Nachdruck verboten.

Erwiderung auf „Kritische Bemerkungen“ des Dr. Weichardt über meinen Artikel „Weiteres über die sogenannten nicht bakteriellen Aggressine“.

[Institut für klinische Medizin der Kgl. Universität zu Genua (Direktor Prof. E. Maragliano).]

Von Privatdozent Dr. E. Tedeschi.

Ich will nicht den Herrn Dr. Weichardt in seiner Methode der wissenschaftlichen Erörterung und Kritik nachahmen. Seine „Kritischen Bemerkungen“ sind sehr wenig höflich und absolut nicht objektiv. Wolte ich sein System befolgen, so könnte ich mich auch über einige seiner Behauptungen und Schlüsse verwundern, aber, ich wiederhole es, ich gehe darüber hinweg. Ich antworte kurz auf die von Herrn Weichardt angegriffenen Punkte, wobei ich mich auf die Hauptsache meiner Untersuchungen beschränke.

1) Die minimale letale Nikotindosis wurde von mir nach zahlreichen Proben festgesetzt, die ich nach meinem Dafürhalten nicht zu berichten brauche: Mit nur $\frac{3}{4}$ Tropfen starb das Kaninchen ausnahmsweise in 15 Minuten; andererseits wurde bei allen meinen Versuchen die Kontrolle sehr häufig ausgeübt, wobei immer die stärkeren Tiere ausgewählt wurden. Nun starben die mit aggressinischem Exsudat („sit venia verbo“, Herr Weichardt!) und mit sehr kleinen Dosen Nikotin geimpften Tiere in wenigen Minuten, zum Unterschied von den Kontrolltieren, und eine einzige Ausnahme kann dem Experiment seinen Wert nicht nehmen. Alle jene, welche mit den Versuchen an den bekannten Versuchstieren

vertraut sind, wissen sehr gut, daß häufig Ausnahmen in den Resultaten vorkommen, sei es in bezug auf die verschiedene organische Resistenz, sei es in bezug auf die Tatsache, daß wir im allgemeinen mit Stoffen, Giften usw. experimentieren, welche niemals plötzlich die bekannten Laboratoriumstiere angreifen.

Ich habe behauptet, daß man mit dem sogenannten Aggressin eine in bezug auf Nikotin aktive Immunität erzielen kann, denn mit den von mir angewendeten Dosen wurde niemals ein Kontrolltier gerettet; alle ohne Ausnahme starben nach 8 Stunden höchstens, und das nur in Ausnahmefällen. Meines Erachtens ist also die Behauptung, Immunität erhalten zu haben, nicht übertrieben, wenn 2 Kaninchen gerettet wurden und eines nur nach 28 Stunden starb.

Ueber die Behauptungen des Herrn Weichardt, betreffend die Eiweißabspaltungsantigene, glaube ich nicht viele Worte verlieren zu sollen. Auch wir kennen die Eigentümlichkeit des Eiweißabspaltungsantigens, auch wir haben an Tieren mit Eiweißabspaltungsantigen experimentiert. Aber all dies hat nichts mit meinen Untersuchungen zu tun. Es genügt, seine Aufmerksamkeit auf die Kaninchen I der ersten Serie zu lenken.

Und damit genug. Was immer auch Herr Weichardt einwenden wird, werde ich mich wohl hüten, ihm zu antworten; ich fahre auf dem eingeschlagenen Wege fort, und bin immer bereit, mich auf Erörterungen einzulassen, aber nur mit solchen, die höfliche Waffen gebrauchen.

Nachdruck verboten.

Das Verhalten der Choleraimmunkörper bei der Bakteriolyse.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag.
Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Prof. Dr. Oskar Bail und Dr. K. Tsuda.

Im Verlaufe von Reagensglasversuchen mit Cholera-vibrionen und Rinderserum ergaben sich mehrfach Analogieen zu einem von Pfeiffer und Friedberger¹⁾ beschriebenen Phänomen, das dann in einigen Versuchen studiert wurde, die nicht ohne Interesse sind. Pfeiffer und Friedberger fanden, daß bei der Bakteriolyse von Vibrionen ein Verbrauch von Immunkörpern nicht nachzuweisen sei. Sie stellten fest, daß mit Immunkörpern beladene und danach gründlich gewaschene Vibrionen in der Bauchhöhle nicht nur selbst aufgelöst wurden, sondern auch noch so viel aktionsfähige Immunkörper abgaben, daß eine sehr viel größere Bakterienmenge, als zur Bindung verwendet worden war, hätte aufgelöst werden können. Weitere Versuche lehrten, daß bei genauer quantitativer Untersuchung eine Zerstörung von Ambozeptoren bei der Bakteriolyse überhaupt nicht stattfindet, daß selbst auch nur „eine I.E. der Choleraimmunkörper, auch wenn sie an bei 60° abgetötete Cholera-vibrionen gebunden ist, bei der Auflösung derselben im Peritoneum des Meerschweinchens nicht verschwindet, sondern in einer Form wiedererscheint, welche die Auflösung bis zu vollen $\frac{3}{4}$ Oesen lebender virulenter Cholera von $\frac{1}{10}$ Oese Virulenz herbeizuführen vermag“.

1) Dieses Centralblatt. Bd. XXXIV. 1903. p. 77 ff.

Unsere eigenen, zunächst zu anderen Zwecken angestellten Versuche ergaben genau das gleiche Resultat, wie die von Pfeiffer und Friedberger; eine genaue quantitative Bestimmung hatten schon diese Autoren vorgenommen, so daß unsere Experimente sich darauf beschränken konnten, das Vorhandensein dieses rätselhaften Phänomens auch unter sehr veränderten Bedingungen nachzuweisen.

Der anfänglich verwendete Stamm (Cholera Pfeiffer) hatte durch langen Aufenthalt außerhalb des Tierkörpers viel von seiner Infektiosität verloren und erst ca. 1 Oese vermochte Meerschweinchen von 200—250 g zu töten, wobei eine intensive Vermehrung erfolgte. Geringere Dosen führten öfters noch den Tod herbei, aber bei geringem oder ausbleibendem Vibrionenwachstum im Peritoneum. In späteren Versuchen wurde ein Cholera Stamm 74, den das Institut der Liebenswürdigkeit Herrn Prof. Neufelds verdankt, verwendet. Er zeichnete sich außer durch seine höhere Infektiosität auch durch eine sehr hohe Giftigkeit aus, welche nach dem weiter unten zu schildernden Versuchsverlaufe ausschließlich auf endotoxische Wirkungen bezogen werden kann. Nebenbei sei bemerkt, daß die Bestimmung der infizierenden Bacillendosis sich mit voller Sicherheit durchführen ließ. Es zeigte sich nichts von den enormen Virulenzschwankungen, über welche Kraus und Dörr und Dör bei Versuchen mit Halbparasiten berichtet haben und welche jedes Arbeiten mit solchen Bakterien unmöglich machen würden.

Die von Pfeiffer und Friedberger beschriebene Erscheinung läßt sich in folgender, von ihnen zum Teil bereits befolgter Versuchsanordnung leicht ersichtlich machen.

Meerschweinchen 1 erhält $2\frac{1}{2}$ Oesen Cholera Pfeiffer, welche mit 0,25 ccm Choleraimmunserum 1 Stunde bei 40° behandelt worden waren. Dabei war stärkste Agglutination aufgetreten. Der aus Bacillen bestehende Bodensatz wurde mit stets erneuter Kochsalzlösung 5mal auf der Zentrifuge gewaschen.

$\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion enthielt die Peritonealflüssigkeit weder Vibrionen noch Granula mehr und nur vereinzelte Endothelien und Lymphocyten. Es erfolgte jetzt die Injektion normaler Vibrionen in gleicher Menge. Schon nach 10 Minuten fanden sich viele, nach 1 Stunde fast ausschließlich Granula. Nach $3\frac{1}{2}$ Stunden waren weder Granula noch Vibrionen in dem eitrigen Exsudate zu finden. Das Tier war deutlich krank, erholte sich aber am nächsten Tage vollständig.

Es läßt sich ferner leicht zeigen, daß auch tote Vibrionen, welche mit Immunserum behandelt sind, sich ähnlich wie lebende verhalten.

Aufschwemmungen von je einer Oese lebender und mit Chloroform sterilisierter Vibrionen in 2 ccm Kochsalzlösung mit je 0,1 ccm Immunserum, werden 1 Stunde bei 40° belassen, dann zentrifugiert und 5mal gewaschen. Die nach der Behandlung abgossenen Flüssigkeiten, sowie eine in gleicher Weise hergestellte und behandelte Kontrollverdünnung des Serums, die ohne Bacillen belassen war, wurden auf ihre agglutinierende Fähigkeit geprüft. Die Kontrolle agglutinierte noch mit einer 0,0005 ccm Immunserum entsprechenden Menge fast vollständig, die Probe, welche Chloroformvibrionen enthalten hatte, mit 0,01, die mit lebenden Vibrionen etwas stärker, indem sie noch mit 0,05 ccm unvollständige Agglutination ergab. Das erste Waschwasser zeigte noch deutliche, das letzte keine Agglutination mehr. Sowohl die lebenden wie die abgetöteten sensibilisierten Vibrionen wurden in der Bauchhöhle der Meerschweinchen 2 und 3 binnen 10 Minuten in Granula umgewandelt, die nach $\frac{1}{2}$ Stunde zum großen Teil verschwunden waren. Jetzt wurde beiden Tieren die gleiche Dosis von 2 Oesen lebender Vibrionen injiziert.

Der Verlauf der Bakteriolyse stimmte bei beiden Tieren überein. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde waren Granula neben viel unbeweglichen Vibrionen vorhanden, nach $\frac{1}{2}$ Stunde nahm die Granulamenge zu, nach 1 Stunde waren sie fast ausschließlich vorhanden. Nach 4 $\frac{1}{2}$ Stunden waren die Tiere bei mäßigem Leukocytengehalt der Bauchhöhle vibrionen- und granulafrei, dabei deutlich krank. Das eine Tier, welches die mit Chloroform behandelten, sensibilisierten Vibrionen erhalten hatte, wurde 5 Stunden (nach der zweiten Injektion) verblutet. In der Bauchhöhle fanden sich 3 ccm Exsudat, das auch nach dem

Zentrifugieren keine Vibrionen und nur sehr unsichere Granula¹⁾ im Bodensatz auffinden ließ. Auch Ausstriche des Netzes ließen nichts mehr erkennen. Exsudat und Blut wurden über Nacht auf Eis gehalten und am anderen Morgen auf ihre Agglutinationswirkung geprüft. Das Serum agglutinierte in der Menge von 0,5 und 0,25 ccm vollständig, was auch normale Sera tun können, das Exsudat war in der Menge von 0,5 ccm bis herab zu 0,1 ccm wirkungslos²⁾; es ergab auch nach Zusatz von stark wirksamem präzipitierenden Serum keine Spur von Trübung oder Fällung.

Höchst auffällig ist in diesem Versuche, daß das Bauchhöhlenexsudat des verbluteten Meerschweinchens gar keine Agglutinationswirkung erkennen ließ. Ein ähnliches Resultat ergab ein unter anderen Bedingungen wiederholter Versuch.

Eine ganze Kultur Cholera wird in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und wird dann in zwei gleichen Hälften geteilt. Zu jeder Hälfte kommt 0,1 ccm Choleraimmunserum, ebenso zu einer entsprechenden, bacillenfreien Kontrollprobe. Nach 1 Stunde Aufenthalt bei 42° (um die etwaige Vermehrung der Vibrionen zu hemmen und dabei eine energische Sensibilisierung zu ermöglichen) werden die Proben zentrifugiert und die Bodensätze gewaschen. Die Agglutinationsprüfung ergibt, daß das Kontrollserum in einer 0,0005 ccm entsprechenden Menge des ursprünglich angesetzten Immunserums noch fast vollständig agglutiniert, die behandelten Sera erzielen die gleiche Agglutination erst mit 0,01 ccm. Das letzte Waschwasser agglutinierte gar nicht, das erste kaum merkbar. Der reichliche Bodensatz jeder Probe, der vollständig agglutinierte, aber erhaltene Vibrionen neben wenig Granulis enthielt³⁾, wurde den beiden Meerschweinchen 5 und 6 ip. injiziert. Schon nach 1/4 Stunde fanden sich massenhaft Granula vor, nach 1/2 Stunde waren sie fast ausschließlich vorhanden, nach 1 Stunde hatte ihre Zahl sich bereits sehr verringert. Jetzt wurde das eine Tier verblutet, das andere erhielt 1 Oese lebende Vibrionen ip. von denen sich nach 35 Minuten nur noch Granula vorfanden. Nach 3 Stunden fand sich in dem dünnen Eiter der Bauchhöhle nichts mehr vor. Das Tier überlebte und war nicht einmal besonders krank. Das Serum des ersterwähnten Meerschweinchens agglutinierte nach längerer Zeit in der Menge von 0,5 ccm vollständig, von 0,25 unvollständig. Im Peritoneum des Tieres fand sich 1 ccm fast klares, zell- und vibrionenfrees Exsudat. Am Netze waren massenhaft Granula zu finden, sowohl frei, als innerhalb von Leukocyten. Die Bauchhöhle wurde nach Entnahme des Exsudates mit 2 ccm Kochsalzlösung ausgespült, wonach sich 1,5 ccm Flüssigkeit wiedergewinnen lassen, welche mit dem reinen Exsudate, das dadurch mit etwas mehr als dem gleichen Teile verdünnt sein dürfte, vereinigt werden. Diese Flüssigkeit agglutinierte in der Menge von 0,25 ccm noch 24 Stunden fast vollständig, in der von 0,1 ccm nur sehr wenig. Präzipitation ergab sich mit Choleraimmunserum keine.

Auch in diesem Versuche muß die geringe Agglutinationskraft des Bauchhöhlenexsudates auffallen, wo die injizierten Vibrionen doch beträchtliche Mengen absorbiert hatten. Für die Bakteriolyse im Tier selbst wird der Choleraimmunkörper ohne Schwierigkeit frei, und zwar, wie Pfeiffer und Friedberger einwandfrei nachgewiesen haben, quantitativ oder doch nahezu quantitativ. Für die Agglutination im Reagensglase ist das Exsudat aber minderwertig geworden. Die Versuche wurden in dieser Richtung nicht fortgesetzt, einerseits, weil es sich ja in der Bauchhöhle um Bakteriolyse handelt und auf diese aus der Agglutination nicht ohne weiteres geschlossen werden kann, dann aber auch, weil erst orientierende Versuche darüber angestellt werden müßten, wie sich ein freier, nicht gebundener Choleraimmunkörper in der Bauchhöhle des Meerschweinchens verteilt. Dazu fehlte vorläufig die Gelegenheit, aber auffällig bleibt der Befund, und es sei deshalb noch ein interessanter Versuch angeführt, ohne zurzeit daraus bindende Schlüsse zu ziehen.

1) So ist natürlich bei vereinzelt vorkommenden Körnchen im Präparate sehr schwer zu bestimmen, ob Vibrionreste vorliegen.

2) Verwendet wurde stets 1 ccm einer Aufschwemmung von 1 Agarkultur in 25 ccm Kochsalzlösung, der 1 ccm der entsprechenden Serumverdünnung zugesetzt wurde.

3) Solche entstehen in geringer Zahl selbst in physiologischer Kochsalzlösung, geben aber zur Verwechslung mit bakteriolytisch entstandenen wohl kaum Veranlassung.

Eine Kultur Cholera Pfeiffer wird in 4 ccm Immunserumverdünnung aufgeschwemmt und sofort in zwei Hälften geteilt, welche (mit bacillenfreier Kontrolle) $\frac{3}{4}$ Stunde bei 40° verbleiben. Dann werden die Sätze sorgfältig gewaschen.

Die eine Hälfte a erhält ein Meerschweinchen ip. Die Vibrionen verwandeln sich sofort in Granula, deren Menge nach $\frac{1}{2}$ Stunde bereits sehr vermindert ist. Jetzt wird das Tier verblutet. Aus der Bauchhöhle lassen sich 0,6 ccm fast zell- und granula-freien Exsudates aufsaugen. Durch Ausspülen mit 2 ccm NaCl-Lösung und Vereinigung des Spülwassers mit dem Exsudate ergeben sich gerade 2 ccm Flüssigkeit, welche zentrifugiert wird.

Die andere Hälfte des Satzes, b, wird in 0,5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit 1,5 ccm aktiven, 2 Stunden alten Meerschweinchenserums versetzt. Die Probe blieb mit einer entsprechenden Kontrollprobe ohne Bacillen so lange im Wasserbade bei 37°, als das ebenerwähnte Meerschweinchen lebte, also etwas mehr als $\frac{1}{2}$ Stunde. Dann wurde zentrifugiert. Im Bodensatz fanden sich ausschließlich Granula, zu Haufen vereint.

Zur Agglutinationsprüfung gelangten dann 6 Proben:

1) Serumverdünnung, durch die Hälfte a der Kultur erschöpft: agglutiniert noch bei einer Menge von 0,007 ccm des ursprünglich zugesetzten Immunserums vollständig, bei 0,004 ccm unvollständig.

2) Serumverdünnung, durch die Hälfte b der Kultur erschöpft, verhält sich ebenso.

3) Kontrollserumverdünnung: agglutiniert noch bei 0,0006 ccm ursprünglich zugesetzten Immunserums vollständig, bei 0,0004 ccm sehr stark.

4) Verdünntes Exsudat aus der Meerschweinchenbauchhöhle: agglutiniert in der Menge von 0,2 ccm kaum wahrnehmbar.

5) Meerschweinchensera nach der Bakteriolyse sensibilisierter Cholera-vibrionen agglutinierten in der Menge von 0,2 und 0,14 ccm vollständig, in der Menge von 0,08 ccm deutlich.

6) Kontrollmeerschweinchenserum: agglutinierte in der Menge von 0,2 ccm vollständig, von 0,14 ccm sehr stark, von 0,08 ccm spurenweise.

Das Meerschweinchenserum hatte also trotz vollendeter Vibrionolyse in vitro nur eine sehr geringe Zunahme der Agglutinationswirkung erfahren. Der Versuch, der später noch indirekt bestätigt wird, verdient Fortsetzung und Erweiterung. Zunächst war er Anlaß zu untersuchen, wie sich in Granula umgewandelte Vibrionrückstände in der Bauchhöhle von Meerschweinchen verhalten, worüber weiter unten berichtet wird.

Es stellte sich heraus, daß es keinen wesentlichen Unterschied für den Versuchsausfall bedingt, ob die sensibilisierten Vibrionen gleichzeitig mit den normalen, lebenden oder vor ihnen eingespritzt werden, ferner, daß es gleichgiltig ist, ob man die Sensibilisierung in kurzer Zeit oder viele Stunden lang vornimmt; ohne Mühe kann auch die Injektion eines sensibilisierten Cholera Stammes die Auflösung eines anderen nachträglich eingespritzten bewirken.

Eine Kultur Cholera wird in 4 ccm Verdünnung von Immunserum 1:10 aufgeschwemmt, sofort in zwei Hälften geteilt, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 40° gehalten. Die abzentrifugierten Sätze werden gewaschen. Der eine Satz wird gleichzeitig mit 2 Oesen lebender Vibrionen, der andere $\frac{1}{2}$ Stunde vor diesem injiziert. Die Bakteriolyse lief bei beiden Tieren innerhalb 1 Stunde vollständig ab. Beide Tiere wurden krank, erholten sich aber bald.

Eine Kultur Cholera wird in 2 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und in zwei Hälften geteilt. Die eine erhält sofort einen Zusatz von 0,1 ccm Immunserum und bleibt 24 Stunden bei hoher Zimmertemperatur stehen. Die andere Hälfte erhält den Zusatz erst nach dieser Zeit, wird (mit der ersten Probe) $\frac{1}{2}$ Stunde bei 40° gehalten. Dann werden beide Proben zentrifugiert, gewaschen und die Bodensätze an 2 Meerschweinchen, 24 und 25, injiziert. Die $\frac{1}{2}$ Stunde später injizierte $1\frac{1}{2}$ Oese lebender Vibrionen werden binnen 1 Stunde vollständig bakteriolytisch.

Je 2 Oesen von Cholera Pfeiffer und Cholera 74 werden in 2 ccm NaCl-Lösung mit 0,2 ccm Immunserum aufgeschwemmt, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 40° belassen und zentrifugiert. Die Untersuchung der Abgüsse auf Agglutination zeigte, daß Cholera 74 etwas, aber nur wenig mehr Agglutinationskraft absorbiert hatte, als Cholera Pfeiffer. Die gewaschenen Sätze wurden den Meerschweinchen 22 und 23 ip. injiziert und lösten sich fast sofort in Granula auf. Dabei war No. 22, welches Cholera 74 erhalten hatte, schon nach $\frac{1}{2}$ Stunde unzweideutig krank. Die jetzt injizierten 2 Oesen Cholera Pfeiffer wurden bei beiden Tieren innerhalb 1 Stunde prompt bakteriolytisch. Während sich das nur mit Cholera Pfeiffer behandelte Tier nach einiger Krankheit erholte, starb das andere Tier in der Nacht. Das in geringer Menge vorhandene zellarme Exsudat war

frei von Vibrionen und Granulis. Beide fanden sich in geringer Menge auf Ausstrichen des Netzes.

Von großem Interesse mußte es sein, zu untersuchen, ob man auch dann noch Bakteriolyse im Tierkörper erzielt, wenn man nicht einfach sensibilisierte und agglutinierte, aber sonst erhaltene Vibrionen verwendet, sondern wenn man die Bakteriolyse erst außerhalb des Tierkörpers erfolgen läßt und die gewaschenen Vibrionentrümmere injiziert. Gleich der erste Versuch lehrte, daß auch auf diese Weise noch Bakteriolyse möglich gemacht wird.

3 Oesen Cholera Pfeiffer wurden in 0,5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit 1,9 ccm frischem aktiven Meerschweinchenserum und 0,1 ccm Immunsrum versetzt. Eine genau gleiche Kontrollprobe ohne Vibrionen wurde hergestellt. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde Aufenthalte beider Proben bei 40° war vollständige Granulabildung bei gleichzeitiger Agglutination eingetreten. Der sorgfältig gewaschene Bodensatz wurde einem Meerschweinchen 27 injiziert, aus dessen Bauchhöhle die nach der Injektion massenhaft vorhandenen Granula binnen 20 Minuten fast verschwanden. Nun erfolgte die Einspritzung von 1 Oese lebender Cholera Pfeiffer. $\frac{1}{4}$ Stunde später war etwa $\frac{1}{10}$ Granula vorhanden, selten unbewegliche, oft gequollene Vibrionen. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde waren mindestens $\frac{9}{10}$ der Vibrionen zu Körnchen geworden, nach $\frac{3}{4}$ Stunden waren nur noch diese, an Zahl bereits sehr vermindert, vorhanden. Das Tier überlebte nach mäßiger Krankheit.

Die Untersuchung der vom Zentrifugieren abgegossenen Flüssigkeiten auf ihre agglutinierende Wirkung zeigte, daß die Kontrollprobe bei einem Immunsrumgehalte von 0,0007 ccm vollständig, bei 0,0004 ccm noch sehr stark agglutinierte, während bei dem behandelten Serum die Agglutination bei 0,004 ccm vollständig bis zu 0,001 ccm herab unvollständig war. Das Meerschweinchenserum an sich (entsprechend den anderen Proben verdünnt) agglutinierte mit 0,2 ccm nur unvollständig.

Zum Versuche werden folgende Proben angesetzt:

- a) $\frac{1}{2}$ Kultur Cholera Pfeiffer in 0,4 ccm NaCl-Lösung + 1,5 ccm Meerschweinchenserum + 0,1 ccm Immunsrum;
- b) ebenso, aber mit inaktivem Meerschweinchenserum ($\frac{1}{2}$ Stunde $60-62^{\circ}$ erhitzt);
- c) } wie a und b, aber ohne Cholera-vibrionen;
- d) }
- e) } wie c und d, aber ohne Cholera-immunsrum.
- f) }

Nach $\frac{3}{4}$ Stunde Aufenthalt aller Proben bei 40° waren in a nur noch Granula in Haufen vorhanden, die Vibrionen in b waren agglutiniert, zeigten aber nur sehr selten Granulabildung. Jetzt wurden die Proben sorgfältig zentrifugiert, ihre Bodensätze 4mal gewaschen, und den Tieren 38 und 39 injiziert. Schon $\frac{1}{4}$ Stunde später waren die Granula sehr vermindert, worauf beiden Tieren die enorme Dosis von je $\frac{1}{2}$ Kultur lebender Vibrionen injiziert wurde. Schon $\frac{1}{4}$ Stunde nachher waren Granula vorhanden, deren Zahl nach $\frac{1}{2}$ Stunde zunahm. Bei No. 28, welches die Vibrionentrümmere erhalten hatte, waren nach 1 Stunde nur Granula in bereits sehr verminderter Zahl aufzufinden und Leukocyten mit starker Granulaphagocytose traten auf. Nach $2\frac{1}{2}$ Stunden fanden sich im dünneiterigen Exsudate weder Granula noch Vibrionen, ebensowenig nach $4\frac{1}{2}$ Stunden, wo aber das Tier bereits krank war. Es starb in der Nacht mit eitererfüllter Bauchhöhle. Vibrionen oder Granula fanden sich selbst auf Ausstrichen des Netzes nicht mehr vor. Bei dem anderen Tiere No. 29 verlief der Versuch zunächst wie bei No. 28. Nach 1 Stunde ereignete sich aber bei der Kapillarentnahme eine Darmverletzung mit Austritt vom Darminhalt in die Bauchhöhle, in deren Exsudate sich neben massenhaften Granula und sehr vereinzelt Vibrionen auch große Kocken, plumpe, zum Teil sporulierende Stückchen und Pflanzenreste fanden. Nach 2 Stunden waren die verunreinigenden Bakterien anscheinend verschwunden, es fanden sich noch reichlich Granula neben sehr wenig Vibrionen. Nach 5 Stunden trat aber plötzlich eine sehr starke Vibrionenvermehrung ein. Das Tier starb in der Nacht mit reichlicher Eiterung in der Bauchhöhle, in der sich massenhaft Vibrionen voranden.

Die Prüfung der Agglutination der abgegossenen Flüssigkeiten ergab bei:

- a) vollständige Agglutination entsprechend 0,0075 ccm Immunsrum, noch stark bei 0,005 ccm, merkbar bei 0,003 ccm;
- b) vollständige Agglutination bei 0,0075 ccm, schwach bei 0,005 ccm;
- c) und d) noch vollständige Agglutination bei 0,0008 ccm;

Die Proben e und f agglutinierten auch mit 0,15 ccm nicht. Von den Waschwässern ergab das erste noch spurenweise, das andere keine Agglutination.

Der gleiche Versuch wurde auch mit Cholera 74 angestellt, deren hohe Giftigkeit

bereits erwähnt wurde und welche mit $\frac{1}{4}$ Oese unter allen Umständen durch Infektion tötet. Orientierend sei folgender Versuch angeführt.

Eine Oese Cholera 74 wird in 1 ccm Kochsalzlösung mit 0,1 ccm Immunsrum aufgeschwemmt und mit einer entsprechenden Kontrollprobe $\frac{1}{2}$ Stunde bei 40° belassen, dann zentrifugiert und gewaschen.

Ein Meerschweinchen No. 39 erhält den Satz in 1,5 ccm Kochsalzlösung ip., das Kontrolltier No. 34 erhält reine Kochsalzlösung. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde sind bei No. 33 schon fast gar keine Granula mehr vorhanden und jetzt erhalten beide Tiere $\frac{1}{2}$ Oese lebender Cholera 74 ip. Beim Kontrolltier erfolgt typische Vermehrung, nur anfangs sind vereinzelte Granula (wie bei jedem normalen Tiere) hier und da zu finden. Das Tier stirbt unter dem Bilde schwerer Infektion nach 7—9 Stunden. Beim Versuchstiere sind bereits $\frac{1}{4}$ Stunde nach der Infektion ca. $\frac{9}{10}$ der Vibrionen in Granula verwandelt, nach $\frac{1}{2}$ Stunde ist die Reaktion beendet und Vibrionen treten im Exsudate nicht mehr auf. Das Tier wurde aber sehr krank und starb in der Nacht mit leukocytenarmem Exsudate, das weder Granula noch Vibrionen enthielt. Beides fand sich in Ausstrichen des Netzes.

Je 1 Oese Cholera wurde in 1,5 ccm aktivem und inaktivem ($\frac{1}{2}$ Stunde 60°) Meerschweinchenserum + 0,1 ccm Immunsrum mit den entsprechenden Kontrollen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 40° behandelt, worauf im aktiven Serum ein vollständiger Zerfall in Granula eingetreten war. Die gewaschenen Sätze wurden 2 Meerschweinchen injiziert, welche $\frac{1}{2}$ Stunde später $\frac{1}{2}$ Oese lebender Cholera 74 erhielten. Das Pfeiffersche Phänomen erfolgte bei beiden Tieren typisch. Sie wurden schwer krank, kamen aber nach langem Siechtum davon.

Die Agglutinationsprüfung ergab bei der Probe mit aktivem Serum noch vollständige Agglutination bei der 0,002 ccm entsprechenden Immunsrummenge. Die Probe mit inaktivem Serum agglutinierte entsprechend 0,004 ccm vollständig, die Kontrollprobe mit 0,0008 ccm vollständig, 0,0006 ccm fast vollständig.

Wenngleich die Versuche wegen beständigen Tiermangels nicht so exakt quantitativ durchgeführt werden konnten, wie es wünschenswert wäre, so lassen sie doch erkennen, daß durch die Vibrilyse außerhalb des Tierkörpers allein nicht die an die Bacillen verankerten Immunkörper frei werden; sonst müßten sie durch das Waschen entfernt worden sein. Mindestens ein Teil derselben haftet den Vibrionrückständen hartnäckig an und kann im Tierkörper zu neuer Aktion frei werden. Damit stimmt das Ergebnis der Agglutinationsprüfung überein, welches zeigt, daß immunkörperhaltiges aktives Meerschweinchenserum nach vollendeter Vibrilyse agglutinationsschwächer geworden ist, wenn auch meist weniger als ein entsprechend behandeltes inaktiviertes.

Es ließ sich weiter zeigen, daß man ganz ähnliche Phänomene auch ohne Anwendung von Choleraimmunsrum erzielen kann, wenn man normale, immunkörperreiche Tiersera verwendet. Das normale Rinderserum ist dazu geeignet.

Es wurden folgende Proben hergestellt:

- a) 3 Oesen Cholera Pfeiffer in 0,5 ccm NaCl-Lösung + 5 ccm aktiven Rinderserums.
- b) 3 Oesen Cholera Pfeiffer in 0,5 ccm NaCl-Lösung + 5 ccm inaktiven Rinderserums ($\frac{1}{2}$ Stunde 60—62°).
- c) 2,5 ccm Choleraextrakt + 5 ccm aktiven Rinderserums.
- d) } 2,5 ccm NaCl-Lösung mit aktivem und inaktivem Rinderserums.
- e) }

Die Proben stehen etwas über 1 Stunde bei 40°. In dieser Zeit sind in a nur Granula in großen Haufen vorhanden, in b agglutinierte Vibrionen, in c ein reichliches Präzipitat. Nach Zusatz von je 2 ccm Kochsalzlösung zu a und b wird zentrifugiert, die Sätze werden gewaschen.

Meerschweinchen 30 erhält den Satz aus a ip. Schon nach $\frac{1}{2}$ Stunde lassen sich keine sicheren Granula mehr auffinden. 1 Stunde nach der ersten Injektion erhält das Tier 1 Oese lebender Cholera Pfeiffer. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde ist bereits $\frac{1}{10}$ der Vibrionen in Granula verwandelt, nach $\frac{1}{2}$ Stunde hat die Zahl der meist in Haufen liegenden Granula abgenommen, ebenso nach 1 Stunde. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunde kann die Reaktion als beendet angesehen werden, da nur sehr spärliche Vibrionen neben ebenfalls bereits verminderten Granulis vorhanden sind. Das Tier überlebt.

Meerschweinchen 31 erhält den Satz von b ip. Die Umwandlung der injizierten

Vibrionen in Granula erfolgt fast augenblicklich. Gleichzeitig mit No. 30 wird dem Tiere lebende Cholera injiziert, während im Exsudate noch reichlich Granula von der ersten Injektion vorhanden sind. $\frac{1}{4}$ Stunde später hat die Zahl der Vibrionen bereits deutlich abgenommen, die Kapillarentnahmen nach $\frac{1}{2}$ und 1 Stunde liefern fast nur noch Granula. Das Tier überlebt.

Meerschweinchen 32 erhält den Satz von c (Präzipitat) ip. und 1 Stunde später die gleiche Menge Vibrionen wie die anderen Tiere. Nach $\frac{1}{4}$ Stunde ist schon reichlich, nach $\frac{1}{2}$ Stunde noch mehr Granulabildung eingetreten, nach 1 und $1\frac{1}{2}$ Stunde kann die Reaktion als beendet gelten. Ueberlebt.

Die Agglutinationsprüfung der abgegossenen Flüssigkeiten ergab bei a vollständige Agglutination mit 0,15 ccm, bei b mit 0,75 ccm, bei c mit 0,15 ccm, bei d mit 0,075 ccm, bei e mit 0,15 ccm. (Schwächung der Normalagglutination durch Erhitzung!)

Bei einem Versuche mit Cholera 74 werden folgende Proben hergestellt:

- a) $\frac{1}{10}$ Kultur Cholera 74 in 0,5 ccm NaCl-Lösung + 5 ccm aktiven Rinderserums.
- b) $\frac{1}{10}$ Kultur Cholera 74 in 0,5 ccm NaCl-Lösung + 5 ccm inaktiven Rinderserums.
- c) 5 ccm Extrakt aus Cholera 74 + 10 ccm aktiven Rinderserums.
- d) } je 2,5 ccm NaCl-Lösung + 5 ccm aktiven und inaktiven Rinderserums.
- e) }

Nach 1 Stunde Aufenthalt bei 40° sind in a nur agglutinierte Granula, in b agglutinierte Vibrionen vorhanden. In c besteht starke Präzipitation. Nach Zusatz von 2 ccm Kochsalzlösung zu a und b werden die Proben zentrifugiert und die Sätze gewaschen.

Meerschweinchen 38 erhält den Satz aus a ip. Schon nach $\frac{1}{4}$ Stunde sind die im Satze massenhaft vorhandenen Granula fast verschwunden. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunde erhält das Tier $\frac{1}{2}$ Oese lebender Cholera 74. Nach $\frac{1}{4}$ Stunde finden sich neben massenhaften Vibrionen einzelne Granula. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde hat die Zahl der Granula zugenommen, nach $\frac{3}{4}$ Stunden sind bei allgemeiner Verminderung neben Körnchen fast nur gequollene Vibrionen übrig. Nach $\frac{5}{4}$ Stunden sind Granula spärlich neben ganz selten mehr oder weniger gequollenen Vibrionen vorhanden. Nach 3 Stunden finden sich weder Granula noch Vibrionen im leukocytenarmen Exsudate des kranken Tieres. Der Tod tritt in der Nacht ein. Das wenig trübe Exsudat enthält weder Vibrionen noch Granula, die sich aber in Ausstrichen des Netzes auffinden lassen.

Meerschweinchen 39 erhält den Satz b ip. Granulabildung und Granulaabnahme erfolgen sehr rasch. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunde erfolgt die gleiche Infektion wie bei No. 38. Schon nach $\frac{1}{4}$ Stunde ist der größte Teil der Vibrionen in Granula umgewandelt, die sich rasch vermindern und nach 1 Stunde kann die Reaktion als beendet angesehen werden. Das Tier wird aber krank und stirbt in der Nacht. Die Bauchhöhle bildet den gleichen Befund wie bei No. 38.

Meerschweinchen 40 erhält das Präzipitat aus c ip, nach $1\frac{1}{2}$ Stunde erfolgt die Infektion, wie bei den anderen Tieren. $\frac{1}{4}$ Stunde später finden sich unter zahlreichen Vibrionen spärliche Granula. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde sind sie vermehrt und bilden Haufen; noch zahlreiche Vibrionen. Nach $\frac{3}{4}$ Stunde tritt eine starke Verminderung ein; zahlreiche in Haufen liegende Granula neben gequollenen Vibrionen. Die Verminderung hielt noch 1 Stunde an und nach $1\frac{1}{2}$ Stunde sind nur noch wenige Granula in gequollenen Vibrionen zu sehen. Nach 3 Stunden sind bei leukocytenarmer Bauchhöhle nur wenige Granula mehr zu finden. Auch dieses Tier wird schwer krank und stirbt in der Nacht. Im dünnen Exsudate finden sich wenige Granula und sehr spärliche Vibrionen. Beides ist ziemlich reichlich in Netzausstrichen zu finden.

Die Agglutinationsprüfung ergibt in der Probe a vollständige Agglutination in der 0,2 ccm Rinderserum entsprechenden Menge Flüssigkeit, in b bei 0,5 ccm nur sehr schwach, in c bei 0,5 ccm stark, aber unvollständig, in d bei 0,05, in e bei 0,5 ccm stark, aber nicht vollständig.

Es ist sofort zu sehen, daß das Phänomen bei Verwendung von Normalserum im Prinzip so wie bei Benutzung von Immuserum verläuft, wenngleich eine so prompte, in kurzer Zeit ablaufende Bakteriolyse wie bei Immuserum nicht zu konstatieren ist. Auch zeigten die Vibrionrückstände öfters eine deutliche Minderwertigkeit gegenüber erhaltenen, bloß sensibilisierten Vibrionen. Im ganzen aber ist der Parallelismus vorhanden, und das ist deshalb von Bedeutung, weil man daraus schließen kann, daß auch in der normalen Bauchhöhle des Meerschweinchens Ähnliches stattfinden könnte. Auch die normale Peritonealflüssigkeit besitzt Choleraimmkörper und vermag unter günstigen Umständen (wenige Bakterien) Vibriolyse herbeizuführen. Tritt hier das

gleiche Phänomen auch auf und geht der auf einem Vibrio fixierte Immunkörper auf einen zweiten über, so könnte auf das Problem der Immunkörperbildung einiges Licht fallen. Allerdings ist die ganze Erscheinung noch nicht zu erklären, wie auch Pfeiffer und Friedberger in ihren grundlegenden Versuchen auf eine eigentliche Erklärung verzichtet haben. Es läßt sich auch vorläufig nicht sagen, in welcher Beziehung dieses Phänomen zu anderen bekannten steht, wobei nur die Versuche von Morgenroth über den Uebergang von Hämolytinen von sensibilisierten Blutkörperchen auf andere, von Jost über ähnliche Erscheinungen bei der Agglutination von Typhusbacillen erwähnt seien, sowie die eingehenden Studien Landsteiners und seiner Mitarbeiter über die Reversibilität der Immunreaktionen. Es fehlt noch an genügendem, namentlich quantitativ durchgearbeitetem Beobachtungsmaterial, um die Parallele durchführen zu können.

Aber die Tatsachen geben doch zu denken. Ein sensibilisierter Cholera vibrio, der von mechanisch anhaftendem Immunserum vollständig befreit ist, wird, wie Pfeiffer und Friedberger, fanden im Tiere nicht nur aufgelöst, sondern gibt auch noch Immunkörper zur Auflösung neuer Vibrionen ab. Nun spricht alles dafür, daß die Reaktion zwischen Bakterien und Serum in einer Verbindung von Bacillensubstanz mit Serumstoffen besteht. Aber diese Verbindung ist keine beständige, sie kann in der Meerschweinchenbauchhöhle gelöst werden und nun kommt alles darauf an, ob nach der Lösung wieder die ursprünglichen Bestandteile vorhanden sind oder nicht, d. h. ob der Immunkörper einerseits, die Bacillensubstanz andererseits die gleichen Eigenschaften haben wie vor ihrer Vereinigung. Ist dies der Fall, handelt es sich also um einfache Reversibilität, dann würde sich das Interesse wesentlich auf die Faktoren beschränken, welche diese mächtige Wirkung ausüben, und es läge nahe, die Ursache in der Tätigkeit des Komplements zu suchen, welches ein Ferment ist. Fermente können aber sehr wohl im entgegengesetzten Sinne tätig sein, wie seit Croft Hill vielfach festgestellt ist.

Es wäre aber auch möglich, daß nach Sprengung der Verbindung von Immunkörper und Bacillensubstanz die wieder frei gewordenen Bestandteile doch eine, wenn auch geringe, Veränderung erlitten haben. Deshalb wurde in den auf p. 195 u. 196 mitgeteilten Versuchen geprüft, ob das Exsudat gelöste präzipitabile Bacillensubstanz enthalte, was nicht der Fall war. Das beweist natürlich noch gar nichts, höchstens das, daß die Lösung der Cholerasubstanz bei der Bakteriolyse eine andere sei, als bei der künstlichen Extraktion, etwa im Wasserbade bei 60°. Aber ein anderer Schluß scheint erlaubt zu sein: Wenn aus der injizierten Verbindung Bacillensubstanz und Immunkörper der letzteren frei wird und zwar, wie es nach Versuchen Pfeiffers und Friedbergers wahrscheinlich ist, in quantitativer Weise, so muß auch die Cholerasubstanz wieder frei geworden sein. Ob sie nun verändert ist oder nicht, jedenfalls kann sie dann noch als Antigen weiter wirken, ihre Wirkung auf den Tierkörper ist durch die erfolgte Bakteriolyse noch nicht notwendig erschöpft. Das könnte zur Erklärung der Tatsache, daß sehr kleine Mengen Antigens gelegentlich sehr große Mengen von Antikörpern erzeugen, einiges beitragen. Ebenso könnte aber bei der Annahme einer gewissen, wenn auch sehr geringfügigen Aenderung des Immunkörpers nach Sprengung seiner Verbindung mit der Bacillensubstanz, etwas Licht auf die Spezifität der Antikörper fallen.

Daß auch Vibrionrückstände, Granula, wie sie bei der Bakteriolyse

außerhalb des Tieres entstehen, noch Immunkörper in der Meerschweinchenbauchhöhle abgeben können, läßt schließen, daß in vitro die Wirkung jener Faktoren, welche die Immunkörperbacillenverbindung sprengen können, nicht so mächtig ist, wie im lebenden Tiere. Eine gewisse Herabminderung der Vibriolyse gegenüber einfach sensibilisierten Vibriolen ließ sich öfters erkennen und würde vielleicht noch schärfer hervortreten bei genau quantitativem Arbeiten, das noch nicht möglich war.

Die Bedeutung dieser Versuche liegt darin, daß durch sie die Anregung zur Untersuchung der Wirkung von Präzipitaten gegeben wurde. Bezüglich der Präzipitation vertreten namentlich Bail und Holze die Anschauung, daß sie im Prinzip die gleiche Reaktion an der Bacillensubstanz sei, wie die Bakteriolyse. Nur durch die verschiedene Form, in welcher die Bacillensubstanz vorliegt, sei das besondere Aussehen der Reaktion bedingt. Für diese Anschauung müßte es eine mächtige Stütze werden, wenn sich zeigen ließ, daß auch die Präzipitate, also ebenfalls Verbindungen von Bacillensubstanz und Serumimmunkörper, im Tierversuche ähnlich wirken, wie sensibilisierte Vibriolen oder Vibriolenrückstände nach einer Bakteriolyse in vitro. Die Versuche gelangen sofort und zwar sowohl mit Immunkörperpräzipitaten, wie mit solchen, welche durch normales Rinderserum erhalten wurden. Die Extrakte aus Vibriolen wurden so hergestellt, daß der Rasen einer Kollischen Schale mit 15—20 ccm Wasser abgespült wurde. Die dichte Aufschwemmung wurde dann 2 Stunden auf 60° erwärmt, 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur geschüttelt und klar zentrifugiert.

Gleich der erste, frühzeitig angestellte Versuch mit Cholera Pfeiffer gelang. Bei demselben wurde 1,5 ccm Choleraextrakt mit 1 ccm einer Immunserumverdünnung gefüllt, das Präzipitat gewaschen und einem Meerschweinchen No. 4 ip. injiziert. 40 Minuten später erhielt das Tier $1\frac{1}{2}$ Oese Cholera Pfeiffer ip. Nach 1 Stunde waren fast nur Granula vorhanden, nach 3 Stunden waren sie aus der mäßig leukocytenreichen Bauchhöhle verschwunden. Das Tier überlebte nach einiger Krankheit.

Meerschweinchen 13 erhält das mächtige, gewaschene Präzipitat von 5 ccm Choleraextrakt Pfeiffer mit 10 ccm Rinderserum. Nach $\frac{3}{4}$ Stunde erfolgt die Injektion von $\frac{1}{6}$ Kultur Cholera Pfeiffer. Nach $\frac{1}{4}$ Stunde fanden sich nur wenige Granula, massenhaft Vibriolen in oft sehr dichten Haufen. Erst nach $\frac{3}{4}$ Stunden traten reichliche Granula auf, nach $\frac{5}{4}$ Stunden vermehrten sie sich weiter, wobei sich die Zahl der Vibriolen stark verminderte. Nach 5 Stunden war das dünne Exsudat frei von Vibriolen und Körnchen. Das Tier überlebte.

Die gewaschenen Präzipitate von je 5 ccm Choleraextrakt Pfeiffer mit 10 ccm Rinderserum und 5 ccm 10fach verdünnten Immunserums werden 2 Meerschweinchen, No. 46 und 47, injiziert. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde erhält jedes Tier $\frac{1}{6}$ Agarkultur Cholera Pfeiffer. In dem Tiere mit Immunserumpräzipitat war die Zahl der Vibriolen und Granula nach $\frac{1}{4}$ Stunde ungefähr gleich, nach $\frac{1}{2}$ Stunde waren die Granula weitaus in Uebersahl, wenn auch vereinzelt Vibriolen bis nach $\frac{3}{4}$ Stunden nachweisbar blieben. Bei dem Tiere mit Rinderserumpräzipitat verminderten sich die Vibriolen nach $\frac{3}{4}$ Stunden sehr stark, ohne daß allzu viele Granula dagewesen wären. Nach 1 Stunde waren bei weiterer Verminderung der Gesamtzahl ungefähr gleichviel Granula und Vibriolen vorhanden, nach $\frac{5}{4}$ und $1\frac{1}{2}$ Stunde überwogen die Granula weitaus. Beide Tiere blieben am Leben.

Je 5 ccm Extrakt aus Cholera Pfeiffer und Cholera 74 werden mit je 5 ccm einer Verdünnung desselben Immunserums 1:20 gefüllt und die gewaschenen Präzipitate den Meerschweinchen 36 und 37 injiziert. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde erhalten beide Tiere $\frac{1}{6}$ Kultur Cholera 74 ip. Schon nach $\frac{3}{4}$ Stunde ist die Reaktion bei beiden Tieren, in deren Bauchhöhle sich nur noch sehr spärliche Vibriolen und an Zahl bereits verminderte Granula befinden, beendet. Beide Tiere starben mit sterilem Bauchhöhlenexsudat, während in Ausstrichen des Netzes noch Granula und Vibriolen anzutreffen waren.

Der Agglutinationsversuch¹⁾, der mit den durch Präzipitation erschöpften Flüssig-

1) Diese Agglutinationsversuche wurden bei jedem einzelnen Tierexperimente genau durchgeführt. Ihre Mitteilung wird später folgen.

keiten angestellt wurde, zeigte in der Kontrolle komplette Agglutination bei 0,001 ccm, in der präzipitierten Probe bei 0,004 ccm Immunsrum.

Der Zusatz von aktivem, bzw. inaktivem Meerschweinchenserum änderte natürlich weder an der Präzipitation noch am Versuchsverlaufe etwas.

Die Meerschweinchen 41 und 42 erhielten die Präzipitate von 2,5 ccm Choleraextrakt 74 mit 0,25 ccm Immunsrum, wozu in die eine Probe 1 ccm aktives, in die andere inaktives Meerschweinchenserum zugesetzt worden war. $\frac{3}{4}$ Stunden später wurde $\frac{1}{18}$ Agarkultur Cholera 74 injiziert. Nach 40 Minuten konnte die Reaktion bei beiden Tieren als beendet angesehen werden. Beide Tiere starben aber, wie fast alle Tiere, welche halbwegs größere Mengen von Cholera 74 erhalten hatten, mit sterilem Bauchhöhlenexsudate und mäßig vielen Vibrionen und Körnchen am Netze.

Der Satz von je 3,5 ccm Choleraextrakt 74 mit 0,35 ccm Immunsrum wird den beiden Tiere 43 und 44 ip. injiziert. Gleichzeitig damit erhält No. 44 $\frac{1}{8}$ Kultur Cholera 74, während No. 43 die gleiche Dosis $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion des Präzipitates erhält. Bei beiden Tieren ist die Reaktion innerhalb einer Stunde abgelaufen, beide Tiere sterben mit dem gewöhnlichen Befunde sterilen Bauchhöhlenexsudates und Vibrionen und Granulis am Netze. Ein Kontrolltier, das die gleiche Vibrionemenge allein erhalten hatte, starb nach 6 Stunden mit reichlichem Vibrionenwachstum.

Weitere Mitteilungen über diesen Gegenstand werden nach erneuter Untersuchung folgen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Anwendbarkeit des Rossischen Kolloid-Trennungsverfahrens zur Konzentrierung der wirksamen Substanzen im Serum.

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]

Von Dr. S. Hata

vom Kaiserl. Institut für Infektionskrankheiten zu Tokio.

Läßt man ein im Gefrierapparat Frigo festgefrorenes Serum durch ruhiges Stehen bei Zimmertemperatur wieder auftauen, so sondert sich das Serum in mehrere Schichten, von der obersten fast ganz farblosen bis zur untersten dickeren und intensiv gelb gefärbten. Nachdem ich diesen Vorgang einmal zufällig bemerkt hatte, versuchte ich, durch Zentrifugierung des gefrorenen Serums die Abscheidung des Serumkolloides zu beschleunigen. Ein graduiertes Zentrifugenröhrchen mit einer bestimmten Menge frischen Meerschweinchenserums wurde in eine Kältemischung von -15 bis 20° eingesetzt. Sobald das Serum festgefroren war, wurde es so lange kräftig zentrifugiert, bis es wieder aufgetaut war. Schon nach einmaliger Zentrifugierung trat eine Trennung in mehrere übereinanderstehende, oben farblose, nach unten stufenweise stärker gefärbte Schichten ein. Ohne zu schütteln, wurde das Röhrchen wieder in die Gefrier Mischung gebracht, gefroren und nochmals zentrifugiert. Nach dreimaliger Wiederholung dieses Verfahrens zeigte das Serum eine deutliche Trennung in drei Schichten. Die oberste Schicht ist ganz wasserklar und kolloidfrei, die mittlere etwas gefärbt und kolloidarm, die unterste dagegen ist stark gefärbt und enthält fast das gesamte Kolloid. Wurde das Verfahren noch mehrmals wiederholt, so zeigte sich die mittlere Schicht immer schmaler, um endlich fast ganz zu verschwinden. Auch die unterste Schicht wurde dabei immer kleiner und mehr konzentriert.

Durch dieses Verfahren eingeeengtes normales Meerschweinchenserum wurde auf seinen Komplement- und Opsoningehalt untersucht. Es

konnte erwiesen werden, daß alle wirksamen Stoffe des Serums ohne den geringsten Verlust in die beiden untersten Schichten übergegangen waren, während die oberste Schicht wirkungslos war. Mit demselben Resultate wurden auch verschiedene Immunsera untersucht. Wenn man jedoch eine hohe Konzentration der Immunsabstanzen erreichen will, so darf man nur die unterste Schicht benutzen und muß den durch die Freigabe der Mittelschicht bedingten kleinen Verlust mit in Kauf nehmen. Diese unterste Schicht zeigt sich schon nach dreimaliger Wiederholung des genannten Prozesses 5mal so wirksam als Originalserum.

Das eben beschriebene Verfahren der Kolloidabscheidung aus seiner Lösung ist indes kein neues. Schon vor 2 Jahren wurde diese Methode von Rossi (Ref. in Malys Jahresbericht. 1905 und in Tiegerstädts Handbuch der physiologischen Methodik) in die physiologische Chemie eingeführt. Eine auf demselben Prinzip fußende und sehr ähnliche Methode wurde von Bujwid (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXII. p. 287) und, unabhängig von ihm, von Ernst, Coolidge und Cook (Ref. Baumgartens Jahresbericht. 1838. p. 242) zur Konzentrierung des Diphtherie- und Tetanusserums verwandt. Diese Autoren ließen das einmal gefrorene Serum einfach ruhig stehen und auftauen. Durch 2–3malige Wiederholung soll es Bujwid gelingen sein, ein 2¹/₂–3mal wirksameres Serum zu erhalten. Trotzdem ich nachträglich diese Literaturangaben vorgefunden habe, möchte ich mir doch gestatten, über meine Versuchsergebnisse ganz kurz zu berichten, weil bisher nur das relativ resistentere Antitoxin, dagegen das viel empfindlichere Komplement und Opsonin noch nicht in dieser Richtung untersucht wurden und außerdem ein Versuch mit der Rossischen Methode in der Serumforschung noch fehlt.

In meinen Versuchen wurde besonders darauf geachtet, ob durch vielmaliges Gefrieren und Wiederauftauen etwa Herabminderung der Wirksamkeit des Serums einträte. Ich nahm zu diesem Zweck immer die beiden unteren Schichten ab und mischte sie gut zusammen.

1. Konzentriertes Meerschweinchenserum als hämolytisches Komplement.

1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung + 1 ccm Hämolsin (0,005) + Komplement in folgenden Mengen mit physiologischer Kochsalzlösung auf 5 ccm Gesamtvolumen aufgefüllt.

Originalserum	Auf ¹ / ₄ Volumen verengertes Serum	Oberste wasserklare Schicht
0,1 ccm kompl. Lösung	0,025 ccm kompl. Lösung	0,5 ccm letzte Spur Lösung
0,08 " " "	0,02 " " "	0,3 keine Lösung
0,06 " " "	0,015 " " "	
0,05 " fast kompl. Lösung	0,0125 " fast kompl. Lösung	
0,04 " kleine Kuppe	0,01 " kleine Kuppe	
Nach 6-tägiger Aufbewahrung im Eisschrank		
0,1 ccm kompl. Lösung	0,025 ccm kompl. Lösung	0,5 ccm keine Lösung
0,08 " " "	0,02 " " "	0,3 " " "
0,06 " fast kompl. Lösung	0,015 " " "	
0,05 " kleine Kuppe	0,0125 " fast kompl. Lösung	
0,04 " " "	0,01 " kleine Kuppe	

Nach den Resultaten dieses Versuches ergibt sich, daß das Komplement in konzentrierter Form sich länger wirksam hält als Originalserum. Dies dürfte wohl durch die stärkere Salzkonzentration des eingedickten Serums bedingt sein.

2. Konzentriertes Meerschweinchenserum als Oponin.

Opsonisches Gemisch	Phagocytärer Index nach 20 Min. Aufenthalt bei 37°
1) 0,2 ccm physiol. Kochsalzlösung + 0,1 ccm Staphylokokkenemulsion + 0,1 ccm Leukocytenaufschwemmung	0,18
2) 0,1 ccm physiol. Kochsalzlösung + 0,1 ccm Originalserum + 0,1 ccm Staphylokokkenemulsion + 0,1 ccm Leukocytenaufschwemmung	7,38
3) 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung + 0,1 ccm von auf $\frac{1}{4}$ Volumen eingengtem Serum (wieder mit Kochsalzlösung 4mal verdünnt) + 0,1 ccm Staphylokokkenemulsion + 0,1 ccm Leukocytenaufschwemmung	7,22
4) 0,2 ccm von der obersten wasserklaren Schicht + 0,1 ccm Staphylokokkenemulsion + 0,1 ccm Leukocytenaufschwemmung	0,21

3. Konzentriertes Typhusserum als Agglutinin.

1 ccm formalinisierte Typhusbacillenemulsion + 1 ccm Typhusserum in folgender Verdünnung + 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Originalserum			Auf $\frac{1}{3}$ eingengtes Serum		
Verdünnung	nach 1 Std.	nach 2 Std.	Verdünnung	nach 1 Std.	nach 2 Std.
1:5000	+++	+++	1:15000	+++	+++
1:10000	++	+++	1:30000	++	+++
1:15000	+	+++	1:45000	+	+++
1:20000	—	+	1:60000	—	++
1:25000	—	+	1:75000	—	+
1:30000	—	+	1:90000	—	+
1:40000	—	±	1:120000	—	+
1:50000	—	—	1:150000	—	—

4. Konzentriertes Meningokokkenserum geprüft mittels der Komplementbindungsmethode.

0,05 ccm Meningokokkenextrakt + 0,1 ccm Komplement + Meningokokkenserum in folgender Menge: Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 3 ccm aufgefüllt. Bleibt bei 37° 30 Minuten lang. Darauf Zusatz von 2-fach komplett lösender Dosis Hämolyisin + 1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Gesamtvolumen 5 ccm.

Originalserum	Auf $\frac{1}{4}$ Volumen eingengtes Serum
0,01 ccm komplette Hemmung	0,0025 ccm komplette Hemmung
0,005 „ fast komplette Hemmung	0,00125 „ fast komplette Hemmung
0,003 „ große Kuppe	0,00075 „ große Kuppe
0,0025 „ kleine „	0,0006 „ kleine „
0,002 „ ganz kleine Kuppe	0,0005 „ ganz kleine Kuppe
0,0015 „ komplette Lösung	0,0004 „ komplette Lösung
0,001 „ „ „	0,00025 „ „ „

5. Konzentriertes Diphtherieserum als Antitoxin. Bestimmung des Antitoxingehaltes nach Ehrlich.

(Das Serum stellte mir Herr Dr. Aronson zur Verfügung, wofür ich ihm wärmstens danke.)

Originalserum			Auf $\frac{9}{10}$ Volumen konzentriertes Serum		
Tier-No.	untersucht auf	Resultat	Tier-No.	untersucht auf	Resultat
1	300-fach	† nach 2 Tagen	5	1000-fach	† nach 2 $\frac{1}{2}$ Tagen
2	285 „	† „ 3 „	6	950- „	† „ 3 „
3	270 „	† „ 3 $\frac{1}{2}$ „	7	900- „	† „ 3 $\frac{1}{4}$ „
4	255 „	lebt, Schwellung	8	850- „	lebt, Schwellung

Alles in allem, büßt weder das normale noch auch das Immunsrum bei der Konzentrierung nach der Rossischen Methode je an seiner Wirksamkeit ein.

Bei einer Untersuchung bezüglich der Einwirkung einiger mineralischer Substanzen auf Komplement und Opsonin eines Meerschweinchenserums versuchte ich, durch diese Methode die kristalloiden Substanzen nach ihrer Einwirkung aus dem Serum wieder möglichst zu entfernen, um dadurch ihre weitere Wirkung auf Blutkörperchen bzw. auf Bakterien, Leukocyten etc. bei dem folgenden hämolytischen bzw. opsonischen Versuche zu vermeiden. Wider Erwarten aber zeigte sich das Serum, welches durch diese Methode von den kristalloiden Substanzen wenigstens zum Teil hätte befreit sein müssen, viel mehr durch die Chemikalien beeinflusst als das andere, in welchem die zugesetzten Substanzen verblieben waren.

Diese Tatsache erklärte sich durch folgende Erkenntnis. Bei Titrierung mit Silberlösung zeigte 1 ccm Meerschweinchenserum einen Chlorgehalt, welcher 0,9 ccm $\frac{1}{10}$ Normallösung entsprach. 6 ccm dieses Serums wurden durch 3malige Wiederholung des Konzentrierungsverfahrens in drei Schichten getrennt und der Chlorgehalt jeder Schicht bestimmt.

	Menge	Chlorgehalt ausgedrückt in $\frac{1}{10}$ Normal	Chlorgehalt berechnet pro 1 ccm
Oberste Schicht	3,2 ccm	0,75 ccm	0,23 ccm
Mittlere „	1,6 „	1,95 „	1,21 „
Unterste „	1,2 „	2,70 „	2,25 „
Insgesamt	6,0 ccm	5,4 ccm	0,9 ccm

Die Menge der durch diese Methode von den Kolloiden getrennten Kristalloide ist also sehr gering. Außerdem kristallisiert beim Frieren das Wasser zuerst aus dem Serum aus, so daß die Kristalloide und Kolloide in konzentrierterem Zustand in Berührung kommen müssen. In diesem Moment wirken die Kristalloide auf das Serum energischer ein, als im nicht gefrorenen, einfachen Gemisch möglich ist. Unter Benutzung einer kleinen, ebenfalls von Rossi angegebenen Abänderung des Verfahrens gelangt man jedoch trotzdem zu dem Ziel, die Kolloide kristalloidarm zu machen. Man gießt dazu nach der Trennung die obere Schicht ab und ersetzt sie durch destilliertes Wasser, mischt Kolloid und Wasser gut, friert und zentrifugiert von neuem. Durch Wiederholung des ganzen Prozesses wird schließlich das gewünschte Ziel erreicht.

Es ist somit nach den hier wiedergegebenen Resultaten diese Rossische Methode nicht nur für Forschungs-, sondern auch für praktische Zwecke, d. h. für die Konzentrierung schwach wirksamer Sera, wie Meningokokken- oder Pestserum, verwendbar.

Nachdruck verboten.

Contribution à l'étude microscopique de la cornée vaccinée chez le lapin.

Corpuscules de la vaccine, „Initialkörper“, Chlamydozoa etc.

Par Dr. M. Elmassian,

Ex-délégué de l'Institut Pasteur en Amérique du Sud (Paraguay).

Avec 1 tableau.

Dans un travail publié l'année dernière, Prowazek a réuni sous le nom de Chlamydozoa une série d'éléments granuleux jusqu'alors reconnus comme inclusions cellulaires pathologiques, qui sont cependant considérés par lui étant de nature parasitaire. On sait que ces éléments ont été surtout trouvés par les observateurs, dans les cellules d'organes soumis à l'action des différents virus qui, par un curieux hasard, restent encore à être morphologiquement déterminés. L'étude de quelques-unes de ces maladies réalisée par l'auteur, lui a servi de base à créer ce groupe particulier de parasites, qui selon lui, ne peuvent être classés ni dans le règne végétal, ni dans le règne animal, toutefois trouvent mieux leur place entre les deux. On comprend l'intérêt qu'éveille une telle interprétation, appuyée de nombreuses recherches, et tendant à créer un groupe de parasites à caractères si particuliers et si inattendus.

Pour voir de près ce qu'il y avait de fondé dans cette nouvelle théorie des Chlamydozoa, et nous en faire une opinion personnelle, nous avons repris la question de la vaccine, et nous l'avons particulièrement étudiée chez le lapin, dont la cornée, comme on le sait, est un objet d'étude des plus commodes.

Technique. — Une partie des cornées vaccinées que nous avons étudiées ont été inoculées par nous-mêmes, une autre nous a été remise par le Prof. Geheimrat Dr. R. Hertwig, qui les tenait lui-même du Dr. Tizzer. Les cornées préparées par ce dernier étant très bien fixées nous n'avons pas hésité de nous en servir. — Quant aux techniques que nous avons choisies pour inoculation et coloration, les voici :

Après anesthésie générale, obtenue par l'éther, on faisait sur la cornée des lapins (de moyenne taille) 3—4 incisions, en intéressant seulement la couche épithéliale; après quoi on laissait tomber sur le traumatisme ainsi créé, une goutte de lymphe vaccinale glycerinée, livrée par l'Institut du Gouvernement. Comme fixateur nous nous sommes servi de liquide de Zenker, et Flemming. Mais nous avons donné notre préférence surtout au fixateur de Schaudinn, sublimé-alcool, auquel nous ajoutions de l'acide acétique glacial, de 2 à 5 pour 100. Il va sans dire que le lavage après fixation doit être très soignée et l'on ne doit pas négliger de laisser les pièces au moins pendant 12 heures, dans l'alcool iodé. Les cornées incluses dans la paraffine ont été coupées de 7 à 10 μ , et colorées avec les teintures nucléaires ordinaires, telles que : hématoxyline, carmin boracique, violet de gentiane, et bleu azur. Parmi tous ces colorants c'est le premier qui nous a donné les meilleurs résultats, et que nous avons définitivement adopté, sous la forme de hématoxyline de Delafield, en solution diluée de 5 à 10 pour 100. Coloration pendant 24 heures, à la température de la chambre, suivie d'une légère différenciation avec la solution suivante :

Alcool acide (acide acétique 0,5 % dans alcool à 70°	20 c. c.
Glycérine concentrée	20 "
Alcool à 70°	60 "

La décoloration doit se faire sous microscope, et la préparation étant maintenue dans ce liquide, au moyen d'une boîte à Petri. La coloration des coupes par la méthode de Giemsa, comme le dit avec raison Pro wazek, ne donne pas de résultats fixes, et nous avons employé à sa place une solution diluée d'azur de commerce; une solution d'éosine servait pour la différenciation. On obtient ainsi un contraste en bleu et rose, très agréable à la vue. Le violet de gentiane colore les corpuscules de la vaccine mieux que toutes les autres substances colorantes, et dans ce cas même, avec une différenciation trop poussée, ils restent d'un violet vif. Malheureusement on ne peut obtenir, par ce colorant, la tinction des grains à l'intérieur des corpuscules de Guarnieri.

Lésions cellulaires. — Nous ne voulons pas nous occuper ici des lésions macroscopiques de la cornée, déjà étudiées par d'autres, nous tenons seulement à résumer brièvement les lésions fines des cellules épithéliales, pour montrer la façon dont nous les interprétons.

Quand on examine au microscope une coupe de la cornée, perpendiculaire aux stries faites à sa surface, lors de l'inoculation, on trouve dans la couche superficielle de l'organe une série de solutions de continuité où les cellules épithéliales, d'ailleurs très rares, mélangées à des leucocytes de toutes espèces, forment des amas informes, et dont quelques-unes font hernie dans le tissu fibreux sous-épithélial. Ces cellules et celles qui se trouvent latéralement sur les bords du canal d'incision, ne présentent rien d'intéressant, quant à leur structure intime. L'intensité du processus pathologique sur ce point est telle, que le traumatisme d'inoculation y aidant, les éléments anatomiques sont presque en destruction totale. Il n'y a là que des vestiges cellulaires, croulés les uns sur les autres, conservant à peine de leurs protoplasmas et noyaux, une image reconnaissable.

C'est un peu plus loin de la ligne d'incision qu'on rencontre les lésions intéressantes, provoquées par la vaccination et qu'elles peuvent être séparées en deux groupes distincts: celles concernant les éléments morphologiques de la cellule, protoplasma et noyau, celles d'autre part, caractérisées par la production d'inclusions pathologiques. C'est dans cet ordre que nous en aborderons l'étude.

Dès l'abord ce qui attire surtout l'attention c'est la grande modification subie en volume et en aspect des cellules de la couche basale. La réaction, vis-à-vis du virus, y est au maximum, en raison même de la grande vitalité y régnant à l'état normal. Ces cellules sont démesurément hypertrophiées, leur volume est augmenté de 3 à 4 fois; presque toutes sont allongées, étirées, ayant leurs noyaux plus près de leurs sommets que leurs bases (fig. 11, 12). Une lisérée claire, en bordure de la membrane basale, correspond aux pieds de ces mêmes cellules, où la tension, l'état hydropique très exagéré, se continue vers le centre et contournant le noyau, lui formant tout autour une zone pâle. La cellule est parfois tellement distendue qu'elle prend une forme globuleuse, légitimant ainsi l'expression allemande „ballonierend“. Elle est alors atteinte, selon Bosc, d'hypertrophie claire, qui est précédée elle-même, d'hypertrophie sombre, caractérisée par un gonflement moins prononcé et par la faculté de fixer tant soit peu les colorants nucléaires. Nous pourrions appeler cette phase, dégénérescence

aqueuse, comme on l'a déjà fait, si ce mot ne rappelait pas un état d'altération très grave, ce qui n'est pas ici le cas. Car la cellule continue de vivre et ne manque pas même d'être parfois le siège d'un mouvement de multiplication très vif: toute la couche basale est riche de figures karyokinétiques (Gorini, Bosc).

Les modifications que nous venons de signaler, constituent les lésions de la période intermédiaire, au début et à la fin du processus vaccinal et ne sont nullement fatales pour la vie de la cellule. Mais là ne restent pas toujours l'évolution pathologique, elle entraîne, bien que rarement, d'altérations plus profondes, telles que: état vacuolaire, dégénérescences, rupture périphérique etc. aboutissant à la destruction définitive. Parmi toutes ces lésions il en est une, sur laquelle l'attention n'a pas été, croyons-nous, suffisamment attirée. Il s'agit d'une altération sphacellaire du protoplasma dont le siège et l'étendue peut infiniment varier. Une portion de cette substance se sépare du reste avec un contour bien net, comme si cela avait été fait par un instrument tranchant. La portion isolée affecte la forme d'une plaque ronde, ovale, ou enfin sémilunaire (fig. 7, 8, 9). Elle peut siéger en un point quelconque du protoplasma, il est alors excentrique par rapport au noyau; d'autres fois elle entoure ce dernier et l'isole du reste de la cellule (fig. 7) par un espace vide dont l'écart est considérablement augmenté par l'action du fixateur. Quand cet espace manque, et que la portion sphacellée tout en étant minime, contient à son centre quelques fragments à réaction nucléaire, on a alors sous les yeux une image donnant l'illusion d'un parasite (fig. 12); cela d'autant plus que ces portions nécrotisées prennent fortement les couleurs et créent un contraste frappant avec le reste du protoplasma. Par contre, on voit dans la Fig. 10, un énorme disque claire et transparent avec au milieu un corpuscule de Guarnieri, c'est une section d'un bloc nécrosé et œdématisé. Ces altérations sphacellaires sont, le plus souvent, constatées à une certaine distance des incisions artificielles, ce qui prouve qu'elles sont dues, pensons-nous, à l'action spécifique des sécrétions du virus.

Les modifications protoplasmiques des couches moyennes et superficielles de la cornée sont identiques à celles de la couche basale, néanmoins elles sont d'autant plus effacées qu'on se rapproche de la surface libre de l'organe.

Les lésions du noyau sont, incontestablement, de beaucoup les plus importantes. Car sous l'action de l'infection vaccinale ils éliminent ou sécrètent des corpuscules que Guarnieri, en les découvrant (1892), a cru à leur nature parasitaire. Depuis cette opinion tour à tour partagée et abandonnée, n'est pas restée sans partisans. Plus d'un y voit encore une forme évolutive du virus. Nous y reviendrons plus loin. — A l'état normal les noyaux des cellules épithéliales sont oblongs, irrégulièrement ronds ou ovales; leur contour nettement circulaire ne présente aucune espèce d'ondulation. Son réseau chromatique, très fin et très régulier, est peu serré; extérieurement il est limité par une membrane mince facilement colorable. A l'intérieur aucune inclusion, à proprement parler, sauf un ou deux nucléoles, d'ailleurs très inconstants, placés suivant leur nombre, au centre ou près des ses deux extrémités. Ce nucléole mesure à peine 1μ , et se teigne vivement.

Dans la cornée vaccinée depuis 24 heures, les noyaux épithéliaux sont peu modifiés, et ne présentent qu'une légère augmentation de volume.

Un ou deux jours plus tard, ils sont manifestement altérés. D'abord leur volume est presque doublé; leur forme irrégulière présente des bosselures et saillies; leur aspect est plus clair parce qu'ils sont plus pauvres de chromatine. D'autre fois leurs reticula sensiblement épaissis restent cependant toujours lâches. Les granulations de chromatine (microsomes) sont hypertrophiées, par conséquent devenues plus manifestes et plus visibles. Plusieurs fondues entre elles forment des petites tâches étoilées à l'entrecroisement des fibres réticulaires. Si plus d'un point du noyau paraissent plus sombres, d'autres restent clairs à cause de cette fonte des microsomes qui s'exagérant lui donne un aspect vésiculeux. Il n'est pas rare alors de trouver toute la chromatine du noyau s'accumuler à son centre en une boule énorme (fig. 5), très différente des corpuscules de Guarnieri, ce dernier étant moins gros et moins intensément coloré. Un autre mode d'altération nucléaire, bien que rarement survenu, est un ratatinement progressif, qu'il est difficile de distinguer de la dégénérescence pycnotique. Tous les noyaux ne sont pas condamnés à périr; ce n'est qu'une minime partie qui subit ce sort. D'habitude après la légère tuméfaction et la fonte partielle des microsomes du début, il s'établit un travail réparateur, et tout rentre à l'état normal.

Nous avons dit qu'à côté des désordres nucléaires et protoplasmiques il y avait encore à considérer la formation des inclusions. En effet les cellules épithéliales au voisinage d'une pustule cornéenne de 2 à 3 jours paraissent chargées des corpuscules brillants et réfringents, lesquels réagissent vis-à-vis les colorants comme de la substance nucléaire. Nous avons déjà mentionné comment les interpréta Guarnieri en leur donnant le noms de „Cytorictes vaccinae“. Les travaux de contrôle, faits un peu partout, n'ont pas apporté, à cet égard, une confirmation unanime; et si les partisans de la théorie parasitaire furent nombreux il y en a eu aussi d'autres, qui par des arguments différents s'y opposèrent tenacement. L'historique de cette question est très connue pour qu'il soit nécessaire d'y insister. Il sera fait, néanmoins, mention dans un chapitre à part des travaux qui dans ces derniers temps avec quelque apparence de raison ont pu remettre une fois de plus sur le tapis, le problème étiologique de la vaccine.

Ces inclusions, appelées corpuscules de la vaccine, présentent une dimension variant ordinairement de 2 à 4 μ , rarement au dessus. Il en est aussi de toutes petites mesurant à peine de $\frac{1}{2}$ à 1 μ . Entre ces deux extrêmes, il se trouve naturellement, de tailles intermédiaires. Pro w a z e k (1905) croya attirer le premier l'attention sur ces formes menues, dont il donna une interprétation nouvelle, en leur prêtant un rôle étiologique. Ces corpuscules, qu'il appela „Initialkörper“, corpuscules initiaux, seraient d'après lui très nombreux dans les cellules, pendant les premières heures, qui suivent l'inoculation, et elles disparaîtraient au fur et à mesure que les corpuscules de la vaccine y deviendraient nombreux. En outre ces corpuscules initiaux se trouveraient parfois dans l'intérieur de celles de Guarnieri où à l'état frais, ils seraient même mobiles. En faisant des préparations en frottis sur lames avec le contenu d'une pustule cornéenne et en les colorant par la méthode de Giemsa, il aurait pu mettre en évidence leur présence dans les inclusions vaccinales, et y étudier minutieusement leur structure. C'est ainsi qu'il aurait observé aux extrémités des corpuscules initiaux quelques grains se colorant fortement, lesquels selon lui peuvent être

des spores. Par une série d'expériences il croit avoir démontré leur existence et leur nature (voir les figures de texte du second mémoire de cet auteur, 1906). Pour Prowazek les corpuscules initiaux «peuvent être le véhicule du virus». Une assertion assez vague qui n'affirme rien de précis, mais, comme on le verra plus loin, elle servira de point d'appui à sa théorie de Chlamydozoa.

Avant Prowazek, Gorini avait déjà observé (1901) ces corpuscules fins dans la cornée vaccinée du lapin, et constaté aussi qu'ils se comportaient vis-à-vis les colorants comme de la chromatine, d'où le nom de „chromatiner Staub“, poussière de chromatine qu'il leur donna. Il fit cependant l'hypothèse que ces granula pourraient être de nature bactérienne, et dès lors, se mit à réaliser leur culture. N'y ayant pas réussi, il abandonna la question, sans pouvoir se prononcer entre leur origine parasitaire ou pathologique. Néanmoins, étant lui le premier à signaler l'existence de ces toutes petites formes au début de l'infection de corpuscule de la vaccine — et pour nous il ne s'agit pas d'autre chose — nous sommes quelque peu surpris de ne trouver sur ce point aucune mention dans les travaux de Prowazek.

Tizzer aussi a vu et coloré ces grains de chromatine à l'intérieur des corpuscules de Guarneri; et comme il considère ces derniers comme de nature probablement parasitaire, il admet que ces grains soient des noyaux capables de se développer et de se diviser. Pour le savant américain les inclusions de la vaccine peuvent être des formes évolutives d'un germe vraisemblablement d'origine protozoaire. Il y a, comme on le voit, une grande contradiction entre les interprétations de Prowazek et de cet auteur, pour ce qui concerne la nature des inclusions et leurs grains. Pour le premier il n'y a que les grains intra- et extracorporeux qui puissent jouer un rôle étiologique, tandis que le second leur ajoute encore les corpuscules de Guarneri.

Les inclusions, petites ou grandes, sont situées dans le noyau, mais le plus souvent dans le protoplasma. Elles sont entourées d'une zone claire, qu'après bien des discussions, l'on n'y admet plus l'existence d'une lisérée protoplasmique, ou d'une membrane définie; cette zone est due incontestablement à l'action des fixateurs. L'aspect des inclusions est brillant et homogène comme une goutte d'une substance semiliquide; par la même aucune structure à relever à leur intérieur, si ce n'est quelques grains d'une substance rappelant la chromatine, mais plus dense, plus réfringente, se colorant d'un violet noir avec l'hématoxyline de Delafield. Ces grains ne sont pas très constants; on les trouve plutôt dans les corpuscules de Guarneri de petites et moyennes dimensions. Ils mesurent à peine quelques fractions d'un μ , et sont dispersés, à l'intérieur de ces derniers, irrégulièrement, sans aucun ordre (fig. 13, 14, 15, 16, 17, 18).

Les inclusions de la vaccine se distinguent des noyaux épithéliaux par leur colorabilité qui est intense, et par contre leur faible résistance à l'action des liquides décolorants; il faut les différencier progressivement et avec beaucoup de ménagement, si l'on veut voir les grains qu'elles contiennent. Par ces faits même on a l'impression qu'on est en présence d'une matière, étrangère à la cellule, ne présentant aucune analogie avec les corps organisés.

Quant à leur nature intime, tout le monde est d'accord de les considérer comme de la substance nucléaire: composée de plastine et

chromatine; cette dernière est en partie dissoute et en partie condensée en grains. Selon Prowazek cette chromatine ne serait pas identique à celle du noyau, mais elle serait quelque chose d'analogue: «chromatoïde».

Quelle est l'origine de ces corpuscules initiaux ou de Guarnieri? — Pour les partisans de la théorie parasitaire elle est naturellement la lymphe vaccinale, d'où de petites particules arrivées au sein des cellules épithéliales, subiraient un développement, et nous aurions alors, sous les yeux, leur forme définitive. Ceux qui, au contraire, les regardent comme de simples produits pathologiques, les font dériver soit du protoplasma (Hückel), soit du noyau (Gorini). Quant à nous, cette dernière façon de voir, nous paraît la plus réelle. Nous considérons ces corpuscules comme une élimination du noyau, produit sous l'action du virus ou de ses sécrétions toxiques. Il suffit de jeter un coup d'œil sur les figures 2, 3, 6, 13, 17, 18, 20, pour se rendre compte de leur mode de production et de leur origine nucléaire. La question qui nous occupe, se rattache d'ailleurs directement à cette autre, depuis longtemps connue, et résolue dans la biologie cellulaire: l'existence de la substance nucléaire amorphe, chromidium, au sein du protoplasma (R. Hertwig, Schaudinn, Goldschmidt). Les inclusions de la vaccine, celles de Gorini et Prowazek, ou celles de Guarnieri ne sont pour nous que des chromidiums produits dans des conditions pathologiques; nous devons donc l'appeler chromidium pathologique par opposé au chromidium physiologique, lui-même susceptible de se diviser en plusieurs groupes comme Schaudinn, Goldschmidt, Mesnil l'ont indiqué.

Y aurait-il entre ces deux chromidiums une différence matérielle, autant qu'entre leur définition? — Nous le prétendons, et c'est là la raison de la dénomination que nous venons d'adopter. En effet, tandis que le chromidium dans les cellules saines se teigne vivement par les colorants nucléaires, et les conserve tenacement vis-à-vis les agents décolorants, les inclusions de la vaccine montrent des qualités contraires, et en outre se caractérisent par une certaine métachromatie. Par exemple: avec azur elles sont d'un violet rougeâtre, alors que les noyaux restent franchement violet ou bleu violet; avec l'hématoxyline, elles donnent, après lavage prolongé, un bleu très clair, et avec violet de gentiane un violet très vif. Or, on sait, que ces deux dernières réactions colorantes sont propres à la plastine, autant qu'on peut se fier à elles au point de vue micro-chimique. La solution concentrée de chlorure de sodium les altère profondément, et la pepsine en milieu acide provoque une certaine digestion (Prowazek). Toutes ces considérations nous suggère l'idée que les productions pathologiques dont il s'agit, sont formées en majeure partie de la plastine — ce qui constitue une différence essentielle d'avec le chromidium physiologique — et d'une minime quantité de chromatine.

La présence dans une cellule du chromidium pathologique est l'indice de troubles nucléaires, que nous appellerons altérations chromidiales du noyau; et chromidiase des cellules pour désigner l'état général de ces dernières. Les recherches des dernières années, nous ont montré que la production des inclusions cellulaires n'est en somme qu'un phénomène assez répandu, assez banal, dans les maladies infectieuses. Il est à supposer, à priori, qu'il en soit de même dans les affections non parasitaires. Dans cet ordre d'idée l'auteur de la

théorie des Chlamydozoa paraît confondre la cause avec l'effet, en prenant pour virus ce qui est le résultat de son effet nocif (Initial-körper), tout pour ce qui concerne la vaccine, que les maladies similaires, variole, scarlatine, etc. Nous avons eu l'occasion d'examiner au microscope des préparations faites avec du produit pathologique du trachôme contagieux, colorées en bleu, et il nous a semblé que les granulations près nucléaires n'étaient pas du tout teintes; elles donnaient plutôt l'impression des grains irréguliers et sombres, rappelant les produits métaboliques des cellules.

* * *

Qu'est-ce qu'un Chlamydozoaire?

Nous avons dit que suivant Prowazek, c'est une série de grains, libres dans les cellules, ou en enclave dans les inclusions pathologiques (vaccine), observée dans les maladies suivantes: la scarlatine, la variole, le trachôme contagieux, le molluscum humain, l'épithélioma des oiseaux, la fièvre aphteuse etc. Toutes espèces d'affection caractérisées par des éruptions ou produits néoplasiques sur les muqueuses ou sur la peau. Par une curieuse coïncidence, pour aucune d'elles est reconnu un germe pathogène, morphologiquement défini. Ces grains, ces parasites, comme il a été dit, trouvent difficilement leur place dans le règne végétal, ni animal, mais en raison même de «leurs propriétés biologiques, leur développement intracellulaire, et enfin leur réaction vis-à-vis certaines substances, comme la bile par exemple, paraissent posséder quelque parenté avec les protozoaires». Ils sont d'ailleurs essentiellement caractérisés par les faits suivants:

Ils attaquent toujours les cellules, où se localisent et se multiplient — tout au moins au début (la vaccine) le trachôme, l'épithélioma des oiseaux, molluscum humain etc.; parfois, ils occupent aussi les espaces intercellulaires (scarlatine, trachôme, variole). Ils produisent des inclusions cellulaires qui sont des produits de réaction spécifique à caractères communs. Ces inclusions s'altèrent facilement au contact de la solution saturée de chlorure de sodium; elles sont homogènes, hyalines dépourvues de structure, et ne pouvant nullement être interprété ni comme des parasites protozoaires ni comme une forme quelconque de leur développement. Les Chlamydozoa passent à travers les filtres, car ils sont de très petite dimension, et pour cette raison ils échappent à notre vue. Cependant il y en a qui à certaines périodes de leur développement sont visibles, ou on peut les rendre visibles. Morphologiquement il est difficile de les distinguer les uns des autres, comme c'est le cas, par exemple, pour le bacille tuberculeux et lépreux. Ils se nourrissent directement par la substance nucléaire, sans lui faire subir la moindre préparation antérieure. Ils se colorent comme de la chromatine et possèdent la mutabilité des parasites.

* * *

Les corpuscules initiaux sont-ils des Chlamydozoa?

Dans les pages précédentes nous avons fait connaître notre façon d'interpréter les corpuscules de Prowazek, et nous avons dit que morphologiquement il était impossible de les différencier des corpuscules de Guarnieri, tous les deux ayant les mêmes aspects, les mêmes réactions colorantes, enfin les mêmes dispositions intra- ou extra-

nucléaires. Donc il est rationnel de considérer pour eux une même et unique nature, une même et unique origine. Le critérium dont ils se sont servi soit Gorini, soit Prowazek pour les séparer en deux groupes, est la différence de volume: On le voit, cette division est purement arbitraire, car, entre les inclusions de dimensions extrêmes il y en a toute une série de tailles intermédiaires. D'un autre côté on a admis que les corpuscules de Guarnieri sont capables de s'accroître. Pourquoi ne l'admettrions-nous pas pour les corpuscules initiaux? Notre avis est que, ces deux inclusions une fois formées n'augmentent plus de volume; tout au plus, en se soudant entre elles donnent naissance à de plus grandes. On a prétendu aussi que les inclusions à forme de poussière sont seul présentes au début de l'infection et que dans la suite, elles disparaissent totalement. Ceci n'est vrai qu'en partie. Si elles sont les premières à apparaître, c'est parce que d'abord les noyaux n'étant que peu altérés donnent lieu à l'élimination de chromidium en forme de petites particules, qui plus tard, en se fusionnant entre elles, vont constituer les grosses inclusions. Mais à chaque période du processus vaccinal on peut trouver les corpuscules initiaux dans les cellules épithéliales à côté des corpuscules de Guarnieri (fig. 11, 12). Nous disons donc, qu'entre ceux-là et ceux-ci il n'y a lieu d'établir aucune différence fondamentale, et qu'on doit plutôt envisager, les uns comme les autres, comme des produits réactionnels, hautement spécifiés des éléments épithéliaux contre le virus de la vaccine. Rappelons aussi que Prowazek admet être des corpuscules initiaux les grains brillants et mobiles, observés par lui à l'état frais dans les corpuscules de Guarnieri. Ces grains sont, sans aucun doute, par rapport aux premiers, de taille et de nature infiniment différente. Dans ce cas lesquels de ces deux éléments seraient-ils des Chlamydozoa? Prowazek a décrit encore des points fortement colorés à l'intérieur des corpuscules initiaux (spores?), et ceux-là sont-ils aussi des Chlamydozoa? — On comprendra qu'en présence de tant d'objets dissemblables, mais tous, néanmoins, considérés comme éléments parasitaires, on ait quelques embarras à s'orienter.

Les Chlamydozoa, dit l'auteur, sont constitués de chromatine, et se nourrissent de chromatine. Il est difficile d'admettre qu'un grain constitué uniquement de cette dernière, puisse posséder les propriétés indispensables à la vie d'un être organisé. Ce pourquoi nous déclarons que les grains intracorporeux de la vaccine n'ont aucun des caractères des êtres vivants, et que, d'autre part, les corpuscules initiaux, composés de plastine et chromatine, sont plutôt des inclusions cellulaires que des Chlamydozoa, c'est à dire, des êtres vivants.

* * *

Avant de finir, disons deux mots d'un travail de E. Tizzer (1904) sur l'étiologie et la pathologie de la vaccine. Cet auteur ayant particulièrement étudié la formation des corpuscules de Guarnieri dans la cornée des lapins prétend avoir trouvé dans les cellules épithéliales, des formes qui ressemblent beaucoup aux différentes périodes évolutives des protozoaires parasites. Son travail ayant été fait avec la nouvelle technique, à l'encontre des travaux antérieurs, il est intéressant de le résumer, ici, brièvement.

Tizzer dit avoir vu dans la cornée, déjà 16 heures après la vaccination, se former de petits corpuscules de Guarnieri, parfois très nombreux, qui grandissaient dans la suite. Ce sont là des grains (corpuscules centraux de Prowazek?) que l'auteur tient, avec raison d'ailleurs, pour des formes très petites de corpuscules de la vaccine. Au bout de 1 à 2 jours ces derniers deviennent très grands, présentent une structure protoplasmique (?) et à leur centre un grain, se colorant comme de la substance nucléaire. Bientôt ce point central s'élargit et laisse voir qu'il est divisé en plus petits grains, rassemblés en amas, lesquelles se disséminant dans les parties périphériques des corpuscules de Guarnieri, lui donnent un aspect mûriforme, rappelant la segmentation chez les protozoaires. Cette segmentation se fait d'ailleurs sans plus tarder, et donne naissance à des cellules-filles très petites. Ces dernières éparpillées dans la cellule, consistent d'un petit grain entouré d'un peu de protoplasma, tel qu'on le trouve en nombre au début de l'infection.

Des faits précédents nous ne pouvons confirmer que les suivants: Il y a, en effet, dans les cellules épithéliales de la cornée vaccinée du lapin, 1° des petits grains qui ne diffèrent en aucune manière, et par leur aspect et par leur colorabilité des corpuscules de Guarnieri; 2° ces derniers contiennent très souvent des grains que les colorants basiques peuvent les mettre en évidence. D'après Tizzer il s'agirait ici, très probablement, d'un parasite ressemblant aux protozoaires, et jouant un rôle étiologique. Il y a là, pensons-nous, une interprétation qui n'est conforme à la réalité.

Qu'il nous soit permis de présenter nos sincères remerciements au Prof. Geheimrat Dr. R. Hertwig pour l'autorisation qu'il nous a accordée de travailler dans son laboratoire, et des facilités que nous y avons trouvées pour réaliser le présent travail.

Munich, Mars 1908.

Bibliographie.

Nous donnons ici les indications bibliographiques des travaux dont il est question dans le nôtre; pour plus d'information consulter les travaux antérieurs et le traité de bactériologie de Kollé et Wassermann.

- Gorini, Ueber die bei der mit Vaccine ausgeführten Hornhautimpfung vorkommenden Zelleinschlüsse etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900. No. 8 u. 9.)
 — —, Ueber die bei den Hornhautvaccineherden vorkommenden Zelleinschlüsse. (Ibid. Bd. XXIX. No. 14.)
 — —, La même question. (Ibid. Bd. XXXII. 1903. No. 2 u. 3.)
 Bosc (F. J.), Les maladies bryocytiques. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVI. No. 4. u. 5.)
 Ewing, J., The structure of vaccine bodies in polator cells. (Journ. of med. Research. Vol. XIII. 1905.)
 Tizzer, E., The etiology and pathology of vaccina. (The Journ. of med. Research. Vol. XI. No. 1.)
 Prowazek, S., Untersuchungen über die Vaccine. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XXII. 1905. Heft 3.)
 — —, Untersuchungen über den Erreger der Vaccine. (Ibid. Bd. XXIII. 1906. Heft 2.)
 — —, Chlamydozoa. (Arch. f. Protistenk. 1907.)

Explication des figures.

Les figures suivantes ont été dessinées par l'app. de Zeiss, avec oc. 6, et immersion 2 apochromatique, des coupes de la cornée vaccinée.

Fig. 1, 2, 3, 4. Corpuscules de Guarnieri de différentes dimensions, dans les cellules épithéliales. Hématoxyline.

Fig. 5. Noyau en chromatolyse, simulant un corpuscule de Guarnieri, avec une grosse boule de chromatine au centre; à côté un corpuscule de Guarnieri atypique, inclus dans une portion de protoplasma et simulant un parasite. Azur-éosine.

Fig. 6. Corpuscules de Guarnieri en formation à l'intérieur du noyau; un petit corpuscule initial accolé à ce dernier. Hématoxyline.

Fig. 7, 8, 9. Cellules en sphacèle protoplasmique; en 8 un gros corpuscule de Guarnieri, entouré d'une liserée protoplasmique, appartenant à la cellule. Azur-éosine.

Fig. 10. Cellule épithéliale présentant une plaque sphacellaire en état hydropique; deux vacuoles; un petit corpuscule de Guarnieri et deux corpuscules initiaux. Hématoxyline.

Fig. 11. Cellule basale hydropique contenant inclusions vaccinales de toutes les dimensions (corpuscules de Guarnieri et initiaux), entourées quelques-unes de vacuoles. Hématoxyline.

Fig. 12. Comme la précédente, avec en plus deux plaques sphacellaires. Azur-éosine.

Fig. 13, 14, 15, 16, 17, 18. Cellules épithéliales contenant des corpuscules de Guarnieri avec des grains de chromatine; quelques-uns sont fixés par des filaments nucléaires et protoplasmiques aux points où ils se trouvent. Hématoxyline.

Fig. 19. Différentes formes de corpuscules de Guarnieri, parsemés de grains. Hématoxyline.

Fig. 20. Un corpuscule de Guarnieri avec grains, en voie d'être expulsé par le noyau. Hématoxyline.

Nachdruck verboten.

Ueber die lyssizide und immunisierende Wirkung der Cerebrospinalflüssigkeit gesunder, wutkranker und immunisierter Tiere.

[Hygienisches Institut der Königl. Universität Sassari.]

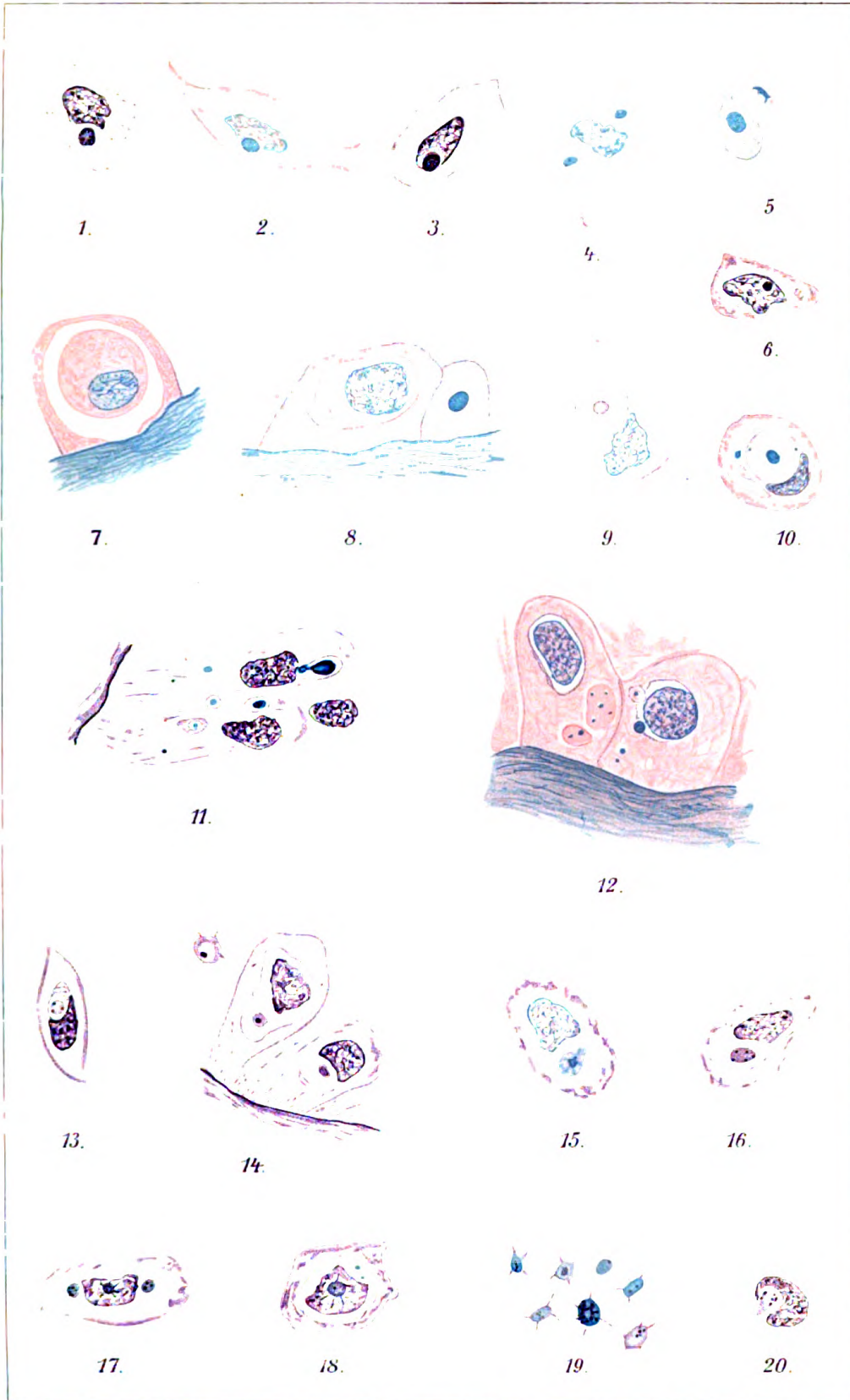
Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. Claudio Fermi.

A. Ueber die lyssizide Wirkung der Cerebrospinalflüssigkeit.

In einer früheren Arbeit hatte ich den Nachweis erbracht, daß die Cerebrospinalflüssigkeit von Tieren, die an Tollwut verendet sind, jeder infizierenden Wirkung entbehrt¹⁾. Diese Tatsache, sowie jene, daß nach den Angaben einiger Autoren die Cerebrospinalflüssigkeit eine gewisse bakterientötende Wirkung besitze, veranlaßte mich, zu versuchen, ob die Cerebrospinalflüssigkeit eine lyssizide Wirkung besitze.

1) Es ist merkwürdig, daß, nachdem ich durch eine lange Reihe von Versuchen und an 50 Tieren die Cerebrospinalflüssigkeit von an fixem wie an Straßenvirus gestorbenen Tieren stets avirulent bewiesen habe, França infolge eines einzigen mit der menschlichen Cerebrospinalflüssigkeit erhaltenen positiven Falles das Gegenteil behaupten und sogar die Virulenz der Cerebrospinalflüssigkeit als ein bequemes diagnostisches Mittel bei der menschlichen Lyssa verwerten wollte.



Elmassian qez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith Anst. Johannes Arndt, Jena.

In dieser ersten vorläufigen Note teile ich einige diesbezüglich unternommene Versuche mit, indem ich mir vorbehalte, später auf die Frage zurückzukommen.

Da nun diese wuttötende Wirkung der Cerebrospinalflüssigkeit, angenommen, daß sie existiert, nur eine sehr schwache sein konnte, so versuchte ich sie in sehr verdünnten, aber immerhin sicher tödlichen Emulsionen von fixem Virus, wie z. B. von 1:5000 — 10000 — 20000 — 30000 — 40000 — 50000. Zu diesem Zwecke mischte ich in einem Glase 1 ccm Cerebrospinalflüssigkeit mit 1 ccm der verschiedenen Verdünnungen von fixem Virus, brachte die Mischung 24 Stunden lang in eine Temperatur von 20° und untersuchte dann die Virulenz derselben, indem ich sie Mäusen subkutan und Kaninchen subdural einspritzte.

Die Kontrollversuche wurden in gleicher Weise vorgenommen, nur daß die Cerebrospinalflüssigkeit durch 1 ccm physiologischer Lösung ersetzt wurde. Die zu diesem Zwecke unternommenen Versuche waren:

I. Cerebrospinalflüssigkeit von einem gesunden Hunde.

Versuch 1. 11. April 1907. 2 schwarze Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung aus gleichen Teilen von Cerebrospinalflüssigkeit vom gesunden Hunde und Emulsion von fixem Virus 1:5000.

Die Mischung blieb 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20°.

Resultat: Die beiden Mäuse wiesen am 17. April 9 Uhr vorm. Lähmung auf und starben am selben Tage an Wut.

Versuch 2. 11. April 1907. 2 schwarze Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung wie oben, nur mit dem Unterschiede, daß die Emulsion von fixem Virus 1:10000 war.

Resultat: Die Tiere blieben am Leben.

Versuch 3. 11. April 1907. 2 schwarze Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung wie oben, nur mit dem Unterschiede, daß die Emulsion von fixem Virus 1:20000 war.

Resultat: Die Tiere blieben am Leben.

Kontrollversuch. 2 weiße Mäuse erhalten $\frac{1}{4}$ ccm einer Emulsion von fixem Virus 1:50000.

Resultat: Eine Maus zeigt am 14. Sept., 8 Uhr vorm. Lähmung und verendet am 15. April vorm. 10 Uhr; die andere zeigt am 15. April 6 Uhr abends Lähmung und stirbt am 16. vorm. 8 $\frac{1}{2}$ Uhr.

Schlußfolgerung.

Die Cerebrospinalflüssigkeit vom normalen Hunde wäre also fähig gewesen, die gleiche Menge von fixem Virus 1:1000 zu neutralisieren.

II. Cerebrospinalflüssigkeit von einem wutkranken Hunde (fixes Virus).

Erste Versuchsreihe.

Versuch 1. 24. Nov. 1907. 2 weißen Mäusen wird subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung aus Cerebrospinalflüssigkeit eines wutkranken Hundes (fixes Virus) und Emulsion von fixem Virus 1:5000 zu gleichen Teilen, und zwar 1 ccm von jedem, eingespritzt.

Die Mischung war 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20° gehalten worden.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 2. 24. Nov. 1907. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus Cerebrospinalflüssigkeit eines wutkranken Hundes (fixes Virus), und einer Emulsion von fixem Virus 1:20000, aus gleichen Teilen, nämlich 1 ccm von jedem bestehenden Mischung.

Die Mischung blieb 24 Stunden lang bei einer Temperatur von 20°.

Resultat: Eine der Mäuse wird am 7. Dezember, also nach 14 Tagen, tot aufgefunden. Die beiden anderen bleiben am Leben.

Versuch 3. 24. Nov. 1907. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus gleichen Teilen, nämlich 1 ccm, Cerebrospinalflüssigkeit vom wutkranken Hunde (fixes Virus) und einer Emulsion von fixem Virus zu 1:30000 bestehenden Mischung.

Die Mischung blieb 24 Stunden in einer Temperatur von 20°.

Resultat: Alle Tiere bleiben am Leben.

Kontrollversuch. 24. Nov. 1907. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Emulsion von fixem Virus 1:50000.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 6. Dezember 7 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 7. vorm. 7 Uhr.

Zweite Versuchsreihe.

Versuch 31. März 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus Cerebrospinalflüssigkeit eines wutkranken Hundes (fixes Virus) und einer Emulsion von fixem Virus 1:5000, aus gleichen Teilen, à 1 ccm bestehenden Mischung. Diese Mischung wurde sofort nach der Bereitung eingespritzt.

Resultat: Die Tiere überleben.

Versuche 31. März 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus Cerebrospinalflüssigkeit eines wutkranken Hundes (fixes Virus) und einer Emulsion von fixem Virus 1:5000 zu gleichen Teilen, à 1 ccm, bestehenden Mischung. Diese Mischung blieb 24 Stunden lang bei einer Temperatur von 20°.

Resultat: Die Tiere überleben.

Versuche 31. März 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus Cerebrospinalflüssigkeit eines wutkranken Hundes (fixes Virus) und einer Emulsion von fixem Virus 1:10000 zu gleichen Teilen, à 1 ccm, bestehenden Mischung. Diese Mischung wurde sofort nach der Bereitung eingespritzt.

Resultat: Die Tiere überleben.

Versuche 31. März 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus Cerebrospinalflüssigkeit eines wutkranken Hundes (fixes Virus) und einer Emulsion von fixem Virus 1:10000 zu gleichen Teilen, à 1 ccm, bestehenden Mischung. Diese Mischung blieb 24 Stunden lang bei einer Temperatur von 20°.

Resultat: Die Tiere überleben.

Dritte Versuchsreihe.

Da man einwenden könnte, daß das fixe Virus durch die Cerebrospinalflüssigkeit bloß seine Virulenz auf subkutanem Wege verloren hätte, so wiederholte ich die Versuche, indem ich die Mischung subdural an Kaninchen prüfte.

Versuch 1. 16. Mai 1908. 1 Kaninchen erhält subdural $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung aus gleichen Teilen von Cerebrospinalflüssigkeit eines wutkranken Hundes (fixes Virus) und Emulsion von fixem Virus 1:5000.

Die Mischung blieb 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20°.

Resultat: Das Tier blieb am Leben.

Versuch 2. 16. Mai 1908. 1 Kaninchen erhält subdural $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung aus gleichen Teilen von Cerebrospinalflüssigkeit eines wutkranken Hundes (fixes Virus) und Emulsion von fixem Virus 1:10000.

Die Mischung blieb 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20°.

Resultat: Das Tier überlebte.

Kontrollversuch. 16. Mai 1908. 1 Kaninchen erhält subdural $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung aus gleichen Teilen von physiologischer Lösung und Emulsion von fixem Virus 1:10000.

Die Mischung blieb 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20°.

Resultat: Das Tier zeigt am 19. Mai 4 Uhr nachm. Lähmung und verendet am 21. Mai 7 Uhr vorm.

Schlußfolgerung.

Die Cerebrospinalflüssigkeit von einem wutkranken Hunde wäre also fähig, die gleiche Menge Emulsion von fixem Virus 1:5000 zu neutralisieren.

III. Cerebrospinalflüssigkeit einer wutkranken Katze (fixes Virus).

Versuch 31. März 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus Cerebrospinalflüssigkeit einer wutkranken Katze (fixes Virus) und einer Emulsion von fixem Virus zu 1:5000 zu gleichen Teilen, à 1 ccm, bestehenden Mischung. Diese Mischung wurde sofort nach der Bereitung eingespritzt.

Resultat: Die Tiere überleben.

Versuch 31. März 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus Cerebrospinalflüssigkeit einer wutkranken Katze (fixes Virus) und einer Emulsion von fixem Virus zu 1:5000 zu gleichen Teilen, à 1 ccm, bestehenden Mischung. Diese Mischung blieb 24 Stunden lang bei einer Temperatur von 20°.

Resultat: Die Tiere überleben.

Versuch 31. März 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus Cerebrospinalflüssigkeit einer wutkranken Katze (fixes Virus) und einer Emulsion von fixem Virus zu 1:10000 zu gleichen Teilen, à 1 ccm, bestehenden Mischung. Diese Mischung wurde sofort nach der Bereitung eingespritzt.

Resultat: Die Tiere überleben.

Versuche 31. März 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus Cerebrospinalflüssigkeit einer wutkranken Katze (fixes Virus) und einer Emulsion von fixem Virus 1:10000 zu gleichen Teilen, à 1 ccm, bestehenden Mischung. Diese Mischung blieb 24 Stunden lang bei einer Temperatur von 20°.

Resultat: Die Tiere überleben.

Schlußfolgerung.

Die Cerebrospinalflüssigkeit der wutkranken Katze wäre also fähig, die gleiche Menge Emulsion von fixem Virus 1:5000 zu neutralisieren.

IV. Cerebrospinalflüssigkeit eines mit normaler Nervensubstanz immunisierten Hundes.

Versuch 1. 14. Jan. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan jede $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung aus gleichen Teilen (1 ccm pro Sorte) Cerebrospinalflüssigkeit von einem immunisierten Hundes und einer Emulsion von fixem Virus 1:1000. Die Mischung war 24 Stunden bei 20° aufbewahrt worden.

Resultat: 1 der Tiere weist am 22. um $\frac{1}{2}$ 9 Uhr abends Lähmung auf und verendet am 23. um $\frac{1}{2}$ 8 Uhr vorm. Das andere weist am 23. Januar vorm. 7 Uhr Lähmung auf und stirbt am selben Tage um 7 Uhr nachm.

Versuch 2. 18. Jan. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan jede $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung zu gleichen Teilen (à 1 ccm) Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Hundes und einer Emulsion von fixem Virus 1:5000. Die Mischung war 24 Stunden lang bei einer Temperatur von 20° aufbewahrt worden.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 3. 18. Jan. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan jede $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung zu gleichen Teilen (1 ccm pro parte) Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Hundes und einer Emulsion von fixem Virus 1:10000. Die Mischung war 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20° aufbewahrt worden.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 4. 18. Jan. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan jede $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung zu gleichen Teilen (1 ccm von jedem) Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Hundes und einer Emulsion von fixem Virus 1:15000. Die Mischung war 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20° aufbewahrt worden.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 5. 18. Jan. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan jede $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung zu gleichen Teilen (1 ccm von jedem) Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Hundes und einer Emulsion von fixem Virus 1:50000. Die Mischung war 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20° aufbewahrt worden.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Kontrollversuch. 2 weiße Mäuse werden mit $\frac{1}{4}$ ccm einer Emulsion von fixem Virus in der größten noch tödlichen Verdünnung infiziert.

Resultat: 1 der Tiere wird 3 Tage nach der Infektion tot aufgefunden, das andere zeigt am 21. Jan. 7 Uhr vorm. Lähmung und stirbt am 26. Jan. um 7 Uhr vorm.

Man kann daraus den Schluß ziehen, daß die Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Hundes die gleiche Menge einer Emulsion von fixem Virus von 1:5000 neutralisiert hat.

V. Cerebrospinalflüssigkeit eines mit normaler Nervensubstanz immunisierten Kaninchens.

Versuch 1. 18. März 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan jede $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung zu gleichen Teilen (1 ccm pro Substanz) Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Kaninchens und einer Emulsion von fixem Virus 1:1000. Die Mischung wurde 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20° gehalten.

Resultat: 1 der Tiere wies am 23. Jan. gegen 7 Uhr vorm. Lähmung auf und starb um 7 Uhr nachm. Das andere weist am selben Tage um 7 Uhr nachm. Lähmung auf und verendet am 27. Jan. um 7 Uhr vorm.

Versuch 2. 18. Jan. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan jede $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung zu gleichen Teilen (1 ccm pro Sorte) Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Kaninchens und einer Emulsion von fixem Virus 1:10000. Die Mischung wurde 24 Stunden bei einer Temperatur von 20° gehalten.

Resultat: 1 der Tiere wird nach 3 Tagen ohne bekannte Ursache tot aufgefunden.

Versuch 3. 1. Jan. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung aus gleichen Teilen (1 ccm pro Teil) Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Kaninchens und einer Emulsion von fixem Virus 1:10000. Die Mischung war 24 Stunden in einer Temperatur von 20° geblieben.

Resultat: Die Tiere blieben am Leben.

Folglich hätte die Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Kaninchens, wie die eines Hundes, eine Emulsion von fixem Virus von 1:5000 neutralisiert.

VI. Cerebrospinalflüssigkeit von einem immunisierten Esel.

Erste Versuchsreihe.

Versuch 1. 10. Dez. 1907. 3 schwarze Mäuse erhalten subkutan jede $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung von Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Esels und einer Emulsion von fixem Virus 1:5000 zu gleichen Teilen, und zwar 1 ccm pro Sorte.

Die Mischung war 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20° geblieben.

Resultat: Alle Tiere sterben nach 2 Tagen, wahrscheinlich infolge eines noch unbekanntes Krankheitserzeugers in der in Rede stehenden Flüssigkeit.

Versuch 2. 10. Dez. 1907. 3 schwarze Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Esels und einer Emulsion von fixem Virus 1:10000, zu gleichen Teilen, und zwar 1 ccm von jeder Substanz.

Die Mischung wurde 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20° aufbewahrt.

Resultat: Sämtliche Tiere sterben nach 2 Tagen, wahrscheinlich infolge einer besonderen toxischen Wirkung der in Rede stehenden Flüssigkeit.

Versuch 3. 10. Dez. 1907. 3 schwarze Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Esels und einer Emulsion von fixem Virus 1:20000, zu gleichen Teilen, nämlich 1 ccm pro Substanz.

Die Mischung wurde 24 Stunden in einer Temperatur von 20° aufbewahrt.

Resultat: 2 Mäuse sterben nach 2 Tagen, die 3. nach 3 Tagen infolge derselben Ursache.

Versuch 4. 10. Dez. 1907. 3 schwarze Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Esels und einer Emulsion von fixem Virus 1:30000, zu gleichen Teilen, nämlich à 1 ccm.

Die Mischung wurde 24 Stunden lang in einer Temperatur von 20° aufbewahrt.

Resultat: Eine Maus verendet nach 2 Tagen, immer wahrscheinlich infolge der Intoxikation, und die beiden anderen bleiben am Leben.

Kontrollversuch. 10. Dez. 1907. 2 schwarze Mäuse werden mit fixem Virus 1:40000 subkutan infiziert.

Resultat: Die Tiere weisen am 17. Dez. vorm. 7 Uhr Lähmung auf und sterben am 18. Jan. vorm. 7 Uhr.

B. Ueber die antirabische immunisierende Wirkung der Cerebrospinalflüssigkeit eines stark immunisierten Esels.

Nachdem ich in der Cerebrospinalflüssigkeit von gesunden und wutkranken Hunden eine gewisse wuttötende Wirkung nachgewiesen hatte, wollte ich mich überzeugen, ob die Cerebrospinalflüssigkeit immunisierter Tiere auch immunisierende Wirkung besäße.

Zu diesem Zwecke versuchte ich die immunisierende Wirkung der Cerebrospinalflüssigkeit zweier stark immunisierter Esel, deren Serum mir alle 2 Tage vor der Serumeinspritzung mit fixem Virus infizierte Muriden rettete, d. h. 3—4 Tage vor dem Zeitraume, in welchem sie an der Tollwut zugrunde gehen müssen.

Die zu diesem Zwecke angestellten Versuche sind:

Zweite Versuchsreihe.

Versuch 1. 4. Febr. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus gleichen Teilen (\AA 1 ccm) bestehenden Mischung von Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Esels und einer Emulsion von fixem Virus 1:1000. Die Mischung blieb 24 Stunden in einer Temperatur von 20°.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 2. 4. Febr. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus gleichen Teilen (\AA 1 ccm) bestehenden Mischung von Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Esels und einer Emulsion von fixem Virus 1:5000. Die Mischung blieb 24 Stunden in einer Temperatur von 20°.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 3. 5. Febr. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung zu gleichen Teilen (\AA 1 ccm) von Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Esels und einer Emulsion von fixem Virus 1:10000. Die Mischung wird sofort nach der Zubereitung eingespritzt.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 4. 5. Febr. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus gleichen Teilen (\AA 1 ccm) bestehenden Mischung Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Esels und einer Emulsion von fixem Virus 1:10000. Die Mischung blieb 5 Stunden in einer Temperatur von 20°.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 5. 6. Febr. 1908. 2 weiße Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus gleichen Teilen (\AA 1 ccm) bestehenden Mischung von Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Esels und einer Emulsion von fixem Virus 1:10000. Die Mischung blieb 12 Stunden in einer Temperatur von 20°.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Schlußfolgerung.

Die Cerebrospinalflüssigkeit des immunisierten Esels ist fähig, in vitro das fixe Virus nicht nur in der Verdünnung von 1:5000, sondern auch 1:1000 zu neutralisieren; folglich überträfe diese Flüssigkeit jene von gesunden und wutkranken Tieren, ja sogar die von immunisierten Hunden und Kaninchen.

Versuch 9. Dez. 1907. 5 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 5 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, \AA $\frac{1}{4}$ ccm, Cerebrospinalflüssigkeit eines stark immunisierten Esels.

Resultat: Die 5 Tiere weisen am 14. Dez. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 15. Dez. um 1 Uhr nachm. Man hatte somit eine Sterblichkeit von 100 Proz. ohne irgend eine Verspätung.

Die Cerebrospinalflüssigkeit eines immunisierten Esels besitzt folglich keine wahrnehmbare immunisierende Wirkung gegen die subkutane Infektion mit fixem Virus.

Da es nun viel leichter ist, gegen das Straßenvirus als gegen das fixe Virus zu immunisieren, so versuchte ich dieselbe Cerebrospinalflüssigkeit auch an mit Straßenvirus infizierten Tieren.

Versuch 9. Dez. 1907. 5 schwarze, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 5 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von $\frac{1}{4}$ ccm jede von Cerebrospinalflüssigkeit wie oben.

Resultat: Eines der Tiere wird nach 2 Tagen infolge unbekannter Ursache tot aufgefunden. 3 andere weisen am 18. Dez. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 19. um 7 Uhr vorm. Die beiden anderen weisen am 19. Dez. 1 Uhr vorm. Paralyse auf und verenden am 20. Dez. 7 Uhr vorm.

Kontrollversuch 9. Dez. 1907. 2 schwarze Mäuse werden subkutan mit Straßenvirus aus dem vorhergehenden Versuche infiziert.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 18. Dez. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden am 19. Dez. 7 Uhr vorm.

Schlußfolgerungen.

Aus den bezüglich der lyssiziden und immunisierenden Wirkung der Cerebrospinalflüssigkeit nicht nur wutkranker und immunisierter, sondern auch gesunder Tiere angestellten Versuchen ergibt sich folgendes:

1) Daß die Cerebrospinalflüssigkeit von Hunden, Katzen und Eseln sicher eine ziemlich starke lyssizide Wirkung besitzt.

2) Daß sich diese lyssizide Wirkung nicht nur in der Cerebrospinalflüssigkeit von wutkranken oder immunisierten, sondern auch von gesunden Tieren findet.

3) Daß die Cerebrospinalflüssigkeit von immunisierten Tieren (Esel) stärker wuttötend wirkt.

4) Daß die Cerebrospinalflüssigkeit von selbst stark gegen die Wut immunisierten Tieren der immunisierenden Wirkung nicht nur gegen das fixe Virus, sondern auch gegen das Straßenvirus beraubt ist.

5) Da die Cerebrospinalflüssigkeit immunisierter Tiere die immunisierende Kraft verloren hat und auch ihre lyssizide Wirkung sehr wenig die lyssizide Wirkung der Cerebrospinalflüssigkeit gesunder Tiere übertrifft, so ergibt sich, daß vielleicht wuttötende und das Serum immunisierende Substanzen nicht in die Cerebrospinalflüssigkeit übergehen. Diese Tatsache würde mit den diesbezüglichen Erfahrungen übereinstimmen. Die Hirnhäute werden in der Tat als für die Agglutination undurchdringlich betrachtet (Sicard-Vidal), für die bakterientötenden Substanzen (Vidal, Sicard, Corsini), für die bakteriolytischen Substanzen (Corsini) und ebenfalls für Jod (Satta und Sannucci).

Nachdruck verboten.

Ueber die Typhusantigene und ihre Antikörper.

[Aus dem Institute für Hygiene und Bakteriologie zu Straßburg i. Els.
(Direktor: Prof. Dr. J. Forster).]

Von Dr. **Walter Gaechtens.**

Die Bedeutung, welche die Bakteriologie für die Diagnose vieler Infektionskrankheiten durch die Entdeckung der spezifischen Erreger gewonnen hatte, erfuhr eine wesentliche Steigerung, als es gelang, auch die bei der Infektion im Organismus hervorgerufenen Antikörper im Blute der Patienten nachzuweisen. Hauptsächlich die Gruberschen Agglutinine, deren praktische Verwendbarkeit am Krankenbette zuerst von Widal (1) dargetan wurde, sowie ferner die Bakteriolyse von R. Pfeiffer haben die bakteriologische Diagnostik in der Tat zu einem unentbehrlichen Hilfsmittel für den Kliniker gemacht. Im Gegensatze hierzu sind die Zerfalls- und Stoffwechselprodukte der Bakterien, die Antigene, bis vor kurzer Zeit für diagnostische Zwecke nicht verwertet worden, obwohl ihr Nachweis sowohl theoretisch als auch praktisch von Wichtigkeit erscheinen mußte. Die Antigene bedingen erst die Entstehung der Antikörper, müssen also vor diesen im infizierten Organismus auftreten und sich auch möglicherweise nachweisen lassen. Von dieser Annahme ausgehend, konnte nun tatsächlich Fernet (2) in dem aus dem Blute von Typhuspatienten gewonnenen Serum bereits in den ersten Krankheitstagen, wo die Gruber-Widalsche Reaktion noch negativ ausfiel, die Anwesenheit von Typhuspräzipitinogenen, welche die Bildung der Präzipitine veranlassen, feststellen. Wurde ein derartiges Patientenserum mit einem Typhusimmenserum zusammengebracht, so entstand nach mehrstündigem Aufenthalt im Thermostaten infolge der Vereinigung von Präzipitinogen und Präzipitin eine deutliche Trübung (Präzipitat), welche regelmäßig vermisst wurde, wenn dasselbe Serum oder das Immenserum mit einem Normalserum gemischt wurde. Fernet ging nun noch weiter, indem er dasselbe Prinzip auch bei Infektionskrankheiten, deren spezifische Erreger zu züchten noch nicht gelungen ist, anzuwenden versuchte. Es wurden Sera aus frühen und späten Stadien ein und derselben Krankheit, von denen erstere vermutlich das Präzipitinogen, letztere das Präzipitin enthielten, in der gleichen Weise zusammengebracht und auch hier das Auftreten von spezifischen Niederschlägen beobachtet. Mit Hilfe dieser Präzipitatreaktion gelang es Fernet und seinen Mitarbeitern (3, 4), sowohl bei Syphilis und Paralyse als auch bei Scharlach und Masern die klinische Diagnose zu bestätigen resp. sicherzustellen.

Nachdem sich dergestalt der Nachweis des Präzipitinogens als möglich erwiesen hatte, mußte es weiter sowohl in theoretischer als auch in praktischer Hinsicht von Interesse sein, Aufschlüsse auch über das Schicksal der anderen Bakterienantigene im frisch infizierten Organismus zu erhalten. Insbesondere für das Agglutinogen, das Antigen des Agglutinins, welchem von den bakteriellen Antikörpern für diagnostische Zwecke wohl unstreitig die größte Bedeutung zukommt, schienen mir derartige Untersuchungen aussichtsreich und wünschenswert

zu sein. Zwar hätte ein solcher Versuch, nachdem einmal der Nachweis des Präzipitinogens Fornet gelungen und in der Folge auch von Meyer (5) bestätigt worden war, zwecklos erscheinen können angesichts der besonders von Kraus, dem Entdecker der spezifischen Niederschläge (6), behaupteten Identität von Präzipitinogen und Agglutinogen einerseits und Präzipitin und Agglutinin andererseits. Indessen stehen wir hier vor einer alten, noch nicht definitiv gelösten Streitfrage, welche eine Durchsicht und eventuelle Nachprüfung der bisherigen Beobachtungen notwendig machte.

Den dualistischen Standpunkt, welcher die Verschiedenheit von Agglutinin und Präzipitin gegenüber Kraus und seinen Mitarbeitern betonte, vertrat als erster Radzievsky (7). Er ging von der Uebersetzung aus, daß, wenn das Präzipitat in der Tat die Vereinigung zwischen agglutinierender und agglutinabler Substanz darstellt, das über dem Bodensatz im klaren Teile der Flüssigkeit in Lösung befindliche Serum ganz oder teilweise seine Agglutinationseigenschaften verlieren müßte. Radzievsky brachte das Filtrat einer 5 Wochen alten Coli-Bouillonkultur mit Coli-Immunserum zusammen und prüfte darauf die über dem nach 24 Stunden reichlich entstandenen Niederschlag befindliche klare Flüssigkeit gegenüber einem frischen Coli-Stamm. Es zeigte sich nun, daß die Agglutinationseigenschaften des mit Filtrat vorbehandelten Serums nicht verloren gegangen waren, die Reaktion aber verlangsamt eintrat. Die Bildung der Bodensätze, folgerte Radzievsky, geschieht also nicht auf Kosten der Agglutinationssubstanzen der Sera.

Ebenso konnte Bail (8) mit Hilfe der Absorptionsmethode, jedoch ohne genügende Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse nachweisen, daß ein Typhusimmunserum, welchem durch Zusatz von Typhusfiltrat alles Präzipitin entzogen war, unveränderte Agglutinationskraft zeigte, mithin die präzipitierenden und agglutinierenden Substanzen eines Immunserums völlig unabhängig voneinander seien. „Gerade für die Untersuchungen an Bakterien“, schreibt Bail (9), „muß Haufen- und Niederschlagsbildung auf das strengste auseinandergehalten werden; denn die Unabhängigkeit der sie bewirkenden Eigenschaften des Serums läßt sich Fall für Fall nachweisen. Das hindert nicht, einen nahen genetischen Zusammenhang beider anzunehmen; denn beide wirken jedenfalls auf nahe verwandte Stoffe der Bakterienzelle, die bei der Agglutination ungelöst im Zusammenhange mit der lebenden oder frisch getöteten Bakterienzelle, bei der Niederschlagsbildung von der Zelle getrennt, im gelösten Zustande in der Flüssigkeit vorhanden sind.“

Zu ähnlichen Resultaten gelangte ferner Pick (10) auf Grund zahlreicher ausführlicher Untersuchungen. Durch elektive Ausfällung, Salz-fällung, Dialyse und Erhitzung konnte der Nachweis erbracht werden, daß an der Niederschlagsbildung und an der Bakterienagglutination verschiedene Substanzen der Typhuskulturen beteiligt sind und daß diese Verschiedenheit auch im Serum der mit Typhuskulturen immunisierten Tiere in der Bildung verschiedenartiger Immunkörper ihren Ausdruck findet.

Schließlich vermochte auch Beljaeff (11) festzustellen, daß das Agglutinationsvermögen durch die Präzipitation nicht verringert wird, demnach Agglutination und Präzipitation keine gemeinsame Ursache haben können.

Gegenüber diesen Autoren vertreten insbesondere Kraus und seine Mitarbeiter den unitarischen Standpunkt von der Identität des Agglutinogens und Präzipitinogens einerseits und des Agglutinins und Präzipitins andererseits.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen von Radzievsky, Bail und Pick konnten Kraus und v. Pirquet (12) die Bindung der agglutinierenden Substanz durch Bakterienfiltrate bei Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse feststellen. Nach Zusatz des präzipitierenden und agglutinierenden Serums zu den homologen Filtraten in einem bestimmten Verhältnis war ein Verlust an agglutinierender Kraft des Serums zu verzeichnen. Es mußte also in den Bakterienkulturfiltraten eine das spezifische Agglutinin bindende Substanz vorhanden sein, deren biologische Identität mit der agglutinierbaren Substanz der Bakterien durch diese Bindungsversuche erwiesen war. „Die Untersuchungen von Bail und Pick“, schreibt Kraus (13), „sowie unsere Versuche lassen uns jetzt annehmen, daß in Bakterienfiltraten neben bestimmten präzipitierbaren Substanzen sui generis noch solche präzipitierbare Substanzen vorhanden sein müssen, die in ihrer haptophoren Gruppe mit der präzipitierbaren, i. e. agglutinierbaren der Bakterien identisch sein dürften.“ Der Widerspruch, daß erhitztes Serum nicht fällt, wohl aber zu agglutinieren imstande ist, erklärt sich nach Kraus durch die Verschiedenheit der koagulierenden Gruppen des Agglutinins und des Präzipitins, indem letzteres weniger widerstandsfähig, thermolabiler als die agglutinierende Substanz ist, aber nach Erhitzung noch das Präzipitinogen zu binden vermag.

Weitere Analogieen zwischen Agglutinin-Agglutinogen und Präzipitin-Präzipitinogen brachten die überaus umfangreichen Untersuchungen von Kraus und Joachim (14). Ihre Prüfung des von Brieger und Mayer (15) mit einem Typhusbacillenderivat hergestellten Immuserums, welches nur Agglutinine, aber keine Präzipitine enthalten sollte, ergab, daß dieses Serum allerdings durch die Lösung des Brieger-Mayer'schen Körpers nicht präzipitiert wurde, wohl aber durch den Zusatz von Kochsalzextrakten junger Agarkulturen und von Bouillonfiltraten. Zwar könne unter bestimmten Umständen ein Serum Bakterien agglutinieren, in den homologen Bouillonfiltraten oder Kochsalzauszügen junger Agarkulturen dagegen keine Niederschläge erzeugen, niemals aber würden Bakterien, deren Filtrate mit dem Immuserum Niederschläge gegeben hätten, von demselben Serum nicht agglutiniert werden. Immer gelte der Satz: „Wo Agglutination, dort spezifische Niederschläge“.

Diese Angaben von Kraus fanden ihre Bestätigung durch die Beobachtungen zahlreicher anderer Autoren. Wassermann (16) konnte nachweisen, daß bei einem genügend großen Filtratzusatz zum Immuserum nach eingetretener Präzipitation die obenstehende Flüssigkeit auch sehr starken Verlust an ihrem agglutinierenden Titer erlitten habe. Es müsse demnach in der präzipitierbaren Substanz von Kulturfiltraten ein Anteil vorhanden sein, der mit der agglutinierbaren Substanz in den Bakterien biologisch identisch sei.

Auch Ford (17) hält Agglutinine und Präzipitine für identisch und sieht den Versuch Bordets nicht als Beweis gegen diese Annahme an. Bordet (18) hatte in dem Serum eines mit Kaninchenblut vorbehandelten Meerschweinchens Agglutinine für Kaninchenerythrocyten, aber nicht Präzipitine für Kaninchen Serum nachweisen können. Mit Recht konnte

Ford dem entgegenhalten, daß die Agglutinine der roten Blutkörperchen mit den Präzipitinen des Blutserums zu identifizieren nicht angängig sei, und zeigen, daß ein derartig gewonnenes Immunserum wohl eine Lösung von Blutkörperchen zu präzipitieren vermöge.

Aus den Versuchen von Klein (19) folgt, daß die präzipitierenden und agglutinierenden Fähigkeiten mancher Sera eine gewisse Uebereinstimmung zeigen, indem agglutinierende Sera auch präzipitieren und nicht agglutinierende nicht präzipitieren. Das Auftreten resp. Fehlen der Präzipitine scheint also mit dem der Agglutinine parallel zu gehen. Diese Uebereinstimmung ließ sich aber nicht immer nachweisen. Denn manche Sera agglutinierten zwar die Erythrocyten, bildeten aber mit den Extrakten derselben keine spezifischen Niederschläge.

Löwit (20) konnte zwischen den agglutinierten Bakterien einen färbaren Niederschlag nachweisen, der sich ebenso wie das Präzipitat mit Nocht-Blau-Eosin deutlich tingieren ließ, und schließt aus dieser Beobachtung ebenfalls die Identität des Agglutinogens und Präzipitinogens.

Auch Nicolle (21) hält die agglutinable und präzipitable Substanz für identisch, und Rodet (22) endlich beobachtete bei normalen Seris Verschwinden der Agglutinine, sowie der Präzipitine durch Absorption mit Bacillen.

Diese zahlreichen Beobachtungen scheinen in der Tat in hohem Grade zugunsten der von Kraus befürworteten Identität des Agglutinins und Präzipitins resp. Agglutinogens und Präzipitinogens zu sprechen. Insbesondere haben die Untersuchungen der den unitarischen Standpunkt vertretenden Autoren übereinstimmend ergeben, daß in den Bakterienfiltraten in der Tat eine Substanz vorhanden ist, welche das Agglutinin des homologen Immunserums teilweise zu binden vermag und zweifellos für identisch mit dem Agglutinogen angesehen werden muß. Indessen ist der direkte Nachweis von der Identität dieser Substanz mit dem ebenfalls in dem Filtrat vorhandenen Präzipitinogen bei der Unmöglichkeit, diese Körper chemisch rein darzustellen, ebensowenig wie für das Agglutinin und Präzipitin erbracht worden. Die durch die interessanten Untersuchungen von Kraus und seinen Mitarbeitern festgestellten Tatsachen deckten zwar weitgehende Analogieen in dem Bau des Agglutinogens und Präzipitinogens resp. Agglutinins und Präzipitins, sowie in dem Agglutinations- und Präzipitationsvorgänge auf, scheinen mir aber ihre Identität nicht zwingend zu beweisen. Es wäre vielmehr denkbar, daß, da wohl auch schon in jungen Kulturen ein nicht unbedeutlicher Bakterienzerfall erfolgt, das freigewordene Agglutinogen in die Nährflüssigkeit gelangt und nun, unabhängig von dem gleichzeitig im Filtrat vorhandenen Präzipitinogen, gegenüber dem zugesetzten homologen Immunserum eine spezifische Wirksamkeit entfaltet. Zugunsten dieser Anschauung würden vor allem die von Pick mit Hilfe chemischer Methoden gefundenen Unterschiede sprechen. Die von Kraus und v. Pirquet festgestellte verschiedene Widerstandskraft des Agglutinins und Präzipitins gegenüber einer Erhitzung auf 60° würde ebenfalls in diesem Sinne verwertet werden können, wiewohl ihr vielleicht auch nur eine geringe Bedeutung zukommen mag. Gegen diese Auffassung würde schließlich auch nicht die Tatsache sprechen, daß es gelingt, durch Injektion von Bakterienfiltraten im Tierkörper Präzipitine und Agglutinine zu erzeugen, sondern diese Erscheinung vielmehr zwanglos erklären.

Derartige Erwägungen lassen den Zweifel an der Identität des Agglutinogens und Präzipitinogens resp. Agglutinins und Präzipitins jedenfalls nicht unberechtigt erscheinen. Da die mit Hilfe der Absorption, sowie der chemischen und physikalischen Methoden festgestellten Unterschiede allgemeine Anerkennung nicht hatten finden können, versuchte ich zunächst auf biologischem Wege zur Lösung dieser Frage beizutragen, indem ich das zeitliche Auftreten der Antikörper im frisch infizierten Organismus genau bestimmte.

I.

Ueber die erste Entstehung der Agglutinine im Tierkörper liegen in der Literatur bereits Angaben zahlreicher Autoren vor. Nach Widal und Sica rd (23) treten sie 3 Tage nach der ersten Bacilleninjektion im Blute auf. Aehnliche Beobachtungen konnten E. Levy und Bruns (24), Deutsch (25) und Stäubli (26) machen. Dagegen wurden sie von van Emden (27), Jatta (28), Rodella (29) und Jörgensen (30) schon nach 2 Tagen nachgewiesen. Eigene Versuche zeigten mir, wie aus Tabelle I hervorgeht, daß eine bedeutendere Agglutininentwicklung zwar erst nach 3 Tagen bemerkbar wird, der erste Anstieg der Agglutinationskurve sich aber schon nach 2 Tagen beobachten läßt.

Tabelle I. Kaninchen No. 26 erhält intravenös $\frac{1}{2}$ lebende Typhusagarkultur.

Das Serum agglutiniert Typhusbacillen in einer Verdünnung:

Vor der Bacilleninjektion	Nach der Bacilleninjektion nach							
	2 Stdn.	4 Stdn.	6 Stdn.	8 Stdn.	1 Tag	2 Tagen	3 Tagen	10 Tagen
+ 1:25	+ 1:25	+ 1:25	+ 1:25	+ 1:25	+ 1:25	+ 1:50	+ 1:250	1:50000

Wir sehen also, daß in der Tat die erste durch die Bacilleninjektion bewirkte Agglutininentwicklung sich bereits nach 2 Tagen beobachten läßt, um darauf rapide anzusteigen. Das Ergebnis ist jedenfalls, wie mir weitere ähnliche Versuche bestätigen konnten, daß eine Agglutininproduktion sich vor dem zweiten Tage nicht nachweisen läßt.

Zur Feststellung derart geringfügiger Unterschiede darf man sich freilich nicht auf die vollkommene Agglutination allein beschränken, bei der sich die zu Flocken zusammengeballten Bakterien am Boden des Gläschens niedergelassen haben. Es ist vielmehr notwendig, auch die feinen, bei einiger Uebung im schräg gehaltenen Röhrchen unter gleichzeitiger Abblendung des Lichtes deutlich erkennbaren Häufchen, welche sich in der homogenen Trübung der Kontrolle nicht finden, zu berücksichtigen. Auf diese Weise erfolgte, wie hier gleich erwähnt sei, die Beurteilung aller Agglutinationsversuche.

Nähere Angaben über das zeitliche Auftreten der präzipitierenden Substanzen sind von Rostoski (31) über Serumpräzipitine und v. Dungern (32) über die Maja- und Octopus-Präzipitine gemacht worden. Nach der Injektion von Maja-Plasma konnte v. Dungern die Präzipitine erst nach 6 Tagen, bei Octopus-Plasma schon nach 4 Tagen nachweisen. Kraus und Schiffmann (60) sahen nach Injektion von Pferdeserum die Präzipitine nach 8—10 Tagen im Blute der behandelten Tiere auftreten, Cantacuzène (61) nach 7 Tagen. Ent-

sprechende Beobachtungen über das Auftreten der Bakterienpräzipitine habe ich in der Literatur nicht gefunden.

Untersuchungen hierüber wurden von mir in ähnlicher Weise wie für die Agglutininbestimmung ausgeführt, indem dem Versuchstiere in bestimmten Zeitabständen nach der Bacilleninjektion kleine Blutmengen aus der Ohrvene entnommen wurden. Die nach Absetzung des Blutkuchens, welche sich durch Zentrifugieren zweckmäßig beschleunigen ließ, gewonnenen klaren Sera wurden hierauf mittels Kapillarpipette in 8 cm hohen und 0,5 cm weiten Gläschen mit einem Typhusimmunserum oder einem 6 Monate alten Typhusbouillonfiltrat zusammengebracht. Das Immunserum hatte den Agglutinationstiter 1:50000 und bildete mit dem reinen Filtrate noch in 100-facher Verdünnung Niederschläge. Ebenso wurde das Filtrat noch in 100-facher Verdünnung von dem Immunserum präzipitiert. Um die nach Kraus und Joachim von den Präzipitinogenen der Bouillonfiltrate verschiedenen präzipitablen Substanzen der Kochsalzauszüge junger Typhusagarkulturen nicht unberücksichtigt zu lassen, wurde der Kochsalzextrakt 2-tägiger Typhusagarkulturen, der von dem Immunserum noch in 50-facher Verdünnung präzipitiert wurde, ebenfalls zur Prüfung herangezogen. Die einzelnen Flüssigkeiten wurden nicht nur konzentriert, sondern auch in verschiedenen Verdünnungen ($\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{10}$) untersucht. Die zwei jeweilig aufeinander einwirkenden Proben wurden nicht in der sonst üblichen Weise gemischt, sondern vorsichtig aufeinander geschichtet nach dem Vorgange von Ascoli (33), der sich Fornet (4) bei seinen Untersuchungen als äußerst zweckmäßig bewährt hat. Einmal gibt diese Methode nach Fornets Angabe feinere Resultate und erscheint von subjektiven Momenten unabhängiger als die „Mischprobe“, dann ermöglicht sie aber auch das Arbeiten mit geringen Serummengen in weiteren Grenzen. Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalt bei 37° gelangten die Gläschen zur vorläufigen Besichtigung, um dann nach weiterem 3—4-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur definitiv beurteilt zu werden. Das durch die Vereinigung von Präzipitin und Präzipitinogen entstandene Präzipitat ist alsdann als deutlich erkennbarer Ring an der Schichtgrenze sichtbar. Unbedingt erforderlich zur Erzielung einwandfreier Resultate ist die absolute Klarheit der aufeinander wirkenden Agentien.

Für den Ausfall der Untersuchungen war ferner die Auswahl der Versuchstiere, deren Serum immer vor der Behandlung geprüft wurde, nicht ohne Bedeutung. Schon zahlreiche Autoren haben, wie aus den Ausführungen von Palt auf (34) hervorgeht, das Vorkommen von Typhusagglutininen im Blutserum normaler Tiere beobachtet. Neisser und Lubowski (35) fanden bei normalen Kaninchen häufig Agglutination bis 1:40, Löwit (20) vermißte Agglutination der Typhusbacillen von Normaltierseren (Rind, Katze, Kaninchen, Meerschweinchen) in der Regel nicht.

Serumpräzipitine konnten von Ascoli (33) in normalen Blutseris nachgewiesen werden, Bakterienpräzipitine für Typhus- und Choleraextrakte von Hoke (36) im Serum normaler Rinder, Pferde, Schafe, Schweine und Ziegen, nicht aber im normalen Kaninchen- und Meerschweinchenserum. Die Reaktion ist nach Hoke aber nicht als spezifisch anzusehen im Gegensatz zum Immunserum, da ein durch Fällung mit dem einen Bakterienauszug erschöpftes Serum weder Typhus- noch Choleraextrakt mehr präzipitieren kann.

In Uebereinstimmung mit diesen Angaben stehen die Ergebnisse der Untersuchungen, welche ich an zahlreichen normalen Tieren ausgeführt habe. Das Serum ausgewachsener Kaninchen agglutinierte die Typhusbacillen, und zwar oft in beträchtlicher Verdünnung bis 1 : 100, fast regelmäßig (conf. z. B. Tabelle I). Desgleichen ließen sich nach Ueberschichtung der Sera mit dem Typhusfiltrat durch das Auftreten eines Präzipitates meist die Normalpräzipitine nachweisen.

Es zeigte sich nun gelegentlich einiger Untersuchungen, auf welche weiter unten besonders hingewiesen werden soll, daß solche Tiere mit einem relativ hohen Antikörpergehalt des Blutes für meine Versuche wenig brauchbar waren. Von der Annahme ausgehend, daß die Bildung der normalen Antikörper im Organismus erst allmählich vor sich gehe, glaubte ich, diesen Uebelstand durch Verwendung junger, ca. 5—6 Wochen alter Kaninchen vermeiden zu können. Hatte doch auch Schumacher (37) bei Untersuchung des Blutserums gesunder Wöchnerinnen, dessen Agglutinationskraft sich in normalen Grenzen (1 : 25—1 : 50) hielt, zugleich feststellen können, daß das Serum der Neugeborenen diese Eigenschaft in verschwindend kleinem Maße zeigt oder in selteneren Fällen auch gänzlich entbehrt. In der Tat bestätigte sich meine Vermutung, indem bei einer Reihe von ganz jungen Tieren das Serum selbst in nur 5-facher Verdünnung keine Agglutination der Typhusbacillen und bei Ueberschichtung mit einem Typhusfiltrat oder Kochsalzauszug keine Präzipitation hervorrief, wie auch aus Tabelle III ersichtlich ist.

Wurde einem derartigen Kaninchen $\frac{1}{2}$ Agarkultur intravenös injiziert und dann in bestimmten Zeitabständen Blut entnommen, so ließen sich in dem Serum, in Uebereinstimmung mit den Angaben von Fernet und Meyer, zunächst die Typhuspräzipitogene nachweisen. Russ (38) hatte diese Beobachtungen nicht bestätigen können; möglicherweise ist dieses Mißlingen, wie auch Fernet (39) hervorhebt, zum Teil auf die Verwendung einer nicht genügend virulenten Typhuskultur zurückzuführen. Wie aus der Tabelle II hervorgeht, waren Spuren des Präzipitogens bereits nach 4 Stunden nachweisbar. Nach 6 und 8 Stunden traten deutliche Präzipitate auf, nach 24 Stunden dagegen ließen sie sich nicht

Tabelle II. Kaninchen No. 43 erhält intravenös $\frac{1}{2}$ 18-stündige Typhusagarkultur.

No.	Typhus-immun-serum	Typhus-filtrat	Serum 43 vor der Injektion	Serum 43 nach der Injektion					Resultat
				2 Std.	4 Std.	6 Std.	8 Std.	24 Std.	
1	×	×	×	starker Ring
2	×	×	×	0
3	.	×	×	0
4	×	.	×	×	0
5	.	.	×	0
6	×	.	×	.	×	.	.	.	schwacher Ring
7	.	.	×	.	×	.	.	.	0
8	×	.	×	.	.	×	.	.	deutlicher Ring
9	.	.	×	.	.	×	.	.	0
10	×	.	×	.	.	.	×	.	deutlicher Ring
11	.	.	×	.	.	.	×	.	0
12	×	.	×	×	0
13	.	.	×	×	0

Anmerkung. Das normale Ausgangsserum diente zugleich für die nach der Injektion entnommenen Proben als Kontrolle gegenüber dem ebenfalls von einem Kaninchen stammenden Immunserum.

Tabelle III. Kaninchen No. 34 erhält intravenös $\frac{1}{4}$ lebende Typhusagarkultur.

Blutserum agglutiniert vor und nach der Injektion Typhusbacillen in der Verdünnung 1:5 nicht.

No.	Typhus-immunserum			Serum vor der Injektion			Serum 24 St. nach der Injektion			Typhusfiltrat			Typhus-Kochsalz-extrakt			Resultat	
	rein	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$	rein	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$	rein	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$	rein	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$		$\frac{1}{10}$
1	X	.	.	.	X	0
2	X	.	.	.	X	0
3	X	X	0
4	X	X	0
5	.	X	.	.	X	0
6	.	.	X	.	X	0
7	.	.	.	X	X	0
8	X	X	0
9	X	X	0
10	X	X	0
11	X	X	0
12	X	.	.	.	X	0
13	X	.	.	.	X	0
14	X	.	.	X	0
15	X	X	.	.	.	0
16	X	X	.	.	.	0
17	X	X	.	.	0
18	X	X	.	0
19	X	X	.	.	.	0
20	X	X	.	.	.	0
21	X	X	.	.	.	0
22	X	.	.	X	Ring (deutlich)
23	X	.	.	X	Ring (schwach)
24	X	.	.	X	0
25	X	.	.	.	X	0
26	X	.	.	.	X	Ring (schwach)
27	X	0
28	X	0
29	X	Ring (deutlich)
30	X	X	.	.	.	Ring (deutlich)
31	X	X	.	.	Ring (angedeutet)
32	X	X	.	0
33	X	X	.	.	Ring (deutlich)
34	X	X	.	.	Ring (deutlich)
35	X	X	.	.	0
36	X	X	0
37	X	X	0
38	X	X	0
39	X	X	0
40	.	X	X	0
41	.	.	X	X	0
42	.	.	.	X	.	.	.	X	0

mehr feststellen. Allerdings möchte ich gleich auf Grund späterer Erfahrungen bemerken, daß sich auch noch nach 24 Stunden unter Umständen Spuren von präzipitabler Substanz im Blute befinden können, aber jedenfalls nur in so geringer Menge, daß sie sich dem direkten Nachweise entziehen.

Da sich die Typhuspräzipitinogene 24 Stunden nach der Bacilleninjektion im Serum nicht mehr nachweisen lassen, durfte man annehmen, daß vielleicht ihre Antikörper, die Präzipitine, um diese Zeit bereits im Blute auftreten könnten. In der Tat bestätigten die in der Tabelle III

niedergelegten Beobachtungen diese Vermutung. Es zeigte sich, daß das Serum eines mit Typhusbacillen geimpften Tieres, dessen Blut vor der Bakterieninjektion Präzipitine vermissen läßt, schon nach 24 Stunden sowohl mit einem Bouillonfiltrat, als auch einem Kochsalzextrakt deutliche Präzipitate erzeugt, Agglutinine dagegen noch nicht gebildet hat. Diese Tatsache steht in Widerspruch zu dem Krausschen Postulat, daß jedes Immunserum, welches präzipitiert, die homologen Bakterien auch agglutiniert muß. Denn hier haben wir es in der Tat mit einem Serum zu tun, welches die Typhusbacillen nicht agglutiniert, wohl aber die homologen Filtrate und Extrakte präzipitiert. Demnach können aber auch das Agglutinin und Präzipitin nicht als identische Substanzen angesehen werden, da ihr zeitliches Auftreten nicht zusammenfällt.

Ein weiterer Beweis für diese Annahme mußte sich indirekt erbringen lassen, wenn man das durch Filtration keimfrei gemachte Serum eines 24 Stunden nach der Impfung verbluteten Tieres einem zweiten normalen Tiere injizierte. Ein derartiges 24-stündiges „Infektionsserum“ enthält Präzipitine, aber noch keine Agglutinine. Es müssen also die mit den Bacillen eingeführten Präzipitinogene schon fast vollkommen aufgebraucht, die Agglutinogene dagegen noch in beträchtlicher Menge vorhanden sein. War diese Anschauung richtig, so durften nach der Injektion dieses Serums in einem zweiten normalen Tiere fast nur Agglutinine, aber keine oder nur sehr wenige Präzipitine entstehen.

Die mir für diesen Versuch zur Verfügung stehenden Tiere erwiesen sich insofern weniger geeignet als die vorigen, als ihr Serum schon normalerweise Typhusbacillen in fünffacher Verdünnung agglutinierte und unverdünnt ein reines Bouillonfiltrat präzipitierte. Auffallenderweise wurde die Niederschlagsbildung vermißt, wenn Serum oder Filtrat verdünnt oder der Kochsalzextrakt verwandt wurde. Auf die Beschaffenheit des Filtrates konnte dieses Phänomen nicht zurückgeführt werden, da es sich auch bei Benutzung eines 3 Monate alten Filtrates beobachten ließ. Ob ein derartiges Präzipitat, mit Bezug auf die Angaben Hokes, als nicht spezifisch bezeichnet werden darf, möge dahingestellt bleiben; bei Verwendung von alten Coli- oder Paratyphusfiltraten trat es nicht auf. Jedenfalls glaubte ich mich berechtigt, bei einem Serum, dessen Präzipitierungsvermögen nach der Behandlung von dem obigen normalen Verhalten abwich, indem es auch verdünntes Filtrat präzipitierte, auf spezifische immunisatorische Vorgänge schließen zu dürfen.

Dem Kaninchen No. 29, dessen Serum in der eben beschriebenen Weise reagierte, wurde $\frac{1}{4}$ lebende 24-stündige Typhusagarkultur intravenös injiziert und das Tier nach 24 Stunden entblutet. Das Serum wich von seinem vorherigen Verhalten jetzt insofern ab, als es nicht mehr mit reinem, wohl aber mit dem auf $\frac{1}{4}$ und $\frac{1}{10}$ verdünnten Filtrat deutliche Präzipitate ergab. Bei der Ueberschichtung mit reinem oder auf $\frac{1}{2}$ verdünntem Filtrate war die Präzipitation offenbar durch das überschüssige Präzipitinogen verhindert worden. Die Prüfung mit Kochsalzextrakt mußte unterbleiben, da die zur Verfügung stehende geringe Serummenge zur Impfung des zweiten Tieres dienen mußte, war überdies nach den in Tabelle III niedergelegten Erfahrungen nicht unbedingt nötig. Der Agglutinationstiter war 1:5, also gänzlich unverändert ge-

blieben. Die übrig bleibende Serummengde wurde durch eine neue Chamberland-Kerze filtriert, ihre Sterilität durch Impfung von ca. 0,5 ccm in Bouillon sichergestellt und der Rest (7,5 ccm) dem Kaninchen No. 30 intravenös an zwei aufeinanderfolgenden Tagen injiziert. Ueber das Verhalten des Serums des Tieres 30 vor und 10 Tage nach der Impfung gibt Tabelle IV Aufschluß.

Tabelle IV. Kaninchen No. 30 erhielt 7,5 ccm 24-stündiges Infektionsserum No. 29 intravenös injiziert.

Agglutinationstiter des Serums 30 für Typhusbacillen: vor der Injektion des Infektionsserums 29 = 1:5; 10 Tage nach der Injektion = 1:2000

No.	Serum 30 vor der Injektion			Serum 30 10 Tage nach der Injektion			Typhusfiltrat			Typhus-Kochsalz-extrakt			Resultat	
	rein	1/2	1/4	1/10	rein	1/2	1/4	1/10	rein	1/2	1/4	1/10		
1	X	X	Ring (deutlich)
2	X	X	.	.	.	0
3	X	X	.	.	0
4	X	X	.	0
5	.	X	X	0
6	.	.	X	X	0
7	.	.	.	X	X	0
8	X	.	.	.	X	Ring (deutlich)
9	X	.	.	.	X	0
10	X	.	.	.	X	0
11	X	.	.	.	X	0
12	X	.	.	X	0
13	X	.	.	X	0
14	X	.	X	0
15	X	X	.	.	0
16	X	X	.	.	0
17	X	X	.	.	0
18	X	X	.	.	0
19	.	X	X	.	.	0
20	.	.	X	X	.	.	0
21	.	.	.	X	X	.	.	0
22	X	X	.	.	Ring (sehr schwach, tritt erst nach 4 Std. auf)
23	X	X	.	.	Desgl.
24	X	X	.	.	0
25	X	X	.	.	0
26	X	X	.	.	Ring (äußerst schwach, tritt ebenfalls erst nach 4 Std. auf)
27	X	X	.	.	0
28	X	.	.	.	X	.	.	0

Es hatte sich nach der Einverleibung des 24-stündigen „Infektionsserums“ No. 29 Agglutinin in sehr beträchtlicher Menge gebildet, der Agglutinationstiter war von 1:5 auf 1:2000 gestiegen. In auffallendem Gegensatz zu diesem Ergebnis stand die Prüfung der präzipitierenden Fähigkeiten. Das Serum gab nach Verlauf von 10 Tagen, ebenso wie vor der Impfung des Tieres mit dem „Infektionsserum“ 29, einen Niederschlag nur unverdünnt mit dem reinen Filtrat. Es hatte also eine Abweichung von dem vorherigen normalen Verhalten nicht stattgefunden. Dagegen traten nach der Vereinigung des Serums mit dem reinen und auf die Hälfte verdünnten Kochsalzextrakt, aber auch nur nach Verlauf von 4 Stunden, schwach angedeutete Präzipitate auf, die

mit aller Vorsicht den Schluß auf eine stattgefundene geringe Präzipitinbildung zulassen. Eine solche gänzlich auszuschließen, wäre wohl ohnehin verfehlt, da sich, wie schon oben erwähnt, kaum annehmen läßt, daß die präzipitable Substanz schon 24 Stunden nach der Infektion ganz aus dem Blute verschwunden sein wird. Spuren von ihr werden sich wohl auch noch zu dieser Zeit im Kreislauf aufhalten und im zweiten Tiere zu einer beschränkten Präzipitinbildung Veranlassung geben können.

Jedenfalls stand diese minimale Präzipitinmenge des Serum 30 in auffallendem Gegensatz zu seinem hohen Agglutiningehalt und bestätigte meines Erachtens vollauf die früheren Erfahrungen. Die Entstehung des Agglutinins in so beträchtlichen Mengen ist auf das reichliche Vorhandensein von Agglutinogen im „Infektionsserum“ zurückzuführen, während das Ausbleiben oder die nur in minimalen Grenzen erfolgende Bildung der Präzipitine sich lediglich dadurch erklären läßt, daß 24 Stunden nach der Infektion das Präzipitinogen schon zum größten Teile verschwunden und an seine Stelle bereits sein Antikörper, das direkt nachweisbare Präzipitin getreten ist.

Ein gleiches, nur noch eindeutigeres Resultat gab mir ein ähnlicher zur Kontrolle gemachter Versuch. Das Serum des Kaninchens No. 27, welches normalerweise Typhusbacillen noch in 50-facher Verdünnung agglutinierte und nur konzentriert mit reinem Filtrat ein Präzipitat bildete, wurde 24 Stunden nach der Infektion des Tieres mit $\frac{1}{2}$ Typhusagarkultur durch eine neue Chamberland-Kerze filtriert, auf Sterilität geprüft und hierauf in einer Menge von 20 ccm an 3 aufeinanderfolgenden Tagen dem Kaninchen No. 28 teils intravenös, teils intraperitoneal injiziert. Serum 28 hatte normalerweise einen Agglutinationstiter von 1:5 und bildete ebenfalls nur unverdünnt mit reinem Filtrat ein Präzipitat. 10 Tage nach der Injektion des „Infektionsserums“ 27 war der Titer auf 1:100 gestiegen, während das Verhalten des Serums zu dem Typhusfiltrat unverändert geblieben war und auch bei Verwendung eines Kochsalzextraktes keine Präzipitation erfolgte. Hier war also keine Spur von Präzipitinbildung nachweisbar, während die Zunahme der Agglutinine unverkennbar ist. Daß das Steigen des Agglutinationstiter nicht etwa auf die Einführung des schon normalerweise nicht unbedeutend agglutinierenden Serums 27 zurückzuführen ist, lehrte ein Kontrollversuch. Dem Tiere No. 19 wurden 5 ccm eines bis 1:5000 agglutinierenden Immunserums injiziert; nach 10 Tagen waren Agglutinine nicht mehr nachweisbar. Auch Widal und Sicard (23) kamen zu diesem Ergebnis, indem sie in dem Serum eines Meerschweinchens, dem 10 Tropfen eines bis 1:30000 agglutinierenden Typhusimmunserums intraperitoneal injiziert worden waren, nach 10 Tagen keine Agglutinine mehr nachweisen konnten. Die Agglutininentwicklung muß vielmehr auch hier auf die Zuführung des Antigens, der agglutinablen Substanz, zurückgeführt werden. Das verhältnismäßig geringe Ansteigen des Titers ließe sich zwanglos durch die Beobachtungen von Deutsch (40) und P. Th. Müller (41) erklären, nach denen die im Blute bereits vorhandenen Agglutinine durch neu injizierte bakterielle Substanz gebunden werden können. Dementsprechend war auch beim Tiere No. 27 der Agglutinationstiter 24 Stunden nach der Bacilleninjektion von 1:50 auf 1:30 gesunken.

Eine andere Frage wäre noch, ob es überhaupt möglich ist, durch Injektion eines „Infektionsserums“ im tierischen Organismus Präzipitine zu erzeugen. Nachdem Castellani (42) nach Impfung mit Bakterienfiltraten das Entstehen von Präzipitinen hat beobachten können, läßt sich das mit großer Wahrscheinlichkeit erwarten, da man ja in einem „Infektionsserum“ dieselben Antigene wie in einer jungen Bouillonkultur voraussetzen kann. Ein Versuch, dessen Ergebnisse in Tabelle V niedergelegt sind, bestätigte diese Vermutung. Dem Kaninchen No. 32, dessen Serum normalerweise einen Agglutinationstiter von 1:30 hatte und nur unverdünnt mit reinem Filtrat ein Präzipitat bildete, wurden 8 ccm Serum eines 8 Stunden nach der Impfung mit 1 Typhusagarkultur verbluteten Tieres No. 31 an zwei aufeinanderfolgenden Tagen intravenös eingespritzt. Das Serum 31 war filtriert und auf Sterilität geprüft worden; durch Zusatz von Typhusimmenserum hatten sich Präzipitogene in ihm nachweisen lassen. Nach Verlauf von 10 Tagen hatte sich der Agglutinationstiter des Serums No. 32 nur um ein geringes, auf 1:100 erhöht. Dagegen war eine beträchtliche Präzipitinentwicklung unverkennbar, sowohl bei Zusatz von Bouillonfiltrat, als auch von Kochsalzextrakt. Das Ausbleiben der Präzipitation bei Ueberschichtung des reinen Filtrates mit $\frac{1}{4}$ und $\frac{1}{10}$ Serum wird durch den Ueberschuß an Präzipitogen bedingt, der nach den Unter-

Tabelle V. Kaninchen No. 32 erhält 8 ccm 8-stündiges Infektionsserum No. 31 intravenös injiziert.

Agglutinationstiter des Serums 32 für Typhusbacillen: vor der Injektion des Infektionsserums 31 = 1:30; 10 Tage nach der Injektion = 1:100.

No.	Serum 32 vor der Injektion			Serum 32 10 Tage nach der Injektion			Typhusfiltrat			Typhus-Kochsalz-extrakt			Resultat				
	rein	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$	rein	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$	rein	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$		rein	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$
1	×								×								Ring (deutlich)
2	×	×								×							0
3	×										×						0
4	×											×					0
5										×							0
6		×								×							0
7			×							×							0
8				×						×							Ring (stark)
9				×						×							Ring (stark)
10				×							×						Ring (stark)
11				×								×					Ring (deutlich)
12					×					×							Ring (stark)
13						×				×							Ring (deutlich)
14							×			×							0
15	×												×				0
16	×													×			0
17	×														×		0
18	×															×	0
19		×											×				0
20			×										×				0
21				×									×				0
22				×									×				Ring (stark)
23				×										×			Ring (stark)
24				×											×		Ring (sehr schwach)
25				×												×	0
26					×								×				Ring (deutlich)
27						×							×				Ring (schwach)
28							×						×				0

suchungen von Eisenberg (43), Halban und Landsteiner (44), Ascoli (33), Michaelis (45), Dehne und Hamburger (46) u. a. das Präzipitat zu lösen vermag.

Die Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen zeigen, daß in dem Blutserum eines Tieres, welchem lebende Typhusbacillen intravenös injiziert worden sind, die Präzipitine bereits 24 Stunden nach der Impfung, die Agglutinine dagegen erst nach 2 Tagen nachweisbar sind. Das zeitliche Auftreten dieser Antikörper fällt nicht zusammen. Es sind demgemäß die Agglutinine und Präzipitine, trotz der weitgehenden Analogieen in ihrem Bau, als verschiedene Substanzen des Immunserums anzusehen, welche unabhängig voneinander eine spezifische Wirksamkeit zu entfalten vermögen. Dementsprechend müssen wir auch in den Bouillonkulturen und Filtraten ihre nachweisbaren Antigene, die Agglutinogene und Präzipitinogene, als nicht identische Substanzen unterscheiden.

II.

Bevor ich an den Nachweis der agglutinablen Substanz im Serum frisch infizierter Tiere gehen konnte, mußten die Grundzüge des Verfahrens durch Untersuchungen an einer agglutinogenreichen Flüssigkeit festgelegt werden. Als ein solches Substrat kamen vornehmlich die Filtrate alter Bouillonkulturen in Betracht, welche nach den Versuchen von Widal und Sicard (23), E. Levy und Bruns (24), Nicolle (21), Winterberg (47), Rodella (29), Wassermann (16) u. a. im tierischen Organismus zur Bildung von Agglutininen Veranlassung geben, folglich antigenhaltig sein müssen. Für den Nachweis des Agglutinogens in den Filtraten schien mir die von den meisten Autoren benutzte Absorptionsmethode am zweckmäßigsten zu sein. Wurde ein Immunserum mit dem homologen Filtrat zusammengebracht und erst nach einer bestimmten Zeit die Bacillen der Mischung hinzugefügt, so mußte, entsprechend den Angaben von Kraus und seinen Mitarbeitern, sich eine Abnahme der Agglutinationskraft des Serums nachweisen lassen. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß einem hochwertigen Typhusimmunserum mit dem Titer 1:20000 gleiche Mengen verschieden alter Typhusbouillonfiltrate zugesetzt und diese Gemische für 1 Stunde in den Thermostaten gestellt wurden. Alsdann wurde allen Proben die gleiche Quantität einer Typhusbacillenemulsion hinzugefügt und der Grad der Agglutination nach Verlauf von $\frac{1}{2}$, 1 und 4 Stunden beurteilt. Zur Kontrolle wurde dasselbe Immunserum einerseits mit Kochsalzlösung, andererseits mit Paratyphus B-, Coli-, Proteus- und Staphylokokkenfiltrat vermischt und in derselben Weise weiter behandelt. Um bei der Beurteilung der Agglutination auch die graduellen Unterschiede der Häufchenbildung zu veranschaulichen, wurden folgende Bezeichnungen gewählt: +++ = starker, aus Flocken bestehender Bodensatz und Klärung der Flüssigkeit; ++ = starke Flocken ohne Klärung; + = kleine, aber mühelos wahrnehmbare Häufchen; ± = sehr kleine, mikroskopisch sichtbare Häufchen.

Tabelle VI.

	Es wurden gemischt:	Beurteilt nach	Verdünnungen des Typhusimmunserums:					
			1:1000	1:2500	1:3300	1:5000	1:10000	1:20000
I. TyImSer. ¹⁾ + NaCl-Lösung	1 Stunde bei 37° C dann + Typhusbacillen	1/2 Std.	+++	+++	+++	++	+	0
		1 „	+++	+++	+++	++	+	0
		4 „	+++	+++	+++	+++	++	+
II. TyImSer. + 0,4 ccm Typhusfiltr. (4 Monat)	1 Stunde bei 37° C dann + Typhusbacillen	1/2 „	+	0	0	0	0	0
		1 „	+	0	0	0	0	0
		4 „	+++	++	++	+	0	0
III. TyImSer. + 0,4 ccm Typhusfiltr. (4 Wochen)	1 Stunde bei 37° C dann + Typhusbacillen	1/2 „	+	+	0	0	0	0
		1 „	++	+	0	0	0	0
		4 „	+++	++	++	+	+	0
IV. TyImSer. + 0,4 ccm ParaB-Filtr. (3 Monat)	1 Stunde bei 37° C dann + Typhusbacillen	1/2 „	++	++	+	+	+	0
		1 „	+++	+++	+++	++	+	0
		4 „	+++	+++	+++	++	+	+
V. TyImSer. + 0,4 ccm Colifiltrat (7 Monat)	1 Stunde bei 37° C dann + Typhusbacillen	1/2 „	+++	++	++	+	+	0
		1 „	+++	+++	+++	++	+	0
		4 „	+++	+++	+++	++	+	+
VI. TyImSer. + 0,4 ccm Proteusfiltr. (7 Monat)	1 Stunde bei 37° C dann + Typhusbacillen	1/2 „	+++	++	++	+	+	0
		1 „	+++	+++	+++	++	+	0
		4 „	+++	+++	+++	+++	+	+
VII. TyImSer. + 0,4 ccm Staphlokokkenfiltrat (7 Monat)	1 Stunde bei 37° C dann + Typhusbacillen	1/2 „	+++	+++	+++	++	+	0
		1 „	+++	+++	+++	+++	+	0
		4 „	+++	+++	+++	+++	++	+

Es zeigt sich also, daß in der Tat die in den Filtraten alter Typhusbouillonkulturen enthaltenen agglutinablen Substanzen die Agglutinationskraft eines Typhusimmunserums durch Bindung seiner Agglutinine erheblich herabzusetzen imstande sind. Wie ein Blick auf die Tabelle VI lehrt, zeigt sich die Hemmung am ausgesprochensten, wenn die Proben 1/2 Stunde nach dem Zusatz der Bacillenemulsion besichtigt werden. Während die mit physiologischer Kochsalzlösung angesetzte Kontrolle (I) nach dieser Zeit noch bei einer Immunserumverdünnung von 1:10000 deutliche Agglutination aufweist, ist die Häufchenbildung in den das 4 Wochen alte Filtrat enthaltenden Gläschen (III) schon bei 2500-facher Serumverdünnung, bei den mit dem 4 Monate alten Filtrate beschickten Proben (II) sogar bei 1:1000 nur noch schwach angedeutet. Wird die Beobachtungszeit aber verlängert, so werden diese Unterschiede merklich geringer. Nach Verlauf von 1 Stunde hat sich zwar das Bild noch nicht wesentlich geändert, die Agglutination hat in den mit Filtrat beschickten, nach 1/2 Stunde erst schwach positiven Proben lediglich an Deutlichkeit gewonnen. Nach 4 Stunden zeigen aber auch die Filtrat enthaltenden Röhren noch bei 5000-facher Verdünnung des Immunserums gut erkennbare Häufchen, die sich in der Kontrolle noch bei 1:20000 nachweisen lassen. Wie weitere, hier nicht protokollierte Versuche lehrten, geht die Hemmung nach 24 Stunden noch mehr zurück,

1) = Typhusimmunserum.

aber auch nach Verlauf dieser Zeit sind die Unterschiede zwischen den Filtrat- und Kochsalzproben, besonders was die Intensität der Häufchenbildung anlangt, unverkennbar.

Diese Versuche bestätigen also die Beobachtungen von Kraus und v. Pirquet, Wassermann u. a. und zeigen, daß in der Tat das in Typhusfiltraten enthaltene Agglutinogen das Agglutinin eines Typhusimmunserums zu binden und von den nach einiger Zeit hinzugefügten Typhusbacillen fernzuhalten vermag. Die Verbindung zwischen dem Filtratagglutinogen und dem Serumagglutinin scheint aber reversibel zu sein, da nach längerer Zeit eine deutliche Abnahme der Hemmung wahrnehmbar ist. Erklären läßt sich diese Erscheinung durch die Beobachtungen von Eisenberg und Volk (48), Joos (49) und v. Dungern (32). Eisenberg und Volk fanden, daß die agglutinierbare Substanz die Tendenz hat, sich mit Agglutinin zu übersättigen, und daß Bakterien, auf welche hohe Serumkonzentrationen eingewirkt haben, Agglutinin an die umgebende Flüssigkeit abgeben. Joos konnte feststellen, daß Agglutinin, welches bereits an Agglutinogen gebunden ist, abgespalten und an neu hinzutretendes Agglutinogen fixiert werden kann. Ähnliche Beobachtungen machte v. Dungern für die Präzipitine. Ebenso müssen wir auch hier annehmen, daß das mit dem Filtratagglutinogen verbundene Agglutinin allmählich abgespalten und an das neu hinzutretende Bakterienagglutinogen fixiert werden kann.

Der Grad der Hemmung ist, wie ferner aus Tabelle VI hervorgeht, abhängig von der Menge des in dem Filtrat enthaltenen Agglutinogens. Während die mit dem 4 Monate alten Filtrate beschickten Proben (II) nach $\frac{1}{2}$ Stunde bei 1000-facher Verdünnung des Immunserums nur undeutliche Agglutination aufwiesen, war die Häufchenbildung in den das 4 Wochen alte Filtrat enthaltenden Gläschen (III) bei 1:1000 noch deutlich und erst bei 1:2500 nur mikroskopisch erkennbar. Das ältere Filtrat, in welchem, entsprechend dem gesteigerten Bakterienzerfall in alten Bouillonkulturen, die größere Menge von Agglutinogen vorausgesetzt werden mußte, verminderte die Agglutinationskraft des Immunserums gegenüber den später zugesetzten Bakterien in höherem Grade als das 4 Wochen alte. Das gleiche Ergebnis erhielt ich, wenn das Immunserum vor dem Zusatz der Bacillenemulsion mit verschiedenen Mengen desselben Filtrates vermischt wurde.

Die agglutinationshemmende Wirkung des Filtrates ist schließlich, wie meine Versuche zeigen, eine streng spezifische und äußert sich nur nach Zusatz des homologen Filtrates zum Typhusimmunserum. Wird ein Paratyphus B-, Coli-, Proteus- oder Staphylokokkenfiltrat mit dem Serum vermischt, so erfährt die Agglutinationskraft des letzteren gegenüber den später hinzugefügten Typhusbacillen keine oder wenigstens keine nennenswerte Verminderung. Es würde sich demnach die Absorptionsmethode zur Identifizierung eines typhusähnlichen Bacillus in gleicher Weise wie der Pfeiffersche Versuch eignen.

Von Interesse mußte es ferner sein festzustellen, ob für die Bindung zwischen dem Filtratagglutinogen und Agglutinin eine bestimmte Zeit erforderlich ist, um eine wahrnehmbare Verminderung der Agglutinationskraft des Serums zu erzielen. Eisenberg und Volk (48) hatten gefunden, daß die agglutinierbare Substanz zum Agglutinin eine maximale

Verwandtschaft habe, welche schon in kürzester Zeit (nach 5 Minuten) zum Ausdruck kommt. Ebenso hatten Kraus und v. Pirquet (12) schon nach 10 und 60 Minuten wahrnehmbare Verluste an agglutinierender Substanz nachweisen können. In völliger Uebereinstimmung mit diesen Angaben stehen meine in der Tabelle VII niedergelegten Beobachtungen. Zur Verwendung gelangte ein 6 Monate altes Typhusfiltrat, welchem zuerst Typhusimmunserum und dann sofort, ferner nach 1 und 2 Stunden gleiche Mengen einer Typhusbacillenemulsion zugesetzt wurden. Zur Kontrolle wurde das Immunserum einerseits mit Kochsalzlösung und Bakterien vermischt, andererseits zuerst mit Bacillen und unmittelbar darauf mit dem Filtrat.

Tabelle VII.

Es werden gemischt:	Beurteilt nach	Verdünnungen des Typhusimmunserums:					
		1:1000	1:2500	1:3300	1:5000	1:10000	1:20000
I. TyImSer. ¹⁾ + 0,85% NaCl-Lös. 1 Stunde bei 37° C dann + Typhusbacillen	1/2 Std.	+++	+++	+++	++	+	0
	1 „	+++	+++	+++	++	+	0
	4 „	+++	+++	+++	+++	++	+
II. TyImSer. + Typhusbacillen gleich + 0,4 ccm Typhusfiltrat	1/2 „	+++	++	++	+	±	0
	1 „	+++	+++	++	+	+	0
	4 „	+++	+++	+++	++	+	±
III. TyImSer. + 0,4 ccm Typhusfiltr. gleich + Typhusbacillen	1/2 „	++	+	+	0	0	0
	1 „	++	+	+	0	0	0
	4 „	+++	+++	++	+	±	0
IV. TyImSer. + 0,4 ccm Typhusfiltr. 1 Stunde bei 37° C dann + Typhusbacillen	1/2 „	+	0	0	0	0	0
	1 „	++	+	0	0	0	0
	4 „	++	++	+	±	0	0
V. TyImSer. + 0,4 ccm Typhusfiltr. 2 Stunden bei 37° C dann + Typhusbacillen	1/2 „	±	0	0	0	0	0
	1 „	+	±	0	0	0	0
	4 „	++	+	+	±	0	0

Wie aus diesen Ergebnissen hervorgeht, erfolgt die Vereinigung der agglutinierenden und agglutinablen Substanz unmittelbar nach dem Zusatz des Filtrates oder der Bacillenemulsion zu dem Immunserum. Werden dem Serum zuerst die Bakterien und sogleich darauf das Filtrat beigemischt, so erfolgt die Agglutination ungeschwächt ebenso wie in den mit Kochsalzlösung angesetzten Kontrollproben, abgesehen von geringfügigen graduellen Unterschieden. Wird dem Serum dagegen die Bacillenaufschwemmung erst nach dem Filtrat zugesetzt, so wird eine deutliche Verminderung der Agglutinationskraft wahrnehmbar. Die Bindung zwischen Agglutinogen und Agglutinin setzt demgemäß sofort ein, erreicht ihr Maximum aber erst nach einer gewissen Zeit, da die Hemmung ausgesprochener wird, wenn die Bakterien dem Serum-Filtratgemisch erst nach 1 oder 2 Stunden zugefügt werden. Wie mir weitere Versuche zeigten, macht es jedoch keinen wesentlichen Unterschied, ob der Bacillenzusatz nach 1 oder 4 bis 6 Stunden erfolgt. Die Bindung zwischen agglutinierender und agglutinabler Substanz hat ihren Höhepunkt jedenfalls schon nach kürzerer Zeit erreicht.

1) = Typhusimmunserum.

Diese Erfahrung habe ich (50) bereits vor 2 Jahren für die Beschleunigung der Agglutination, die für die Typhusdiagnose aus therapeutischen und prophylaktischen Gründen oft wünschenswert ist, verwertet. Ich nahm an, daß sich die Häufchenbildung der mit Agglutinin beladenen Bakterien durch Beeinflussung des physikalischen Momentes beschleunigen lassen mußte. In der Tat konnte ich an einer großen Zahl von Blutproben nachweisen, daß in den mit Patientenserum und Bacillenemulsion beschickten Röhren bei positiver Reaktion nach 10 Minuten langem Zentrifugieren ein charakteristischer ausgedehnter Bodensatz entsteht, der sich nach mehrmaligem Schütteln in makroskopisch deutlich wahrnehmbare Flocken auflöst, während sich in der Kontrolle und den negativen Proben nur ein kleiner, scharf umschriebener Niederschlag bildet, der nach Schütteln in eine völlig homogene Trübung übergeht. Diese Beobachtung hatte Brian (51) auch für die Meningokokkenagglutination verwerten können, und ich selbst (52) hatte ebenfalls Gelegenheit, seine Ergebnisse zu bestätigen.

Eine ähnliche Beobachtung hatte auch Löwit (10) gemacht und in einer Mitteilung über andere Versuche, die erst jetzt zu meiner Kenntnis gelangt ist, beschrieben. Löwit hatte mit Immun- oder Normalserum beschickte Röhren, in welchen Bakterien gezüchtet werden sollten, 5—8 Minuten nach der Impfung dem Thermostaten entnommen, 8 bis 10 Minuten lang energisch zentrifugiert und hierauf makroskopisch und mikroskopisch Agglutination wahrnehmen können. Ueber eine praktische Verwertung dieser Beobachtung berichtet er indessen nicht.

Schließlich habe ich Untersuchungen auch darüber angestellt, welchen Einfluß die Veränderung der Dichtigkeit der Bacillenemulsion auf die Verminderung der Agglutinationskraft des Immunserums ausübt. Schon Gruber (53) hatte darauf hingewiesen, daß die Zahl der Bakterien im Verhältnis zu der angewendeten Serummenge von Bedeutung ist. Ebenso hatten Landsteiner (54), Winterberg (47), Tobiesen (55), Eisenberg und Volk (48) feststellen können, daß, wenn man die Bacillenaufschwemmung verdünnt, mit dem Verdünnungsgrade auch der Grenzwert der Reaktion hinausgeschoben wird. Die gleiche Erscheinung ließ sich auch bei der Bindung der Immunagglutinine durch die agglutinablen Substanzen des homologen Filtrates beobachten. Wird dem Serumfiltratgemisch nach einer bestimmten Zeit eine stark konzentrierte Bacillenemulsion zugesetzt, so war die Hemmung ausgesprochener und noch bei geringerer Serumverdünnung wahrnehmbar, als wenn eine weniger dichte Aufschwemmung benutzt wurde.

Die vorliegenden Versuche haben also gezeigt, daß sich die in dem Filtrat einer alten Typhusbouillonkultur enthaltenen agglutinablen Substanzen durch Absorption der Agglutinine eines Typhusimmunserums *in vitro* feststellen lassen. Die weitere Frage war nun, ob sich dieser direkte Nachweis auch im Blutserum frisch infizierter Tiere ermöglichen lassen würde. Zu dem Zwecke wurde Kaninchen 1, welchem 1 lebende Typhusagarkultur intravenös injiziert worden war, 18 Stunden nach der Impfung verblutet. Das Serum agglutinierte, ebenso wie vor dem Versuch, Typhusbacillen noch in der Verdünnung 1:100. Aus dem Blut, der Leber und besonders dem Knochenmark ließen sich die Typhusbacillen in großer Menge züchten, aus den beiden Nieren und den Lungen nur spärlich, aus Gehirn, Rückenmark und auffälligerweise auch

der Milz gar nicht. Die einzelnen Organe wurden dann sorgfältig zerkleinert, mit Chloroform ausgezogen, die Extrakte durch einen doppelten Filter filtriert und hierauf, in derselben Weise wie oben die Bouillonfiltrate, mit einem Typhusimmunserum in verschiedenen Verdünnungen zusammengebracht. Den Gemischen wurden dann nach 2 Stunden gleiche Mengen einer Typhusbacillenemulsion hinzugefügt. Eine ausgesprochene Verminderung der Agglutinationskraft des Immunserums, wie nach Zusatz von Filtrat, ließ sich bei Verwendung der Organextrakte nicht feststellen. Zwar waren bei dem Leber- und Knochenmarkauszug, entsprechend dem besonders reichlichen Bacillengehalt dieser Organe, in den höchsten Serumverdünnungen graduelle Unterschiede gegenüber der Kontrolle unverkennbar, doch waren diese Hemmungen nicht eindeutig genug, um, ähnlich wie bei den Filtraten, auf die Gegenwart von Agglutinogenen als Ursache schließen zu lassen. Ebensowenig war das möglich, wenn das Serum dieses Tieres mit dem Immunserum zusammengebracht wurde. Wenig oder gar nicht verdünnt agglutinierte das Serum 1 Typhusbacillen schon selbst und in starken Verdünnungen war sein Gehalt an Agglutinogenen offenbar viel zu gering, um eine wahrnehmbare Verminderung der Agglutinationskraft des Immunserums hervorrufen zu können. Weitere Versuche, auch mit Paratyphusbacillen (Typus B), bestätigten diese Beobachtung und zeigten übereinstimmend, daß die Menge der in dem Blut und in den Organen eines frisch infizierten Tieres befindlichen agglutinablen Substanzen zu klein ist, um sich direkt *in vitro* durch Hemmung eines Typhusimmunserums nachweisen zu lassen.

Da der Versuch, die agglutinablen Substanzen im Blutserum frisch infizierter Tiere direkt nachzuweisen, nicht ans Ziel geführt hatte, mußte durch weitere Untersuchungen gezeigt werden, ob sich das vielleicht auf indirektem Wege ermöglichen ließe, indem ein derartiges „Infektionsserum“ einem zweiten normalen Tiere injiziert wurde, wie es oben (p. 231 ff.) bereits beschrieben worden ist. Es war ja immerhin denkbar, daß die Menge von Agglutinogen, die zwar zu gering war, um die Agglutinationskraft eines Immunserums wahrnehmbar herabzusetzen, doch hinreichte, um eine deutliche Antikörperentwicklung zu veranlassen. Der erste, der auf diesem indirekten Wege die agglutinablen Substanzen in frisch infizierten Tieren nachgewiesen hat, ist Deutsch (25). Um das Schicksal der einem Tiere injizierten Bakterienprodukte aufzuklären, verblutete er ein Meerschweinchen 4 Tage nach der Impfung mit lebenden Typhusbacillen, stellte sich von Leber und Milz Extrakte her und injizierte diese, sowie das Serum drei anderen normalen Meerschweinchen. Nach 8 Tagen war der Agglutinationstiter des mit Leberauszug behandelten Tieres unverändert geblieben, dagegen bei dem mit Milzextrakt immunisierten auf 1:20 und bei dem mit Serum behandelten auf 1:300 gestiegen. Es war also in letzterem Falle eine aktive Immunität durch ein mit Mikrobenprodukten beladenes Serum hervorgerufen worden. Freilich bleibt unentschieden, ob die Agglutininentwicklung durch die Bakterien selbst oder ihre Produkte veranlaßt worden war, da nicht angegeben wird, ob das Serum filtriert und auf Sterilität geprüft worden war. Die Typhusbacillen lassen sich ja ebenso wie bei den Kranken, auch bei den frisch infizierten Tieren mit großer Regelmäßigkeit aus dem Blute züchten. Prof. Forster und Dr. Kayser (56) gelang es, sie

noch 5 Tage nach der Impfung im Blute der Versuchstiere nachzuweisen. Allerdings läßt sich annehmen, daß dort, wo lebende Bacillen sind, ihre Produkte sich ebenfalls finden werden. Immerhin mußte doch der Nachweis erbracht werden, daß sich die agglutinablen Substanzen auch in dem filtrierten Serum eines frisch infizierten Tieres indirekt dadurch feststellen lassen, daß dieses Serum einem zweiten Tiere injiziert wird, und hier Agglutinine erzeugt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen stehen in völliger Uebereinstimmung mit den Beobachtungen von Deutsch. Wie schon aus meinen oben beschriebenen Versuchen (vergl. p. 232 ff.) hervorgeht, gelingt es in der Tat, durch Impfung mit einem „Infektionsserum“ in einem normalen Tiere Agglutinine zu erzeugen. Das „Infektionsserum“ war durch Verbluten eines Tieres 24 Stunden nach der intravenösen Injektion lebender Typhusbacillen erhalten, durch eine neue Chamberland-Kerze filtriert und auf Sterilität geprüft worden. Besonders die in Tabelle III niedergelegte Beobachtung zeigt eine beträchtliche Agglutininentwicklung nach Injektion von nur 7,5 ccm „Infektionsserum“, indem ein Ansteigen des Agglutinationstiter bis 1:2000 festgestellt werden konnte. Dasselbe Ergebnis hatten zahlreiche andere Untersuchungen, welche sowohl mit Typhus-, als auch mit Paratyphusbacillen (Typus B) ausgeführt wurden. Auch hier konnte ich wieder die Beobachtung machen, daß sich ausgewachsene Tiere, deren Serum schon normalerweise Agglutinine in beträchtlicher Menge enthält, für derartige Versuche weniger eignen als jugendliche Individuen. Ferner schien die Verwendung neuer, noch nicht gebrauchter Chamberland-Kerzen für die Filtration der Infektionssera zweckmäßig zu sein.

Nachdem die Feststellung der agglutinablen Substanz im Serum frisch infizierter Tiere auf indirektem Wege gelungen war, ging ich zuletzt an die Beantwortung der Frage, ob sich dieser Nachweis auch für den typhuskranken Menschen würde erbringen lassen. Diese Möglichkeit ohne weiteres als sicher anzunehmen, schien mir nicht zulässig, da schon zahlreiche Autoren darauf hingewiesen haben, daß die auf Grund von Tierversuchen gewonnenen Erfahrungen nicht ohne weiteres auf den kranken Menschen übertragen werden dürften, da es sich beim Tiere um eine Injektionskrankheit und nicht um eine eigentliche Infektionskrankheit handle. Demzufolge wäre es denkbar, daß die im Blute des Typhuskranken kreisenden agglutinablen Substanzen sich weder direkt noch indirekt nachweisen lassen.

Auf direktem Wege, durch Verminderung der Agglutinationskraft eines Typhusimmunserums, ließen sich bei einer großen Zahl von Krankenseris die Agglutinogene, ebenso wie bei frisch infizierten Tieren, nicht feststellen. Indirekt, nach dem Vorgange von Deutsch, hat v. Hösslin (57) diesen Nachweis zu führen versucht, jedoch ohne Erfolg. Er injizierte 4 Meerschweinchen und 1 Kaninchen an verschiedenen Tagen subkutan je 5 ccm Serum einer Typhuspatientin, aus deren Blut Typhusbacillen gezüchtet worden waren, deren Agglutinationstiter aber über 1:25 dauernd nicht hinausging. In keinem Falle war trotz wiederholter Untersuchung in den geimpften Tieren gebildetes Agglutinin nachzuweisen.

Ich hatte Gelegenheit, einen Patienten Ph. M. zu untersuchen, der am 10. Jan. 1908 unter typhusverdächtigen Symptomen erkrankt und

am 15. Jan. 1908 in die hiesige medizinische Klinik eingeliefert worden war. Die am 13. und 16. Jan. ausgeführte Agglutinationsprobe hatte ein negatives Resultat; dagegen ließen sich am 16. Jan. aus dem Blut in sterilisierter Rindergalle Typhusbacillen züchten. Am 17. Jan. enthielten Stuhl und Urin keine Typhusbakterien; ebenso ließ sich am 18. Jan. das Gruber-Widalsche Phänomen nicht beobachten. Am gleichen Tage wurden einem Meerschweinchen, dessen Blut Typhusbacillen in einer Verdünnung von 1:25 nicht agglutinierte, 4 ccm des filtrierten und auf Sterilität geprüften Patientenserums intraperitoneal injiziert. Nach 10 Tagen, am 28. Jan., agglutinierte das Meerschweinchenserum Typhusbacillen noch bei 1:100. Es hatte demnach im Organismus des Versuchstieres eine deutliche Agglutininentwicklung stattgefunden, welche lediglich, da die Typhusbacillen aus dem Serum durch das Filtrieren entfernt worden waren, durch die im Patientenblut enthaltenen Agglutinogene bedingt worden sein kann. Eine neue Blutprobe, welche dem Patienten am 28. Jan. entnommen wurde, zeigte jetzt deutliche Agglutination der Typhusbacillen noch in einer Serumverdünnung von 1:200 (nicht höher geprüft).

Beachtenswert war, daß am 28. Jan. der Rest des für die Tierimpfung verwendeten Serums, welcher 10 Tage lang im Eisschrank gestanden hatte, ebenfalls Typhusbacillen bis 1:200 agglutinierte. Offenbar handelte es sich um eine Hemmung, wie sie ähnlich schon von Volk und de Waele¹⁾, Falta und Noeggerath¹⁾, Scheller (58), van Loghem (59) u. a. bei frischen Seris beobachtet worden ist. Daß die Agglutininentwicklung im Meerschweinchenorganismus nicht etwa auf die bereits am 18. Jan. im Patientenserum enthaltenen, in ihrer Wirksamkeit aber gehemmten Agglutinine zurückgeführt werden darf, geht ohne weiteres aus dem auf p. 233 beschriebenen Kontrollversuch hervor, welcher zeigte, daß die einem Tiere injizierten Agglutinine nach 10 Tagen aus dem Organismus desselben verschwunden sind.

Die vorliegende Beobachtung beweist demnach, daß sich, ebenso wie bei dem frisch infizierten Versuchstiere, auch bei dem typhuskranken Menschen, in dessen Blut Typhusbacillen kreisen, die Agglutinogene indirekt dadurch nachweisen lassen, daß das durch Filtration keimfrei gemachte Serum des Patienten, einem normalen Tiere injiziert, die Entstehung von Agglutininen veranlaßt. Dieser Nachweis scheint mir in theoretischer Hinsicht nicht ohne Bedeutung zu sein. Für die Praxis allerdings dürfte er weniger in Betracht kommen, da die Entnahme einer größeren Blutmenge wohl oft auf Schwierigkeiten stoßen wird und vor allem die Beobachtungsdauer von 10 Tagen viel zu lang ist, um für die Typhusdiagnose verwendet werden zu können.

1) Zitiert nach van Loghem (59).

Zusammenfassung.

Die vorliegenden Untersuchungen haben demnach zu folgenden Ergebnissen geführt:

1) In dem Blute eines mit lebenden Typhusbacillen infizierten Tieres lassen sich die Agglutinine nicht vor dem zweiten Tage feststellen.

2) Im frisch infizierten tierischen Organismus sind 6—8 Stunden nach der Impfung die Präzipitinogene, nach 24 Stunden dagegen bereits die Präzipitine direkt nachweisbar.

3) Das Auftreten der Agglutinine und Präzipitine im frisch infizierten Tierkörper erfolgt also nicht zu derselben Zeit.

4) Auch indirekt läßt sich dieser Nachweis führen, indem ein derartiges 24-stündiges, also vornehmlich agglutinogenhaltiges „Infektionsserum“, das durch eine neue Chamberland-Kerze filtriert und auf Sterilität geprüft worden ist, einem normalen Tiere injiziert wird und hier eine beträchtliche Agglutininentwicklung veranlaßt, während die Entstehung der Präzipitine ganz ausbleibt oder nur in minimalem Umfang erfolgt.

5) Durch Behandlung eines normalen Tieres mit einem 8-stündigen, d. h. auch präzipitinogenhaltigen „Infektionsserum“ läßt sich dagegen eine umfangreiche Präzipitinbildung erzielen; der direkte zuerst von Fornet erbrachte Nachweis der Präzipitinogene ist also auch auf indirektem Wege möglich.

6) Agglutinine und Präzipitine resp. Agglutinogene und Präzipitinogene sind demnach, trotz der weitgehenden Analogieen ihrer Konstitution, sowie des Agglutinations- und Präzipitationsvorganges, nicht identisch, sondern als selbständige Substanzen zu betrachten.

7) Die in den Filtraten alter Typhusbouillonkulturen enthaltenen Agglutinogene lassen sich direkt nachweisen, indem ein derartiges Filtrat die Agglutinationskraft eines Typhusimmunserums wahrnehmbar herabzusetzen imstande ist.

8) Die in dem Serum eines mit lebenden Typhusbacillen infizierten Tieres enthaltenen agglutinablen Substanzen lassen sich direkt mit Hilfe der Absorptionsmethode nicht nachweisen.

9) Auf indirektem Wege gelingt dieser Nachweis, indem das filtrierte Serum eines mit lebenden Typhusbacillen infizierten Tieres ca. 24 Stunden nach der Impfung, einem zweiten normalen Tiere injiziert, in diesem Agglutinine erzeugt.

10) Der direkte Nachweis der in dem Serum typhuskranker Menschen enthaltenen agglutinablen Substanzen

läßt sich mit Hilfe der Absorptionsmethode nicht erbringen.

11) Indirekt lassen sich die Agglutinogene feststellen, indem das durch Filtration keimfrei gemachte Serum eines Typhuskranken, in dessen Blut Typhusbacillen kreisen, einem normalen Tiere injiziert, die Entwicklung von Agglutininen veranlaßt.

Straßburg i. Els., Juni 1908.

Literatur.

- 1) Widal, Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. (Soc. méd. des hôp. 1896. 26. Juni.)
- 2) Fornet, Die Präzipitatreaktion. Ein Beitrag zur Frühdiagnose bei Typhus und anderen Infektionskrankheiten. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. LIII. 1906. No. 38.)
- 3) Fornet u. Schereschewsky, Serodiagnose bei Lues, Tabes und Paralyse durch spezifische Niederschläge. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. LIV. 1907. No. 30.)
- 4) Fornet, Schereschewsky, Eisenzimmer u. Rosenfeld, Spezifische Niederschläge bei Lues, Tabes und Paralyse. (Dtsche med. Wochenschr. Jg. XXXIII. 1907. No. 41.)
- 5) Meyer, Neuere Methoden der Typhusdiagnostik. Vortrag, gehalten am 17. Jan. 1907 in der Gesellschaft der Charité-Aerzte. (Berl. klin. Wochenschr. Jg. XLIV. 1907. No. 11. p. 322.)
- 6) Kraus, Ueber spezifische Reaktionen in keimfreien Filtraten aus Cholera-, Typhus- und Pestbouillonkulturen, erzeugt durch homologes Serum. (Wien. klin. Wochenschr. Jg. X. 1897. No. 32. p. 736—738.)
- 7) Radzievsky, Beitrag zur Kenntnis des Bacterium coli. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIV. 1900. p. 369—453.)
- 8) Bail, Untersuchungen über die Agglutination von Typhusbakterien. (Prag. med. Wochenschr. Jg. XXVI. 1901. p. 137—139.)
- 9) — —, Versuche über Typhusagglutinine und -präzipitine. (Arch. f. Hyg. Bd. XLII. 1902. p. 307—404.)
- 10) Pick, Zur Kenntnis der Immunkörper. (Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol. Bd. I. 1902. p. 351—471.)
- 11) Beljaeff, Ueber einige Eigenschaften agglutinierender sowie auch anderweitiger spezifischer Serumarten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 293—296; p. 369—375.)
- 12) Kraus u. v. Pirquet, Weitere Untersuchungen über spezifische Niederschläge. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. p. 60—74.)
- 13) Kraus, Zur Theorie der Agglutination. (Zeitschr. f. Heilkunde. Bd. XXIII. 1902. p. 369—390.)
- 14) Kraus u. Joachim, Ueber Beziehungen der präzipitinogenen Substanz zur agglutinogenen der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. p. 662—671; Bd. XXXVII. p. 73—93.)
- 15) Brieger u. Mayer, Weitere Versuche zur Darstellung spezifischer Substanzen aus Bakterien. (Dtsche med. Wochenschr. Jg. XXIX. 1903. p. 309—310.)
- 16) Wassermann, Ueber Agglutinine und Präzipitine. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903. p. 267—292.)
- 17) Ford, Beitrag zur Lehre von den Hämagglutininen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902. p. 363—372.)
- 18) Bordet, Le mécanisme de l'agglutination. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIII. 1899. p. 225—250.)
- 19) Klein, Zur Kenntnis der Agglutinine und gewisser Präzipitine des Blutes. (Wien. klin. Wochenschr. Jg. XVI. 1903. p. 117—122; p. 156.)
- 20) Löwit, Ueber Niederschlagsbildung bei der Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 156—166; p. 251—259.)

- 21) Nicolle, Recherches sur la substance agglutinée. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898. No. 3. p. 161—191.)
- 22) Rodet, Sur l'agglutinine des sérums normaux. (Soc. de biol. 1903. p. 1628.)
- 23) Widal et Sicard, Étude sur le sérodiagnostic et sur la réaction agglutinante chez les typhiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897. No. 5. p. 353.)
- 24) Levy, E. u. Bruns, Beiträge zur Lehre der Agglutination. (Berl. klin. Wochenschr. Jg. XXXIV. 1897. p. 491—493; p. 574.)
- 25) Deutsch, Contribution à l'étude de l'origine des anticorps typhiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIII. 1899. No. 9. p. 689—727.)
- 26) Stäubli, Ueber die Bildung der Typhusagglutinine und deren Uebergang von der Mutter auf die Deszendenten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. p. 291—300; p. 441—454.)
- 27) van Emden, Ueber die Bildungsstätte der agglutinierenden Substanzen bei der Infektion mit Bacillus aërogenes. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXX. 1899. p. 19—32.)
- 28) Jatta, Experimentelle Untersuchungen über die Agglutination des Typhusbacillus und der Mikroorganismen der Coli-Gruppe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIII. 1900. p. 185—234.)
- 29) Rodella, Experimenteller Beitrag zur Serumreaktion bei Proteus vulgaris. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXVII. 1900. p. 583—591.)
- 30) Jörgensen, Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes im Verlaufe des Typhus abdominalis. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. p. 475—481; p. 556—570; p. 679—703.)
- 31) Rostoski, zitiert nach Kraus, Ueber spezifische Niederschläge (Präzipitine). (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. IV. p. 600.)
- 32) v. Dungern, Bindungsverhältnisse bei der Präzipitinreaktion. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. Heft 4. p. 355—380.)
- 33) Ascoli, Neue Tatsachen und neue Ausblicke in der Lehre der Ernährung. (Münch. med. Wochenschr. Jg. L. 1903. p. 201—204.)
- 34) Paltauf, Die Agglutination. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. IV. p. 670 ff.)
- 35) Neisser u. Lubowski, Läßt sich durch Einspritzung von agglutinierten Typhusbacillen eine Agglutininproduktion hervorrufen? (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX. 1901. p. 483—489.)
- 36) Hoke, Ueber Bakterienpräzipitation durch normale Sera. (Wien. klin. Wochenschr. Jg. XX. 1907. p. 347—348.)
- 37) Schumacher, Beitrag zur Frage des Ueberganges der im Serum gesunder und typhuskranker Wöchnerinnen enthaltenen Agglutinine auf den kindlichen Organismus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901. p. 323—344.)
- 38) Rusa, Ueber das Schicksal des Bakterienpräzipitinogens im Organismus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. Heft 4. p. 377—384.)
- 39) Fornet, Ueber den Nachweis des Bakterienpräzipitinogens im Organismus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. Heft 8. p. 843—846.)
- 40) Deutsch, Beiträge zur Kenntnis des Schweinerotlaufserums. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 214—229.)
- 41) Müller, P. Th., Zur Theorie der natürlichen antibakteriellen Immunität. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 700—713.)
- 42) Castellani, The Lancet. 1902. Zitiert nach Kraus u. Joachim (14).
- 43) Eisenberg, Untersuchungen über spezifische Präzipitationsvorgänge. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXI. 1902. p. 773—776.)
- 44) Halban u. Landsteiner, Ueber Unterschiede des fötalen und mütterlichen Blutsersums und über eine agglutinations- und fällungshemmende Wirkung des Normalserums. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. XLIX. 1902. No. 12. p. 473—476.)
- 45) Michaelis, Ueber Hemmungen der Präzipitinreaktion. (Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol. Bd. IV. 1904. p. 59—78.)
- 46) Dehne u. Hamburger, Experimentaluntersuchungen über die Folgen parenteraler Einverleibung von Pferdeserum. (Wien. klin. Wochenschr. Jg. XVII. 1904. No. 29. p. 806.)

- 47) Winterberg, Untersuchungen über das Typhusagglutinin und die agglutinierbare Substanz der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXII. 1899. p. 375—401.)
- 48) Eisenberg u. Volk, Untersuchungen über die Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902. p. 155—195.)
- 49) Joos, Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902. p. 203—230.)
- 50) Gaechtgens, Beitrag zur Agglutinationstechnik. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 28. p. 1351. — Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXV. 1907. Heft 1. p. 218—222.)
- 51) Brian, Beschleunigung der bakteriologischen Diagnose bei Meningitis cerebrospinalis epidemica. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. Heft 7. p. 745—746.)
- 52) Gaechtgens, Ueber die Beschleunigung der Agglutination durch Zentrifugieren, mit besonderer Berücksichtigung der Meningokokkenagglutination. (Arch. f. Hyg. Bd. LXVI. 1908. p. 377—383.)
- 53) Gruber, Beitrag zur Serodiagnostik des Typhus abdominalis. (Münch. med. Wochenschr. Jg. XLIV. 1897. No. 17. p. 435—438.)
- 54) Landsteiner, Ueber die Folgen der Einverleibung sterilisierter Bakterienkulturen. (Wien. klin. Wochenschr. Jg. X. 1897. No. 19. p. 439—444.)
- 55) Tobiesen, Ueber den diagnostischen Wert der Widalschen Serumreaktion bei Febris typhoidea. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XLIII. 1901. p. 147—159.)
- 56) Forster u. Kayser, Ueber das Vorkommen von Typhusbacillen in der Galle von Typhuskranken und „Typhusbacillenträgern“. (Münch. med. Wochenschr. Jg. LII. 1905. No. 31.)
- 57) v. Hösslin, Ueber Typhusfälle mit geringer und fehlender Agglutination und typhusähnliche Fälle. (Dtsches Arch. f. klin. Med. Bd. XCI. 1907. p. 314—330.)
- 58) Scheller, Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutination. II. Die Agglutinine der Typhusimmunsere und ihre Beziehungen zur agglutinogenen Typhusleibessubstanz. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. No. 5. p. 694—718.)
- 59) van Loghem, Agglutinations- und Komplementablenkungsversuche mit Typhusimmunsere. Ein Beitrag zur Frage der Agglutinationshemmung und zur Kenntnis des Typhusdiagnostikum nach Ficker. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 6. p. 539—550.)
- 60) Kraus u. Schiffmann, Sur l'origine des anticorps. Précipitines et Agglutinines. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XX. 1906. p. 225—240.)
- 61) Cantacuzène, Recherches sur l'origine des précipitines. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XXII. 1908. p. 54—65.)

Nachdruck verboten.

On a new test for differentiation of the bacilli of the typhoid group.

By **G. C. Chatterjee, M. B.**,
Asst. Bacteriologist, Medical College, Calcutta.

The importance of the subject can be judged from the fact that in the last International Congress of Hygiene held in Berlin in September 1907, a special section was set apart for consideration of the bacilli of the typhoid group and two important papers were read on the subject of biology and differentiation of the bacilli of the typhoid group.

The first one is by Babes who divided this group into 5 divisions (Bacillus enteric group, paratyphoid B group, paratyphoid A group, dysentery group and coli group).

They were separated from each other not by any particular test but by general morphological characters and by agglutination reaction and by a few cultural reactions. He given special importance to Bucholz's culture media for differentiation of these bacilli, though several strains of bacilli belonging to this group were found to behave in an abnormal way.

Loeffler who read his paper in the Congress on the same subject divided the bacilli belonging to this group into three classes:

I. Typhaceae, II. Josaraceae, III. Coleaceae.

The different subdivisions are distinguished from each other by general morphological characters and by certain cultural tests. Among the latter he gives special importance also to Bucholz's cultural tests; he describes also two culture media called typhoid solution and paratyphoid solution, by the help of which together with agglutination reaction the three subdivisions are differentiated. The first subdivision producing no change in either, the second decolorising the paratyphoid solution only, and producing gas formation with color change; the third fermenting both with gas formation and color change.

He remarks at the end of his article that besides these well known bacilli belonging to the typhoid group, several other bacilli have been found recently specially by Babes, for the thorough knowledge of which he suggests the formation of a committee consisting of 3 to 5 members for comparative examination of characters of the bacilli belonging to this group.

Kutscher and Meinicke made a series of experiments to find out the distinguishing characters of these bacilli. They collected 64 different strains of paratyphoid B, 5 paratyphoid A, 17 enteritides Gaertneri and 21 mousetyphoid bacilli and studied their cultural characters which were found not to be constant for each variety of bacillus nor did they present clear line of demarcation between the several varieties. They then tried agglutination reaction which was found also not to be satisfactory.

Leo Zupnik, Kolle and Pribram worked on the same lines, collecting together several strains of bacilli belonging to this group and also several varieties of culture media believed to present characteristic cultural test for each variety of bacillus. Their conclusions are the same — that these characters are variable, though for practical purposes they will serve the purpose of differentiation, they are not absolutely distinctive for each variety.

Working along this line, I came across a test for application in differentiation of the bacilli of this group, which can bear comparison to any of the tests usually employed both as regards easy way of application and the uniform results which it furnishes. The following is the description of the test.

It is known for a long time that in a culture medium which has been inoculated with some bacilli, the bacilli cease to grow after a certain time. This is no doubt due to a certain extent to the exhaustion of the culture medium but to a greater extent due to a toxine excreted by the bacillus in the culture medium which prevents further growth of the bacilli. The test described below depends on the specific action of this toxine which was found to prevent its own bacillus growing in the culture medium while it allowed other bacilli to grow.

For this purpose, several agar tubes are taken and inoculated with typhoid bacilli, evenly on the whole surface of the media.

After three or four days incubation at 37° C, the surfaces of the agar tubes are washed with sterile normal salt solution and all visible growth removed. The surfaces of the agar slants thus washed, are inoculated with typhoid bacilli, and then incubated no growth is seen as a rule. A certain number of agar tubes similarly dealt with are heated in an waterbath for 1 hour at 53° C, then cooled and then inoculated with typhoid bacillus again, and incubated. A distinct growth is found after 48 hours. Another set of tubes similarly dealt with but not heated, are inoculated, one set with paratyphoid B, a second set with paratyphoid A, a third one with Shiga bacilli and a fourth one with *Bacilli coli communis*.

The tubes are incubated at 37° C. After 48 to 72 hours, the tubes show all of them a distinct growth. Another set of typhoid scraped agar tubes are inoculated in each tube, one portion of the surface of agar with typhoid bacillus, rest of the surface being inoculated with different combination of the above set of bacilli. In every case, the portion of the tubes inoculated with typhoid bacillus show no growth (there may be a deposition of crystals along the needle track which simulates a growth) while the rest of the portions of the tubes show a thin growth.

Similar experiments are made with *Coli* scraped agar, Shiga bacillus scraped agar, paratyphoid bacillus scraped agar with similar results, except in the case of *Coli* and some other bacilli, the scraped surface, while preventing its own bacillus growing, has got growth inhibiting effect on typhoid bacillus as well and also on other bacilli of the typhoid group, but not on bacilli not belonging to this group, for example bacillus comma and staphylococci which will grow readily on *Coli* scraped agar. This is due probably to *Bacillus coli* excreting a toxine which is specific against all the bacilli of the typhoid-*Coli* group.

The test was put to a practical test in identification of a bacillus grown from the blood of a typhoid case.

This bacillus did not grow on typhoid scraped agar.

Two strains of typhoid bacillus were received from Calcutta Municipal Laboratory through the kindness of the Bacteriologist, Dr. Dutt, were tested with the strain of typhoid bacillus of this Laboratory, which was received from Král Laboratory about 1900. The three strains did not grow on agar inoculated with either of these three strains.

As regards the nature of the toxine which prevents the bacilli growing, it is certain that it is not the same which is excreted by a bacillus on which the pathogenic property of a bacillus depends and which on injection into an animal produces agglutinating serum. For this latter is not thermolabile — a culture of typhoid bacillus heated to 55° C for 1 hour, when inoculated into an animal produces agglutinating serum in the animal. The above toxine is not soluble in salt solution. It has got no destructive action on its own bacillus, for a bacillus inoculated on its own scraped agar medium is not destroyed at all and grows in fresh culture media readily, even when the tube has been kept sealed up for months together. The bacilli are not agglutinated nor do the motile bacilli lose their motility.

After completion of the above series of experiments, I came across a paper by Eijkman who arrived at similar conclusions by employing gelatine culture media, without removing the bacilli. He tried the action of Coli bacilli on comma and vice versa only. His procedure was the following:

Gelatine tubes inoculated with Coli bacilli are incubated at 37° C for 14 days and then media solidified in a slanting position and then inoculated with Coli bacilli, and then incubated at 22° C. As a rule no growth took place but comma bacilli be inoculated on Coli gelatine, a growth was found to take place.

Conclusions.

- 1) Bacilli growing in solid culture media like agar produces a growth inhibiting toxine in the media which is insoluble in salt solution.
- 2) This toxine has got a specific action — it will prevent its own bacillus growing but will allow other bacilli to grow.
- 3) It is thermolabile, i. e., destroyed at 55° C for 1 hour.
- 4) It does not kill the bacilli of which the growth is inhibited.
- 5) This specific property of the toxine can be utilised in the identification of typhoid bacilli from other bacilli belonging to this group.
- 6) And it has been found to work admirably for this purpose by actual experiment with different strains.

References.

- 1) Babes, Bericht a. d. XIV. Internat. Kongr. f. Hyg. u. Demogr. Bd. II. Sekt. I. Thema 2. p. 59.
- 2) Loeffler, Bericht a. d. XIV. Internat. Kongr. f. Hyg. u. Demogr. Bd. II. Sekt. I. Thema 2. p. 69.
- 3) Kutscher u. Meinicke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. p. 50.
- 4) Zupnik, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. p. 513.
- 5) Kolle, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. p. 289.
- 6) Pfibram, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LIV. p. 30.
- 7) Eijkman, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII.
- 8) Bucholz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LVI. p. 221.

Nachdruck verboten.

Die Schnellagglutination und ihre Verwendung bei der Serodiagnose des Rotzes¹⁾.

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelms-Instituts für Landwirtschaft zu Bromberg.]

Von Dr. Miessner, Abteilungsvorsteher.

Durch die Arbeiten von Schütz und Miessner über die Serodiagnose der Rotzkrankheit hat die Agglutination zum Nachweise des Rotzes eine ähnliche Bedeutung in der Veterinärmedizin gewonnen, wie

1) Laut brieflicher Mitteilung des Herrn Geheimrats Schütz wird auch im pathologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin die Schnellagglutination mit Erfolg angewendet und eine diesbezügliche Arbeit von Pfeiffer demnächst im Archiv für wissenschaftliche Tierheilkunde erscheinen.

für die Typhusdiagnose in der Humanmedizin. In Preußen werden zurzeit die Sera aller der Rotzansteckung verdächtigen Pferde mit Hilfe der Agglutination geprüft und die Pferde mit hohem Agglutinationswert sofort getötet. Die oben zitierten Autoren haben ferner nachgewiesen, daß die Agglutinationswerte bei frisch infizierten Tieren mit dem 5. Tage nach der Infektion ansteigen und am 11. Tage ihr Maximum — etwa 1:2000—4000 — erreichen.

Auf dieser Höhe bleibt dann der Agglutinationswert, um langsam wieder zu sinken. Das Abfallen des Agglutinationswertes geschieht in der Weise, daß die Werte 1:1500, 1:1000, 1:800, 1:600, 1:500, 1:400 je etwa 2 Monate lang beibehalten werden. Hiermit hängt es auch zusammen, daß das Serum chronisch rotzkranker Pferde nicht mehr so hoch agglutiniert, als dasjenige akut rotziger Tiere. Ja es kann sogar vorkommen, daß der Agglutinationswert des Serums rotzfreier Pferde demjenigen rotziger Pferde gleicht, da rotzfreie Pferde zuweilen Agglutinationswerte von 1:600 bis 1:800 haben. Um auch in solchen Fällen die rotzkranken Pferde serodiagnostisch ermitteln zu können, wird die Agglutinationsprüfung nach 2 Monaten wiederholt. Hat sich in dieser Zeit der Agglutinationswert verändert, so muß das Pferd rotzig sein, während der Agglutinationswert rotzfreier Pferde stets auf derselben Höhe bleibt. Neuerdings wird von Schütz in solchen zweifelhaften Fällen die Komplementbindungsmethode mit ausgezeichnetem Erfolge angewendet.

Das Verfahren, welches bisher von uns bei der Agglutination benutzt wird, besteht darin, daß wir aus bei 60° abgetöteten Rotzbacillen mit 0,85-proz. Karbolkochsalzlösung eine Abschwemmung herstellen von bestimmter Dichte. Je 2 ccm dieser sogenannten Testflüssigkeit werden mit dem fraglichen Serum in verschiedenen Verdünnungen 1:200 bis 1:2000 zusammengebracht und dann 24 Stunden lang bei 37° und 12 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

In den Fällen, in denen eine Agglutination zustande gekommen ist, ist die vorher opaleszierende Testflüssigkeit silberklar geworden, und an der Kuppe der Reagensröhrchen hat sich ein breiter, weißer, schleierförmiger Niederschlag gebildet. Beim Ausbleiben der Agglutination verändert die Testflüssigkeit ihr Aussehen nicht und am Boden entsteht ein scharfbegrenzter grauer, undurchsichtiger kleiner Klumpen. Die Kennzeichen für Agglutination und Nichtagglutination sind so verschieden, daß sie mit Leichtigkeit auseinandergehalten werden können. Bezüglich der Testflüssigkeit hat sich ergeben, daß frisch aus dem Tierkörper gezüchtete Bakterien für die Agglutination ungeeignet sind. Wir verwenden deshalb nur die späteren Generationen. Die Testflüssigkeit ist mehrere Monate lang haltbar.

Wie Verf. ferner nachgewiesen hat, übt die subkutane Injektion von Mallein bei rotzfreien Pferden dieselbe Wirkung auf den Agglutinationswert aus, wie die Injektion von lebenden Rotzbacillen. Auch hier das typische schnelle Ansteigen des Agglutinationswertes vom 5. bis zum 11. Tage und das etappenförmige Sinken. Ein Unterschied liegt nur darin, daß der Agglutinationswert malleinierter Pferde im allgemeinen nicht so hoch steigt und auch schneller wieder abfällt, so daß oft schon in einem Monat der Agglutinationswert wieder erreicht ist, den das Serum des Pferdes vor der Malleinisierung gehabt hat. Die diesbezügliche Arbeit wird demnächst im Archiv für praktische und wissenschaftliche

Tierheilkunde erscheinen. Es hat diese Frage insofern auch eine große praktische Bedeutung, als man Pferde niemals vorher malleinisieren darf, wenn die Serodiagnose mit Hilfe der Agglutination einwandfreie Resultate ergeben soll.

Die Agglutinationsmethode hat nun einen Nachteil, der darin besteht, daß immer 2 Tage vergehen, ehe man zum Resultate kommt. Deshalb habe ich mich bemüht, das Verfahren abzukürzen und in der Zentrifuge ein geeignetes Hilfsmittel gefunden, um den Vorgang zu beschleunigen. Es ist diese Methode zuerst von Gaehgens beim Typhus und Paratyphus mit gutem Erfolge benutzt worden.

Ich verwende hierzu die gleiche Testflüssigkeit, welche bei der von Schütz-Miessner geübten Agglutinationsmethode benutzt wird und im Anfange dieser Arbeit beschrieben ist. Es werden auch die Serumverdünnungen in derselben Weise hergestellt.

Während wir bisher 36 Stunden warten mußten, ehe das Phänomen der Agglutination für unsere Augen erkennbar wurde, werden jetzt die in Zentrifugenröhrchen angefüllten 2 ccm Testflüssigkeit mit den entsprechenden Serumverdünnungen nur 10 Minuten lang bei 37° aufbewahrt. Irgend eine makroskopisch sichtbare Veränderung ist während dieser Zeit nicht eingetreten und man wäre demnach auch nicht imstande, zwischen den von rotzigen und rotzfreien Pferden stammenden Seris zu unterscheiden.

Bringt man aber die Röhrchen nach Ablauf der obengenannten Zeit in eine Zentrifuge und beläßt sie in derselben 10 Minuten lang, so kann man jetzt ein ausgezeichnetes Urteil über die Höhe des Agglutinationswertes des betreffenden Serums erhalten.

Die Flüssigkeit ist durch das Zentrifugieren fast völlig klar geworden und an der Kuppe des Zentrifugenröhrchens hat sich ein Niederschlag gebildet. Gaehgens gibt an, daß das Aussehen dieses Bodensatzes beim Typhus ganz charakteristisch ist und einen Unterschied zwischen agglutinierenden und nicht agglutinierenden Seris gestattet. Bei den ersteren soll der Bodensatz breiter, als bei den nicht agglutinierenden Seris sein. Häufig kann ich auch beim Rotz etwas ähnliches beobachten, so gleicht der Bodensatz bei nicht agglutinierenden Seris genau dem undurchsichtigen scharf begrenzten Bacillenklumpen, den man nach Ablauf von 36 Stunden bei dem von uns gewöhnlich geübten Verfahren beobachten kann. Doch ist dies beim Rotz nicht immer der Fall, zuweilen wird auch am Boden der Röhrchen, die nicht agglutinierende Sera enthalten, ein ausgebreiteter durchsichtiger Bodensatz beobachtet, der mehr dem agglutinierenden Sera gleicht. Bei den Röhrchen, in denen eine Agglutination eingetreten ist, befindet sich meist eine zentrale, auf der Höhe der Kuppe gelegene völlig durchsichtige Stelle, die von einem etwas dichteren ca. $\frac{1}{2}$ cm breiten Ring umgeben ist. Um diesen Ring liegt eine zweite, breitere weiße Zone, die sich schließlich in feine Körnchen auflöst.

Wie erwähnt, sind aber die Niederschläge keineswegs immer ausschlaggebend für die Beurteilung des Agglutinationswertes. Dagegen ist der durch Schütteln des Röhrchens aufgewirbelte Bodensatz in seiner Form so charakteristisch, daß er völlig zur Diagnose ausreicht und weder zu Verwechslungen noch Zweifeln Anlaß gibt. Zu dem Zwecke schüttelt man das Röhrchen kräftig im Kreise herum und beobachtet

dabei gleichzeitig, in welcher Weise der durch Kreisen der Flüssigkeit im Röhrchen aufgewirbelte Bodensatz aufsteigt. Zur besseren Beobachtung hält man hinter das Röhrchen einen schwarzen Bogen Papier, gegen den sich dann die weißen Körnchen in der klaren Flüssigkeit besser abheben. Agglutiniert das Serum, so sehen wir, wie mehr oder weniger große Körnchen und Flocken in der Flüssigkeit emporsteigen, die selbst bei kräftigem Schütteln bestehen bleiben und in der sonst klaren Flüssigkeit gut zu sehen sind. Ganz anders verhält sich dagegen der Bodensatz eines nicht agglutinierenden Serums. Er erhebt sich bei vorsichtigem Schütteln in Form eines zusammenhängenden korkenzieherartig gewundenen Zopfes, etwa wie der Bodensatz mancher Bouillonkulturen. Schüttelt man kräftiger, so löst sich der Zopf schleierförmig auf und trübt die ganze Flüssigkeit gleichmäßig. Von irgend einer Körnung oder Flockung ist nichts zu sehen.

Wir haben nun über 100 hierselbst auf ihren Agglutinationswert nach der alten Methode geprüfte Sera gleichzeitig auch nach der neuen Methode untersucht und dabei hat sich stets mit vollkommener Sicherheit ergeben, daß in den Fällen, in denen die Sera ohne Zentrifugieren agglutinierten, auch dasselbe Resultat innerhalb einer halben Stunde durch Zentrifugieren zu erreichen gewesen ist. Das Phänomen ist so deutlich, daß man ganz genau den Grenzwert bestimmen kann. Es geht also hieraus hervor, daß die Körnung und Flockung ein Zeichen für den positiven Ausfall der Agglutination sind, während der zopfförmige Schleier das Ausbleiben der Agglutination anzeigt. Man sieht gleichzeitig, daß die Agglutination etwa nach 10 Minuten ihr Ende erreicht und daß die übrige bisher verwendete Zeit nur dazu dient, um unseren Augen den Vorgang der Agglutination sichtbar zu machen. Durch das Zentrifugieren erreicht man nun, daß der typische Bodensatz schon innerhalb 10 Minuten entsteht.

Es sind natürlich von uns Versuche bezüglich der Dauer des Zentrifugierens gemacht worden, und es hat sich hierbei ergeben, daß mit Hilfe der Wasserzentrifuge, die pro Minute 1000 Umdrehungen macht, etwa 10 Minuten ausreichen. Bei der elektrischen Zentrifuge mit 4000 Umdrehungen genügt schon ein Zeitraum von 3 Minuten. Es empfiehlt sich nicht, mehr als die angegebene Zeit zu zentrifugieren, da dann der Niederschlag häufig so fest wird, daß er sich schwer aufwirbeln läßt.

Die Methode hat wegen ihrer Schnelligkeit entschieden einen großen Vorzug vor der alten und wird von jetzt ab stets im hiesigen Institut angewendet. Man ist auf diese Weise schon innerhalb $\frac{1}{2}$ Stunde imstande zu entscheiden, ob ein Pferd rotzkrank ist oder nicht, während man früher dazu mindestens 2 Tage und, um die Resultate zu kontrollieren, 4 Tage gebraucht hat.

Bei der Bekämpfung der Rotzkrankheit spielt es aber eine große Rolle, daß die rotzigen Pferde möglichst schnell erkannt, um schadlos beseitigt zu werden, und es dürfte sich deswegen die Methode zur Diagnose am geeignetsten erweisen, die außer mit großer Sicherheit auch noch mit großer Schnelligkeit arbeitet.

Beide Eigenschaften kommen der neuen Agglutinationsmethode zu.

Literatur.

- Schütz u. Miessner, Zur Serodiagnose der Rotzkrankheit. (Archiv für praktische und wissenschaftliche Tierheilkunde. Bd. XXXI. 1905.)
- Gaehstgens, Beitrag zur Agglutinationstechnik. (Arbeiten aus dem Kais. Reichsgesundheitsamt.)
- Brian, O., Beschleunigung der bakteriologischen Diagnose bei Meningitis cerebrospinalis epidemica. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XLIII. 1907. p. 745/46.)
- Eberle, Ueber Agglutination der Meningokokken. (Archiv f. Hygiene. Bd. LXIV. 1908.)
- Gaehstgens, Ueber Beschleunigung der Agglutination durch Zentrifugieren mit besonderer Berücksichtigung der Meningokokkenagglutination. (Arch. f. Hyg. Bd. LXVI. 1908.)

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten des Milzbrandbacillus bei der Silberimprägation.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie an der Universität Straßburg i. E. (Direktor: Prof. Dr. Forster).]

Von Dr. J. Yamamoto.

Anschließend an meine Arbeit in Bd. XLVII. Abt. I. Orig. p. 570 möchte ich folgendes bemerken: Die merkwürdige, bei den Leprabacillen gemachte und in jener Arbeit beschriebene Beobachtung veranlaßte mich, weiterhin zu untersuchen, ob es noch andere Bakterien gibt, die sich gegenüber der Silberimprägation ähnlich verhalten.

Bei allen Untersuchungen von Bakterien, deren Verhalten bei der Silberbehandlung unbekannt ist, empfiehlt es sich, als Testobjekte auf dasselbe Deckglas, auf welches man das zu untersuchende Material bringt, je eine sicher „silberpositive“ und eine sicher „silbernegative“ Bakterienart an getrennten Stellen auszustreichen. Als erstere benutzte ich Colibacillen, als letztere Milzbrandbacillen, die zweite von mir gefundene Bakterienart, welche sich silbernegativ verhielt, wenigstens mit der Maßgabe, auf die ich jetzt näher eingehen möchte.

Die jungen vegetativen Formen der Milzbrandbacillen sind alle silbernegativ, und nur ihre Kontur tritt als scharfe schwarze Linie deutlich hervor. Dies ändert sich an Bakterien solchen Alters, bei dem der Beginn der Sporenbildung zu erwarten ist. Man sieht dann in den im ganzen diffus gefärbten Bacillenkörpern meist nahe dem Zentrum, aber auch an anderen Stellen einen schwarzen Fleck auftreten, welcher später etwas größer, mehr kreisförmig und weniger scharf umgrenzt als eine Spore erscheint. Ueber den Zusammenhang dieser Gebilde mit den Sporen kann ich noch nichts Sicheres aussagen. Je mehr aber der schwarze Fleck an Ausdehnung zunimmt, um so mehr hellt sich der übrige, vorher diffus gefärbte Anteil des Bacillenleibes auf.

In mittelalten Kulturen sind die intracellulären sowie die isolierten Sporen leicht tingierbar, in alten Kulturen färben sie sich wiederum weniger gut.

Dasselbe Verhalten zeigten die Milzbrandbacillen bei der Kultur auf allen von mir daraufhin untersuchten Nährböden.

Nicht ganz so konstant silbernegativ fanden sich die Milzbrandbacillen in Ausstrichen von dem Herzblut oder den Organen mit Anthrax infizierter Mäuse. Bei der Anfertigung solcher Präparate muß man ebenfalls 1 Oese Hühnereiweiß auf das Deckglas bringen, bevor man das Material darauf ausstreicht; wenn man alsdann die Versilberung ausführt, so zeigt sich zwar das Gros der Bacillen negativ, einige weisen jedoch den schwarzen Farbenton auf. Die Kapseln bleiben hierbei farblos, ebenso wie ich es bei anderen Kapselbakterien (*Diplococcus pneumoniae* Fraenkel und *Bacillus pneumoniae* Friedländer) fand, bei denen sich aber der äußere Rand der Kapsel gegen die Umgebung etwas abhob. Die Leiber dieser Kapselbakterien färben sich dabei schwarz; von der Fähigkeit zur Kapselbildung kann also die Silbernegativität der Milzbrandbacillen nicht abhängen. Aber auch mit der Fähigkeit, Sporen erzeugen zu können, steht sie nicht in ursächlichem Zusammenhang, denn andere Sporenbildner, z. B. die Tetanusbacillen, sind silberpositiv, während die Heubacillen eine Mittelstellung einnehmen.

Wenn es überhaupt eine Gesetzmäßigkeit für das Verhalten der Bakterien gegenüber der Silberimprägnation gibt, so kann es erst nach der systematischen Untersuchung der verschiedensten Bakterienarten gelingen, sie zu finden. Vielleicht hat es auch Aussicht, zu prüfen, in welcher Weise die Imprägnierbarkeit der Bakterien sich durch die Einwirkung gewisser Agentien modifizieren läßt. Daß dies überhaupt möglich ist, ergab sich, als ich Milzbrandbacillen 10 Minuten lang über Osmiumsäuredämpfen fixierte oder 4-proz. Antiforminlösung (Uhlenhuth) bis beinahe zur Auflösung auf sie einwirken ließ; die so vorbehandelten Milzbrandbacillen sind silberpositiv.

Nachdruck verboten.

Eine kleine Kugelmühle.

[From the Department of Bacteriology, Hoagland Laboratory,
Brooklyn, N. Y., U. S. A.]

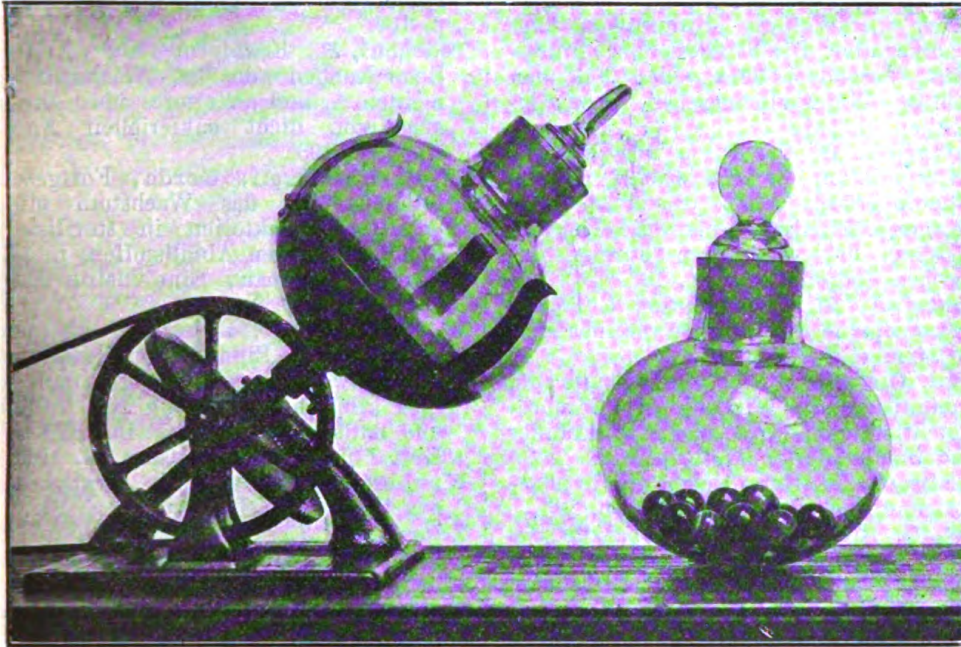
Von Dr. **Benjamin White.**

Mit 1 Figur.

Die begleitende Abbildung stellt eine kleine Kugelmühle dar, die in unserem Laboratorium zum Zerreiben trockener Bakterienkulturen erdacht worden ist. Die mit diesem Apparate erreichten sehr zufriedenstellenden Erfolge haben uns veranlaßt, seine Beschreibung zu veröffentlichen.

Der wesentliche Teil dieser Mühle besteht aus einem Ballon aus dickem Glas mit einem genau eingeschliffenen Stöpsel, welcher 20—30 geglättete achatene Kugeln von ca. 1,5 cm Durchmesser enthält. Der Ballon ist in einem metallenen Behälter eingeschaltet, der auf eine Achse paßt, welche durch eine einfache mechanische Vorrichtung langsam rotiert wird. Man erhält eine genügende Kraft vermittelt eines Motors von $\frac{1}{12}$ P.K.

Das Reinigen und Sterilisieren des Ballons und der Kugeln verursacht keine Schwierigkeiten; eine Verunreinigung mit fremden Bakterienarten wird durch den fest eingeschliffenen Glasstöpsel verhindert; die innere, glatte, runde Oberfläche liefert keine Ecken, die darin unzerriebene Teilchen beherbergen konnten; weder das Glas noch die Kugeln geben fremdes Material ab, wie es bei porzellanen oder metallischen Mühlen der Fall ist; das zu zerreibende Material wird bis zum feinsten Pulver zermahlen und man vermag das Pulver aus dem Ballon quantitativ herauszunehmen.



Nach 10-stündigem Zerreiben gelingt es uns, getrocknete Typhusbacillen zu einem Pulver zu zermahlen, in welchem man nur feine Teilchen, aber keine Bacillenkörper nachweisen kann. (Die Mühle wird von Arthur W. Fox, Brooklyn, N. Y., hergestellt.)

Inhalt.

- Almquist, Ernst**, Studien über das Verhalten einiger pathogenen Mikroorganismen bei niedriger Temperatur, p. 175.
- Bail, Oskar** und **Tsuda, K.**, Das Verhalten der Choleraimmunkörper bei der Bakteriolyse, p. 194.
- Bau, Arminius**, Die Identität der Oestridengattungen *Gyrostigma* und *Spathicera*, p. 164.
- Brons, C.**, Weitere Mitteilungen über gramnegative Diplokokken der Bindehaut, besonders über einen Fall von echten Weichselbaumschen Meningokokken, p. 141.
- Chatterjee, G. C.**, On a new test for differentiation of the bacilli of the typhoid group, p. 246.
- Eisenberg, Philipp**, Ueber die Thermoresistenz der vegetativen Formen der aeroben Sporenbildner, p. 187.
- Elmassian, M.**, Contribution à l'étude microscopique de la cornée vaccinée chez le lapin, p. 207.
- Fermi, Claudio**, Ueber die lyssizide und immunisierende Wirkung der Cerebrospinalflüssigkeit gesunder, wutkranker und immunisierter Tiere, p. 216.
- Gaeltgens, Walter**, Ueber die Typhusantigene und ihre Antikörper, p. 223.
- Hata, S.**, Ueber die Anwendbarkeit des Rossischen Kolloid-Trennungsverfahrens zur Konzentrierung der wirksamen Substanzen im Serum, p. 203.
- Hüne**, Die begünstigende Reizwirkung kleinster Mengen von Bakteriengiften auf die Bakterienvermehrung, p. 135.
- Jorio, C.**, Einige histologische Untersuchungen über die Geschwülste und ihre Metastasen in den Lymphdrüsen, p. 151.
- Miessner**, Die Schnellagglutination und ihre Verwendung bei der Serodiagnose des Rotzes, p. 249.
- Schürmann, W.**, Ueber eine durch Milben hervorgerufene Erkrankung von Ratten, p. 167.
- Tedeschi, E.**, Erwiderung auf „Kritische Bemerkungen“ des Dr. Weichardt über meinen Artikel „Weiteres über die sogenannten nicht bakteriellen Aggresine“, p. 193.
- Trolli-Petersson, Gerda**, Fortgesetzte Studien über das Wachstum einiger pathogener Bakterien in sterilisierten und nichtsterilen Abfallstoffen, p. 119.
- White, Benjamin**, Eine kleine Kugelmühle, p. 254.
- Wolf-Eisner, A.**, Bemerkung zu meiner Arbeit: Die Bindungsverhältnisse der Organgewebe gegenüber Toxinen und ihre klinische Bedeutung für Infektion und natürliche Immunität in Bd. XLVII. Heft 1 u. 2 dieser Zeitschr., p. 191.
- Wrublewski, K. J.**, Ein Trypanosoma des Wisent von Bielovesch, p. 162.
- Yamamoto, J.**, Ueber das Verhalten des Milzbrandbacillus bei der Silberimprägnation, p. 253.
- Zirolia, G.**, Ueber einen neuen Apparat für Versuche über das Saugen der Insekten, p. 173.

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.

Ueber Fetteinschlüsse bei Bakterien.
Farbchemische Untersuchungen.

[Aus dem k. k. hygienisch-bakteriologischen Institut der Jag. Universität
in Krakau. Vorstand: Prof. O. Bujwid.]

Von Dr. **Philipp Eisenberg**, Assistenten am Institut.

Mit 2 Tafeln.

Die morphologische, tinktorielle sowie mikrochemische Analyse der Bakterienzelle hat seit jeher, und mit Recht, die Aufmerksamkeit vieler Forscher auf sich gezogen, verspricht sie doch genaueren Aufschluß über die höchst interessanten biologischen Probleme, die diese kleinsten Lebewesen dem Beobachter bieten. Aber angesichts der immer noch ziemlich dürftigen Kenntnisse über den morphologischen und chemischen Aufbau des Protoplasmas, sowie angesichts der Kleinheit der zu analysierenden Objekte wird es wohl nicht wunder nehmen, daß die Errungenschaften auf diesem Gebiete noch wenig befriedigend, die Angaben unsicher und zum Teil widerspruchsvoll sind. Dazu kommt noch der Umstand, daß hier, ebenso wie auf manchem anderen Gebiet der Mikrobiologie, durch ungeordnete und oft verschwenderische Namengebung viel mehr Verwirrung und Unklarheit als Ordnung und Uebersichtlichkeit geschaffen wurde, so daß manche Gebilde zwei- oder dreimal ohne ersichtliche Notwendigkeit umgetauft wurden.

Auch die Fetteinschlüsse der Bakterien, mit denen die folgende Mitteilung sich befassen soll, hatten ähnliche Schicksale zu erleben. Sjöbring hat wohl als erster (1892) beim Milzbrand sowie beim Heubacillus ovale, mittelständige Vakuolen mit distinkt färbbarem, körnigem Inhalt beschrieben, die er als Zellkerne mit Chromatinstrukturen deutet; da sie bei Färbung mit Karbolmethylenblau ungefärbt bleiben, dürften sie wohl Fetteinschlüsse darstellen, ihr körniger Inhalt wohl mit den Krompecherschen metachromatischen Granulis resp. mit den Entogranulis von Ružička identisch sein. Zwei Jahre später hat Ilkewicz an Glycerinagarkulturen von Milzbrandbacillen Sporen beschrieben, in denen er durch ein besonderes Färbungsverfahren Kerne dargestellt zu haben glaubt; es handelt sich offensichtlich wieder um Fetteinschlüsse und Krompechersche Granula (Sporen sind beim Anthrax auf Glycerinagar recht selten zu finden, dagegen Fetteinschlüsse massenhaft). Sodann hat Bunge (1895) die Fetteinschlüsse als säurefeste Körnchen und Kügelchen beschrieben, die er als „Vorsporen“ deutet, die das Material zur Sporenbildung abgeben sollen. Bei Krompecher (1901) finden wir die beiden Gebilde wieder, und zwar als farblose Vakuolen mit körnigem, metachromatisch sich färbendem Inhalt. Einen großen Fortschritt brachten in dieser Frage, wie in der morphochemischen Analyse der Bakterienzelle die Untersuchungen von A. Meyer und seinen Schülern Grimme, Gottheil, Ellis, die mittels mikrochemischer Reaktion eine Anzahl von Körnchen und Kugeln bei verschiedenen Bacillenarten, beim *B. phlei*, bei *Spirillum volutans* (von Zettnow bereits als säurefester Körper beschrieben) als Fetteinschlüsse charakterisierten. Dementgegen glauben Dittrich und Liebermeister, auf Grund der Naphtholblaureaktion dieselben Körnchen beim Milzbrandbacillus, beim *B.*

megatherium, bei Typhus, Coli, Diphtherie, Pyocyaneus als sauerstoffübertragende Körnchen auffassen zu müssen und schließen ihre Fettatur rundweg aus. Auf der anderen Seite plaidiert Preisz, dem wir eingehende und sehr wichtige Untersuchungen über die Morphologie des Milzbrandbacillus verdanken, für den fettartigen Charakter dieser Körnchen und schildert sehr genau ihre metachromatischen Innenstrukturen. Eine ganz abweichende Deutung finden die Körnchen bei Fedorowitsch, der sie nach einer modifizierten Gramschen Methode bei Megatherium, Hühnercholera, Pyocyaneus, Typhus, Coli, Mäuse-septikämie, Cholera färbt, in Körnchen erster, zweiter und dritter Ordnung einteilt und als „Protosporen“, d. i. eine weniger entwickelte Art von Dauerformen, auffaßt. Endlich hat Ružička, der früher die Fettsinschlüsse und ihre Innenstrukturen als Ekto- und Entogranula bezeichnete und beschrieb, in einer neuesten Mitteilung sich ausführlich mit der Morphologie und Mikrochemie dieser Körper beschäftigt und faßt dieselben unter dem Namen von „Sporoidkörpern“ als besonders organisiertes Linin auf, dessen Wucherung auf einer Störung der Sporen-Körperrelation beruht und in der Biochemie des Bakteriums einen pathologischen Prozeß bedeutet.

Aus dieser kursorischen Zusammenstellung der Ansichten ergibt sich bereits, daß das Problem durchaus nicht einfach liegt, trotzdem ihm bereits viel Aufmerksamkeit von verschiedener und maßgebender Seite gewidmet wurde. Da die morphologische Seite bereits als ziemlich klar gestellt zu betrachten ist, ich verweise nur auf die exakten Darstellungen von Preisz, Grimme und Ružička, will ich im folgenden nur die Resultate meiner farbchemischen Untersuchungen sowie einiges über das Vorkommen dieser Gebilde im Bakterienreiche mitteilen, um zuletzt ihrer chemischen Natur eine kurze Betrachtung zu widmen.

Die Mehrzahl meiner Untersuchungen wurde an Milzbrandbacillen vorgenommen, sie wurden dann an einer Reihe von Bakterien kontrolliert, die weiter unten genannt werden sollen. Es wurden junge oder ältere Kulturen auf gewöhnlichem resp. Glycerinagar zumeist im Tropfen vital resp. postvital gefärbt. Versuche mit fixiertem Material sollen weiter unten besonders besprochen werden.

Den Ausgangspunkt meiner Untersuchungen bildete die von Dittich und Liebermeister gefundene Naphtolblaureaktion dieser Körnchen. Werden Milzbrandbacillen in einer 1-proz. wässerigen Lösung von Paraphenyldiamin (Base oder Chlorhydrat, nicht zu alte Lösung) verrieben und mit alkalischer Naphtollösung (in 1-proz. Soda) versetzt, so bildet sich an der Luft Naphtolblau, das in Form blauer Flöckchen ausfällt, und die Körner färben sich blau. Zusatz oxydierender Agentien (Ferricyankalium, Salze der Ueberosmiumsäure, Chloranil) beschleunigen die Naphtolblausynthese in vitro, ebenso auch die Färbung unserer Körnchen. Wasserstoffsperoxyd übt dieselbe Wirkung, sofern durch Zusatz von Hämoglobin Sauerstoff daraus freigemacht wird; in unserem Fall ist dieser Zusatz unnötig, da der Bakterienkörper selbst die Zersetzung bewirkt und die Oxydation schnell vor sich gehen läßt.

So sieht man denn nach Zusatz von Wasserstoffsperoxyd (Perhydrol Merck) zur oben besprochenen Mischung sofort Bläuung eintreten und auch die Granulafärbung ist sogleich fertig. An Stelle von α -Naphtol kann mit gutem Resultat β -Naphtol in 1-proz. Soda gebraucht werden, ebenso Phenol in alkalischer Lösung (5 Proz. in Normallauge) unter Zusatz von Ferricyankalium. Dagegen habe ich keine Reaktion der Körner erzielt bei Verwendung von Orcin, Resorcin in alkalischer Lösung

bei $K_3Fe(CN)_6$ -Zusatz, trotzdem in vitro dabei die Naphtolblausynthese eintritt. Mit Hilfe einer anderen Synthese, und zwar durch Einwirkenlassen von Nitrosodimethylanilin in wässriger Lösung auf alkalisches β -Naphtol, wobei Naphtolblau entstehen soll (Nietzki, p. 198), konnte ich eine Blaufärbung der Körner nicht erlangen. Von den dem Naphtolblau nächst verwandten Oxazinen habe ich zunächst Muscarin (G)¹⁾ (hydroxyliertes Naphtolblau), und zwar in wässriger resp. alkalischer Lösung, versucht, doch ohne Erfolg, indem nur der Rest des Bakterienkörpers sich färbte, die Granula aber ungefärbt blieben. Ebenso verhält sich Nilblausulfat (G) (amidiertes Naphtolblau), dagegen werden die Granula von der orange-rötlichen Nilblaubase deutlich und elektiv, d. h. unter Ausschluß aller übrigen Zellbestandteile gefärbt. Man kann die Reaktion entweder so ausführen, daß man aus der Lösung des Sulfats durch Lauge die Base ausfällt und den Niederschlag in Alkohol löst; man setzt dann zu einer wässrigen Aufschwemmung der Bakterien ein Tröpfchen der alkoholischen Lösung und bekommt die Färbung. Oder aber man suspendiert die Bakterien in Normallauge und fügt wässriges Nilblausulfat hinzu: Die sich bildende Base fällt zum Teil in rötlichen Flöckchen aus, zum Teil wird sie von den Fettgranulis fixiert. Noch schöner wird die Färbung, wenn man die Bakterien in Nilblausulfatlösung aufschwemmt und nun 1-proz. Soda hinzusetzt; es wird dann durch das schwache Alkali nur ein Teil des Sulfats in Base umgewandelt, die die Granula rötlich färbt, während der Rest der Zelle sehr schön und distinkt mit dem unveränderten Sulfat blau gefärbt bleibt. Es resultiert daraus eine sehr instruktive Doppelfärbung, das Ektoplasma, die wandständigen Körnchen und die plasmatischen Netzstrukturen blau, die Fettkörnchen resp. Kugeln rötlich. Eine Doppelfärbung kann auch erzielt werden, indem man mit Nilblaubase behandelte Bakterien mit einer sehr schwachen wässrigen Methylenblaulösung (ich verwende B pat. G) nachfärbt. Aehnlich verhielt sich auch das ebenfalls zu den Oxazinen gehörende Brillantkresylblau (G); gegen die wässrige Lösung verhalten sich unsere Granula ablehnend, während der Rest des Bakterienleibes schön und distinkt gefärbt wird; die durch Alkalien freiwerdende Base (ebenfalls orangerötlich) färbt dagegen in elektiver Weise die Fettgranula, ohne alles andere anzufärben. Auch hier läßt sich eine sehr instruktive Doppelfärbung erzielen, wenn man die Bakterien in verdünnter Farblösung verreibt und sodann 1-proz. Soda hinzufügt: Das Ektoplasma, die Plasmastrukturen und wandständigen Granula schön blau, die Fettgranula orange-farben. Die anderen Angehörigen der Oxazin- und Oxazongruppe (Oxonin, Capriblau, Nilblau BB, Neumethylenblau, die Cyanamine, Resorufin, Resorinblau, Resorufamin, Gallocyanin, Prune, Cölestinblau, Gallusblau, Alizarin grün, Resazurin, Teirebromresazurin, Orcirufin, Orcirufamin) habe ich bis jetzt mir leider nicht beschaffen können, ihre Untersuchung wäre für das Verständnis der Reaktion zweifellos von großem Interesse.

Wir wenden uns jetzt zu den eigentlichen mikrochemischen Fettreaktionen, die von A. Meyer und seinen Schülern zuerst zum Studium der uns interessierenden Körnchen herangezogen wurden, und auf deren Grund sie dieselben als Fettkörnchen ansprechen. Zunächst konnte ich die Dimethylamidoazobenzol- (M) (Buttergelb-)Reaktion bestätigen, muß aber bemerken, daß ich sie nie so prägnant bekam, wie sie von A. Meyer

1) Die eingeklammerten Zeichen bedeuten die Provenienz des betreffenden Farbstoffes, und zwar (G) Grübler-Leipzig, (M) E. Merck-Darmstadt, (K) Kahlbaum-Berlin. Die benutzten Chemikalien waren reine Präparate, von Merck oder Kahlbaum bezogen.

und Grimme abgebildet wird, vielmehr waren die Granula immer nur schwach gelb gefärbt, traten höchstens bei Methylenblau- oder Wasserblauachfärbung durch Kontrast stärker hervor. Ganz ähnlich verhält es sich mit der Sudan-III- (G)-Reaktion, wie auch schon Dittrich und Liebermeister bemerkt haben. Von anderen Azokörpern habe ich das von Michaelis empfohlene Scharlach R (Fettponceau, Toluolazo-toluolazo- β -naphtol) (G) versucht, in alkoholischer sowie alkoholisch-alkalischer Lösung nach Herxheimer, ohne jedoch eine Färbung der Körnchen zu erzielen, trotzdem A. Meyer (p. 152) es in eine Reihe mit dem Buttergelb stellt.

Von anderen Azokörpern habe ich im Chrysoidin (K), Vesuvin (G) und Bismarckbraun (G) Farbstoffe gefunden, die unsere Körnchen anfärben, unter der Bedingung, daß durch Zusatz von Alkalien aus den Chlorhydraten die Base freigemacht wird. Man schwemmt also die Bakterien in schwacher Lauge resp. 1-proz. Soda auf und setzt die wässrigen Lösungen der genannten Farbstoffe hinzu, es resultiert eine grünlichgelbe Färbung der Granula, die dabei zumeist eine nicht unbedeutliche Quellung erfahren. Auch mit alkoholischen Lösungen der Basen kann man dasselbe Resultat erzielen; durch Nachfärbung mit verdünntem Fuchsin bekommt man eine Doppelfärbung der Bakterien. Auch hier wäre eine eingehende Durchprüfung der reichhaltigen Gruppe von Azofarbstoffen, die mir leider bis jetzt nicht möglich war, sehr erwünscht. Von anderen Fettfarbstoffen habe ich Alkanin (G) in alkoholischer sowie alkalischer Lösung, ferner Cyanin in alkoholischer Lösung versucht, ohne eine Färbung zu erreichen. Von Interesse ist die Färbung unserer Fetteinschlüsse mit alkoholischem Indophenolblau (M), das von Herxheimer zur Fettfärbung empfohlen wurde und dem Naphtolblau isomer ist. Diese Färbung, ebenso wie die mit Dimethylamidoazobenzol und mit Sudan III ist wenig haltbar, indem der blaue Ton langsam abblaßt, um schließlich ganz zu verschwinden (Bildung von Leukoprodukten durch Reduktion?); durch Zusatz von Alkali fand ich diese Färbung ebenso wie bei den anderen haltbarer und deutlicher, eine Tatsache, die ich vorderhand nicht zu erklären vermag. Endlich fand ich, daß auch die Base des Echtblaues (M), das ist eines Gemisches von Diphenyl- und Triphenylrosanilinsulfat, die Fetteinschlüsse schwach orange anfärbt. Mit schwacher Fuchsin-, Methylenblau- oder Wasserblaulösung kann man bei den soeben besprochenen Färbungen eine gute Nach- resp. Doppelfärbung zustande bringen.

Alles in allem sind jedoch die bisher beschriebenen Färbungen nicht immer prägnant und dauerhaft genug, so daß die Umschau nach deutlicheren und echteren geboten erschien. Mit den gebräuchlichen basischen sowohl als saueren Farben färben sich bekanntlich unsere Granula nicht, was auch ich in mannigfachen Versuchen bestätigen konnte. Bei Doppelfärbungsversuchen fand ich nun zufällig, daß mit Naphtolblau gefärbte Körnchen nachträglich zugesetztes wässriges Fuchsin aufnehmen, wodurch die Färbung zu einer sehr distinkten und leuchtenden wurde, der Rest des Bakterienleibes blieb ungefärbt, resp. viel schwächer gefärbt. Ich versuchte sodann, ob es nicht gelingen würde, mit einem der Komponenten, die zur Naphtolblausynthese verwendet werden, die Bakterien der Fuchsinfärbung zugänglich zu machen. Es zeigte sich, daß die Behandlung der Bakterien mit 1-proz. wässriger Dimethylparaphenyldiamin-Lösung dies nicht vermag, daß dagegen mit alkalischer α -Naphtollösung versetzte Bakterien dazu befähigt sind. Setzt man zu einer solchen Aufschwemmung wässrige resp. alkoholisch-wässrige Fuchsinlösung, so tritt in der Auf-

schwemmung reichliche Niederschlagsbildung ein, der ganze Bakterienleib bleibt ungefärbt, nur die Fettgranula sind anfangs schwach rosa, dann immer satter rot gefärbt. Man bemerkt bei genügender Farbstoffzufuhr, daß die Granula an Umfang zunehmen, entweder durch Quellung (etwa wie Volutinkugeln bei Methylenblaufärbung), oder aber dadurch, daß eine sie umgebende Plasmarindenschicht mit der Zeit sich auch färbt. Bei starker Färbung sieht man zuletzt auch den Rest des Bakteriums langsam den Farbstoff aufnehmen, das Ektoplasma, die wandständigen Granula und die plasmatischen Netzstrukturen. Es ist nun ein ziemlich überraschender Anblick, nach Naphtolbeizung dasjenige elektiv gefärbt zu sehen, was bei derselben Färbung ohne Beize allein dem Farbstoff widersteht, während die sonst gefärbten Bestandteile die Farbe nicht annehmen. Es tritt also unter dem Einfluß des Naphtol eine völlige Umkehrung der färberischen Eigenschaften der diversen Zellbestandteile auf. Recht auffallend gestaltet sich die Färbung, wenn man zunächst die Bakterien in stark verdünnter (0,1-proz.) Fuchsinlösung verreibt und, nachdem der ganze Zellinhalt mit Ausnahme der Fetteinschlüsse sich deutlich gefärbt hat, nun seitlich unter das Deckglas einen Tropfen Naphtollösung zufließen läßt; langsam ändert sich das Bild, indem das früher Gefärbte sich gradweise entfärbt und die bisher ungefärbten Granula in demselben Maße die Farbe aufnehmen. Wir haben hier also das Phänomen der „Inversion“ vor uns (Pappenheim, p. 95), wie es auch bei mit basischen Anilinfarben gefärbten Mastzellen durch Glycerin oder bei Amphibienblut durch Wasser oder Essigsäure sich hervorrufen läßt. Leider gelingt es kaum, diese Färbungsart zu einer dauerhaften Doppelfärbung zu gestalten; hat man mit Naphtol und Fuchsin eine Rotfärbung der Granula bewirkt, und setzt man nun saure Farbstoffe hinzu, so ist eine Färbung des restlichen Zellinhaltes nicht zu erzielen, benutzt man aber einen basischen Farbstoff, der den Rest anfärbt, so sieht man, daß langsam aus den Granulis die rote Farbe ausgezogen wird, und es entsteht im Plasma ein Mischton. Nur bei Verwendung stark verdünnter wässriger Lösungen von Methylenblau (B pat., G) oder Wasserblau (6 B extra, K) gelingt es, eine Zeitlang die Bacillen doppelt gefärbt zu sehen, im blauen Fettleibe die roten Granula, bis auch hier allmählich die Umfärbung sich vollzieht. Erwähnenswert dürfte wohl auch noch die Beobachtung sein, daß im Gegensatz zum wässrigen resp. alkoholischen oder Karbolfuchsin das Formolfuchsin (nach A. Meyer) die naphtolgebeizten Granula nicht anfärbt.

Es lag nun nahe, weiterhin zu untersuchen, ob auch andere Farbstoffe außer dem Fuchsin nach Naphtolbeizung die Fettgranula anfärben würden, und es wurde zu dem Behufe eine große Reihe von Farbstoffen aus den verschiedensten Gruppen durchgeprüft. Es ergaben sich dabei gewisse Gesetzmäßigkeiten, die vielleicht zur Klärung der Natur der Reaktion herangezogen werden können. Zunächst zeigte es sich, daß kein einziger von den zahlreichen geprüften sauren Farbstoffen die mit Naphtol gebeizten Granula anfärbt; folgende Farbstoffe wurden mit negativem Erfolg versucht: Alizarinblau S (G), Alkaliblau 3 B und 6 B (K), Aurin (M), Biebricher Scharlach (M), Karminblau (M), Chromatrop 2 R (K), Cörulein (G), Kongorot (G), Corallin (G), Eosin rein franz. (G), Erythrosin (G), Fluorescein (G), Fuchsin S (G), Goldorange (G), Hämatoxylin (G), Helianthin (G), Hessisches Bordeaux (G), Indigokarmin (G), Indulin (G), Karminrot (G), Ketonblau 4 BN (M), Lichtgrün JS (M), Magdalarot (G), Martinsgelb (M), Methylblau (G), Methylorange (K), Naphtalinrot (G), Naphtolgelb (G), Naphtolgrün B (K), Naphtylamin-

braun (G), Naphtylenblau R (G), Natr. indigosulfuricum (M), Nigrosin (G), Orcein (G), Orseille Extrakt (G), Phloxinrot (G), Pikrinsäure (G), Pikrinsaures Ammonium (G), Primulin A (K), Rosolsäure (K), Rubin S (G), Schwarzbraun (G), Tropäolin 00, 000, 000 NI (G), Viktoriagelb (G), Wasserblau 3 B, 6 B extra 00 (K), 2 BN (M), Wollschwarz (G).

Doch auch von den basischen Farbstoffen sind nur wenige zur Färbung der gebeizten Granula befähigt. Im großen und ganzen bekommt man bei diesen Versuchen zweierlei Bilder zu Gesicht; entweder färbt sich das Ektoplasma und die plasmatischen Strukturen ganz deutlich, dann bleiben aber die Granula ungefärbt, oder aber es färben sich die Granula, das andere aber nicht. Man bekommt dabei den Eindruck, daß zwischen der Färbung der ersten und der anderen Zellbestandteile ein Antagonismus besteht, insofern als beide gleichzeitig mit einem Farbstoff nie gefärbt werden; was Affinität hat für den einen, hat keine oder eine bedeutend geringere für die anderen und umgekehrt. Freilich gilt das nur innerhalb gewisser Konzentrationsgrenzen, indem bei Ueberfärbung schließlich alles sich färbt; es ist jedoch geraten, bei diesen Versuchen nur mit schwachen Konzentrationen anzufangen und erst bei Bedarf dieselben zu steigern (wenn z. B. ein starker Niederschlag entsteht, wobei der ganze Farbstoff ausfällt), denn bei Ueberfärbung kann es vorkommen, daß auch, wo die Granula ungefärbt bleiben, die die Granula umgebende resp. von oben bedeckende Ento- resp. Ektoplasmaschicht eine schwache Färbung der Granula vortäuscht. Speziell in älteren Glycerin- oder Zuckeragarkulturen findet man oft eine kugelförmige Plasmaschicht um die Fettkugeln herum, die durch starke Färbung als Färbung der Fetteinschlüsse imponieren kann; nur genaueste Analyse kann hier vor Täuschungen bewahren.

Im Anschluß an die Fuchsinfärbung wurden zunächst die anderen Rosanilinsalze geprüft, und zwar salpetersaures, schwefelsaures, essigsaures, alle mit positivem Ergebnis unter mehr oder minder starker Niederschlagsbildung. Eine sehr schöne und niederschlagsfreie Färbung gibt die Rosanilinbase (G) sowie das Resorcinfuchsin nach Weigert (G), ebenso die Pararosanilinbase (K) sowie das Pararosanilinchlorhydrat (Rubin) (K) (minder rein), auch Magentarot (G) und Dahlia (G). Nicht leicht zu beurteilende Resultate liefert die Färbung der naphtolgebeizten Bacillen mit den diversen Rosanilinvioletten, d. h. Methylrosanilinen wegen starker Niederschlagsbildung und leichter Ueberfärbung, man wird also hier mit möglichst geringen Konzentrationen arbeiten müssen. Methylviolett 1 B und 5 B (G), Hexamethylviolett (G), Gentianviolett (G), Kristallviolett (K), Hoffmannsviolett (M), gaben nur negative Resultate, nur mit Rosanilinviolett (G, wohl Homorosanilinviolett) bekam ich eine wenn auch nicht ganz elektive Färbung, indem im violetten Bakterienleib die Granula als tiefer gefärbte, stärker lichtbrechende Körper hervortraten. Auch die diversen Anilingrüne, und zwar Methylgrün (G), Jodgrün (M), Malachitgrün (Krist., Aktiengesellschaft für Anilinfarben Berlin), Brillantgrün (M), Smaragdgrün (G, nicht Malachitgrünpikrat nach Pappenheim, p. 155, sondern wie es scheint wasserlösliches Brillantgrün), ebenso wie Rosanilinblauderivate, und zwar Gentiana-blau 6 B (K), Toluidinblau (K), Viktoria-blau B (G) und 4 R (K) gaben mit Naphtol keine Färbung der Granula. Von Farbstoffen anderer Gruppen geben eine solche nur Brillantkresylblau (G), Nilblausulfat (G), Echtblau (M), Chrysoidin (extra, K), Vesuvin (G) und Bismarckbraun (G), aber die Reaktion beruht hier nicht auf der Anwesenheit des Naphtols, sondern seines alkalischen Lösungsmittels (s. o.). Negative Resultate

gaben Versuche mit Azur I (G), Auramin (M), Muscarin (G), Methylenblau (B pat., G), Neutralrot (G), Pyronin (G), Rhodamin B (K), Safranin O wassl. (G), Thionin (G).

Es wurde sodann untersucht, ob nicht Körper, die das Naphtylradikal in irgendwelcher Bindung enthalten, ebenfalls als Beizen für die Fetteinschlüsse dienen könnten. Zunächst fand ich, daß β -Naphtol in alkalischer Lösung die Stelle des α -Naphtol ohne weiteres in diesen Reaktionen vertreten kann, dagegen ist bereits β -Naphtolnatrium (in wässriger Lösung) ungeeignet. Ebensovienig können verwendet werden: Naphtylamin α und β (Base oder Chlorhydrat), Naphtochinon α , Naphtolurethan α , Nitroso- β -Naphtol, β -Hydronaphtochinon, alle in alkalischer Lösung, Naphtonitrit α , der Methyl- und Aethyläther des α -Naphtols, Naphtionsäure, Phenyl- α - und β -Naphtylamin in alkoholischer Lösung, β -Naphtoldisulfosaures Natrium B oder G, β -Naphtolsulfosaures Natrium (Schäffer), Naphtalin, naphtalinsulfosaures Natrium α und β in wässriger resp. alkoholischer Lösung.

Nachdem, wie oben berichtet, außer Naphtol auch Phenol in alkalischer Lösung zur Naphtolblausynthese dienen kann, habe ich versucht, ob es sich nicht ebenfalls als Beize für die nachfolgende Fuchsinfärbung verwenden ließe und tatsächlich nehmen die Granula nach Behandlung mit 5-proz. Phenollösung in Normallauge Fuchsin auf. Weder Phenol noch Lauge für sich allein in wässriger Lösung vermögen dies zu bewirken. Verreibt man Bakterien in Karbolwasser und setzt wässriges Fuchsin hinzu, so entsteht eine gewöhnliche Färbung, erst nach Zusatz von Lauge kommt eine Umfärbung, wie oben beim Naphtol beschrieben, zustande. Dasselbe geschieht, wenn man die Bacillen in Normallauge aufschwemmt und mit Fuchsin färbt; auf Zusatz von Karbolwasser tritt dann die Umfärbung ein. Die Phenol-Fuchsinfärbung ist nicht dauerhaft, indem sie langsam abbläßt — wohl infolge Reduktion des Farbstoffs. Formolfuchsin gibt ebenfalls bei Phenolbeizung eine schnell ablassende Färbung. Mit Phenol in Sodalösung (selbst 10-proz.) habe ich die Reaktion nicht beobachten können. Bezüglich der anderen Farbstoffe verhält sich das Phenol ebenso wie das Naphtol, nur in der Rosanilin-Violett-Gruppe fand ich kleine Abweichungen, indem Methyl-Violett B mit Phenol färbt, mit Naphtol dagegen nicht, umgekehrt Rosanilin-Violett wohl mit Naphtol, nicht aber mit Phenol-Unterschiede, denen ich angesichts der erwähnten Schwierigkeit der Untersuchung keine große Bedeutung beilegen möchte. Ein Versuch mit einer Lösung von Rosanilinbase in Karbolwasser (ohne Alkali) ergab ein negatives Resultat, erst auf Laugezusatz trat Umfärbung ein; das beweist wohl, daß die Rolle des Alkalis bei der Reaktion nicht darauf beruhen kann, die Farbbase freizumachen, das besorgt wohl das Protoplasma, sondern daß es irgendeinem anderen Zweck dienen muß (Einwirkung auf das Fett oder Löslichmachen des Phenols im Fett?). Von Phenolderivaten und Homologen hatte ich nur mit o-Chlorphenol in Normallauge und mit Phenylacetat in alkoholischer Lauge positive Ergebnisse, mit m- und p-Chlorphenol, mit p-Bromphenol, mit o-, m- und p-Kresol, Solutol, Orcin, Resorcin, Hydrochinon, Brenzkatechin in Normallauge nur negative.

Auf der Suche nach weiteren Farbreaktionen für unsere Granula ging ich nun von der Tatsache aus, daß sie mit Lugolscher Lösung schwach gelb angefärbt werden (Dittrich, Liebermeister, Ružička). Die Färbung ist an sich sehr schwach, nur mit konzentriertem Jod-Jodkalium nach A. Meyer wird sie etwas deutlicher, oder wenn man mit irgendeinem sauren spez. blauen Farbstoff nachfärbt, auf dunklem spez.

blauem Grunde hebt sich dann die gelbe Färbung gut hervor. Die Färbung beweist jedenfalls, daß von den Granulis Jod gebunden wird (was mit ihrer Fettnatur gut übereinstimmen würde), und so schien es denn der Mühe wert, zu untersuchen, ob das gebundene Jod nicht etwa die Granula anderen Farbstoffen zugänglich macht, denen sie sonst unzugänglich sind. Tatsächlich stellte es sich heraus, daß mit Lugolscher Lösung behandelte Granula Fuchsin aufnehmen, während in der Flüssigkeit starke Niederschlagsbildung eintritt.

Auch ganz kleine Jodmengen reichen zu dieser Reaktion aus, und es erscheint sodann zweckmäßig, verdünnte Lugolsche Lösung als Beize zu benutzen, um starke Niederschläge zu vermeiden und ein klareres Bild zu bekommen. Formolfuchsin färbt hier ebensogut wie gewöhnliches. Ebenso wie bei Naphtolbeizung sind bei Jod die sauren Farbstoffe nicht zu verwenden, von den basischen nur wenige, doch ist hier die Skala reichhaltiger als beim Naphtol. Es färben nämlich alle Rosaniline und Pararosanilin, von den Methylosaniline das Rosanilin-, Gentiana- und Methyl-B-Violett (dagegen Kristall-Hexamethyl- und Hoffmannsviolett nicht — bei jenen ist ähnlich wie beim Naphtol Ueberfärbung zu vermeiden), alle untersuchten Anilingrüne, und zwar Malachit-, Methyl-, Jod-, Brillant- und Smaragdgrün, Rhodamin, alle anderen bereits beim Naphtol hergezählten Farbstoffe versagen auch bei Jodbeizung. Was das Jod anbelangt, kann es auch in alkoholischer Lösung als Tinet. jodi verwendet werden, noch besser aber in Glycerinlösung, weil dabei Niederschlagsbildung vermieden wird. Das Jodkali an sich ist ebenso wie Jodnatrium unwirksam; Jodwasserstoffsäure kann Verwendung finden, nur muß man viel Farbstoff zusetzen, da die ersten Portionen entfärbt werden — erst bei den weiteren kommt eine schwarzbläuliche Färbung der Granula zustande. Man kann auch so vorgehen, daß man die Bakterien mit verdünnter Jodkalium- oder Zinkjodidlösung versetzt und durch Zusatz von verdünnter Salz- oder Schwefelsäure die Jodwasserstoffsäure entwickelt. Jodsäure ebenso wie Jodoform in alkoholischer Lösung sind nicht verwendbar, ebensowenig Bromwasserstoffsäure, Chlor (in Form von Eau de Javelle.)

Für eine weitere Versuchsreihe war folgende Ueberlegung maßgebend: Jod wird bekanntlich als Beize bei der Gramschen Methode verwendet, nun gibt es ein dem Gramschen Verfahren analoges, dasjenige von Claudius, das an Stelle des Jod Pikrinsäure als Beize benutzt; ich beschloß daher zu untersuchen, ob nicht auch Pikrinsäure sich für die Fettgranula als Beize verwenden ließe. Der Versuch fiel positiv auf, indem in verdünnter Pikrinsäurelösung aufgeschwemmte Milzbrandbacillen mit Fuchsin sehr schöne Granulafärbung ergaben, auch diesmal wieder unter Niederschlagsbildung in der Suspensionsflüssigkeit. Will man klare Bilder, so ist es auch hier angezeigt, sehr verdünnte Pikrinsäure zu verwenden und mit geringen Farbstoffkonzentrationen anzufangen. Formolfuchsin versagt hier ebenso, wie bei Naphtolbeizung. Die Färbung ist recht schön, da der vom Fuchsin verschonte Rest des Zelleibs von der Pikrinsäure blaß-grünlichgelb gefärbt wird. Eine dauerhafte Nachfärbung (etwa mit Methylenblau oder Wasserblau) scheidet auch hier daran, daß nach Nachfärbung des restlichen Zelleibs die Granula allmählich ihre rote Farbe in ihn hineindiffundieren lassen und sich entfärben, ein Vorgang, der sich bei allen Beizenfärbungen der Granula wiederholt. Ebenso wie beim Naphtol, Phenol und Jod sind auch hier saure Farbstoffe nicht verwendbar, von den basischen die Rosaniline, Pararosaniline, Methylviolett B, Rosanilinviolett, Kristall-

violett, Hexamethylviolett, Gentianaviolett, Hoffmannsviolett, Methylgrün, Jodgrün, Malachitgrün, Brillantgrün, Smaragdgrün, Rhodamin, also fast dieselben wie beim Jod. Da die Pikrinsäure ein Trinitrophenol ist, wurden diverse Nitroverbindungen aromatischer Reihe daraufhin geprüft, ob sie ebenso wie die Pikrinsäure für die soeben genannten Farbstoffe als Beizen fungieren könnten. Dies trifft zunächst für die alkalischen Salze der Pikrinsäure zu, das Kalium-, Natrium- und Ammoniumsalz, die sich alle gut eignen. Sodann wurden als geeignet befunden: Trinitrokresol (wäss. Lös.), Trinitroxylol (alkoh. Lös.), Trinitroresorcin (wäss. Lös.), Trinitranilin (alkoh. Lös.), Trinitrobenzoësäure (wäss. Lös.), Dinitrobenzol (wäss. Lös.), Nitrophenol p und m (wäss. Lös.), Pikrylchlorid (alkoh. Lös.), Pikraminsäure (wäss. Lös.), Naphtolgelb (wäss. Lös.), Viktoriagelb (wäss. Lös.), Aurantia (wäss. Lös.), Martiusgelb (wäss. Lös.), Trinitrokresotinsäure (Nitrococussäure, erhalten durch Erhitzen von Karminrot mit konzentrierter Salpetersäure); als ungeeignet dagegen: Trinitrobenzol (alkoh. Lös.), Trinitrotoluol (alkoh. Lös.), Dinitrophenol (wäss. Lös.), Nitrokresol (wäss. Lös.), Dinitronaphtalin (alkoh. Lös.), Nitronaphtalin (alkoh. Lös.), Nitrophenol o (wäss. Lös.), Chloropikrin (wäss. Lös.), Nitranilin m und p (wäss. Lös.), Biebricher Scharlach (wäss. Lös.), Auramin (wäss. Lös.). Endlich gelingt es eine Färbung mit den oben genannten Farbstoffen zu erzielen, wenn man die Bacillen in 100—3-proz. Salpetersäure aufschwemmt und sodann den Farbstoff in entsprechender Menge (es wird immer ein Teil durch die Säure entfärbt) hinzusetzt. Ich lasse es vorderhand dahingestellt, ob in diesem Fall die Säure selbst als Beize wirkt oder aber durch ihre Einwirkung auf das Protoplasma ein Nitroprodukt (Xanthoproteinsäure?)¹⁾ entsteht, das die Rolle einer Beize übernimmt, oder ob die Säure irgendwie vielleicht auf das Fett einwirkt. In analoger Weise wirkt salpetrige Säure, die man am besten aus wässriger Kaliumnitritlösung und verdünnter Salzsäure im Präparat sich entwickeln läßt, andere Beizen, wie Tannin, Gallussäure, Sublimat ließen im Stich.

Außer diesen Reaktionen, die alle auf vitaler (resp. postvitaler) Färbung beruhen, habe ich der Färbung der Granula in fixierten Präparaten meine Aufmerksamkeit zugewandt. Im allgemeinen mag hier bereits bemerkt werden, daß diese Färbung nicht leicht gelingt und viel weniger konstante und auch undeutlichere Resultate gibt, als die Färbung frischen unfixierten Materials. Vor allem ist es die elektive Färbung dieser Gebilde, die viel Schwierigkeiten bietet, und zwar wie es scheint, wohl deshalb, weil hier die Diffusion nicht so freies Spiel hat, wie in der Suspensionsflüssigkeit bei frischem Material, ein Moment, das für die Elektivität der Reaktionen von hervorragender Bedeutung zu sein scheint. Außerdem bemerkt man bei diesen Versuchen einerseits gewisse Unterschiede im färberischen Verhalten der Granula je nach der untersuchten Species — spez. betreffs der Echtheit der Färbung, die z. B. bei den Granulis des *B. tumescens* Zopf besonders gering ist. Endlich bemerkt man auch bedeutende Unterschiede in diesem Verhalten bei ein und derselben Species je nach dem Alter der Kultur, indem die Granula der jungen Kulturen der Färbung im allgemeinen zugänglicher sind als die hypertrophischen großen Kugeln alter Glycerin- oder Zuckeragarkulturen, die ein recht launisches Verhalten an den Tag legen. Von

1) Vielleicht Hexanitro- oder Trinitro- oder Oxynitroalbumin? Auch in der Methode von *Bete gh* (diese Zeitschr. Bd. XLVII. p. 565) wird HNO_3 als Beize bei der Färbung von *Tbc*-Bacillen verwendet. (Anm. währ. d. Korr.)

bekanntesten Reaktionen wäre zunächst die Säurefestigkeit der mit Karbolfuchsin gefärbten Einschlüsse zu erwähnen; sie ist es, die den Beschreibungen von Bunge sowie Preisz zugrunde liegt. Bei meinen Nachprüfungen habe ich die Reaktion wohl bestätigt gefunden, selten jedoch einen so sattroten Ton zu sehen bekommen, wie ihn die Abbildungen von Bunge sowie von Preisz zeigen; meist war er blaßrot, bei älteren Kulturen sehr verschwommen, oft blieb hier jede Färbung aus (auch von Preisz beobachtet). Auch mit anderen Sporenfärbungsmethoden habe ich ähnliche im ganzen nicht sehr befriedigende Erfahrungen gemacht, so mit der Möllerschen (5—10 Minuten Chromsäurebeizung), mit der von Klein und von Aujeszky. Dagegen bleiben unsere Granula bei der neuerdings angegebenen Methode von Wirtz (3-proz. wäss. Malachitgrün, verdünntes Karbolfuchsin), die Sporen sehr schön und elektiv färbt, vollständig ungefärbt. Mäßige Resultate liefern auch die von Ružička angegebenen Methoden I und II (I: ges. wäss. Sublimatlösung + alkoholisch-wässriges Fuchsin, II: Sublimatfixierung, Fuchsin, Lugolsche Lösung) — die Färbung ist wenig intensiv, nicht elektiv und versagt bei einem Teil der älteren Kugeln.

Auch die Anwendung der oben ausführlich mitgeteilten Methoden der Granulafärbung im frischen Präparat läßt sich nur schwer auf fixierte Präparate übertragen. Die Naphtolblaufärbung ist mir hier nie gelungen, trotzdem Naphtolblau sich bildet und trotzdem z. B. an fixierten Blutpräparaten die neutrophile Granulation der Polynukleären sehr schön Naphtolblau aufnimmt (F. Winkler). Ebenso wenig gelingen die anderen Fettreaktionen mit Indophenol, Sudan III, Alkannin, Buttergelb, Cyanin. Die Behandlung von Trockenpräparaten mit wässrigem Brillantkresylblau und nach Wasserspülung mit 1-proz. Soda ergibt im ganzen undeutliche schwach grünliche Färbung der Granula sowie der Bacillenleiber; besser gelingt diese Methode mit wässrigem Nilblausulfat und nachfolgender Sodaspülung, man bekommt blaue Zelleiber und orangerötliche Granule. Als gute Methode kann ich ferner folgende empfehlen: Das fixierte Präparat wird mit konzentriertem Jod-Jodkalium nach A. Meyer (Jod 3, Jodkali 3, Wasser 20) 1—2 Minuten lang behandelt, mit Wasser abgespült und mit 10fach verdünntem Karbolfuchsin beschickt, die Zelleiber sind rosa, die Granula intensiv rot gefärbt. Bei Milzbrandbacillen konnte ich sie auch auf folgende Weise darstellen: Das fixierte Präparat wird 1—2 Minuten lang in der Kälte mit Karbolfuchsin behandelt, mit Wasser abgespült, sodann kommt ges. wässrige Aurantialösung darauf für 2—3 Minuten, Wasserspülung, Trocknen der Präparate, kurze Entfärbung mit absolutem Alkohol, Wasserspülung. Auch hier sieht man intensiv rote Granula in hellrotem Zelleib. Bessere Resultate bekommt man im allgemeinen, wenn man die ganze Färbung oder wenigstens die Beizung an frischem in Wasser suspendiertem Material vornimmt, sodann den Tropfen austreibt und entweder an der Luft oder in der Hammerschen Fixationsröhre in Osmiumdämpfen antrocknen läßt. Auf diese Weise kann man alle oben beschriebenen Farbreaktionen der Granula fixieren, wenn sie auch im Trockenpräparat weniger intensiv und leuchtend zur Geltung kommen, als an frischem Material. Diese Methode bietet noch den Vorteil, daß man am sekundär ausgetrockneten Präparat Nachfärbungen vornehmen kann (am besten mit Methylenblau oder Wasserblau bei roten oder orangefarbenen Granulis, mit stark verdünntem Fuchsin bei blauen, grünen oder violetten), ohne daß hier die Nachfärbung zu einer Entfärbung der Granula führt, wie im frischen Präparat. Man wird etwa

folgendermaßen die Färbung ausführen: man verreibt etwas Bacillenmaterial in Naphtollösung oder Lugolscher Flüssigkeit oder Pikrinsäure, setzt etwas Fuchsinlösung dazu und streicht einen Tropfen der Mischung auf einem Deckglas oder Objektträger aus, läßt lufttrocken werden und färbt mit stark verdünntem Methylenblau oder Wasserblau 6B extra nach. Die Präparate dürfen nicht mit Cedernöl oder Kanadabalsam in Berührung kommen, da diese Mittel die Granula entfärben. An solchermaßen fixierten Präparaten (ohne Nachfärbung) kann man auch das Verhalten der diversen Färbungen gegenüber verschiedenen Extrahentien feststellen und wird finden, daß die Farbstoffe aus den Einschlüssen durch Aethyl- und Methylalkohol, Säurealkohol nach Günther, Acetonalkohol nach Nicolle, Aceton, Chloroform, Anilinoxylol u. dgl. entfärbt werden.

Endlich möchte ich noch über eine Methode berichten, die zwar unsere Granula nicht direkt färbt, aber doch uns gewisse Aufschlüsse in dieser Frage bieten kann. Die Methode ist eine Modifikation des Gramschen Verfahrens: Das fixierte Trockenpräparat wird mit 1-proz. wässriger Lösung von Viktoriablau B (G) 3—5 Minuten lang behandelt, mit Wasser abgespült, sodann 1—2 Minuten mit Lugolscher Lösung gebeizt, und sodann mit Nicolleschem Acetonalkohol differenziert, bis kein Farbstoff mehr abgegeben wird, mit Wasser abgespült und kurz mit 10-fach verdünntem Karbolfuchsin nachgefärbt. Als Resultat der Färbung bekommt man die kleinen Granula dunkelblauviolett, an den größeren sieht man, daß nur eine Randschicht, die ringartig das Granulum umgibt, die dunkle Färbung behalten hat, das eigentliche Granulum ist ungefärbt, zuweilen liegen die gefärbten Anteile kappenförmig oben und unten dem ungefärbten Granulum an, manche Granula sind auch völlig ungefärbt. Der Rest des Zelleibes ist rosafarben, hier und da bemerkt man randständige dunkelblauviolette Streifen des Ektoplasmas. Dieses Färbungsresultat habe ich am besten bei Milzbrandbacillen bekommen, zuweilen auch bei anderen Angehörigen der Bacillengruppe, wenn auch nicht konstant. Auch hier gibt es ältere Stadien der Fettkugeln, die ganz ungefärbt bleiben. Das Ergebnis scheint dafür zu sprechen, daß das die Fetteinschlüsse umgebende Protoplasma, denn dieses ist es wohl, das sich färbt, besondere physikalische oder physiko-chemische Eigenschaften aufweisen muß, die sein elektives Verhalten bei dieser Färbung bedingen. Bei kleinen Kugeln verdeckt diese Rindenschicht ganz das ungefärbte Zentrum und man bekommt den Eindruck eines total gefärbten Kornes, erst bei größeren kommt auch das ungefärbte Zentrum zur Anschauung. Mittels einer anderen Modifikation des Gramschen Verfahrens hat Fedorowitsch unsere Granula sehr schön dargestellt; mir hat sein Verfahren keine brauchbaren Ergebnisse geliefert.

Es wird jetzt an der Zeit sein, nach Mitteilung dieses Tatsachenmaterials an die Fragen heranzutreten, welcher Natur wohl unsere Granula sein dürften, welche Rolle ihnen im Bakterienleben zukommt, Fragen, denen ich in der bisherigen Besprechung mit Vorbedacht aus dem Wege gegangen bin. Schon aus der summarischen Literaturübersicht in der Einleitung haben wir ja erfahren, wie recht verschieden die Ansichten sind, die die bisherigen Beobachter dieser Gebilde über sie ausgesprochen haben.

Was zunächst ihr Verhältnis zu den Sporen betrifft, so muß ich in Uebereinstimmung mit Dittrich und Liebermeister sowie Preisz jeden Zusammenhang zwischen beiden (auch den Vorsporen) ablehnen. Wohl haben sie die Säurefestigkeitsreaktion, die Möllersche, Klein-

sche und Aujeszky'sche Färbungsmethode gemeinsam, aber schon die Wirtz'sche ist auf unsere Granula nicht anwendbar. Sodann muß ich ebenfalls in Uebereinstimmung mit Dietrich und Liebermeister feststellen, daß weder bei Milzbrandbacillen noch bei irgend einer anderen der vielen von mir untersuchten Arten Sporen jemals die Naphtolblaureaktion geben; die gegenteilige Angabe von Ružička beruht wohl auf Irrtum. Auch die ganze Reihe der Reaktionen, die mit Hilfe von Beizen und basischen Farbstoffen unsere Granula färben, läßt die Sporen unberührt. Ebenso konnte ich (entgegen den Angaben der A. Meyer'schen Schule) mit den Fettfarbstoffen keine Färbung der Sporen oder Vorsporen erzielen. Auf Grund dieses färberischen Verhaltens sowie anderer chemischen Differenzen (s. Dietrich und Liebermeister, Ružička) glaube ich, daß es in Zukunft angemessen sein wird, Benennungen wie „sporogene Körner“ (Bunge) sowie „Sporoidkörper“ (Ružička) fallen zu lassen, um Mißverständnissen bezüglich der chemischen Natur unserer Granula vorzubeugen.

Bezüglich der Deutung der Granula als Plasma- oder Chromatindifferenzierungen glaube ich, daß ihr ablehnendes Verhalten gegen alle üblichen Kern- und Plasmafärbstoffe, wenigstens bei substantiver Färbung, eine solche Deutung nicht gerade plausibel erscheinen läßt. Entgegen den Behauptungen von Dietrich und Liebermeister sei hier festgestellt, daß weder wässriges Hämatoxylin noch alkalische Coeruleinlösung unsere Granula färben, auch gelingt es weder nach der Methode von Nakanishi, noch nach Ernst-Neisser, sie darzustellen. Es haben diese Autoren unsere Granula augenscheinlich mit anderen Differentiationsprodukten des Protoplasmas verwechselt, wofür unter anderem auch der Umstand sprechen würde, daß sie sie bei Cholera, Typhus, Coli sowie Diphtherie gefunden haben wollen, bei denen man wohl Babes-Ernst'sche, nie aber unsere Granula findet.

Auch gegen morphochemische Schlüsse, die Dietrich und Liebermeister aus dem elektiven Verhalten unserer Granula bei der Naphtolblaureaktion ziehen, ließe sich wohl manches einwenden. Aus der Tatsache, daß bei dieser Synthese, zu deren Zustandekommen bekanntlich die oxydierende Wirkung des Luftsauerstoffs nötig ist, nur die Granula sich färben, glauben diese Forscher den Schluß ziehen zu dürfen, daß sie als Sauerstoffüberträger bei der Reaktion fungieren und daß ihnen demnach diese Rolle auch im normalen Zelleben wahrscheinlich zukommen dürfte. Nun rechnet aber diese mikrochemisch-topische Diagnostik nicht mit anderen Faktoren, die für Beurteilung von Färbungsergebnissen von großer Bedeutung sind. Ersetzen wir nun diese hypothetische katalytische Funktion der Körnchen durch Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd, so wird momentan eine große Menge Sauerstoff entwickelt, der in Form von makroskopisch sichtbaren Bläschen entweicht, hier ist wohl Sauerstoff in der ganzen Zelle im Uebermaß vorhanden; die Reaktion tritt denn auch momentan ein, und wieder haben sich nur unsere Granula blau gefärbt. Es muß also wohl einen anderen Faktor geben, der hier die Elektivität der Färbung bedingt, und das ist bekannterweise die physikalische oder chemische Elektion eines Farbstoffs seitens eines bestimmten Substrates. Naphtolblau ist ein wasserunlöslicher Farbstoff, der zum Protoplasma der Bakterien keine Affinität zeigt, für den aber unsere Granula eine Affinität (wahrscheinlich Lösungsaffinität) besitzen. Eine katalytische Beschleunigung der Oxydation seitens der Bakterien mag ja wohl mit im Spiele sein, aber ob sie gerade in unseren Granulis lokalisiert ist, können wir aus dem Reaktionsverlauf

nicht entnehmen, denn wenn sie es auch nicht wäre, könnte doch eine elektive Färbung der Granula auf Grund ihrer Affinität zum sich bildenden Farbstoff zustande kommen. Dieselben Bemerkungen beziehen sich auch auf die Naphtolblaureaktion der neutrophilen Granulation der Polynukleären im Blut oder Eiter, die von Winkler als Oxydasereaktion angesprochen wird. Auch hier mag wohl Oxydasewirkung mit unterlaufen, doch glaube ich, daß die Elektivität der Färbung auch in diesem Falle auf die färberische Affinität der betreffenden Granula für das Naphtolblau zurückzuführen ist. Es bleiben ja doch in diesen Präparaten die Erythrocyten ungefärbt, trotzdem das Hämoglobin einen guten Sauerstoffüberträger abgibt.

Als letzte und meiner Ansicht nach wahrscheinlichste Auffassung der chemischen Konstitution der Körnchen bleibt die von A. Meyer und seinen Schülern aufgestellte und von Preisz akzeptierte, wonach sie Reservekörnchen von Fett darstellen. Form und starkes Lichtbrechungsvermögen, chemische Indifferenz gegenüber den meisten Reagentien scheinen dafür zu sprechen, ebenso die Fähigkeit, von Jod angefärbt zu werden. Von den mikrochemischen Fettreaktionen sahen wir die mit Sudan III, Dimethylamidoazobenzol, Indophenol positiv ausfallen. Sata hat mit Sudan eine makroskopische Fettreaktion an Glycerinagar-kulturen von Milzbrand bekommen, die bekanntlich einen großen Reichtum an Granulis aufweisen. Wenn dagegen diejenigen mit Osmiumsäure (wie ich in Uebereinstimmung mit Dietrich und Liebermeister feststellen konnte, und zwar selbst, wenn man mit absolutem Alkohol nachspült), mit Scharlach R sowie mit Cyanin unsere Granula ungefärbt lassen, so lassen sich daraus noch keine bindenden Schlüsse gegen ihre Fettnatur ziehen. Wissen wir doch von der Osmiumsäure, daß nur Oleinfett davon geschwärzt wird, nicht aber Palmitin- und Stearinfett (Altmann, Starke), Cyanin (Chinolinblau) aber, das von Ranvier als Fettfarbstoff eingeführt worden ist, soll nach L. Michaelis überhaupt in Fett unlöslich sein.

Des weiteren sprechen die von mir gefundenen Färbungen unserer Granula mit den Basen des Nilblau, des Brillantkresylblau, des Vesuvins und Chrysoïdins dafür, daß es sich um ein färberisch indifferentes Substrat handelt; die Granula färben sich nämlich in der Farbe der betreffenden Base, nicht aber in der ihrer Salze, also orangerötlich, nicht blau bei den zwei ersteren, grünlichgelb, nicht aber braun bei den beiden letzteren. Die Granula reagieren also nicht sauer genug, um die betreffenden Basen in ihre Salze zurückzuverwandeln, zugleich aber nicht basisch genug, um, wenn mit den Salzen gefärbt wird, die Base daraus freizumachen (z. B. beim Nilblausulfat, das sehr alkalienempfindlich ist!) Dieses Verhalten stimmt noch am besten mit einem Substrat, das die aufgenommene Base chemisch unbeeinflusst läßt und diesen wasserunlöslichen Körper nur kraft physikalischer Lösungsaffinität speichert.

Mit dieser Annahme lassen sich auch wohl am besten die Resultate der von mir gefundenen Beizenfärbungen vereinbaren. Eine Erscheinung, die bei all diesen Färbungen ins Auge fällt, ist die mehr oder minder reichliche Niederschlagsbildung. Es färben eben nur Farbstoffe, die mit der betreffenden Beize unter Niederschlagsbildung reagieren, wenn auch nicht alle, die dieser Bedingung entsprechen, sich als geeignet erweisen. Nehmen wir nun den Fall der Pikrinsäure, so wissen wir, daß dieselbe als saurer Nitrofarbstoff mit den meisten Farbbasen wasserunlösliche neutrale Verbindungen, Pikrate, bildet. Dieselben haben eben auf Grund ihrer Wasserunlöslichkeit bisher kaum in der Mikrotechnik Verwendung

gefunden, andererseits aber deshalb, weil für protoplasmatische Gebilde nur neutrale Verbindungen von polyaziden Farbsäuren sich eignen, indem sie mit einer Säuregruppe sich am Eiweiß fixieren, mit der anderen die Farbbase an sich heften. Nun ist aber die Pikrinsäure, wie die Nitrophenole überhaupt, eine monazide Säure und es haben daher ihre neutralen Farbstoffverbindungen keine freie Säuregruppe (s. Enzykl. II. 1033). Dagegen sind derartige Verbindungen gerade deshalb indifferent und eignen sich als solche zur Fettfärbung, bei der, wie Michaelis gezeigt hat, nur indifferente oder fast indifferente Farbstoffe (sehr schwache Farbbasen oder Farbsäuren) in Betracht kommen. Auch nach der Seite der basischen Komponente zeigen aber die von mir als geeignet befundenen Pikrate eine Abweichung von den protoplasmatischen neutralen Farbstoffen, indem nicht nur die die Ammoniumgruppe enthaltenden Methylgrün und Rhodamin, sondern auch die dort als ungeeignet geltenden Rosaniline, Methylviolett, Malachitgrün hier gute neutrale Farbstoffe geben (s. Pappenheim p. 185). Ist nun diese Auffassung richtig, so müßte es gelingen, die Färbung der Granula nicht nur im Entwicklungsverfahren bei sukzessiver Einwirkung von Pikrinsäure und basischem Farbstoff zu erzielen, sondern auch mit dem fertigen Farbstoff einzzeitig zu färben. Nun sind aber die Pikrate in kaltem Wasser unlöslich, in heißem nur unter Dissoziation, etwas löslich in Alkohol. Ich habe nun feststellen können, daß Rosanilinpikrat (G) in alkoholischer Lösung sich sehr gut zur Färbung unserer Granula eignet, indem man die wässrige Aufschwemmung der Bacillen mit einer kleinen Oese der Lösung versetzt. Auch mit der heißen wässrigen Lösung, die zum Teil dissoziiert ist, bekommt man eine gute Färbung, ebenso mit Lösungen in Glycerin, Aceton, ungeeignet erweisen sich Lösungen in Aether, Chloroform, Olivenöl (wohl wegen mangelhaften Eindringungsvermögens) sowie Natronseifenlösung.

Da die Pikrate der anderen von mir als geeignet befundenen Farbstoffe nicht im Handel vorkommen, habe ich sie mir hergestellt, indem ich ihre wässrigen Lösungen mit konzentrierter wässriger Pikrinsäure versetzte und den entstandenen Niederschlag auf dem Filter gut mit Wasser auswusch und trocknete. Es zeigte sich nun, daß mit alkoholischen Lösungen der Pararosanilin-, Rosanilinviolett-, Methylviolett-, Hoffmannsviolett-, Dahlia-, Gentianaviolett-, Jodgrün-, Methylgrün-, Malachitgrün-, Brillantgrün- und Smaragdgrün-Pikrate gute, wenn auch nicht absolut elektive Granulafärbungen zu erzielen sind, mit Kristallviolett-, Hexamethylviolett- und Rhodaminpikrat ist mir dies nicht gelungen. Besonders eignen sich die Rosanilin-, Pararosanilin-, Gentianaviolett-, Methylgrün- und Smaragdgrünpikrate. Endlich sei noch bemerkt, daß man auch an Trockenpräparaten mit heißer, wässriger oder alkoholischer Lösung die Granula schwach färben kann. Dagegen eignen sich die neutralen Pikrate, wie ich in Uebereinstimmung mit dem oben Gesagten feststellen konnte, nicht zur Darstellung der neutrophilen Granulation.

Aehnliche Erwägungen gelten im großen und ganzen für die Jodbeizung. Auch hier fallen unlösliche, wahrscheinlich neutrale Farbstoffverbindungen aus, die nur in heißem Wasser, Alkohol und Fettlösungsmitteln löslich sind. Durch Zusammenbringen wässriger Lösungen der betreffenden basischen Farbstoffe mit Lugolscher Lösung wurden Niederschläge erzeugt, mit Wasser gründlich ausgewaschen, getrocknet und in Alkohol gelöst. Mit diesen Lösungen der Rosanilin-, Pararosanilin-, Methylviolett-, Gentianaviolett-, Rosanilinviolett-, Dahlia-, Methylgrün-, Jodgrün-, Malachitgrün-, Brillantgrün- und Smaragdgrün-Jodverbindungen konnte ich

Färbungen der Granula erzielen, dagegen scheint sich die Rhodaminverbindung hier ebenso wie das entsprechende Pikrat als saurer Farbstoff zu verhalten, indem weder die Granula noch der restliche Zelleib angefärbt werden. Besonders gut geeignet sind die Rosanilin-, Pararosanilin-, Rosanilinviolettverbindungen. Bemerkenswert ist, daß die Pararosanilinverbindung in heißer wässriger Lösung nur den restlichen Zelleib, nicht aber die Granula färbt. Welche chemische Konstitution diesen Jodverbindungen zukommt, die ja zum Teil auch bei der Gramschen Färbung in Betracht kommen, muß vorderhand dahingestellt werden. Jedenfalls will ich hier hervorheben, daß das Hoffmannsviolett (Jodviolett) weder in wässriger noch in alkoholischer Lösung die Granula färbt, daß also in unseren Verbindungen das Jod wohl auf andere Weise gebunden sein muß als in diesem Farbstoff.

Im allgemeinen sind alle diese Färbungen mit den fertigen Farbstoffen weniger elektiv als die entsprechenden Entwicklungsfärbungen, indem der neutrale Farbstoff zum Teil schon vom Protoplasma zerlegt und seine basische Komponente fixiert wird; es erscheinen also beim Rosanilin z. B. die Bacillenleiber schwach rosa, die Granula hochrot. Worauf diese Erscheinung beruht, läßt sich zur Zeit nicht mit Sicherheit entscheiden. Sicher läßt sich sagen, daß alle drei Arten von Beizen von den Granulis besser gelöst und fixiert werden als vom Protoplasma, und es läßt sich in vitro feststellen, daß sowohl Jod, als Naphtol, als auch Pikrinsäure sehr gut in Fetten löslich sind.

Versuche, die nach alledem naheliegend erscheinen mußten, durch Zusammenbringen von alkalischer Naphtol- resp. Phenollösung mit den geeigneten basischen Farbstoffen unlösliche neutrale Farbstoffe herzustellen, deren alkoholische Lösungen unsere Granula anfärben würden, haben ein negatives Resultat ergeben. Bringt man diese Stoffe zusammen, so hat wohl die über dem Niederschlag stehende obere Flüssigkeit, die wohl Ueberschüsse beider reagierender Substanzen enthält, die Fähigkeit der Granulafärbung, der in Alkohol gelöste Niederschlag aber nicht. Es müßte weiter untersucht werden, worauf diese Abweichung von dem oben beschriebenen Verhalten beruht.

Wenn wir jetzt alle hier erörterten Momente, die für und gegen die Fettnatur unserer Granula sprechen, sowie auch diejenigen berücksichtigen die wir in der Literatur niedergelegt vorfinden, so glaube ich doch, daß man mit ziemlich großer Wahrscheinlichkeit diese Fettnatur wird akzeptieren können. Wenn die eine oder andere Farb- oder Lösungsreaktion versagt, so muß man doch bedenken, daß man hier kein freies Fett vor sich hat, sondern Gebilde, die in einer protoplasmatischen Umgebung stecken, deren physikochemische Eigenschaften ihr Verhalten gegen verschiedene Reagentien in hohem Grade beeinflussen können. Vorläufige Färbungsversuche mit drei verschiedenen Fette-mulsionen, und zwar Olivenölemulsion in Seifenwasser, Olivenölemulsion in alkalisiertem Blutserum und mit Kuhmilch zeigten sehr deutlich, wie verschieden das Verhalten der Fette je nach dem Milieu ausfallen kann. Sodann muß man ja bedenken, daß nicht jede Art von Fett dieselbe Reaktion geben muß, und Bakterienfett ist mit Ausnahme des Tuberkelbacillenwachses kaum noch genauer untersucht worden. Ein schönes Beispiel für dieses differente Verhalten des Fettes bei verschiedenen Arten gibt die Beobachtung, daß bei Milzbrandbacillen die Behandlung mit fettlösenden Agentien die Färbbarkeit der Granula nicht tangiert (Dietrich und Liebermeister), sie dagegen bei Spir. undula minus verschwinden läßt (Zettnow). Es läßt sich natürlich nicht ausschließen, daß in

den Granulis außer dem Fett noch irgend ein Eiweißsubstrat oder ein Rest davon enthalten ist, die Krompecherschen metachromatischen Strukturen (die bei Giemsa-Färbung oft schön zutage treten) sind vielleicht so ein Retikulum der plasmatischen Grundsubstanz oder ihrer Reste.

Es wird sich jetzt wohl verlohnen, einige Worte über das Vorkommen unserer Granula zu sagen. Zunächst konnte die Beobachtung von Dietrich und Liebermeister bestätigt werden, daß das Auftreten der Körnchen mit der Aërobiose des Milzbrandbacillus in enger Beziehung steht, indem sie in Bouillon sowie flüssigen Serumkulturen später und in geringerer Zahl auftreten. Was das Verhalten der „tierischen“ Bacillen betrifft, so konnte ich mittels der Viktoriablaumethode vereinzelt Granula an ihnen nachweisen, jedenfalls ist dieses Verhalten auf die Anaërobie im Tierkörper zurückzuführen, da in Serumkulturen, sofern für gute Lüftung gesorgt wird, die Granula in mäßiger Menge zu sehen sind. Impft man einem Tier granulaführende Bacillen ein, so bleiben die Granula ebensolange erhalten, als die sie führenden Stäbchen, die neue, im Tierkörper entstehende Generation ist aber schon sehr arm an Granulis oder ganz frei davon. Besonders reichlich treten die Granula auf in Glycerin- sowie Traubenzuckeragarkulturen ebenso auf Kartoffeln sowie Möhren; es ist wahrscheinlich, daß hier die Kohlehydrate das Material für die Fettbildung abgeben. Ebenso wie Dietrich und Liebermeister konnte ich an abgeschwächten Kulturen die Granula in ebensogroßer Menge beobachten, wie an hochvirulenten, so daß der Virulenz kein Einfluß auf die Granulabildung zukommen dürfte. Dagegen zeigte ein degenerierter asporogener und avirulenter Stamm ebenso wie zwei alte Vaccins keine Granula. Von anderen Arten der Bacillengattung konnte ich die Angaben der Meyerschen Schule betreffs des Vorkommens der Granula vollkommen bestätigen¹⁾ und glaube in Uebereinstimmung mit ihr, daß es ein wertvolles Artmerkmal abgeben kann. Auch am *Spir. volutans* (die Kultur hat mir Prof. E. Zettnow liebenswürdig zur Verfügung gestellt), konnte ich alle oben beschriebenen Reaktionen in sehr schöner Weise reproduzieren. Dagegen muß ich aufs Bestimmteste feststellen, daß ich bei Typhus, *Coli*, *Pyocyaneus*, Diphtherie nie Granula habe nachweisen können, weder mit der Naphtolblaureaktion noch mit irgend einer anderen oben beschriebenen. Wie schon angedeutet, haben wahrscheinlich Dietrich und Liebermeister Babes-Ernstsche Granula irrtümlich für Fetteinschlüsse gehalten, ebenso Fedorowitsch bei Hühnercholera, *Pyocyaneus* und Diphtherie. Bei Anaëroben habe ich die Granula in Uebereinstimmung mit diesen Autoren stets vermißt.

Sollte sich die hier als wahrscheinlich hingestellte Deutung der Natur unserer Granula auch weiterhin bestätigen, so wäre natürlich eine eingehendere Untersuchung der biochemischen Rolle dieser Körper von nicht geringer Bedeutung. Jedem, der mit Hilfe unserer Reaktionen eine ältere Glycerin- oder Zuckeragarkultur von Milzbrandbacillen untersucht, und sie aus fast lauter Fettkugeln bestehend findet, müßte dann von dieser sicherlich pathologischen Beeinflussung des Biochemismus der Bacillen durch dargebotene Nahrung frappiert sein, die wohl am besten als „Fettmast“ angesprochen werden müßte. Solche Kulturen würden sich auch in hohem Grade als Material für eine chemische Analyse des

1) Die betreffenden Kulturen verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. A. Meyer und seines Assistenten H. Bredemann.

Bacillenfettes eignen¹⁾. Andererseits wird es natürlich angezeigt sein, die hier beschriebenen neuen Fettreaktionen auch an sonstigem pflanzlichen und tierischen fetthaltigen Material zu versuchen, um so mehr als manche von ihnen den alten an Prägnanz und Schönheit der Nüance überlegen sein dürften. Versuche in dieser Richtung sollen demnächst unternommen werden, ebenso Untersuchungen über die Fettgranula bei Hefen.

Nachtrag.

Nachdem Obiges bereits niedergeschrieben war, habe ich Gelegenheit gefunden, noch eine Reihe von anderen Farbstoffen, alle von Dr. Gröbler bezogen, in den Kreis meiner Untersuchungen zu ziehen, und mögen die damit gewonnenen Resultate als Ergänzungen der früheren hier Platz finden. Von den Oxazinen haben Neublau (Naphtolblau?), Capriblau und Neumethylenblau sowohl in alkoholischer als in wässriger Lösung negative Resultate gegeben, ebenso das saure Resorufin. Dagegen erhält man eine sehr schöne Doppelfärbung mit Nilblau BB (benzylirtes Nilblau), das gegen Alkalien höchst empfindlich ist und zur Resistenzprüfung von Glassorten verwendet wird. Kommt die blaue Lösung mit dem Objektträger in Berührung, so wird sogleich ein Teil zur roten Farbstoffbase umgewandelt; die darin verrührten Bacillen färben sich blau, die Einschlüsse schön rosa. Mit einer alkoholischen Lösung der Farbbase bekommt man eine elektive Färbung der Fettgranula. Von den fettfärbenden Azokörpern (in alkoholischer Lösung eventuell mit Alkalizusatz) gaben Anilingelb, Sudan II, Janusrot (Höchst), Indoin negative Resultate, Spritgelb (Fettgelb), Sudan I, Sudanbraun, Manchesterbraun (Vesuvium B) positive, die beiden letzten gaben die schönsten Bilder. Von Nitrofarbstoffen sind Neugelb sowie Safrosin als Beizen für basische Farbstoffe nicht verwendbar. Bezüglich der Beizenfärbungen ist folgendes nachzutragen: Von den Phenylrosanilinen ist Anilinblau (spritlöslich in alkoholischer Lösung) nur mit Pikrinsäure, nicht aber mit Jod, Naphtol oder Phenol zu verwenden, Reginaviolett dagegen mit Phenol, Jod sowie mit Pikrinsäure, nicht mit Naphtol; Bayrischblau sowie Nachtblau färben überhaupt nicht an, ebenso das zu den Malachitgrünen gehörige Chromgrün. Endlich fand ich im Spritindulin einen Farbstoff, der in alkoholischer Lösung unsere Granula anfärbt; das Protoplasma färbt sich dabei grau-blau, die Fetteinschlüsse metachromatisch rotviolett; färbt man in alkalischer Lösung (die Bacillen suspendiert in Normallauge), so bekommt man eine elektive blaue Färbung der Granula. Wasserlösliches Indulin ist als saurer Farbstoff natürlich nicht verwendbar, ebenso sogenanntes Chlorhydrinblau, d. h. eine Lösung von Indulin in Chlorhydrin. Mit dem nahe verwandten spritlöslichen Nigrosin habe ich nur ungewisse Resultate bekommen. Für den Ausbau der theoretischen Grundlagen der hier beschriebenen Reaktionen wird es natürlich von Wichtigkeit sein, diese Untersuchungen auf eine große Reihe anderer Farbstoffe auszudehnen, was mir bisher aus äußeren Gründen noch nicht möglich war. Herrn stud. med. Kuryluk bin ich für die Ausführung der Abbildungen zu großem Dank verpflichtet.

Krakau, 20. Juli 1908.¹

1) Es sei hier anhangsweise eine Erscheinung erwähnt, die ich oft an solchen älteren Glycerinagarkulturen beobachten konnte. In der zweiten Woche (bei Zimmertemperatur) scheidet sich die Kultur in zwei Teile; das oberste Drittel wird durchscheinend, grau, atrophisch, die zwei unteren weiß, üppig und undurchsichtig. Die Trennungslinie ist anfangs fast gerade, später sieht man zuweilen kleine, zungenförmige Fortsätze von unten herauf in die graue Zone hineinwachsen. Morphologische Unterschiede der Bacillen aus den beiden Zonen konnte ich bis jetzt nicht konstant feststellen.

Literatur.

- Dietrich, A. und Liebermeister, G., *Diese Zeitschr.* Bd. XXXII. p. 858—865.
 Ellis, D., *Ibid.* Bd. XXXIII. p. 1—17. 81—96. 161—166.
 Enzyklopädie der mikroskopischen Technik, Artikel: Fett, neutrale Farbstoffe und Farbgemische, Neutralfärbungen für Muskulatur, Zellchemie.
 Fedorowitsch, A., *Diese Zeitschr.* Abt. II. Bd. VIII. p. 481—495.
 Gottheil, O., *Ibid.* Bd. VII. p. 430—730.
 Grimme, A., *Diese Zeitschr.* Bd. XXXII. p. 1—16. 81—90. 161—180. 241—255. 321—327.
 — *Ibid.* Bd. XXXVI. p. 352—354.
 Herxheimer, G., *Deutsche med. Wochenschr.* 1901. p. 607—609.
 Ilkewicz, W., *Diese Zeitschr.* Bd. XV. p. 261—267.
 Krompecher, E., *Ibid.* Bd. XXX. p. 385—395. 425—428.
 Meyer, A., *Ibid.* Bd. XXXIV. p. 578—579.
 — *Praktikum der botanischen Bakterienkunde.* Jena 1903.
 Nietzki, R., *Chemie der organischen Farbstoffe.* Berlin 1901.
 Pappenheim, A., *Grundriß der Farbchemie.* Berlin 1901.
 Preisz, H., *Diese Zeitschr.* Bd. XXXV. p. 280—293. 416—434. 537—545. 657—665.
 Ružička, V., *Arch. f. Hyg.* Bd. LI. p. 281—318.
 — *Arch. f. Protistenkunde.* Bd. X. p. 247—305.
 Sato, *Centralbl. f. allg. Pathol.* 1900 (nach Preisz).
 Sjöbring, N., *Diese Zeitschr.* Bd. XI. p. 65—68.
 Wirtz, O., *Ibid.* Bd. XLVI. p. 727—728.
 Winkler, F., *Fol. haematol.* Bd. IV. p. 323—328.
 — *Ibid.* Bd. V. p. 17—19.
 Zettnow, E., *Zeitschr. f. Hyg.* Bd. XXIV. p. 72—92.

Erklärung der Abbildungen.**Tafel I.**

Alle Abbildungen sind bei Zeiß Hom. Imm. $\frac{1}{12}$, Komp. Ok. 18, Tubuslänge 200 mm (Vergr. ca. 3000mal) und bei starker Beleuchtung (Auerbrenner mit Schusterkugel) gezeichnet.

Fig. 1. *B. anthracis*. 18-stündige Agarkultur. Vitale Färbung mit α -Naphthol und Resorcinfuchsin. In c grünlich leuchtende Sporen, die die Farbe nicht aufgenommen haben.

Fig. 2. *B. anthracis*. 30-stündige Agarkultur. Vitale Färbung mit Indophenol, Nachfärbung mit Fuchsin. In b ungefärbte grünliche Sporen.

Fig. 3. *B. anthracis*. 24-stündige Agarkultur. Vitale Färbung mit wässrigem Nilblausulfat unter Zusatz von 1-proz. Soda. In a nackter Faden, Zelleib blau mit schwarzblauem Ektoplasmaablag, orangerötliche Granula, in b ein kapseltragender Faden; die starke Ueberfärbung der Kapsel deckt die inneren Details.

Fig. 4. *B. anthracis*. 50-tägige Glycerinagarkultur. Dieselbe Färbung wie in Fig. 3. Der blaue Protoplast geschrumpft mit schwarzblauem Ektoplasmaablag, die Membran blaßblau, die Granula orangerötlich, zum Teil frei mit spärlichem Chromatinablag.

Fig. 5. *B. tumescens*. 65-tägige Traubenzuckeragarkultur. Vitale Färbung mit alkoholischer Lösung der Pararosanilin-Jodverbindung.

Tafel II.

Fig. 6. Dasselbe Präparat. Nachfärbung mit 1-proz. wässrigem Methylenblau B pat. Membran dunkelblau, Zellinhalt violett, Granula rot.

Fig. 7. *B. anthracis*. 24-tägige Glycerinagarkultur. Vitale Färbung mit alkoholischem Smaragdgrünpikrat. Die schwarzgrünen Kugeln und Körner sind Niederschläge des wasserunlöslichen Farbstoffs.

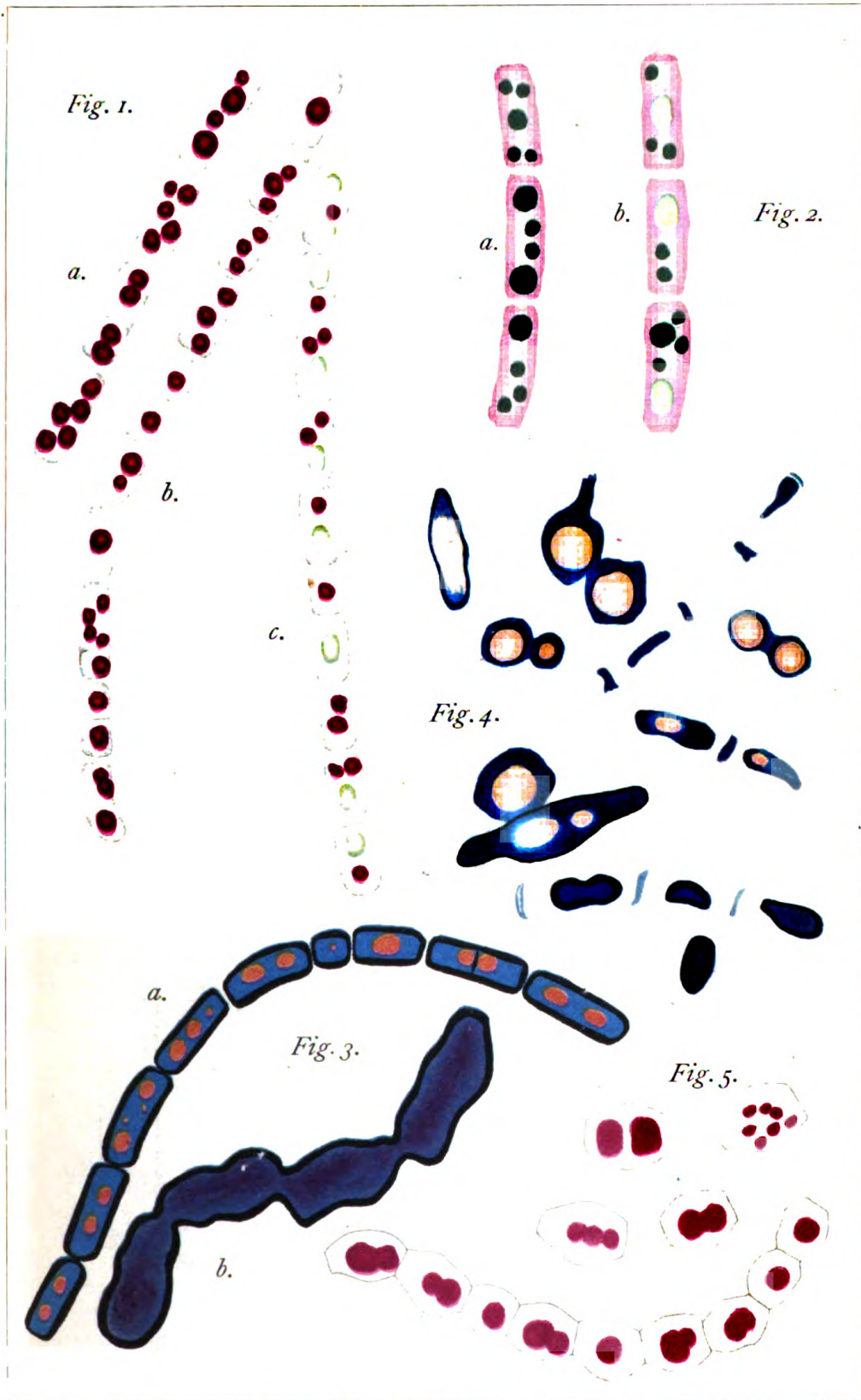
Fig. 8. *B. anthracis*. 24-stündige Agarkultur. Vitale Färbung mit alkoholischem Sudanbraun, Nachfärbung mit 1-proz. wässrigem Methylenblau B pat.

Fig. 9. Dieselbe Kultur. Vitale Färbung mit alkoholischem Manchesterbraun (Vesuvium B).

Fig. 10. *B. anthracis*. 2-tägige Glycerinagarkultur. Trockenpräparat nach der Viktoriablaumethode gefärbt.

Fig. 11. *B. anthracis*. Aeltere Agarkultur. Trockenpräparat nach derselben Methode, nur stärker entfärbt.

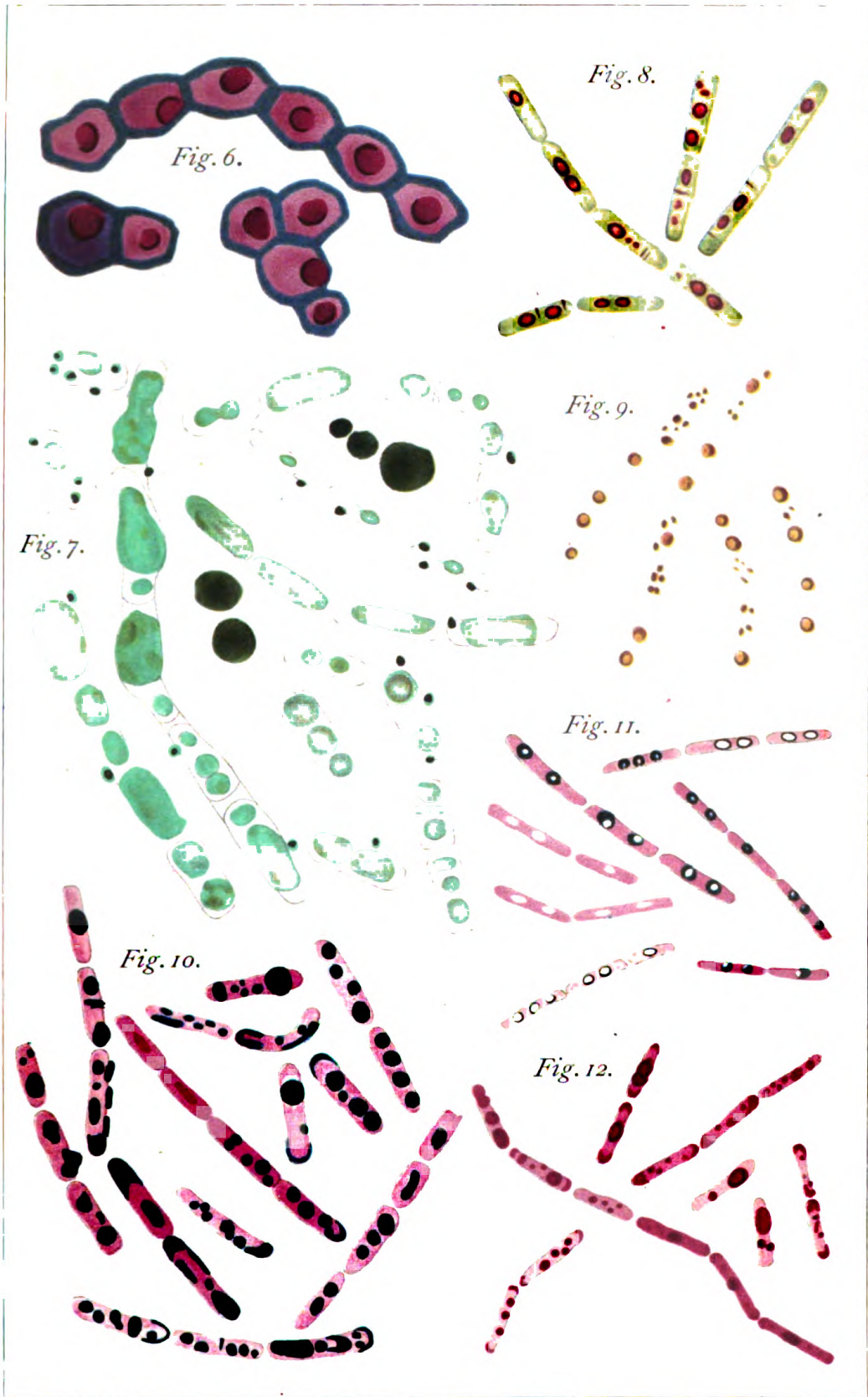
Fig. 12. *B. anthracis*. 10-tägige Glycerinagarkultur. Trockenpräparat gefärbt mit wässrigem Aurantia, Karbolfuchsin, differenziert mit absolutem Alkohol.



W. Kuryluk del.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.



W. Kuryluk del.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

1911年10月1日

Nachdruck verboten.

Kleiner Beitrag zur Frage der Identität des Typhus- und Colibacillus.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität Budapest (Direktor: Prof. Dr. Hugo Preisz).]

Von Dr. Gyula v. Benczur.

Seitdem Eberth und Gaffky den *Bacillus typhi* entdeckten, tauchte wiederholt die Frage auf, ob dieser *Bacillus* nicht mit dem *Bacillus coli* identisch sei und nur die Eigenschaften beider Bakterien infolge äußerer Verhältnisse verschieden seien. Besonders französische und italienische Autoren verfochten diese Ansicht. Martogglio und Valenti züchteten den *Bacillus similityphi* anaërob, ferner auf solchen Nährböden, welche unlösliche Produkte des Typhus- und Coli-Bacillus enthielten, und konnten auf diese Weise, sowie durch wiederholte Tierpassage den genannten *Bacillus* in *Bacterium coli* verwandeln. Ähnliche Versuche machte auch Gaussaljaw. De Haan und de Jong beschrieben eine Typhusepidemie, welche der *Bacillus coli* verursachte.

Nach dem heutigen Stande der Wissenschaft ist es nicht wahrscheinlich, daß *Bacillus coli* und *B. typhi* sich leicht ineinander verwandeln ließen. Wir lernten zwar im *B. paratyphi*, ferner im *Bac. enteritidis* Gärtner Bacillen kennen, welche zwischen Typhus und Coli stehen, doch ließ sich bis jetzt nicht beweisen, daß die genannten Bacillen ineinander übergehen können.

Neuerdings betonte Tarchetti wieder die Identität des Typhus- und Coli-Bacillus. Nach der Ansicht dieses Autors ist der Typhusbacillus ein in seiner Virulenz äußerst gesteigerter Coli-Bacillus. Er züchtete Typhus- und Coli-Bacillen längere Zeit auf gewöhnlichen, gleichförmigen Nährböden, und fand, daß sich die Eigenschaften der so gezüchteten Bakterien einander näherten. Desgleichen nahmen die unter ungünstigen Licht- und Wärmeverhältnissen, oder auf solchen Nährböden gezüchteten Typhus- und Coli-Bacillen, welche auf ihre Wirkung schädlich wirkten, ähnliche Eigenschaften an.

In Anbetracht dessen, daß die künstliche Züchtung oft schon während kurzer Zeit beträchtliche Aenderungen in den Eigenschaften eines Mikroorganismus verursacht, machte ich auf den Rat des Herrn Prof. Preisz einige ähnliche Versuche. Ich wollte sehen, ob sich die Eigenschaften der Coli- und Typhusbacillen einander nähern, wenn wir diese Bakterien unter solchen Verhältnissen züchten, welche ihr Wachstum zwar nicht ganz hindern, jedoch wesentlich erschweren.

Ich züchtete daher 2 Typhus- und 2 Coli-Stämme, welche sämtliche charakteristischen Eigenschaften dieser Bakterien besaßen, durch 100 Generationen bei 43° C, einer Temperatur, bei welcher sie sich zwar noch entwickelten, jedoch wesentlich spärlicher als bei der gewöhnlichen Temperatur von 35—37° C. Ferner züchtete ich die 4 Stämme auf stark alkalischen Nährböden, welche ich in der Weise erhielt, daß ich zu 20 ccm flüssigen Agars 8 Tropfen Normallauge hinzugab. Die beiden Typhusstämme erreichten auf diesem Boden die 75., die beiden Coli die 65. Generation. Indem ich zu 20 ccm flüssigen Agars 5 Tropfen Normal-salzsäurelösung gab, erhielt ich einen Nährboden, auf welchem sich

18*

die Bakterien nur sehr schwer entwickelten. Die beiden Coli-Stämme konnte ich auf diesem Nährboden bis zur 60., die beiden Typhusstämmen bis zur 70. Generation züchten. Zu flüssigem Agar gab ich einige Tropfen einer 2-proz. Chininlösung (anfänglich zu 5 ccm Agar 1, dann 5 Tropfen), und es gelang mir, auf diesem Nährboden einen Typhusstamm bis zur 70., einen Coli-Stamm bis zur 80. Generation zu züchten. Die beiden anderen Stämme entwickelten sich auf diesem Nährboden überhaupt nicht. Schließlich züchtete ich einen Typhus- und einen Coli-Stamm auf gewöhnlichem Agar, gab jedoch auf die die Epruvette verschließende Watte 2—3 Tropfen 10-proz. Formalins. Der Typhus war derart bis zur 30., das Bacterium coli bis zur 90. Generation züchtbar.

Die 60.—100. Generation der derart gezüchteten Bakterien wurde nun auf ihre Eigenschaften untersucht. Die Coli-Bacillen wechselten ihre Gestalt in höherem Grade als die Typhusbacillen. Sie nahmen auf dem alkalischen Nährboden eine große, dicke Form, auf dem sauren Nährboden eine kokkenartige Gestalt an. Der *Bac. typhi* wechselte seine Gestalt auf diesen Nährböden nicht. Auf dem chininhaltigen Agar nahmen beiden Bakterien eine größere, dickere Gestalt an. Eine ähnliche Form bekam der Coli-Bacillus, welcher im Formalindampf gezüchtet wurde. Die Beweglichkeit sämtlicher Bakterien blieb unbeeinflusst.

Gegenüber den Nährböden, welche gewöhnlich zur Differenzierung der Typhus- und Coli-Bacillen gebraucht werden, verhielten sich die letzten Generationen der 4 unter den genannten schädlichen Einflüssen gezüchteten Bakterien geradeso, wie die der Ausgangskulturen. Die Typhusbakterien der letzten Kultur verursachten kein Gerinnen der Milch, entwickelten in Traubenzuckeragar kein Gas, wuchsen auf Endo-Agar in weißer, auf Conradi-Drigalski-Agar in blauer Kultur, versäuerten die Petruschkysche Lackmusmolke nur in geringem Grade, gaben keine Indolreaktion und wuchsen auf Kartoffel wie der gewöhnliche Typhusbacillus. Hingegen machten sämtliche letzte Generationen der Coli-Bacillen die Milch gerinnen, entwickelten in Traubenzuckeragar Gas, verfärbten den Conradi-Drigalskischen Nährboden rötlich, gaben auf Endo-Agar rote Kulturen, trübten die Petruschkysche Lackmusmolke und säuerten sie, gaben Indolreaktion und entwickelten sich auf Kartoffeln als dicker, brauner Belag.

Ich untersuchte fernerhin den Agglutinationstiter der beiden Typhus- und Coli-Stämme, fand jedoch, daß die Ausgangsstämme und die letzten Generationen der gezüchteten Bakterien den gleichen Titer besaßen. Die Pathogenität der Typhusstämmen war zwar stark abgeschwächt, dies beweist jedoch nur die längst bekannte Tatsache, daß längeres Züchten im Laboratorium die Pathogenität des Typhus schwächt.

Die Bacillen der 60.—100., unter schädlicher Wirkung gezüchteten Generation zeigten also sämtlich die gleichen Eigenschaften, wie jene der Ausgangskulturen. Ich halte mich nicht für berechtigt, aus diesen wenigen Versuchen weitgehende Folgerungen zu ziehen. Es ist ja möglich, daß die Bacillen, unter diesen Verhältnissen noch viel weiter gezüchtet, ihre Eigenschaften tatsächlich ändern. Noch mehr denkbar wäre es, daß die in Rede stehenden Bakterien sich betreffs ihrer Eigenschaften unter spezifischen Verhältnissen, vielleicht innerhalb des Organismus, nähern können. Meine Versuche zeigen jedoch sicher, daß die Eigenschaften beider Bacillen eine ziemliche Beständigkeit besitzen, welche jedenfalls größer ist, als dies Tarchetti und andere angeben. Solange wir keinen Versuchsbeweis darüber haben, sind wir nicht berechtigt, anzunehmen, daß die beiden Bacillen innerhalb des Organismus oder in der Außen-

welt ineinander übergehen können, und daß die Autotypisation, welche manche französische Autoren betonen, wirklich besteht.

Herrn Prof. Preisz spreche ich an diesem Orte für den Beistand bei dieser kleinen Arbeit meinen Dank aus.

Nachdruck verboten.

Veränderungen von Bakterien im Tierkörper.

IV. Weitere Versuche mit Typhusbacillen.

[Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität Prag
(Vorstand: Prof. Hueppe).]

Von Dr. K. Tsuda.

In einer früheren Untersuchung¹⁾ konnten wir nachweisen, daß die im Serum gewachsenen Typhusbacillen ähnliche morphologische Veränderungen erleiden, wie sie für die im Tierkörper gewachsenen tierischen Bacillen von Bail und Rubritius²⁾ beschrieben wurden. Es lag der Gedanke nahe, sich davon zu überzeugen, ob diese im Serum gezüchteten Bacillen auch physiologisch den echten tierischen Bacillen gleichen. Das physiologische Verhalten der im Tierkörper gewachsenen Typhusbacillen hat Bail³⁾ schon vor längerer Zeit studiert. Er konnte nachweisen, daß die Exsudatbakterien der agglutinativen Serumwirkung gegenüber resistent sich erweisen und auch der Bakteriolyse widerstehen. Deswegen haben wir auch das Verhalten unserer künstlichen tierischen Typhusbacillen in dieser Richtung untersucht.

Unsere Versuche wurden folgendermaßen angestellt: Die animalisierten Bacillen wurden so erhalten, daß man junge Kulturbacillen 15—20 Stunden im Tierserum wachsen ließ. Die Sera stammten von Rind, Meerschweinchen, Pferd und Kaninchen und wurden je nach dem Zwecke des Versuches entweder im aktiven Zustande benutzt oder erhitzt oder in irgend einer Weise vorbehandelt.

Die Kulturbacillen stammten aus 15—20-stündigen Agar- oder Bouillonkulturen. Als Immunsera dienten zwei Typhusimmunsera von Kaninchen, welche mit auf 60° C erhitzten Bacillen immunisiert worden waren. Die Versuche betrafen das Verhalten der tierischen Bacillen gegenüber Agglutination und Bakterizidie, welche letztere sowohl im Reagenzglas als im Tierkörper stattfinden konnte.

Agglutinationsversuche.

Die oben erwähnten, zur Züchtung der tierischen Bacillen benutzten Sera besitzen an sich mehr oder weniger starke agglutinierende Wirkung gegen Typhusbacillen. Selbst Bacillen, die in Meerschweinchenserum gezüchtet waren, welches unter den Seris auf Typhusbacillen am schwächsten agglutinierend wirkt, zeigten deutliche Agglutination und bei dem Aufschwemmen der Bacillen in Kochsalzlösung trat eine Reagglutination immer auf. Da diese Reagglutination bei den Versuchen hinderlich war, mußte man zuerst die agglutinierende Kraft des Serums

1) Tsuda, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLVI.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII.

3) Bail, Arch. f. Hyg. Bd. XLII u. LII.

beseitigen, welches zur Züchtung der tierischen Bacillen diente. Zu diesem Zwecke wurden die Sera in verschiedener Weise vorbehandelt. 1) Durch Erhitzung des Serums auf 63—65° C wurde die agglutinierende Wirkung vernichtet, während die Fähigkeit, die Bacillen in tierische umzuwandeln, unbeeinflusst blieb. 2) Erschöpfung des Agglutinins konnte man in der Weise erreichen, daß das Serum mit toten Bacillen behandelt wurde. Die Fähigkeit des Serums, Bakterien zu animalisieren, geht durch die Erschöpfung nicht verloren.

In so behandeltes Serum wurden Typhusbacillen junger Agarkultur eingepflegt. Nach 15—20 Stunden wuchsen die Bacillen ohne Agglutination. Man konnte die tierische Formveränderung an fast allen Bacillen oder wenigstens an der überwiegenden Zahl von ihnen bemerken. Diese tierischen Bacillen wurden abzentrifugiert und wieder in NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Die als Kontrolle benutzten Kulturbacillen von jungen Agarkulturen wurden in Kochsalzlösung in einer ungefähr gleichen Konzentration wie die Suspension der tierischen Bacillen aufgeschwemmt.

Tabelle 1.

Die tierischen Bacillen stammten aus einem $\frac{1}{3}$ Stunde auf 63° C erhitzten Rinderserum, die Kulturbacillen für den Kontrollversuch aus 15-stündiger Agarkultur. Zu je 1 ccn der Aufschwemmung wurde das verdünnte Typhusimmunserum (B) zugesetzt.

Verdünnung des Immunserums	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{10000}$	0
Tierische Bacillen aus Rinder- serum 63° C	$\frac{1}{2}$ Std.	+	±	0	0	0	0
	1 „	=	+	0	0	0	0
	2 „	=	=	+	+	±	0
Kulturbacillen	±	±	=	=	+	0	0
	±	±	±	±	=	+	0
	±	±	±	±	±	+	0

Tabelle 2.

Die tierischen Bacillen aus einem $\frac{1}{3}$ Stunde auf 63—65° C erhitzten Rinderserum, die Kulturbacillen von einer Agarkultur. Immunserum (A).

Verdünnung des Immunserums	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{5000}$	0
Tierische Bacillen aus Rinder- serum 63° C	$\frac{1}{3}$ Std.	+	+	0	0	0	0
	1 „	=	+	±	0	0	0
	2 „	=	=	+	0	0	0
Kulturbacillen	±	±	=	=	+	0	0
	±	±	±	±	=	±	0
	±	±	±	±	±	+	0

Tabelle 3.

Die tierischen Bacillen stammten aus Kaninchen- sowie Meerschweinchenserum, welche vordem $\frac{1}{3}$ Stunde auf 63—65° C erhitzt wurden, die Kulturbacillen von einer 18-stündigen Agarkultur. Immunserum (A).

Verdünnung des Immunserums	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{5000}$	0
Tierische Bacillen aus K.S. 63° C	$\frac{1}{2}$ Std.	+	+	0	0	0
	1 „	=	+	+	0	0
	2 „	=	=	+	0	0
Tierische Bacillen aus M.S. 63° C	+	0	0	0	0	0
	+	+	0	0	0	0
	=	+	+	0	0	0
Kulturbacillen	±	=	+	+	0	0
	±	±	=	+	0	0
	±	±	±	=	±	0

In den Tabellen kann man eine deutliche Hemmung der Agglutination bei den animalisierten Bacillen aus Serumkulturen erkennen. Da diese tierischen Bacillen in erhitzten Seris gewachsen sind, kann der Einwand erhoben werden, daß das durch Erhitzung der Sera erzeugte Agglutinoid die Bacillen besetzt und die Hemmung der Agglutination herbeigeführt hat.

Dieser Einwand kann aber leicht widerlegt werden, denn es ist kaum denkbar, daß das Agglutinoid des normalen Serums und besonders des Meerschweinchenserums, welches letzteres eine nur sehr geringe agglutinierende Wirkung auf Typhusbacillen besitzt, die Agglutination durch ein Immuserum so auffallenderweise hemmen könnte. Ferner wurde nachgewiesen, daß die Agarbacillen, welche 1 Stunde bei 37° C mit einem auf 63° C erhitzten Rinderserum in Berührung waren, vom Immuserum so gut wie die unbehandelten agglutiniert wurden. Wenn das Agglutinoid für die Agglutinationshemmung eine Rolle spielen sollte, müßte bei diesem Versuche doch eine gewisse Hemmung eintreten, da das Agglutinoid bei der 1-stündigen Berührung von den Bacillen bis zu einem gewissen Grade absorbiert werden müßte.

Weitere Versuche wurden mit Bacillen angestellt, die in Seris, welche durch Vorbehandlung mit toten Bacillen vom Agglutinin befreit waren, gewachsen sind. Die Bacillen von je 1 Agarkultur wurden in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 2 Stunden auf 60° C erhitzt. 5 ccm Serum wurden mit 1 ccm dieser dicken Aufschwemmung der toten Bacillen versetzt, 1 Stunde im Brutschrank gelassen und dann wurden die agglutinierten Bacillen abzentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde wieder mit der Aufschwemmung versetzt und wiederholt in derselben Weise behandelt, bis die zugesetzten Bacillen keine Agglutination zeigten. Das so behandelte Serum agglutinierte nicht mehr die Typhusbacillen, hat aber die beschriebene animalisierende Wirkung nicht verloren. In diese Sera wurden junge Agarbacillen geimpft, welche nach 15–20 Stunden ohne Agglutination wuchsen. Mit diesen Bacillen wurden folgende Versuche ausgeführt:

Tabelle 4.

Die tierischen Bacillen stammten aus 5 ccm Rinderserum, welches vordem mit toten Bacillen von 3 Agarkulturen behandelt wurde, die Kulturbacillen aus Agarkultur. Immuserum (A).

Verdünnung des Immuserums	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{5000}$	0
Tierische Bacillen	$\left\{ \begin{array}{l} \frac{1}{2} \text{ Std.} \\ 1 \text{ ,,} \\ 2 \text{ ,,} \end{array} \right.$	+	±	0	0	0	0
		±	+	±	0	0	0
		±	±	+	+	±	0
Kulturbacillen		±	±	=	=	+	0
		±	±	±	±	=	0
		±	±	±	±	=	0

Tabelle 5.

Die tierischen Bacillen aus einem mit toten Bacillen behandelten Rinderserum, die Kulturbacillen von einer Agarkultur. Immuserum (A).

Verdünnung des Immuserums	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{5000}$	0
Tierische Bacillen	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ Std.} \\ 2 \text{ ,,} \end{array} \right.$	=	+	±	0	0	0
		±	=	=	+	+	0
Kulturbacillen		±	±	±	±	=	0
		±	±	±	±	=	0

Die Typhusbacillen, welche im Serum gewachsen sind, sind auffallend schwerer agglutinabel als dieselben von den gewöhnlichen Kulturen. Da die Sera, in welchen die Bacillen gezüchtet wurden, bei letzteren Versuchen durch Behandlung mit toten Bacillen agglutininfrei waren, kann man den Einwand vollständig ausschließen, daß das Agglutinoid für die Agglutinationshemmung eine Rolle spielt. Die Hemmung der Agglutination der im Serum gewachsenen Bacillen kann man wohl nur so erklären, daß diese andere Eigenschaften angenommen haben als die Kulturbacillen. Die Erscheinung, daß nach 2 Stunden bei 37° C auch bei den tierischen Bacillen die Agglutination bis zu einem gewissen Grade auftritt, ist jedenfalls so zu erklären, daß die tierischen Bacillen ihren Charakter geändert und in dieser Zeit eine Generation von Kulturbacillen produziert haben.

Bakterizide Versuche.

Die tierischen Bacillen wurden immer im Meerschweinchenserum, und zwar sowohl im aktiven als auch im auf 58° C erhitzten und in mit toten Bacillen behandeltem Serum gezüchtet. Nach 15–20 Stunden wuchsen die Bacillen sehr reichlich und in der überwiegenden Zahl —

Tabelle 6.

Die tierischen Bacillen wurden so erhalten, daß junge Kulturbacillen 20 Stunden in einem aktiven Meerschweinchenserum gezüchtet, dann zentrifugiert wurden. Die Kulturbacillen stammten aus einer jungen Bouillonkultur. Immunserum (A).

	Tierische Bacillen	Kulturbacillen
Einsatz	33 000	257 000
0,2 Meerschweinchenserum + 0,01 Immunserum	12 800	5 900
0,2 " + 0,005 "	14 800	9 600
0,2 " + 0,001 "	14 700	13 000
0,2 " + 0,0005 "	22 000	10 200
0,2 " + 0,0001 "	12 700	12 600
0,2 " + 0,1 NaCl	19 400	13 900

Tabelle 7.

Die tierischen Bacillen stammten aus $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° C erhitztem Meerschweinchenserum, die Kulturbacillen aus einer 15-stündigen Bouillonkultur.

	Tierische Bacillen	Kulturbacillen
Einsatz	85 000	162 000
0,3 Meerschweinchenserum + 0,01 Immunserum	37 200	1 210
0,3 " + 0,005 "	38 300	535
0,3 " + 0,001 "	45 500	1 240
0,3 " + 0,0005 "	42 400	1 770
0,3 " + 0,0001 "	46 500	1 950
0,3 " + 0,1 NaCl	61 000	2 235

Tabelle 8.

Die tierischen Bacillen stammten aus einem mit toten Bacillen behandelten Meerschweinchenserum, die Kulturbacillen aus einer 18-stündigen Bouillonkultur.

	Tierische Bacillen	Kulturbacillen
Einsatz	189 300	143 500
0,25 Meerschweinchenserum + 0,01 Immunserum	115 300	1 836
0,25 " + 0,005 "	114 800	2 160
0,25 " + 0,001 "	100 700	3 990
0,25 " + 0,0005 "	119 400	4 560
0,25 " + 0,0001 "	94 500	5 680
0,25 " + 0,1 NaCl	158 000	6 730

oft ausschließlich — in tierischer Form. Die Kulturbacillen stammten aus junger Agar- oder Bouillonkultur. Beide Arten Bacillen wurden mit Immunserum und Komplement (Meerschweinchenserum) versetzt, blieben 4 Stunden im Brutschrank und dann wurden die Proben zur Agarplatte verarbeitet (s. Tabelle 6, 7 u. 8).

Die Ergebnisse fielen immer eindeutig aus. Die im Serum gewachsenen Bacillen haben zwar keine absolute Widerstandsfähigkeit gegen die bakterizide Wirkung, aber ein auffälliger Unterschied zwischen beiden Bacillenarten ist zu konstatieren. Diese vermehrte Resistenz der Bacillen ist ohne Zweifel durch eine besondere Eigenschaft des Serums bedingt, welche auf sie während ihres Wachstums in demselben eingewirkt hat. Da diese Serumwirkung weder durch Erhitzung auf 58° C noch durch Behandlung des Serums mit toten Bacillen beeinflusst wird, so sind die beiden bakteriziden Komponenten, der Immunkörper und das Komplement des betreffenden Serums an der Animalisierung der Bacillen unbeteiligt.

Weitere Versuche in dieser Richtung wurden im Tierkörper ausgeführt. Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen. Die tierischen Bacillen wurden, wie oben erwähnt, sowohl im aktiven als auch im behandelten Meerschweinchenserum gezüchtet, abzentrifugiert, gewaschen und wieder in NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Die Tiere erhielten gleichzeitig eine gewisse Menge von Immunserum und die animalisierten Bacillen aus Serum intraperitoneal. Als Kontrolltiere wurden immer kleinere Tiere genommen und mit der gleichen Menge von Immunserum und mit der sicher größeren Menge von Kulturbacillen geimpft. Die Zahl der geimpften Bacillen wurde so bestimmt, daß man einen Teil der geimpften Bacillensuspension zur Platte verarbeitete. Es wurden folgende Versuche ausgeführt:

Versuch 1.

Meerschweinchen No. 1, 250 g, wurde mit 0,003 Immunserum (A) und zugleich mit tierischen Bacillen, welche im auf 56° C erhitzten Meerschweinchenserum gezüchtet waren, intraperitoneal geimpft. Bacillenzahl ca. 150 Mill.

Nach 1½ Stunden traten einige Leukocyten auf, welche mit der Zeit allmählich zugenommen haben. Starke Phagocytose. Die Bacillenzahl nahm ab, doch wenige Bacillen konnten nach 6—8 Stunden nachgewiesen werden. Das Tier war am nächsten Tage krank und starb nach 2½ Tagen. Eitriges Exsudat in der Bauchhöhle, reichlich Typhusbacillen und ziemlich viele Leukocyten. Bauchorgane mit Fibrin bedeckt.

Meerschweinchen No. 2 (Kontrolltier), 235 g, 0,003 Immunserum (A) und 1 Oese Agarkultur intraperitoneal injiziert. Bacillenzahl ca. 400 Mill.

Nach 1 Stunde fand man Bakteriolyse und wenige Leukocyten mit starker Phagocytose. Bacillenzahl nahm allmählich ab und nach 6 Stunden waren nur wenige Bacillen zu sehen. Dabei bestand starke Leukocytose. Das Tier überlebt.

Versuch 2.

Meerschweinchen No. 3, 140 g, 0,002 Immunserum (B) und ca. 250 Mill. tierische Bacillen aus Meerschweinchenserum, 58° C, intraperitoneal injiziert. Nach 1 Stunde spärliche Leukocyten; ihre Zahl hat nach 2 Stunden auffallend zugenommen. Starke Phagocytose. Bacillenzahl nahm von der 3. Stunde der Infektion an allmählich ab. Nach 5 Stunden ist die Bacillenzahl ganz gering. Im ganzen Verlaufe konnte man Granulabildung sehr selten nachweisen. Das Tier war am nächsten Tage etwas krank, erholte sich aber allmählich und lebt ganz gesund.

Meerschweinchen No. 4 (Kontrolltier), 135 g, 0,002 Immunserum (B) und ca. 400 Mill. Agarbacillen intraperitoneal injiziert.

Schon nach ½ Stunde begann Granulabildung, nach 1 Stunde geringe Leukocytose. Nach 2 Stunden nahmen die Bacillen bedeutend ab, Leukocytose dagegen zu. Nach 5 Stunden starke Leukocytose, ganz spärliche Bacillen. Am nächsten Morgen war das Tier ganz munter und lebt gesund.

Versuch 3.

Meerschweinchen No. 5, 125 g, 0,001 Immunserum (B) und ca. 300 Mill. tierische Bacillen aus Pferdeserum, 58° C, intraperitoneal injiziert.

Im Verlaufe der Infektion konnte man keine auffallende Abnahme der Bacillen nachweisen; Leukocyten traten nach 3 Stunden wenig auf, Phagocytose. Das Tier starb binnen 20 Stunden unter schwerer Infektion; ca. 2 ccm dünnes Exsudat in der Bauchhöhle, massenhafte Bacillen und spärliche Leukocyten.

Meerschweinchen No. 6 (Kontrolltier), 100 g, 0,001 Immunserum (B) und ca. 500 Mill. Kulturbacillen intraperitoneal injiziert.

Nach 1 Stunde trat Bakteriolyse deutlich auf, trotzdem nahm die Bacillenzahl nicht bedeutend ab. Nach 3 Stunden beginnende Leukocytose, die sich stets in mäßigen Grenzen hält. Das Tier starb binnen 20 Stunden, aber unter leichter Infektion; Bauchhöhlenexsudat besteht nur aus einigen Tropfen, war ganz dick, zähe, ziemlich reich an Leukocyten.

Versuch 4.

Meerschweinchen No. 7, 190 g, 0,001 Immunserum (B) und ca. 350 Mill. tierische Bacillen aus Meerschweinchenserum, 56° C, intraperitoneal injiziert.

Nach 1 Stunde reichliche Bacillen, keine Bakteriolyse, keine Leukocytose. Nach 2 Stunden einige Leukocyten mit Phagocytose. Nach 3—7 Stunden nur spärliche Leukocyten und reichliche Bacillen. Das Tier starb binnen 20 Stunden unter dem Bilde einer schweren Infektion.

Meerschweinchen No. 8 (Kontrolltier), 185 g, 0,001 Immunserum (B) und 550 Mill. Agarbacillen intraperitoneal injiziert.

Nach 1/2 Stunde geringe Granulabildung. Nach 1 Stunde Bacillen noch reichlich. Bakteriolyse, geringe Leukocytose. Nach 2 Stunden Bacillenzahl bedeutend abgenommen, zunehmende Leukocytose. Nach 5 Stunden starke Leukocytose, spärliche Bacillen. Das Tier überlebt.

Versuch 5.

Meerschweinchen No. 9, 240 g, 0,001 Immunserum (B) und ca. 400 Mill. tierische Bacillen, welche aus einem mit toten Bacillen behandelten Meerschweinchenserum stammten, wurden intraperitoneal injiziert.

Nach 2 Stunden Bacillenzahl abgenommen, ganz seltene Granulabildung, fast keine Leukocyten. Nach 4 Stunden geringe Leukocyten mit starker Phagocytose, wenig Bacillen. Nach 6 Stunden wenige Bacillen, geringe Leukocyten. Das Tier starb nach 24 Stunden an einer leichteren Infektion; dickflüssiges Exsudat, reich an Leukocyten.

Meerschweinchen No. 10 (Kontrolltier), 190 g, 0,001 Immunserum (B) und ca. 500 Mill. Kulturbacillen intraperitoneal injiziert.

Nach 1 Stunde geringe Granulabildung. Nach 2 Stunden Leukocytose, Bacillenzahl abgenommen, Bakteriolyse. Nach 4—6 Stunden starke Leukocytose, ganz spärliche Bacillen. Das Tier überlebt.

In drei von unseren Versuchen starben die mit Serumbacillen geimpften Tiere unter schwerer oder leichter Infektion, während die Kontrolltiere, welche immer weniger gewogen und mit größeren Mengen von Kulturbacillen behandelt wurden, doch am Leben blieben. In dem Versuche, wo beide Tiere starben, konnte man wenigstens einen Unterschied im Grade der Infektion im Sektionsbefunde bemerken. Im Versuch 2, wo beide Tiere überlebten, konnte eine gewisse Differenz in der Bakteriolyse in der Bauchhöhle beider Tiere beobachtet werden. Die eingespritzten Bacillen zeigten schon kurze Zeit nach der Injektion deutliche Granulabildung. Von den Leukocyten wurden sie sehr stark gefressen. Bei den tierischen Bacillen verhielt es sich etwas anders: Nämlich die injizierten Bacillen wurden zwar von den Leukocyten ebenso stark gefressen, aber die Granulabildung war nur selten zu treffen. Ein ganz ähnliches Verhalten, daß die Granulabildung bei der Infektion mit echt tierischen im Tierkörper gewachsenen Typhusbacillen sehr schwach auftritt, hat schon früher Bail¹⁾ beobachtet. Die Ergebnisse der Tierversuche stimmen mit den Ergebnissen der Reagenzglasversuche überein: Die tierischen Bacillen aus dem Serum sind resistent gegen die Immunserumwirkungen, aber nicht gegen die Phagocytose. Irgend eine

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

Widerstandsfähigkeit der Serumbacillen gegen Phagocytose im Reagenzglas ist nicht nachzuweisen, sogar die Bacillen aus dem Tierkörper selbst werden ohne Widerstand von Phagocyten aufgenommen.

Die Resultate unserer Untersuchung stimmen überein mit den Versuchsergebnissen von Bail und Rubritius, welche die physiologischen Veränderungen der Typhusbacillen im Tierkörper verfolgten. Aus dem Umstande, daß wir dieselben Veränderungen der tierischen Bacillen im Serum herbeiführen konnten, ist wohl der Schluß erlaubt, daß auch die vermehrte Resistenz, welche die Bacillen im Tierkörper erlangen, auf die Wirkung der Körperflüssigkeiten, insbesondere des Serums, zurückzuführen sein wird.

Welcher Bestandteil des Serums für die Beeinflussung der Typhusbacillen verantwortlich zu machen ist, ist nicht leicht zu entscheiden. Unsere Versuche überzeugten uns, daß der Immunkörper und das Komplement dabei keine Rolle spielen, da das erhitzte oder mit toten Bacillen behandelte, also immunkörperfreie Serum die Typhusbacillen in gleicher Weise wie normales Serum beeinflusste. Ähnliches Verhalten konnten wir schon früher bei der morphologischen Veränderung der Typhusbacillen im Serum konstatieren.

Was den Grund der vermehrten Resistenz der tierischen Bacillen anbelangt, so waren schon Bail und Rubritius der Meinung, daß die Typhusbacillen aus dem Tierkörper nicht in stande sind, Immunambozeptor zu binden. Diese verminderte Avidität zum Ambozeptor wurde bei den tierischen Bacillen aus Serumkulturen auch konstatiert. Die diesbezüglichen Versuche haben wir folgendermaßen ausgeführt.

Eine gewisse Menge von verdünntem Immunserum wurde mit Agarbacillen einerseits, mit tierischen Bacillen aus Serumkultur andererseits versetzt und 1 Stunde im Brutschrank belassen. Von diesen behandelten Seren wurde die Agglutinationskraft verglichen, um zu sehen, ob eine gewisse Differenz der Absorption des Agglutinins zwischen Agar- und Serumbacillen stattfindet. Bei diesem Versuche dürfen die Serumbacillen weder von Agglutinin noch von Agglutinoid des normalen Serums besetzt sein. Die normalen Sera, in welchen die tierischen Bacillen gezüchtet

Tabelle 9.

Immunserum (A) wurde 1:100 verdünnt; je 2 ccm davon wurde mit tierischen Bacillen aus Rinderserum und aus Kaninchenserum, welche vordem mit toten Bacillen behandelt wurden, und mit Kulturbacillen versetzt, 1 Stunde bei 37° C belassen und dann zentrifugiert. Die Zentrifugate wurden weiter verdünnt und mit frischen Agarbacillen versetzt. 3 Stunden bei 37° C, dann 3 Stunden bei Zimmertemperatur.

Verdünnung des Immunserums	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
mit R.S.-Bacillen behandeltes Immunserum	##	+	0	0	0
mit K.S.-Bacillen behandeltes Immunserum	##	##?	0	0	0
mit Kulturbacillen behandeltes Immunserum	0	0	0	0	0
Kontrolle — unbehandeltes Immunserum	##	##	##	##	=

Tabelle 10.

Die Serumbacillen stammten aus Pferde- und Kaninchensera, welche vordem mit toten Bacillen behandelt wurden. Ferner wie Tabelle 9. Betrachtung nach 15 Stunden bei 37° C.

Verdünnung des Immunserums	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
mit Pf.S.-Bacillen behandeltes Immunserum	##	##	=	+	0
mit K.S.-Bacillen behandeltes Immunserum	##	##	=	=	0
mit Kulturbacillen behandeltes Immunserum	0	0	0	0	0
Kontrolle — unbehandeltes Immunserum	##	##	##	##	##

Tabelle 11.

Die tierischen Bacillen stammten aus Rinder- und Meerschweinchensera, welche vordem mit toten Bacillen behandelt wurden. Ferner wie Tabelle 9.

Verdünnung des Immunserums	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$
mit R.S.-Bacillen behandeltes Immunserum	2 Std.	+	0	0	0
	6 „	=	+	0	0
	15 „	≠	=	+	±
mit M.S.-Bacillen behandeltes Immunserum	2 Std.	±	0	0	0
	6 „	+	0	0	0
	15 „	≠	+	±	0
mit Kulturbacillen behandeltes Immunserum	2 Std.	0	0	0	0
	6 „	0	0	0	0
	15 „	0	0	0	0
Kontrolle — unbehandeltes Immunserum	2 Std.	≠	≠	≠	=
	6 „				
	15 „				

waren, wurden deshalb immer durch Behandlung mit toten Bacillen von Agglutinin befreit. Von den tierischen Bacillen nahmen wir stets größere Mengen als von Kulturbacillen (s. Tabelle 9, 10 u. 11).

Die Resultate sind zwar nicht so eklatant, aber man kann doch einen gewissen Unterschied der Agglutinationswirkung zwischen den mit Kulturbacillen und mit tierischen Bacillen behandelten Immunseren bemerken. Das Immunserum, welches mit tierischen Bacillen aus Serum behandelt wurde, enthielt noch Agglutinin, da die von neuem zugesetzten Bacillen bis zu einem gewissen Grade agglutiniert wurden, während das Agglutinin von Agarbacillen immer vollständig absorbiert wurde. Daraus kann man schließen, daß die im Serum gewachsenen Typhusbacillen in einem veränderten Zustande sich befinden, in welchem sie den Immunkörper schwer binden und deswegen der Wirkung des Immunserums nicht zugänglich werden.

Zusammenfassung.

1) Die im Serum gewachsenen Typhusbacillen zeigen die morphologischen und physiologischen Veränderungen, welche die Bacillen im Tierkörper erleiden.

2) Die physiologische Veränderung besteht darin, daß die tierischen Bacillen aus Serum sich auffallend resistent gegen die Immunserumwirkungen, Agglutination und Bakterizidie, verhalten; gegen Phagocytose werden sie dagegen gar nicht widerstandsfähig.

3) Dieses Verhalten beruht wahrscheinlich auf einem veränderten Zustande der Bacillen, in welchem sie den Ambozeptor des Immunserums schwer binden.

4) Diese morphologischen und physiologischen Veränderungen werden von einer Eigenschaft des Serums herbeigeführt, welche mit den bakteriolytischen Komponenten vorläufig nicht zu identifizieren ist.

Nachdruck verboten.

Zur Aetiologie der in Ostpreussen heimischen Ruhr¹⁾.

[Aus der hygienisch-chemischen Untersuchungsstation des I. Armeekorps in Königsberg i. Pr.]

Von Dr. Lösener, Oberstabsarzt.

Mit Ruhrerkrankungen sind bisher Amöben, Bacillen und Spirillen in ursächlichen Zusammenhang gebracht worden. Spirillen-Befunde, denen Le Dantec²⁾ im Jahre 1900 eine ätiologische Bedeutung für die Ruhr beimaß, sind seitdem zwar noch von verschiedenen Seiten³⁾, aber sowohl bei Ruhr, als auch bei anderen Krankheiten erhoben worden. Die Spirillen haben bei der Ruhr — wenn überhaupt — nur eine sekundäre Bedeutung. Als Erreger der Amöben-Ruhr sind früher verschiedene Arten oder Varietäten der Dysenterieamöbe beschrieben worden. Die Unterschiede wurden überwiegend nur in der Art und Schnelligkeit der Bewegungen gesehen. Schaudinn (1903)⁴⁾ fand bei der Amöbenruhr nur eine Art, welche er *Entamoeba histolytica* genannt hat. Neuerdings haben Viereck⁵⁾ und Hartmann⁶⁾ unabhängig voneinander bei Ruhrfällen, die aus Südwestafrika (Schutztruppe) und anderen Gegenden mit endemischer Amöbenruhr stammten, eine andere Art gefunden und mit *Entamoeba quadrigena* (s. *tetragena* s. *africana*) bezeichnet. Sie steht zwischen der *Ent. coli* und der *histolytica* und ist durch 4-kernige Cysten und einen besonderen Entwicklungsgang ausgezeichnet; charakteristisch ist auch eine helle, chromatinfreie Zone um das Karyosom. Nach Hartmann kommt die *Ent. quadrigena* bei Ruhrfällen in Afrika, Südamerika und Indien, die *histolytica* besonders in Ostasien, Java, Aegypten vor; letztere ist für Katzen stark pathogen, während die *quadrigena* bei Katzen teils gar keine Symptome, teils nur leichte Erkrankungen hervorruft, die nach kurzdauernden leichten Rezidiven in Heilung auszugehen pflegen. Hiernach sind die Katzen nicht als besonders geeignete Versuchstiere anzusehen, was auch in der Diskussion zum Referat Hartmanns⁶⁾ von Kruse und von Drigalski hervorgehoben wurde, zumal Katzen auch ohne Infektion leicht dysenterieähnlich erkrankten. In bezug auf die Beweglichkeit bestehen zwischen der *Ent. histolytica* und der *quadrigena* keine Unterschiede; daß zur Beobachtung der Bewegungen Zimmertemperatur völlig ausreichend ist, haben schon Kruse und Pasquale⁷⁾ im Jahre 1894 und später noch Jürgens⁸⁾ berichtet. Wenn plötzliche Abkühlung vermieden wird, bleiben die Amöben wohl über 24 Stunden am Leben. Ob noch andere Arten von Ruhramöben vorkommen, muß weiteren Forschungen vorbehalten bleiben. Verwickelter liegen die Verhältnisse bei der Bacillen-Ruhr. Bei den meisten Fällen ist der *Bac. Shiga-*

1) Teilweise am 11. Juni 1908 auf der 2. Tagung der „Freien Vereinigung für Mikrobiologie“ in Berlin vorgetragen.

2) Dieses Centralbl. Abt. I. Referate. Bd. XXXIV. p. 448 u. 556.

3) Liefmann und Nieter, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 2097.

4) Arb. aus d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. XIX.

5) Beiheft 1 zum Archiv f. Schiffs- und Tropenhyg. Bd. XI.

6) Vortrag auf der 1. Tagung der tropenmed. Gesellschaft zu Hamburg am 15./16. April 1908; Referat auf der 2. Tagung der „Freien Vereinigung für Mikrobiologie“ am 12. Juni 1908.

7) Zeitschr. für Hygiene. Bd. XVI. p. 1.

8) Veröffentl. aus dem Geb. des Mil.-San.-Wesens. Heft 20. p. 110—158.

Kruse, wie er jetzt allgemein genannt wird, gefunden worden. Daneben gibt es aber eine große Zahl von Bacillen, die unter sich und von Bac. Shiga-Kruse verschieden und in ätiologischen Zusammenhang mit Ruhrerkrankungen zu bringen sind. Der klinische Verlauf kann bei der Amöbenruhr und allen Formen der Bacillenruhr der gleiche sein, die Mehrzahl der Amöbenruhrfälle pflegt aber mit Leberabscessen kompliziert zu sein. Nach Hartmann (a. a. O.) sind solche jedoch bei den durch die Ent. quadrigena bedingten Fällen bisher nicht beobachtet, diese scheinen überhaupt leicht zu verlaufen, wenn sie auch die Neigung zu Rezidiven haben. Bei der Bacillenruhr sind Leberabscesse nur vereinzelt beschrieben: Chantemesse¹⁾ hat aus einem Leberabscesse den Bac. Shiga-Kruse gezüchtet, während Morgenroth²⁾ und Eckert³⁾ über Leberabscesse bei einigen durch Flexner-Bacillen (Manila) verursachten Fällen berichten. Die Amöbenruhr hat eine große Neigung zu rezidivieren und chronisch zu werden, während die Bacillenruhr nur in Ausnahmefällen einen chronischen Verlauf nimmt. Ganz charakteristische Unterschiede liegen ferner in den pathologisch-anatomischen Veränderungen: bei der Bacillenruhr bietet die Darmschleimhaut das klassische Bild der Diphtherie im Sinne Virchows, während die Submucosa höchstens sekundäre Veränderungen zeigt; bei der Amöbenruhr — mag sie durch die Ent. histolytica oder die quadrigena hervorgerufen sein — beginnt der Prozeß mit Geschwürsbildungen und spielt sich von vornherein in der Submucosa ab, in welche die Amöben eingedrungen sind und ihre gewebstlösenden Eigenschaften entfalten — so entsteht das Geschwür mit unterminierten Rändern. Die Amöbenruhr kommt nach allgemeiner Annahme hauptsächlich endemisch vor, gibt aber auch zu Epidemien mit kurz verlaufenden Einzelfällen Anlaß, der Bacillenruhr wurde ein mehr zu Epidemien neigendes Verhalten zugeschrieben. Bei uns in Deutschland liegen aber die Verhältnisse wenigstens in großen Bezirken ebenso wie bei Typhus: die Ruhr herrscht endemisch und steigert sich je nach den Umständen zu Epidemien. In der Literatur selbst noch der jüngsten Zeit wird die Bacillenruhr als „epidemische“ Ruhr bezeichnet. Dieser Ausdruck ist recht wenig zutreffend, besonders nachdem das preußische Seuchengesetz den Begriff der „übertragbaren Ruhr“ festgelegt hat.

Jürgens⁴⁾ hat 1907 die Ansicht ausgesprochen, daß die chronische Tropenruhr wohl zunächst eine echte bacilläre Dysenterie wäre, an welche sich dann eine Amöbenenteritis anschlosse. Es liegt zwar eine Reihe von Berichten vor, nach denen bei Ruhrfällen in den Tropen Amöben neben Bacillen gefunden sind. Die Frage scheint mir aber noch nicht so spruchreif zu sein, um eine Deutung im Sinne von Jürgens zuzulassen.

Bezüglich der räumlichen Ausbreitung sind zwischen der Amöbenruhr und den verschiedenen Formen der Bacillenruhr insofern keine scharfen Grenzen mehr zu ziehen, als letztere fast über alle Erdteile und klimatische Zonen verbreitet ist, während die Amöbenruhr ihre Heimat in den Tropen hat, aber auch, wenn auch nicht so ausgebreitet, in den subtropischen und gemäßigten Klimaten, vielleicht auch in Italien. Griechenland und Ländern ähnlichen Klimas vorkommt. Es liegt nun eine Reihe von Veröffentlichungen über Amöbenbefunde bei Ruhrerkrankungen vor.

1) La sem. méd. 1906. p. 563.

2) Archiv f. Schiffs- und Tropenhyg. Bd. VIII. 1904.

3) Deutsche militärärztl. Zeitschrift. 1906. p. 385.

4) Zeitschr. f. experim. Pathologie und Therapie. 1907. p. 769.

kungen in kälteren Klimaten, z. B. in Oesterreich-Ungarn, Nordamerika, im europäischen Rußland und in Deutschland sowohl bei sporadischen Fällen, als auch bei Epidemien und endemisch verbreiteter Ruhr vor. Daß Fälle von Amöbenruhr in kältere Zonen eingeschleppt werden, kann nichts Auffälliges haben, so sind denn auch namentlich seit der deutschen ostasiatischen Expedition und der Bildung der Schutztruppen in Afrika eine große Zahl eingeschleppter Fälle in Deutschland beobachtet. Unter anderen hat Jürgens¹⁾ bei diesen im Jahre 1902 Dysenterieamöben beschrieben, von denen Schaudinn 1903 erklärt hat: „Bis auf Jürgens hat niemand die *Entamoeba histolytica* erkennbar charakterisiert“²⁾. Im Jahre 1893 und 1896 haben Quincke und Roos³⁾, Boas und Borchardt⁴⁾ bei zusammen 5 Fällen über Amöbenbefunde in Deutschland berichtet. 4 von diesen hatten Beziehungen zu den Tropen nicht gehabt; die als Amöben gedeuteten Gebilde waren wenig beweglich, die Stühle waren für Katzen bei Infektion per os nicht pathogen, während beim 5. Fall, bei dem die Ansteckung nachweislich in Palermo erfolgt war, sehr bewegliche Amöben beschrieben werden, die auch Katzen per os dysenteriekrank machten. Nasse⁵⁾ beschreibt im Jahre 1892 einen nach Deutschland aus Amerika eingeschleppten Ruhrfall mit Leberabsceß und Hautgangrän, sowie mit Amöbenbefunden im Darm und den Hautgeschwüren. Die Amöbenuntersuchungen fanden aber erst nach der Obduktion statt, die Diagnose wurde nur auf Präparate gegründet. Die von Jäger 1900 und 1901 in Ostpreußen erhobenen Amöbenbefunde sollen später besprochen werden. Ein von Albu⁶⁾ im Jahre 1903 in Deutschland beobachteter, chronisch verlaufender Ruhrfall endete tödlich; in den Stühlen beschreibt Albu ebenso lebhaft bewegliche Amöben, wie er sie bei tropischen Ruhrfällen gesehen hatte. Bei der Sektion wurden massenhafte, sehr große und tiefgehende Darmgeschwüre mit unterminierten wallartigen Rändern gefunden. Die Ansteckung war in Breslau zu einer Zeit erfolgt, in der Ruhrfälle amtlich gemeldet waren, welcher Art diese waren, geht aus den Meldungen nicht hervor. Ferner beschreibt H. Meyer⁷⁾ im Jahre 1906 drei nach Deutschland eingeschleppte Ruhrfälle mit lebhaft beweglichen Amöben im Stuhl. Dann hat Haenisch⁸⁾ im Jahre 1908 über Amöbenbefunde früherer Jahre bei der endemisch in der Irrenanstalt Saargemünd verbreiteten Ruhr berichtet. Bei Sektionen wurden „neben den eigentlich diphtheritischen Veränderungen in der Darmschleimhaut tiefe Infiltrate und kraterförmige, unterminierte Geschwüre“ beschrieben, unter 203 Fällen kamen 12mal Leberabscesse vor. Ob die gefundenen Amöben „mit den Dysenterieamöben identisch sind“, bleibt nach Haenisch dahingestellt; am Schlusse seiner Arbeit stellt er aber bei der Ruhr der Irren 3 Hauptformen auf: 1) Shiga-Kruse-Ruhr, 2) Pseudodysenterie, 3) „wahrscheinlich die endemische, durch Amöben bedingte, häufig mit Leberabsceß komplizierte Dysenterie“. Einzelne Autoren, die über Amöbenbefunde in nördlichen Klimaten berichten, geben keine nähere Beschreibung der Fälle, sondern sprechen nur davon, daß sie die „charakteristischen Amöben“ gefunden

-
- 1) Veröffentl. aus dem Gebiet des Mil.-San.-Wesens. Heft 20. p. 110—158.
 - 2) Handbuch der path. Mikroorg. von Kolle-Wassermann. Bd. I. p. 921.
 - 3) Berl. klin. Wochenschr. 1893. Bd. XXX. No. 45.
 - 4) Berl. klin. Wochenschr. 1896. p. 89.
 - 5) Dieses Centralbl. Bd. XI. p. 473.
 - 6) Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. LVI. 1905. p. 432.
 - 7) Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 1327.
 - 8) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LX. p. 245.

hätten. Als Beweis, daß die nachgewiesenen Gebilde Dysenterieamöben waren, werden vielfach Tierversuche angeführt, die bei Infektion per os oder rectum zu schleimigen, blutigen Stühlen geführt haben. Solche Stühle kommen aber auch durch bakterielle Wirkung zustande. Auch die Angabe, daß in Darmschnitten von den an Ruhr gestorbenen Menschen oder von infizierten Versuchstieren die eingedrungenen Amöben deutlich erkennbar gewesen wären, spricht bei den älteren Veröffentlichungen nicht ohne weiteres für die Diagnose „Amöbendysenterie“. Jürgens¹⁾ beschreibt bei Bacillenruhr in den Gewebslücken auch der Submucosa große, runde Zellen mit schwammartigem Aussehen und nur im Chromatingerüst gefärbten Kernen, die den von Kruse und Pasquale bei Amöbenruhr gegebenen Abbildungen täuschend ähnlich, aber als Lymphocyten aufzufassen sind. Ob ein Teil der Forscher, welche über Amöbenbefunde in kalten Klimaten bei Ruhrfällen berichtet haben, die keine nachweisbaren Beziehungen zu tropischen Amöbenfällen hatten, nicht große Lymphocyten mit amöboiden Bewegungen, also Exsudatzellen, die man bei eitrigen Katarrhen findet, nach Ablauf der Entzündung aber vermißt²⁾, oder die *Entamoeba coli* Lösch — emend. Schaudinn — für Dysenterieamöben gehalten hat, läßt sich jetzt schwer beurteilen. Eine Amöbendiagnose aus Präparaten allein zu stellen mußte besonders früher, ehe der Entwicklungsgang und die Strukturverhältnisse der Amöben genauer bekannt waren, recht schwer sein und dürfte auch jetzt nur bei tadelloser Fixierung der Präparate möglich sein. Die *Ent. coli* Lösch ist sicher auch bei der Ruhr in tropischen Gegenden neben Dysenterieamöben gesehen worden, so daß Unklarheiten entstehen konnten.

Daß bei uns in Deutschland die Ruhr in großen Bezirken endemisch herrscht, unterliegt nach den amtlichen Statistiken keinem Zweifel. Abgesehen von den besprochenen Fällen, bei denen über Amöbenbefunde berichtet ist, liegen Veröffentlichungen in sehr großer Zahl darüber vor, daß es sich in Nord-, West-, Mittel- und Süddeutschland um Bacillenruhr gehandelt hat und noch handelt³⁾. Ueber die Aetiologie der im Osten von Deutschland heimischen Ruhr ist demgegenüber wenig berichtet worden. Eine eingehende Beschreibung der in Westpreußen heimischen Ruhr gibt Borntraeger⁴⁾ (1898) anläßlich des gehäuftten Auftretens im Bezirk Danzig im Jahre 1895. Bei allen Fällen verlief die Erkrankung akut, ein Ausgang in chronische Ruhr und Leberabscesse wurden nicht beobachtet, vorwiegend waren Kinder befallen. Bakteriologische Befunde wurden nicht erhoben; nach der Schilderung Borntraegers dürfte es sich wohl nur um Bacillenruhr gehandelt haben. Bei der Epidemie auf dem Schießplatz Gruppe in Westpreußen hat Jürgens⁵⁾ „Flexner“-Bacillen gefunden und im Jahre 1903 und 1904 darüber berichtet. Ueber die Ruhr in Ostpreußen liegen folgende Arbeiten vor: Bei 2 Epidemien in der Garnison Königsberg im Jahre 1900 und 1901 hat Jäger in verschiedenen Arbeiten⁶⁾, deren eine den Titel „Die in Ostpreußen heimische

1) Veröffentl. aus d. Geb. des Mil.-San.-Wesens. Heft 20. p. 41.

2) Vergl. auch v. Drigalski, Veröffentl. aus dem Geb. des Mil.-San.-Wesens. Heft 20. p. 99.

3) Vergl. besonders Kruse, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LVII. p. 417; Deutsche med. Wochenschr. 1907. p. 292 und 338; Zeitschr. f. ärztl. Fortbildung. 1904. p. 340; Klm. Jahrb. Bd. XIX. p. 528.

4) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. p. 375.

5) Deutsche med. Wochenschr. 1903. p. 841 und Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. LI. 1904. p. 365.

6) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXI. p. 551 und Bd. XXXII. p. 865; Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 36.

Ruhr eine Amöbenenteritis“ führt, als Erreger Amöben beschrieben. Im ganzen handelte es sich hierbei um 84 Ruhrfälle, von denen 2 tödlich endeten. Nach den Krankenblättern stellen sich alle Fälle als akute von etwa 3–3½ Wochen Dauer dar, die klinisch genau so verliefen, wie bei der Bacillenruherepidemie der Truppen des I. Armeekorps im Jahre 1906 (s. unten). Von Komplikationen sind bei den Epidemien der Jahre 1900 und 1901 1mal Gelenkrheumatismus, 1mal Peroneuslähmung, 4mal Herzinsuffizienz¹⁾, niemals aber Leberabscesse erwähnt; ein chronischer Verlauf wurde in keinem Fall beobachtet. Bei den 2 zur Sektion gekommenen Fällen vermißte Jäger Geschwüre mit unterminierten Rändern, die Darmschleimhaut war diphtheritisch, von der Schleimhaut standen zum Teil nur kleine Inseln, in Gewebsschnitten beschreibt Jäger „Amöben von schaumigem Gefüge“. Die mit Stuhlproben infizierten Katzen boten bei der Sektion 2 kleine Geschwüre, die nicht näher beschrieben sind, in den Darmschnitten fanden sich Amöben nicht.

1903 hat ferner Rautenberg²⁾ bei einem von einer Epidemie in Angerburg in Ostpreußen stammenden Fall einwandfrei durch Seradiagnostik Kruse-Shiga-Bacillen nachgewiesen, und schließlich liegt noch ein Bericht von Nickel³⁾ über die erwähnte große Ruhrepidemie des Jahres 1906 vor, bei der ausschließlich Kruse-Shiga-Bacillen als Erreger gefunden sind. Die im I. Armeekorps in den Jahren 1890 bis 1900 vorgekommenen Ruhrfälle haben stets einen akuten Verlauf gezeigt, abgesehen von den vereinzelt gebliebenen, chronischen Amöbenkrankungen zurückgekehrter Mannschaften des ostasiatischen Expeditionskorps. Nach den amtlichen Meldungen ist in Ostpreußen nach dem schweren Ruhrjahr 1895 ein allmählicher Rückgang eingetreten, im Jahre 1907 sind nur 7 Ruhrfälle aus ganz Ostpreußen amtlich gemeldet worden; höhere Zahlen weisen nur die Jahre 1901 und 1906 mit 165 bzw. 81 Ruhrfällen auf. Diese Meldungen geben natürlich kein genaues Bild der tatsächlichen Ausbreitung. Doepner⁴⁾ hat im Jahre 1904 auf der Danziger Tagung des Deutschen Vereins für öffentliche Gesundheitspflege als Referent die ostpreußischen Verhältnisse besprochen und auf die starke, vielfach durch Einschleppung der Ruhr aus Rußland bedingte Beteiligung der an der Grenze liegenden Kreise hingewiesen. Nach den amtlichen Meldungen ist aber fast kein Kreis in Ostpreußen ruhrfrei gewesen, dem entsprechen auch die militärärztlicherseits gelegentlich von Einzelfällen bei der Truppe angestellten Erkundungen in den letzten 10 Jahren.

Im Jahre 1905 hatte ich zuerst Gelegenheit, der Aetiologie der in Ostpreußen herrschenden Ruhr näherzutreten, als im August und Anfang September bei einigen Regimentern, die auf dem Truppenübungsplatz Arys in Ostpreußen geübt hatten, im ganzen 10, unter dem Bilde der Bacillenruhr verlaufende Fälle aufgetreten waren. Ich will zunächst auf das epidemiologische Ergebnis der Erkundungen, die sich auf den genannten Übungsplatz und seine Umgebung erstrecken, und dann auf die bakteriologischen Befunde eingehen. Die Stadt Arys und das angrenzende Truppenlager liegen in dem häufig von der Ruhr betroffenen Kreise Johannisburg; aus der Zivilbevölkerung dieses Kreises, namentlich aus der Umgebung von Arys, waren in den vorhergehenden

1) Böse macht in der Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LXI. p. 1 darauf aufmerksam, daß besonders bei Bacillenruhr in der Rekonvaleszenz Störungen von Seiten des Herzens gefunden werden.

2) Dieses Centralbl. Orig. Abt. I. Bd. XXXVI. p. 368.

3) Deutsche militärärztl. Zeitschr. 1907. p. 289, 355.

4) Deutsche V.J.Schr. für öff. Ges.-Pfleger. Bd. XXXVII. 1905. p. 27.

Jahren meist nur einzelne Ruhrfälle, in den Jahren 1896 und 1899 aber Epidemien bekannt geworden, während unter den in Arys üben den Truppen nur in den Jahren 1894—1896 und 1901 vereinzelt Ruhrfälle beobachtet sind; die Ruhr hat also nicht in allen Jahren von der Zivilbevölkerung auf die dort zum Teil bis in den September hinein üben den Truppen übergegriffen. Als ich am 7. September 1905 in Arys eintraf, war nur 1 Ruhrfall aus dem Kreise Johannsburg amtlich gemeldet, durch Erkundungen in den an den Uebungsplatz grenzenden Orten konnten aber eine Reihe klinisch einwandfreier Ruhrfälle unter schulpflichtigen und noch kleineren Kindern, vereinzelt auch bei Erwachsenen, festgestellt werden; ruhrverdächtige Erkrankungen waren seit dem Sommer 1905 bis in die letzten Augusttage hinein zu verfolgen. Diese Feststellungen gelangen sehr schnell mit Hilfe der Schulversäumnislisten und der Auskünfte der Lehrer; in ländlichen Bezirken, in denen Ausweise von Krankenkassen und ähnliche Aufzeichnungen über Krankheitsfälle höchst selten zur Verfügung stehen, können die Schulversäumnislisten am besten zur ersten Orientierung dienen. Nach Mitteilungen der Zivilärzte hatten sich auch in mehreren, etwas entfernter von Arys liegenden Ortschaften im August und September 1905 Ruhrerkrankungen gezeigt; bei allen Ruhrfällen, die in Arys und Umgebung seit Jahren von den genannten Aerzten beobachtet waren, hat es sich stets um akut verlaufende gehandelt. Die von vielen Seiten gemachte Beobachtung, daß in endemischen Ruhrzentren die Erwachsenen anscheinend infolge einer in der Kindheit durchgemachten, vielleicht ganz leichten Ruhrerkrankung und dadurch geschaffenen Immunität meist verschont bleiben, wurde vielfach bestätigt. Auf welche Weise die Ansteckung der ruhrkranken 10 Soldaten erfolgt war, konnte nicht genau ermittelt werden, da die Truppen das Lager Arys schon verlassen hatten; wichtig war aber die Feststellung, daß in dem dem Lager Arys am nächsten liegenden Dorfe Wiersbinnen, in welchem außerdem noch ein zweites kleines Militärlager sich befindet, eine kleine Hausepidemie aufgetreten war, und zwar lag das befallene Haus dicht neben dem zuletzt genannten kleinen Lager. Dadurch, daß ferner Frauen und Kinder aus den befallenen Dörfern in den Truppenlagern Dienste verrichteten, auch Lebensmittel trotz der Verbote an die Soldaten verkauften, waren genügend Uebertragungsmöglichkeiten gegeben.

Weitere hygienische Erkundungen wurden dann in jedem Frühjahr vor Belegung des Lagers mit Truppen und auch nach Bedarf während der Belegungszeit gemeinsam mit den zuständigen Medizinalbeamten von mir oder von anderer Seite ausgeführt. Dabei wurde festgestellt, daß verdächtige Darmerkrankungen vom September bis zum Dezember 1905 unter den Kindern der in Frage kommenden Dörfer vorgekommen waren. Vom 9. August bis 18. September 1906 kam es dann zu der großen bereits erwähnten Ruhrepidemie von 105 Fällen, die Ansteckung mußte fast ausnahmslos während der Uebungen in Arys erfolgt sein. Im Sommer 1906 waren in den an den Uebungsplatz grenzenden Ortschaften 9 Personen ruhrverdächtig krank gewesen und im August 1906 eine große Zahl von Kindern Darmstörungen halber der Schule ferngeblieben und zwar in einem Dorf 32. Außerdem hatten 3 Kinder eines Kasernenwärters für das kleine Lager im oben erwähnten Dorfe W. von Mai bis Juni 1906 an verdächtigen Durchfällen gelitten. Diese Wärterfamilie verkehrte mit der Familie eines im großen Lager bei Arys wohnenden Kasernenwärters (Maschinisten), dessen jüngstes Kind im Juni 1906 darmkrank war. Die ersten Ruhrerkrankungen unter der Truppe gruppierten sich um die Lagerstraße herum, in welcher die Kinder der

Maschinenfamilie meist spielten. Hierdurch war mit Rücksicht auf die noch zu besprechenden bakteriologischen Befunde die Ansteckungsquelle für die Truppen jedenfalls gegeben. Da die meisten Ruhrfälle unter den Truppen auftraten, welche in ungepflasterten Stallbaracken untergebracht waren, wurde auch der Boden als Infektionsquelle beschuldigt; der Boden könnte aber wohl nur im Sinne der Kontaktübertragung in Frage kommen. Die Ruhrfälle traten auch nicht plötzlich, sondern schubweise je nach der Anhäufung und Verteilung des Infektionsstoffes auf. Von den Schulkindern haben noch bis Oktober 1906 hinein einige wegen Verdauungsstörungen gefehlt. Im Jahre 1907 und bis zum Juli 1908¹⁾ sind ruhrverdächtige Erkrankungen in der Zivilbevölkerung der Lagerumgebung nicht ermittelt, auch unter den dort übenden Truppen sind seit dem Jahre 1906, trotzdem das Lager im Jahre 1907 vom März bis Oktober und 1908 vom März an stark belegt war, Ruhrfälle nicht vorgekommen. Für die besprochenen Erkundungsreisen standen immer nur wenige Tage zur Verfügung, so daß die tatsächliche Ausbreitung der Ruhr in den an Arys grenzenden Ortschaften nicht so eingehend ermittelt werden konnte, wie es durch Untersuchungsämter nach Art der im Südwesten des Reiches für die planmäßige Typhusbekämpfung geschaffenen Stationen wohl möglich gewesen wäre. Es läßt sich daher, weil seit 1906 Ruhrfälle nicht mehr ermittelt sind, naturgemäß nicht schließen, daß die Ruhr in der Umgebung von Arys erloschen ist. Nach den bei der planmäßigen Typhusbekämpfung gemachten Erfahrungen muß man annehmen, daß sich der Infektionsstoff durch leichte Fälle, und zwar durch Kontakt innerhalb der Wohnungen, vielleicht auch der Schulen fortpflanzt. Warum es nun in einzelnen Jahren zum gehäuften Auftreten von schweren Ruhrfällen kommt, in anderen Jahren trotz scheinbar für den Ruhrausbruch gleich günstiger Bedingungen dagegen nicht, entzieht sich noch unserer Kenntnis. Die von einzelnen Seiten geäußerte Ansicht, daß die Ruhr in den Grenzkreisen immer nur nach Einschleppung aus Rußland auftritt, kann nach den obigen Ausführungen nicht zutreffend sein; es wäre ein wunderbares Zusammentreffen, wenn Einschleppungen immer nach solchen Kreisen erfolgten, die von jeher als Ruhrzentren gegolten haben. Nach Jürgens²⁾ genügt zum Ausbruch einer Epidemie die Ansteckung mit Ruhrbacillen allein nicht, weitere, uns noch nicht bekannte Schädlichkeiten müßten hinzutreten, um ein gehäuftes oder epidemisches Auftreten herbeizuführen. Dafür spräche die Tatsache, daß die Epidemie unter den Truppen sofort aufhöre, sobald sie den Ort der Ansteckung verlassen hätten, trotzdem doch anzunehmen wäre, daß ein Teil der Mannschaften Ruhrbacillen beherberge. Eine Beobachtung aus der Epidemie unter den Truppen des I. Armeekorps 1906 verdient in dieser Beziehung erwähnt zu werden. Von annähernd gleichmäßig von der Ruhr befallenen Truppen war ein Teil nach dem Verlassen des Lagers frei von Anstrengungen geblieben, ein anderer Teil hatte Uebungen und längere Märsche gehabt. Der erstgenannte Teil wies Neuerkrankungen nicht auf, bei dem letztgenannten kam noch eine Reihe von Ruhrfällen vor, die nach der Inkubationszeit auf eine Ansteckung in Arys bezogen werden mußten. Das Beobachtungsmaterial war nicht groß genug, um sichere Schlüsse zuzulassen, es bringt aber eine Bestätigung für die übrigens nicht neue Annahme, daß die Ruhrkeime bei Schwächung des Körpers wirksam werden,

1) Abschluß dieser Arbeit.

2) In Schjernings „Gedenkschrift für R. v. Leuthold“. Bd. I. p. 148.

anderenfalls aber für den Träger unschädlich bleiben können. Daß Anstrengungen und Erkältungseinflüsse den Ruhrausbruch begünstigen, bestätigt auch Böse¹⁾).

Bakteriologisch wurden Stuhlproben schon bei der ersten Erkundungsreise im Jahre 1905 untersucht; bei 2 ruhrkranken Soldaten wurden Bacillen gefunden, die kulturell — auch auf Mannitnährböden — mit den Kruse-Shiga-Bazillen übereinstimmten, durch das entsprechende, zur Verfügung stehende Tierimmenserum aber nicht agglutiniert wurden; letzteres beeinflusste aber auch die Shiga-Kruse-Bacillen sehr wenig. Durch ein Versehen im Laboratorium wurden die ruhrverdächtigen Kulturen vernichtet, so daß Versuche mit neuem brauchbaren Serum nicht mehr angestellt werden konnten. Agglutinationsversuche mit dem Serum der Kranken aus der kleinen Epidemie 1905 fielen zwischen dem 4. und 13. Krankheitstage negativ aus, was nicht gegen die Annahme von Bacillenruhr sprechen konnte. Bei der Epidemie des Jahres 1906 wurden ausschließlich Shiga-Kruse-Bacillen einwandfrei nachgewiesen. Von Nickel und auch von mir wurde in frisch gelassenen Stühlen auf Amöben untersucht, die im Stuhl angetroffenen amöbenähnlichen Gebilde ließen gewisse Ortsbewegungen und Formveränderungen erkennen, mußten aber als Leukocyten aufgefaßt werden; mit dem Ausklingen der Entzündungserscheinungen im Darm verschwanden auch diese Gebilde. Hervorzuheben wäre ferner noch, daß eine auch nur einen halben Tag in Anspruch nehmende Versendung von Stuhlproben Ruhrkranker für die bakteriologische Diagnose sich als ungünstig erwiesen hat, positive Befunde wurden bei den von außerhalb zugegangenen Proben im Gegensatz zu den an Ort und Stelle verarbeiteten nur vereinzelt erhalten. Die im Hochsommer herrschende Wärme macht dies erklärlich. Bacillenträger wurden unter den Soldaten, die mit Ruhrkranken enge Beziehungen gehabt hatten und deren Stühle an Ort und Stelle untersucht wurden, nicht gefunden, trotzdem in Königsberg 137, in Allenstein 49 Untersuchungen unter Berücksichtigung der von Conradi gegebenen Kautelen stattfanden. Ueberhaupt sind in Deutschland Bacillenträger recht selten ermittelt. Kruse²⁾, Küster³⁾ und Conradi⁴⁾ fanden gar nicht oder nur in vereinzelt Fällen Shiga-Kruse-Bacillen; noch seltener sind Befunde von Pseudodysenteriebacillen in Deutschland erhoben, während Bacillenträger dieser letzten Art in Amerika häufiger vorzukommen scheinen. Ob die Bacillenträger bei der Ruhr nicht die Bedeutung haben, wie bei Typhus, läßt sich schwer entscheiden, vielleicht sind an den wenig häufigen Befunden unsere Untersuchungsmethoden schuld. Bei der Ruhr-epidemie 1906 im I. Armeekorps wurden nach Ablauf der Krankheitserscheinungen Ruhrbacillen nicht mehr angetroffen, trotzdem die Stühle jedes Kranken vor der Entlassung dreimal daraufhin untersucht wurden. In Lothringen sind aber von Conradi bis zu 9 Wochen, in Saarbrücken von Lentz⁵⁾ bis zu 4 Wochen, in China beim deutschen Expeditionskorps⁶⁾ bis zu 9 Monaten Ruhr- bzw. Pseudoruhrbacillen nach Ablauf der klinischen Krankheitszeichen gefunden worden, eine bakteriologische Kontrolle der anscheinend Genesenen ist daher, wie auch Shiga⁷⁾ in

1) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LXI. p. 2.

2) a. a. O.

3) Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 35.

4) Festschrift zum 60. Geburtstag von R. Koch. 1904.

5) Klin. Jahrb. Bd. XVII. p. 521.

6) Eckert, a. a. O.

7) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LX. 1908. p. 120.

einer 1908 erschienenen Arbeit für Japan bestätigt, notwendig. Die Agglutinationsprüfungen bei der Epidemie 1906 ergaben im allgemeinen nicht sehr hohe Zahlen; die höchste Verdünnung, bei der Agglutination der Kruse-Shiga-Bacillen eintrat, war 1:100 (am 24. Krankheitstage); am häufigsten wurde Agglutination bei 1:50 vom 24.—29. Krankheitstage beobachtet. Im Frühjahr 1907 habe ich dann noch von den Kindern der Kasernenwärter, welche bei der großen Epidemie 1906 jedenfalls eine ätiologische Rolle gespielt hatten, und von Dorfkindern, die im Laufe des Jahres ruhrverdächtig erkrankt gewesen waren, Blutproben untersucht; bei 4 Kindern, darunter die Kasernenwärterkinder, deren Erkrankungen 5—10 Monate zurücklagen, fand Agglutination von Kruse-Shiga-Bacillen 1:25 bis 1:40, bei 2 anderen nur bis 1:10 statt; Blut von Soldaten, welche 1906 ruhrkrank waren, wurde zu gleicher Zeit untersucht, und zwar lag die Erkrankung der Soldaten 5—6 Monate zurück. Agglutination trat bei gleich langer Beobachtungszeit 1mal bei 1:10, 2mal bei 1:20, 2mal bei 1:40 und 1mal bei 1:50 auf; ein Rückschluß, daß die untersuchten Kinder wenigstens zum Teil ruhrkrank gewesen sind, war demnach gestattet. Flexner-(Manila-)Bacillen wurden von dem Serum der untersuchten Kinder und Soldaten fast gar nicht beeinflußt, Serum Gesunder agglutinierte die zu den geschilderten Versuchen benutzte Kruse-Shiga-Kultur bei 1:10 nur andeutungsweise. Bei Agglutination von Ruhrbacillen durch Kranken- bzw. Rekonvaleszenten Serum sind von anderen Seiten allerdings höhere Werte als von mir erhalten worden, z. B. in Verdünnungen bis zu 1:400, 500, 800, in seltenen Fällen bis zu 1:1000 und 2000, bei chronischen Fällen 2 Jahre nach der 1. Erkrankung bis 1:300¹⁾. Die meisten Forscher fanden aber Ende der 1. Woche für Ruhrbacillen einen Titer von 1:50, bei Normalserum von etwa 1:20²⁾. Vielleicht sind diese verschiedenen Ergebnisse teilweise durch die Methode bedingt. Ich habe für die Untersuchungen das Blut aus dem Ohrläppchen durch einen tiefen Stich mit breiter Lanzette entnommen und auf diese Art fast stets 2.0 ccm erhalten. Selbst kleine Kinder reagierten bei diesem Eingriff nicht mehr als bei einem Nadelstich, der zur Füllung der kleinen Kapillaren gesetzt wird. Für Agglutinationsprüfungen bei verdächtigen Darmerkrankungen müssen oft eine ganze Reihe von Bakterien, z. B. Typhus-, Paratyphus-, Fleischvergiftungs- und die große Zahl von Ruhrbacillen berücksichtigt werden, man braucht also viel Krankenserum; bei Entnahme von 2.0 ccm Blut steht so viel zur Verfügung, daß man die Verdünnungen in schmalen Reagensgläsern genau mit Pipettenabmessung herstellen, auch die Bakterien zu jedem Glase in gleicher Menge zusetzen kann. Dann hat man die Stufenleiter der einzelnen Verdünnungen vor sich und wird bei makroskopischer Betrachtung genauere Resultate erhalten, als es die Beobachtung im hängenden Tropfen zuläßt, den man bei Verarbeitung der kleinen, aus Kapillaren stammenden Serummengen verwenden muß. Der hängende Tropfen trocknet bei längerer Beobachtung leicht ein, zuweilen kann aber eine Beobachtung der Objekte bis zu 24 Stunden erwünscht sein. Neuerdings empfiehlt auch Konrich (a. a. O.) die makroskopische Beobachtung.

¹⁾ Negri und Pane, ref. dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XLI. p. 272; Korentschewsky, dieses Centralbl. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. p. 193; Amako, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LX. 1908. p. 93; Bofinger, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. X. p. 427; Dörr, dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. p. 420; Haenisch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LX. 1908. p. 245; Konrich, ebenda. p. 281.

²⁾ Kruse, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LVII. p. 417.

Aus dem vorliegenden Material läßt sich folgern, daß in der Umgebung des Lagers von Arys die Ruhr endemisch herrscht und daß es sich seit Jahren dort um Bacillenruhr handelt. Besonders scheinen es die Kinder zu sein, welche durch leichte oder ambulante Erkrankung für Erhaltung des Infektionstoffes sorgen. Shiga¹⁾ hat in Japan auch zur kalten Jahreszeit leichte Ruhrfälle, und zwar gar nicht so selten, beobachtet. Auch Borntraeger (a. a. O.) berichtet über Ruhrfälle im Bezirk Danzig zur Winterszeit. Bei den seit dem Jahre 1903 untersuchten, in der Literatur bekannt gegebenen Fällen sind in Ostpreußen Kruse-Shiga-Bacillen nachgewiesen; bei den im Hygienischen Institut zu Königsberg untersuchten Fällen der letzten Jahre wurden niemals Amöben, sondern nur Kruse-Shiga-Bacillen gefunden; das gleiche gilt von den in der hiesigen medizinischen Klinik in den letzten Jahren untersuchten Fällen, wie im genannten Bericht über die Ruhr-epidemie 1906 hervorgehoben wird. Wie mir das Medizinal-Untersuchungsamt der Königlichen Regierung in Gumbinnen mitteilte, ist in den letzten 2 Jahren durch Stuhl- und Blutuntersuchungen, die aus 5 verschiedenen Kreisen Ostpreußens stammten, nur Bacillenruhr und zwar 7mal festgestellt. Es handelte sich sowohl um Kruse-Shiga-, als auch um „Flexner“-Bacillen. Ein Befund mit letztgenannten Bacillen wurde auch aus dem Dorfe Wiersbinnen bei Arys erhoben, so daß in diesem also 2 verschiedene Ruhrbacillenarten festgestellt sind. Daß in Ostpreußen neben den Kruse-Shiga-Bacillen auch andere Ruhrbacillen vorkommen, konnte ich ebenfalls in einem Falle bestätigen, auf den ich später kurz eingehen werde.

Fast in allen Weltteilen sind bei Krankheiten, die unter dem Bilde der Bacillenruhr — meist leichter, nur in seltenen Fällen, z. B. in Irrenanstalten bei der Eigenart der dort in Frage kommenden Fälle, schwerer — verlaufen, Bacillen gefunden, die unter sich verschieden, von Kruse-Shiga-Bacillen durch ihr serodiagnostisches Verhalten und ihr Vermögen, Mannit zu vergären, scharf zu trennen und als Flexner-, Strong-(Manila), Harris-, Hiss-, Y-Bacillen, Pseudodysenterie der Irren usw. bekannt sind. Hiss²⁾ hat im Jahre 1904 4 Typen von Ruhrbacillen aufgestellt, Shiga und Amako³⁾ fassen die von ihnen untersuchten 15 verschiedenen, aber nicht ganz scharf voneinander geschiedenen Bacillentypen als Varietät des Kruse-Shiga-Bacillus auf, empfehlen aus praktischen Gründen — besonders zur Durchführung der von Shiga vorgeschlagenen Behandlung mit multivalentem Heilserum — Einteilung in 5 Gruppen auf Grund des ziemlich konstanten Verhaltens bei der Fermentation und bei der Serodiagnostik. Kruse⁴⁾ trennt seit dem Jahre 1900 die echte Kruse-Shiga-Ruhr von der Pseudodysenterie und faßt unter letzterem Namen alle anderen bisher bekannten, bei sporadischen und gehäuften Fällen gefundenen Bacillen zusammen. Mit dem Namen Pseudodysenterie will Kruse teils Verwechslungen mit der echten Kruse-Shiga-Ruhr vermieden wissen, teils aber die nahen Beziehungen zwischen letzterer und der Pseudodysenterie ausdrücken, während Kruse den Namen Paradyenterie für die durch den Coli-ähnlichen Bacillus Deycke-Reschad hervorgerufene Erkrankung offen läßt. Kruse und Kemp⁵⁾ halten aber in ihren

1) a. a. O.

2) Dieses Centralbl. Abt. I. Referate. Bd. XXXVII. p. 273.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LX. 1908. p. 93, 120.

4) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LVII. p. 417 und Dtsche med. Wchschr. 1907. p. 292 u. 338.

5) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LVII. p. 489.

letzten Arbeiten 1907 die Rolle der „Pararuhr“ für recht problematisch. Bei der Pseudodysenterie unterscheidet Kruse 8 und mehr Rassen, A bis H usw., darunter 2 in Deutschland am meisten verbreitete Haupt-rassen A und D. Die Einteilung erfolgt weniger auf Grund des Verhaltens auf Zuckernährböden, das nach Kruse u. a. für eine sichere Unterscheidung nicht konstant genug ist, als auf Grund des genau geprüften und nur durch exakte Absättigungsversuche festzustellenden serodiagnostischen Verhaltens. Zur Hauptrasse A gehören nach Kruse die meisten aus der Bonner Irrenanstalt, die von Lentz in Saarbrücken, von Jürgens in Gruppe gezüchteten Bacillen, während die zweite Hauptrasse D vielleicht mit dem Bacillus Y identisch ist. Die von Flexner von den Philippinen erhaltenen Stämme rechnet Kruse zur Rasse B, welche in Deutschland bisher überhaupt gar nicht vertreten war. Jürgens hatte z. B. seine in Gruppe gezüchteten Ruhrbacillen als Flexner-Manila-Bacillen bezeichnet, während sie nach Kruse mit den Flexner-Manila-Bacillen nicht identisch sind. Die bakteriologische Diagnose „Pseudodysenterie“ ist also recht schwierig geworden; es gehören dazu nach Kruse alle Rassen und die entsprechenden Tiersera, um die Absättigungsversuche durchführen zu können, welche die fast bei allen Rassen stark hervortretende Gruppenagglutination nötig macht. Ueber letztere berichten neuerdings auch Haendel¹⁾, Amako²⁾, Liefmann und Nieter³⁾.

Der von mir gezüchtete, oben bereits erwähnte Bacillus wurde aus dem Stuhl eines verheirateten, in der Kaserne wohnenden Unteroffiziers am 4. und 5. Krankheitstage, dann aber nicht mehr erhalten. Der Mann erkrankte unter dem typischen Bilde der akuten Ruhr Anfang April 1908, während in seiner Umgebung weder vorher noch nachher irgend jemand Darmstörungen gezeigt hatte. Die Erkrankung verlief mittelschwer und blieb vereinzelt; die Ansteckungsquelle konnte nicht ermittelt werden; in den wiederholt untersuchten Stühlen der Angehörigen wurde der fragliche Bacillus nicht gefunden.

Ueber die Kulturversuche des Bacillus, den ich Pseudodysenterie Königsberg nennen will, gibt die beigefügte tabellarische Uebersicht Auskunft. Zum Vergleich sind Kulturen des Shiga-Kruse-Bacillus, des Flexner-Manila-Bacillus und der beiden Hauptrassen der Pseudodysenterie Kruse A und D herangezogen. Die 2 letztgenannten Kulturen sind mir einschließlich der dazu gehörenden Tiersera vom Hygienischen Universitätsinstitute zu Bonn freundlichst übersandt worden. Die Kulturversuche wurden wiederholt angestellt, das Ergebnis war, soweit nicht in der Tabelle Abweichungen hervorgehoben sind, bei allen Kultur- und Beobachtungsreihen, die sich jedesmal auf 2 Wochen erstreckten, das gleiche. Von den Ergebnissen wäre hervorzuheben, daß die Shiga-Kruse-Kultur die Traubenzuckerlösung nach Hetsch⁴⁾ nach 24 Stunden unter schwacher Gerinnung stark säuerte, nach 48 Stunden aber vollständig zur Gerinnung brachte (vergl. auch Konrich a. a. O.). In der Literatur⁵⁾ findet sich meist der Vermerk, daß Shiga-Kruse-Bacillen erst spät oder gar nicht Gerinnung herbeiführen. Dieser Punkt ist aber wohl belanglos, da es sich nur um

1) Arb. aus dem Kais. Ges.-Amt. Bd. XXVIII. p. 358.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LX. 1908. p. 93.

3) Münch. med. W.-Schr. 1906. p. 2097.

4) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 580.

5) Handbuch v. Kollé-Wassermann. Bd. II. p. 309 (Lentz-Dysenterie); Doerr, dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. p. 512.

Tabellarische

Kultur	Beweglichkeit	v. Drigalski-Conradi-Agar	Indol	Stich im Traubenzuckeragar	Stich im Neutralrot-agar	Stich im 2-proz. Lactosummanni-agar
Shiga-Kruse	unbeweglich, lebhaftes Molekularbewegung	blau	negativ	kein Gas	unverändert, kein Gas	unverändert
Pseudodysenterie Hauptrasse A	desgl.	desgl.	stark positiv	desgl.	desgl.	Rötung (nach 24 Stunden schwach, nach 48 Std. stark)
Flexner-Manila (nach Kruse zur Pseudodys. Rasse B gehörig)	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
Pseudodysenterie Hauptrasse D (nach Kruse vielleicht mit Bac. Y identisch)	desgl.	desgl.	meist negativ, selten schwach positiv	desgl.	desgl.	desgl.
Pseudodysenterie Königsberg	desgl.	desgl.	stark positiv	desgl.	desgl.	desgl.

quantitative Unterschiede in der Bildung von Säure und anderen Stoffen handelt, denn die Gerinnung kommt nicht allein durch die Säuremenge zustande. Ferner brachte die Flexner-Kultur die Malzzucker- und die Dextrinlösung nach 48 Stunden vollständig zur Gerinnung, auch die Shiga-Kruse-Kultur bewirkte in der Dextrinlösung vom 3. Tage an, zuweilen auch in der Malzzuckerlösung vom 5. Tage an geringe Säuerung. Die Dextrinbefunde haben bei der unsicheren Zusammensetzung dieses Nährbodens wenig Bedeutung (Kruse). Die Indolreaktion — nach Ehrlich¹⁾ geprüft (Paradimethylamidobenzaldehyd und Kaliumpersulfat) — fiel bei der Shiga-Kruse-Kultur stets negativ, beim Stamm Flexner, Pseudodysenterie A und Königsberg sehr stark positiv, beim Stamm D nur vereinzelt und dann schwach positiv aus, während die alte Kitasato-Salkowskische Probe bei den genannten Pseudodysenteriestämmen stets negativ ausfiel. Die für Indol spezifische Ehrlichsche Reaktion ist also ungleich feiner. Die Ergebnisse der Kulturen auf Agar, Gelatine in Bouillon sind in der vergleichenden Uebersicht nicht aufgeführt, weil kulturelle Unterschiede auf diesen Nährböden zu wenig charakteristisch zu sein pflegen, um eine Differentialdiagnose zu stützen. Eine Braunfärbung der Gelatine durch Shiga-Kruse-Bacillen, worüber Kruse²⁾ berichtet, wurde nie beobachtet.

1) Böhme, dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XL. p. 131.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LVII. p. 417.

Übersicht

2-proz. Lackmusmannitnutroselösung in Gärungskölbchen	Lackmuskolke	Milch	1-proz. Lackmusnutroselösung nach Hetsch mit				
			Traubenzucker (einschl. Fruchtzuck.)	Milchzucker	Rohrzucker	Malzzucker	Dextrin
bis auf Farbstoffreduktion unverändert, kein Gas	klar, schwach sauer	nicht geronnen	Rötung, Gerinnung	unverändert	unverändert	meist unverändert, selten nach 5 Tagen schwache Rötung	vom 3. Tage an schwache Rötung
Rötung und Gerinnung, kein Gas	sauer	desgl.	desgl.	desgl.	ganz schwache Rötung	unverändert	ganz schwache Rötung
desgl.	schwach sauer	desgl.	Rötung, schwache Gerinnung	desgl.	vom 6. Tage an ganz schwache Rötung	Rötung und Gerinnung	Rötung und Gerinnung
desgl.	stark sauer	desgl.	Rötung, starke Gerinnung	desgl.	unverändert	unverändert	unverändert
desgl.	schwach sauer	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	zuweilen vom 6. Tage an Rötung, keine Gerinnung	desgl.

Daß der Pseudodysenteriebacillus Königsberg mit der Erkrankung in ursächlichem Zusammenhang stand, beweisen die Agglutinationsversuche mit dem Krankenserum, das am 6., 13., 25. und 34. Krankheitstage entnommen war. Während Normalserum von 3 Menschen den Bacillus nach 2 Stunden Brutschrankaufenthalt gar nicht, nach 24 Stunden nur bis 1:25 agglutinierte, wurde er vom Serum des Kranken vom 13. Krankheitstage an bis 1:100, am 25. und 34. Tage bis 1:50 deutlich nach 2 Stunden agglutiniert. Shiga-Bacillen wurden von diesem Krankenserum in der gleichen Zeit nur bis 1:10, Flexner-Manila-Bacillen aber ebenso stark wie der eigene Bacillus agglutiniert. Von agglutinierenden Tierseren standen mir anfänglich 3 aus dem Institut für Infektionskrankheiten stammende Sera, bezeichnet mit „Shiga-Kruse“, „Flexner“ und „Y“ zur Verfügung. Das erste (Titer 1:2000) agglutinierte die Pseudodysenterie Königsberg nur bis 1:20, das zweite (Titer 1:5000) bis 1:1000, während mein Flexner-Manila-Stamm auch nur bis 1:1000 agglutiniert wurde, das dritte (Titer 1:10000) bis zu 1:5000; das Y-Serum wirkte in gleicher Weise (1:5000) auch auf den Flexner-Stamm. Im Juli 1908 erhielt ich dann noch Sera von Pseudodysenterie A (Titer nicht angegeben) und D (Titer 1:2000) aus Bonn (s. o.). Das A-Serum agglutinierte den eigenen Stamm bis 1:200 sofort, die Pseudodysenterie Königsberg bis 1:100 erst nach 24 Stunden, das D-Serum agglutinierte den eigenen Stamm bis 1:400 sofort, bis 1:2000 nach 12 Stunden, die Pseudodysenterie Königsberg und in gleicher Weise den

Flexner-Stamm bis 1:400 sofort, bis 1:800 in 7 Stunden, bis 1:1000 aber auch nach 24 Stunden nicht mehr. Da hieraus keine sicheren Schlüsse gezogen werden konnten, welcher Rasse der Pseudodysenterie der Bacillus Königsberg zugeteilt werden müßte, wurden wechselseitige Absättigungsversuche nach Castellani gemacht, soweit dies mit den vorhandenen, in der Tabelle aufgeführten Kulturen und den zu Gebote stehenden Seren (Shiga-Kruse, Flexner-Manila, Y, A, D) möglich war. Der Bacillus Königsberg konnte bei der Absättigung der Sera Flexner, A und D die Kulturen Flexner, A und D nicht ersetzen und mit keiner dieser 3 Arten identifiziert werden. Meine im Vortrage (11. Juni 08, s. o.) ausgesprochene, namentlich auf die Kulturversuche gegründete Ansicht, daß der Bacillus Königsberg wohl zu einer der Kruseschen Hauptrassen gehöre, hat sich bei den weiteren Versuchen also nicht bestätigt. Daß der fragliche Bacillus trotzdem zur Pseudodysenterie Kruse zugerechnet werden muß, glaube ich aus dem Verlauf der Krankheit, von welcher er stammt, aus den Kulturversuchen und der starken Mitagglutination durch die verschiedenen Pseudodysenteriesera schließen zu können. Wenn sämtliche Pseudodysenterierassen mit entsprechenden Seren hätten geprüft werden können, wäre eine Zuteilung des Bacillus zu einer anderen Pseudodysenterierasse vielleicht möglich gewesen, falls er nicht eine neue Rasse darstellt. Kürzlich hat Konrich¹⁾ einen Bacillus beschrieben, der trotz fast völliger kultureller Uebereinstimmung mit Flexner-Bacillen serodiagnostisch mit diesen nicht zu identifizieren, auch von Kruse-Shiga-Bacillen zu trennen war. Ob der Bacillus von Konrich zu einer der Kruseschen Pseudodysenterierassen gehört, ist nicht geprüft worden.

Um schneller zu einer Diagnose der Pseudodysenterie zu gelangen, wäre es wünschenswert, polyvalente agglutinierende Sera zu besitzen. Für die Bedürfnisse der Praxis dauert es viel zu lange, bis die Diagnose auf eine bestimmte Rasse der Pseudodysenterie gestellt ist. Die Einsender ruhrverdächtigen Materials wollen möglichst schnell wissen, ob eine übertragbare Krankheit vorliegt. Die Beantwortung der Frage, welche Rasse der Pseudodysenterie gezüchtet ist, ist weniger dringlich.

Wir haben also gesehen, daß in Ostpreußen die Bacillenruhr endemisch ist und in der Mehrzahl der Fälle Kruse-Shiga-, seltener Pseudodiphtheriebacillen gefunden sind. Ostpreußen nimmt also in bezug auf die Ruhrätiologie keine Sonderstellung in Deutschland ein. Diejenigen Fälle, bei denen in Deutschland der Nachweis von Dysenterieamöben einwandfrei gelang, waren aus Gegenden mit endemischer Amöbenruhr eingeschleppt. Daß sich an solche Einzelfälle gelegentlich weitere Erkrankungen anschließen, ist natürlich möglich. v. Drigalski wies aber in der Diskussion zum Hartmannschen Referat (s. o.) darauf hin, daß solche Uebertragungen höchst selten vorgekommen wären. Wir kennen einzelne, ursprünglich in den Tropen heimische Protozoenkrankheiten, die sich im Laufe der Zeit auch in kalten Klimaten eingemischt haben. Bisher ist aber der Beweis nicht erbracht, daß die Dysenterieamöben in Deutschland heimisch geworden sind.

Zum Schluß will ich noch eine Frage berühren: „Wie steht es mit der Anzeigepflicht bei der Pseudodysenterie Kruse?“ Doepner²⁾ hat im Jahre 1904, als nur der Entwurf zum preußischen Seuchengesetz vorlag, auf der Versammlung des Vereins für öffentliche Gesundheits-

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LX. p. 281.

2) Dtsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Ges.-Pfl. Bd. XXXVII. 1905. p. 32.

pflege die Notwendigkeit der Anzeigepflicht für alle Ruhrfälle betont, und Kruse¹⁾ hat sich 1907 ebenfalls dahin ausgesprochen, daß alle Fälle von Dysenterie und Pseudodysenterie angezeigt werden müßten, da auch sporadische, vielleicht aus Selbstinfektion entstandene Fälle auf andere übertragbar seien. Ermittlungsverfahren sind wohl bei allen Fällen von Pseudodysenterie notwendig, da man nie wissen kann, ob hinter einem Einzelfall bereits eine ganze Epidemie steckt. Kruse glaubt, daß das preußische Seuchengesetz zur Anzeige eine Handhabe biete, weil nur von übertragbarer Ruhr, nicht aber von Dysenterie und Pseudodysenterie gesprochen sei. Im preußischen Gesetz steht aber ausdrücklich hinter „übertragbarer Ruhr“ das Wort Dysenterie in Klammer und in der amtlichen Anweisung zur Ausführung des Gesetzes vom 10. Aug. 1906, Heft 5, Anlage 5, Ziffer 2 wird, trotzdem im Jahre 1906 die Pseudodysenteriebacillen Kruse und zahlreiche durch Bacillen dieser Art verursachte Epidemien bekannt waren, gesagt, daß der Erreger der bei uns herrschenden Ruhr der von Kruse und Shiga beschriebene Ruhrbacillus sei. Die Pseudodysenterie ist nicht erwähnt. Im Gegensatz dazu steht in der Anweisung für Typhus vom 10. Aug. 1906, daß bei Paratyphusfällen ebenso zu verfahren wäre, wie bei Typhus. Die Frage des Paratyphus war im Jahre 1906 auch noch nicht endgültig entschieden, trotzdem hat der Paratyphus in den Ausführungsbestimmungen zum Gesetz Berücksichtigung gefunden. Daß jeder eingeschleppte Fall von Amöbenruhr zur Anzeige gebracht werden soll, geht aus dem Wortlaut des Gesetzes, welches von Dysenterie im allgemeinen spricht, hervor; darüber, ob Pseudodysenteriefälle angezeigt werden müssen, können aber Zweifel bestehen. In dieser Hinsicht halte ich den von Kruse geschaffenen Ausdruck Pseudodysenterie, so richtig er wissenschaftlich auch sein mag, für nicht glücklich. Der praktische oder der beamtete Arzt wird für den Fall, daß das Untersuchungsergebnis z. B. auf „Ruhrbacillus Flexner oder Y“ lautet, eher zur Anzeige bzw. zur Durchführung der Bekämpfungsmaßregeln schreiten, als wenn die Diagnose auf „Pseudodysenterierasse A—H“ lautet. Sobald in die amtliche Anweisung der Name „Pseudodysenterie“ mit ihren verschiedenen Rassen aufgenommen werden könnte, wäre die Sache ohne weiteres erledigt. Ob sich unsere zuständigen Behörden dazu entschließen werden, ehe die Frage der Pseudodysenterie geklärt ist, steht dahin. Man muß bedenken, daß bei Ruhrfällen eine große Reihe von Coli-ähnlichen Bacillen beschrieben sind, die von den Kruse-Shiga- und den Pseudodysenteriebacillen Kruse verschieden sind, und, soweit es sich nach den Berichten beurteilen läßt, mit einem gewissen Recht mit den Erkrankungen in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden konnten, z. B. bei der endemischen Ruhr in Süd-japan von Abe²⁾ im Jahre 1907, in Döberitz von Schmiedicke³⁾ im Jahre 1901, bei der deutschen Chinaexpedition von Eckert⁴⁾ u. a. Es wird noch umfangreicher Untersuchungen bedürfen, ehe die Frage der Aetiologie der Bacillenruhr geklärt ist. In epidemiologischer Beziehung sind Dysenterie und Pseudodysenterie als gleichwertig aufzufassen. Da es nicht angängig ist, von der Wissenschaft geschaffene und bereits eingebürgerte Namen je nach den örtlichen, praktischen Bedürfnissen zu ändern, so wäre es, solange die amtliche Anweisung nicht ergänzt wird, vielleicht zweckmäßig, in den Bescheinigungen

1) Deutsche med. Wochenschr. 1907. p. 294.

2) Arch. f. Hyg. Bd. LXV. 1908. p. 107.

3) Veröffentl. a. d. Geb. d. Mil.-San.-Wes. Heft 20. p. 81.

4) a. a. O.

der Untersuchungsstellen über positive Befunde nur den Ausdruck „Ruhrbacillen“ zu gebrauchen und die Zugehörigkeit der gefundenen Bacillen zu bestimmten Rassen usw. in Klammern zu setzen, also z. B. „Ruhrbacillen (Shiga-Kruse)“ oder „Ruhrbacillen (Pseudodysenterie-Rasse A)“.

Nachdruck verboten.

Ueber das Virus myxomatosum der Kaninchen.

[Aus dem Portugiesischen Spital von S. Paulo (Brasilien).]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. A. Splendore, Direktor des bakteriologischen Laboratoriums.

Die nachfolgende kurze Mitteilung bezieht sich auf eine spontane Infektion der Kaninchen des Laboratoriums. Das pathologisch-anatomische Material, sowie die mikroskopischen Präparate demonstrierte ich in 2 Sitzungen der Sociedade Scientifica von São Paulo.

Die Krankheit trat unter einer Anzahl Kaninchen auf, die auf dem hiesigen Markte angekauft wurden, und zwar wurden in wenigen Tagen 8 unter 12 dieser Tiere krank. Interessant ist die Tatsache, daß seit jenem Auftreten die Epidemie spontan verschwunden ist, so daß sich bis heute, d. i. etwa 4 Monate seit dem ersten Auftreten, die Seuche weder bei den 4 Kaninchen der verseucht angekauften, noch bei anderen speziell für diesen Zweck angekauften und in die infizierten Käfige gebrachten konstatieren ließ. Die experimentelle Uebertragung hingegen gelang bei verschiedenen dieser Kaninchen, so daß kein Zweifel betreffend die Ansteckbarkeit derselben besteht.

Die Infektion zeigt sich durch Oedeme der Augenlider an, eiterige Konjunktivalsekretion, es folgt Ausbreitung des Oedems auf die Nase, die Lippen, das ganze Angesicht, sowie auf die Anogenitalregion. Das Tier magert rasch ab und stirbt unfehlbar am 4. oder 5. Tage der Krankheit.

Bei der Sektion werden keine makroskopischen charakteristischen Veränderungen der inneren Organe gefunden, ausgenommen die Lymphfollikel der verschiedenen Regionen, welche immer vergrößert sind.

Die histologische Untersuchung zeigt, daß es sich um Gewebsläsionen myxomatöser Natur handelt. Weder in den Präparaten, noch durch Kulturen konnten spezifische Keime nachgewiesen werden, die isolierten Keime vermochten experimentell die Krankheit nicht zu erzeugen, was jedoch mit dem pathologischen Material immer gelang.

Die experimentelle Infektion gelang leicht mit verschiedenem Material (mit ödematösem Gewebe, Blut, Lymphfollikelsaft, Leber) sowohl durch Friktionen, als auch durch Injektion. Es genügt, die Conjunctiva mit einem Stückchen myxomatösen Gewebes leicht einzureiben, um nach 4—5 Tagen das charakteristische Oedem auftreten und den ganzen charakteristischen Verlauf der Krankheit sich abspielen zu sehen.

Bei den intraperitonealen wie subkutanen Injektionen scheint das Virus, um seine Virulenz voll zu entwickeln, einen längeren Zeitraum nötig zu haben; bei diesen Tieren wurden die ersten Anzeichen der Erkrankung erst nach 8 und einige Male nach 10 Tagen beobachtet; hingegen ist der Verlauf der Krankheit in diesen Fällen viel schwerer, einige Kaninchen starben schon nach 2—3 Tagen nach Ausbruch der

Krankheit, einige Male bevor sich das Oedem, kaum an den Augenlidern begonnen, generalisieren konnte. In einem Falle, bei dem der Tod nach 4 Tagen eintrat, wurden zahlreiche myxomatöse Geschwülstchen in verschiedenen Regionen der Stirn, des Körpers und der Hintergliedmaßen beobachtet.

Uebertragungsversuche auf andere Tiere (Meerschweinchen, Katzen, Hunde) sind erfolglos geblieben.

In bezug auf die Lebensfähigkeit des Virus hat es sich gezeigt, daß sich dasselbe vollständig aktiv erhält, selbst bei viele Tage langem Aufbewahren im Eisschrank; hingegen hat dasselbe nach einem Aufenthalt von 1 Stunde im Brutschrank bei 50° C keine Läsionen mehr erzeugt.

* * *

Beim Nachsuchen in der mir zur Verfügung stehenden, diese Fälle betreffenden Literatur konnte ich feststellen, daß die Krankheit identisch ist mit der von Sanarelli in Montevideo beobachteten. Leider habe ich bis heute keine Gelegenheit gehabt, Sanarellis Arbeit im Original nachzulesen, ich mußte den Angaben folgen, die Roux in seiner Arbeit „Sur les microbes dits invisibles“ (Bull. de l'Inst. Pasteur. T. I. No. 1) macht. — Dieser Arbeit habe ich entnommen, daß Sanarelli den Keim der fraglichen merkwürdigen Krankheit als ultravisibel betrachtet.

Ich versuchte daher die Filtration des Virus, zu diesem Zwecke Blut und verschiedenes anderes pathologisches Material von geprüfter Virulenz benutzend; dasselbe war genügend verdünnt und zerteilt. Trotzdem ich aber einen Chamberland-Filter anwandte, der zugefügte chromogene Bakterien sowie andere Keime durchgehen ließ, konnte in jedem Falle nachgewiesen werden, daß das Filtrat, verschiedenen Kaninchen eingespritzt, keine Läsionen mehr hervorbrachte.

Aus diesen Experimenten dürfte hervorgehen, daß das Virus myxomatosum nicht zu den ultramikroskopischen gehört, es sei denn, daß die Nichtfiltrierbarkeit durch spezielle Umstände bedingt sei, indem z. B. das Virus an Elemente gebunden wäre, die nicht filtrieren, was durch neue Versuche festgestellt werden soll. Indem ich die Methoden der Protozoenforschung bei den weiteren Studien anwendete, konnte ich feststellen, daß in einigen Präparaten, die nach Giemsa gefärbt waren, viele myxomatöse Zellen der Läsionen spezielle Einschlüsse zeigten; einige derselben erinnern vollständig an die Chlamydozoen des Trachoms, wie sie von Halberstädter und Prowazek beschrieben worden sind, einigemale wurden die gleichen Körperchen auch in gewissen Leukocyten gefunden.

Die Versuche sollen fortgesetzt werden, um mehr Gewißheit für diese letzteren Befunde zu erlangen.

S. Paulo (Brasilien), Mai 1908.

Nachdruck verboten.

Kleine Beiträge zur Kenntnis der Vogeltrematoden.

Von Dr. L. A. Jägerskiöld.

Mit 7 Figuren.

I.

Spelophallus n. g., Spelotrema Jägersk., Maritrema Nicoll, geschlechtsreife Galactosomum (Monostomum) lacteum.

Während meiner Einsammlungsexkursionen habe ich dann und wann Funde von interessanten Trematoden gemacht. Durch andere Arbeiten, die meine Zeit sehr in Anspruch nehmen, bin ich aber verhindert, sämtliche gleich zu bearbeiten und zu veröffentlichen. Ich werde dies daher nach und nach in einer Reihe kleinerer Beiträge tun. Sie kommen auf diese Weise den arbeitenden Kollegen in verschiedenen Ländern schneller zu Nutzen, als wenn ich warten wollte, bis ich eine abgeschlossene Arbeit liefern könnte. Ich mache jetzt den Anfang mit einigen Arten aus Meeresvögeln aus Bohuslän.

Spelophallus¹⁾ primas²⁾ n. g. n. sp.

Im Darm der Eiderente fand ich im Sommer 1906 bei Styrsö in den Scheeren vor Gotenburg zusammen mit zahlreichen *Spelotrema pygmaea* (Levinsen) auch einige Würmer, die etwa doppelt so lang waren und die ich zuerst als zur Gattung *Spelotrema* gehörig ansah. Eine genaue Untersuchung belehrte mich jedoch gleich, daß hier trotz aller habituellen Ähnlichkeit doch eingreifende Unterschiede vorlagen, und zwar betreffs der Kopulationsorgane. Die Aufstellung einer neuen Gattung erwies sich wünschenswert. Ehe ich dieselbe jedoch charakterisiere, will ich eine kurze Darstellung des Baues unserer Tiere geben.

Einmal habe ich im Austernfischer (*Haematopus ostralegus*) ein paar Würmer gefunden, die, soweit ich sehen kann, ebenfalls derselben Species angehören.

Obschon größer, als sein „Contubernal“, *Spelotrema pygmaea*, gehört unser Wurm doch zu den kleineren Trematoden. Seine Länge wechselt je nach der Kontraktion des Körpers zwischen 0,560 und 0,880 mm. Die größte Breite, die natürlich am Hinterkörper zu finden ist, beträgt 0,250—0,400 mm. Die mittlere Länge ist etwa 0,693 mm; die mittlere maximale Breite ist etwa 0,330 mm. Die Individuen aus *Haematopus* zeigen Maße, die innerhalb der Grenzen der Art fallen, gehören aber zu den kleineren.

Die Körpergestalt ist beinahe biskuitförmig, aber mit nicht nur sehr viel dünnerem, sondern auch schmalerem Vorderleib. Eine gewisse Neigung zur Keulenform ist also deutlich vorhanden. Die Bauchseite, besonders am Vorderkörper, immer kontrahiert, der Hinterkörper aber oft aufgeschwollen. Die Haut ist mit deutlichen und dicht stehenden Stacheln versehen. Die Stachelung erstreckt sich aber nicht weiter nach hinten als etwa bis zur Darmgabelung.

Der Mundsaugnapf ist wie gewöhnlich subterminal. Sein Durchmesser wechselt je nach der Kontraktion von 0,048—0,070 mm und beträgt im Durchschnitt 0,059 mm. Der Bauchsaugnapf liegt etwa an

1) Von σπήλαιον Grotte und φαλλός Penis.

2) Der Erstling.

der Grenze zwischen dem 2. und dem 3. Drittel der Körperlänge. Er mißt im Durchmesser 0,073—0,105 mm. Die Mittelzahl ist hier 0,086 mm. Der Bauchsaugnapf hat demnach einen Durchschnitt, der den des Mundsaugnapfes gewöhnlich um mehr als ein Viertel übertrifft. Ich muß bemerken, daß, während der Durchschnitt des Mundsaugnapfes der beiden aus *Haematopus* stammenden Individuen 0,057 bzw. 0,060 mm beträgt und demnach sehr wenig von dem der anderen abweicht, so betragen ihre Bauchsaugnapfe nur 0,060 resp. 0,066 mm. Der Bauchsaugnapf zeigt immer eine sehr flache, beinahe tellerförmige Gestalt mit weit offener Mündung (vergl. Fig. 1 u. 2 BS) und seine Wand ist verhältnismäßig schwach.

Ganz wie die *Levinseniella*-Arten, besitzt auch unser Wurm zwei scharf begrenzte Gruppen von Hautdrüsen. Sie liegen etwa in der Höhe des Bauchsaugnapfes an der Bauchseite ganz nahe am Körperende.

Der Oesophagus¹⁾ ist lang, sein Hinterende liegt ungefähr in der Mitte des Körpers. Der Präpharynx ist verhältnismäßig kurz, ungefähr von der Länge des Pharynx. Dieser ist kräftig und mißt 0,040—0,045 × 0,018—0,021 mm. Der postpharyngeale Teil des Oesophagus ist lang, mehr als ein Viertel des ganzen Körpers, und übertrifft die Darmäste an Länge. Diese sind ungegabelt, kurz und verhältnismäßig weit. Sie erstrecken sich ein wenig nach hinten von dem Vorderrand sowohl des Bauchsaugnapfes als des Ovariums, erreichen aber nie die Höhe der Geschlechtsöffnung. Die Exkretionsblase ist nicht sehr geräumig; ihre Gestalt ist V-förmig.

Die allgemeine Anordnung der Organe im Hinterkörper ist der bei *Spelotrema* ganz ähnlich. Die Geschlechtsöffnung links, dicht beim Bauchsaugnapf; männlicher Ausführungsgang und *Vesicula seminalis* vor dem Bauchsaugnapf; Ovarium rechts bei demselben; Testes symmetrisch in der Höhe der Schalendrüse. Diese liegt gerade hinter dem Bauchsaugnapfe. Dotterstöcke gleich hinter den Testes und diese zum Teil deckend. Uterus auf den Hinterkörper begrenzt.

Bis jetzt haben wir kein Merkmal kennen gelernt, das uns verhindert, diesen Wurm in die Gattung *Spelotrema* mit einzuschließen. Der Unterschied liegt in den Kopulationsorganen.

Die Geschlechtsöffnung, die, wie gesagt, links dicht beim Bauchsaugnapf liegt, führt in einen anfangs sehr kleinen und unscheinbaren *Sinus genitalis*. In diesen *Sinus* mündet von links her die *Vagina*, die mit einer auffallend starken muskulösen Wand versehen ist. Mehr rechts und tiefer ins Innere des Tieres erweitert sich der *Sinus* zu einer ansehnlichen flaschenförmigen Höhle. In dieser Höhle liegt das männliche Kopulationsorgan. Dieses besteht aus einem kegelförmigen Körper mit sehr dicht stehenden, feinen Muskeln, die radiär angeordnet sind. Dieser kegelförmige Körper ist von einem zentralen, sehr weiten Loch durchbohrt. Er macht demzufolge, besonders wenn die Muskulatur zusammengezogen ist, beinahe den Eindruck eines in den *Sinus* einschießenden Ringwulstes. Rings um die Oeffnung des *Ductus ejaculatorius*, zwischen diesem und dem eigentlichen kegelförmigen Körper findet sich noch ein,

1) Ich brauche den Ausdruck Oesophagus für den ganzen Komplex Präpharynx, Pharynx und postpharyngealen Teil des Oesophagus. Sonst würde das Wort Oesophagus bei den Arten, die keinen Pharynx besitzen, einen ganz anderen Umfang haben, als bei den mit Pharynx versehenen. Ich bemerke dies, weil ich finde, daß z. B. Nicoll mit Oesophagus nur den postpharyngealen Teil des Organs meint. Sonst wäre z. B. seine Angabe, daß bei *Maritrema graciosum* der Oesophagus $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{7}$ der Körperlänge messe, schwer verständlich.

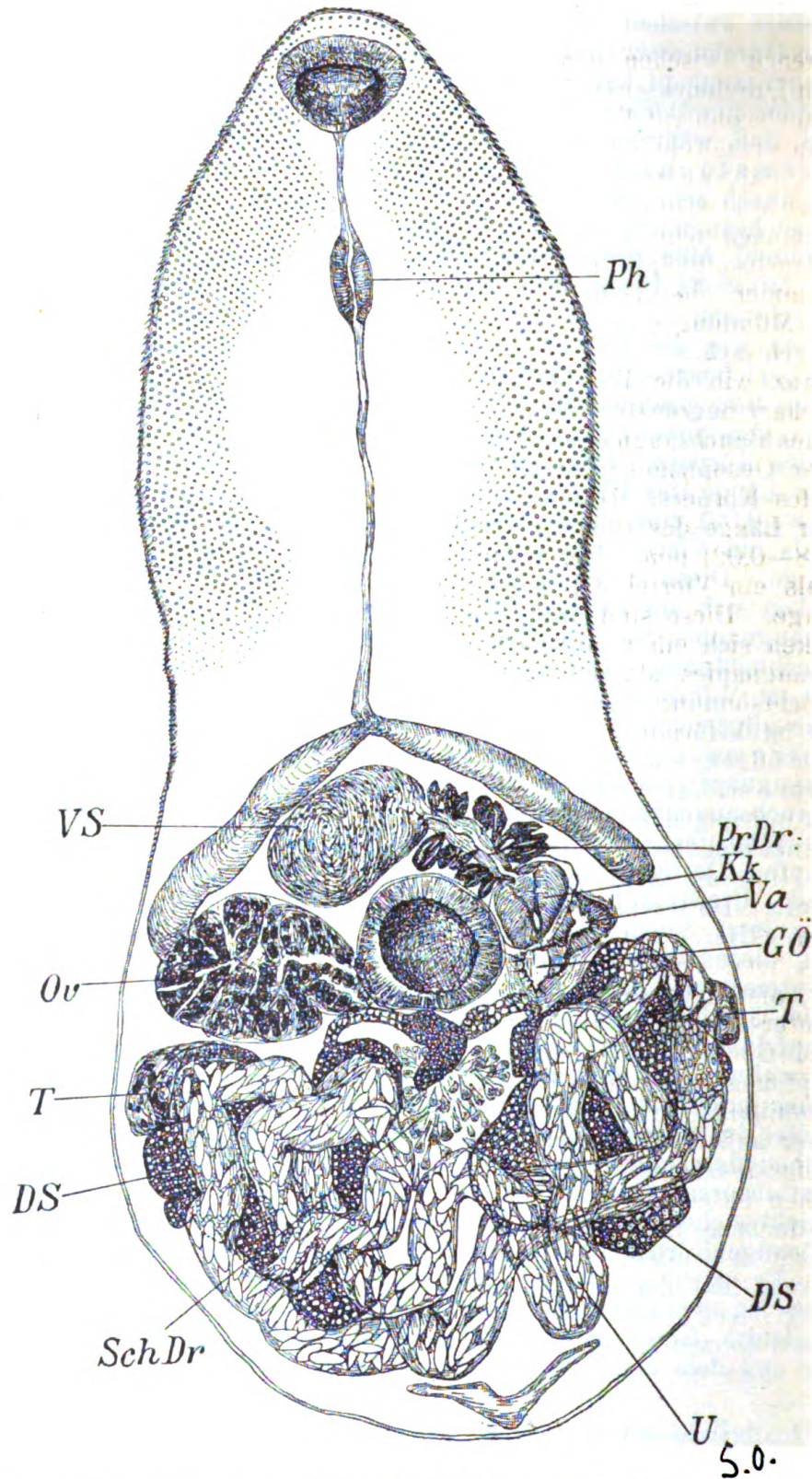


Fig. 1. *Spelophallus primas* aus Eiderente. Etwa 200:1. Von der Bauchseite aus gesehen. *DsDs* Dotterstöcke. *GÖ* Geschlechtsöffnung. *Kk* Kegelförmiger Körper. *Ov* Ovarium. *PrDr.* Prostatadrüsen. *SchDr.* Schalendrüse; *T* Testes. *U* Uterus. *Va* Vagina. *VS* Vesicula seminalis.

jedoch viel kleinerer, Ringwulst, der ebenfalls muskulös ist, aber mit einem tief ausgezähnelten Rand versehen ist.

Vergleichen wir jetzt diese Verhältnisse mit denen, die wir von der Gattung *Spelotrema* her kennen, so finden wir folgende Verschiedenheiten:

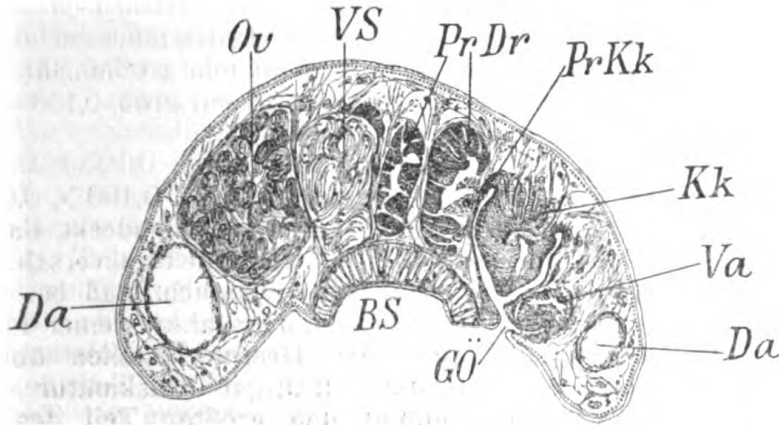


Fig. 2. Querschnitt durch *Spelophallus primas* an der Höhe der Geschlechtsöffnung. Etwa 300:1. BS Bauchsaugnaf. DaDa Darmäste. Andere Bezeichnungen wie in Fig. 1.

1) Die Vagina mündet von links in den Sinus genitalis gleich an dessen Mündung und nicht in der Tiefe des Sinus nahe der Wurzel des kegelförmigen Körpers wie bei *Spelotrema*. Vergl. Va Fig. 2 u. 3 mit Fig. 5 von *Spelotrema excellens* und mit meiner Figur von *Spelotrema similis*¹⁾ und Odhners Figur von *Spelotrema pygmaea*²⁾. An der Einmündungsstelle der Vagina ist eine kleine lokale Erweiterung des sonst im Anfang sehr engen Sinus.

2) Liegt das männliche Kopulationsorgan, der kegelförmige Körper, viel tiefer eingerückt als bei *Spelotrema*. Es wird von einem recht langen flaschenhalsähnlichen Gang mit der Geschlechtsöffnung verbunden (vergl. Fig. 2 und besonders Fig. 3). Dieser Umstand, der an Längsschnitten sehr auffallend ist, hat mich zur Bildung des Gattungsnamens veranlaßt.

3) Ist der kegelförmige Körper von einem anderen Bau als bei *Spelotrema*, mehr symmetrisch und von einem weiteren zentralen Gang durchsetzt. Ob die kleine Ringfalte zwischen dem Ductus ejaculatorius und dem kegelförmigen Körper sich als für die Gattung kennzeichnend zeigen wird, kann ich noch nicht entscheiden.

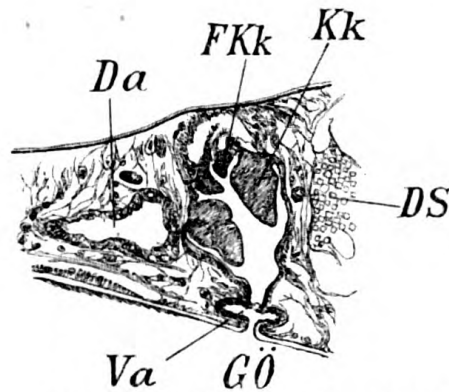


Fig. 3. Stück eines Längsschnittes durch die Geschlechtsöffnung. Etwa 300:1. FKK Ringwulst zwischen kegelförmigem Körper und Ductus ejaculatorius. Andere Bezeichnungen wie in Fig. 1 u. 2.

1) *Levinsenia (Distomum) pygmaea* Levinsen etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. 1900. No. 20/21. Fig. 3.)

2) Die Trematoden des arktischen Gebietes. (Fauna arctica. Bd. IV. 1905. Lief. 2. p. 316. Fig. 2a.)

Außer diesen Merkmalen glaube ich, daß auch die sehr kräftige Entwicklung der Prostatastrüsen sich als für unsere Gattung kennzeichnend zeigen wird.

Setzen wir jetzt die Beschreibung der männlichen Geschlechtsorgane fort. Die Pars prostatica des Ductus ejaculatorius ist sehr gut entwickelt und von ungewöhnlich kräftigen Prostatastrüsen dicht umgeben (Fig. 1 u. 2 *PrDr.*). Die Vesicula seminalis ist beinahe eiförmig und an den mir zu Gebote stehenden Individuen sehr groß, $0,100-0,140 \times 0,050-0,075$ mm.

Ein Penissack fehlt gänzlich.

Die Testikel sind aber relativ sehr klein (etwa $0,100 \times 0,060$ mm) und vom Uterus und dem Dotterstocke beinahe ganz bedeckt, daher sehr schwer zu sehen und zu messen. Sie sind oval mit transversalen Längsachsen. Natürlicherweise ist es sehr wahrscheinlich, daß bei jüngeren Tieren die Testes größer, die Vesicula seminalis aber kleiner ist.

Gehen wir jetzt zu den weiblichen Geschlechtsteilen über. Die Vagina ist weit und mit besonders kräftiger Muskulatur versehen (Fig. 1 u. 2 *Va*). Der Uterus nimmt den größten Teil des Hinterkörpers ein, er streckt sich aber kaum nach vorn von den Testes.

Die Dotterstöcke sind von dem bei *Spelotrema* und *Levinseniella* gewöhnlichen Typus, sehr voluminös und, soweit ich habe finden können, mit je etwa sieben kompakten Lappen, die gewöhnlich den Eindruck machen, als wären sie zusammengeschmolzen. Die Anordnung der Dottergänge und des Dotterreservoirs ist der bei *Spelotrema* und *Levinseniella* ähnlich und geht aus Fig. 1 hervor.

Das Ovarium ist oval bis birnförmig, groß ($0,075-0,150 \times 0,050-0,120$ mm) und liegt rechts vom Bauchsaugnapf und ungefähr in derselben Höhe wie dieser.

Die Eier sind zahlreich, aber klein; sie messen $0,22-0,024 \times 0,011-0,012$ mm.

Die Diagnose der Gattung *Spelophallus* ist, wie folgt, zu formulieren. Körper klein, zart, biskuit-birnförmig. Haut stachelig. Saugnapfe recht klein. Oesophagus lang. Pharynx nahe am Mundsaugnapf¹⁾; ein Präpharynx vorhanden. Darmschenkel kurz und weit. Bauchsaugnapf ungefähr am Anfang des dritten Körperdrittels¹⁾. Genitalöffnung links dicht am Bauchsaugnapf gelegen. Die Vagina öffnet sich im Sinus genitales gleich an der Geschlechtsöffnung [und nicht wie bei den *Spelotrema*-Arten am Grunde des Sinus genitales²⁾]. Der Sinus genitales ist anfangs eng, erweitert sich aber tiefer im Innern des Körpers und umschließt dort einen muskulösen kegelförmigen Körper, der von einem weiten Loch zentral durchbohrt wird. Prostatastrüsen sehr gut entwickelt (hierin haben wir wahrscheinlich ein Gattungsmerkmal *Spelotrema* gegenüber). Vesicula seminalis groß, vor dem Bauchsaugnapf.

Testes symmetrisch gleich hinter dem Bauchsaugnapf. Cirrusbeutel fehlend. Ovarium rechts in der Höhe des Bauchsaugnapfes. Receptaculum seminis fehlt. Die recht großen, aber kompakten, rosettförmigen Dotterstöcke

1) Dieses Merkmal kann vielleicht durch Fund neuer Arten der Gattung verändert werden.

2) Zur Diagnose der Gattung *Spelotrema* ist hinzuzufügen: Die Mündung der Vagina liegt tief im Sinus genitales an der Wurzel des kegelförmigen Körpers.

liegen symmetrisch gleich hinter den Testes, das Dotterreservoir dicht hinter dem Bauchsaugnapf. Uterus auf den Hinterkörper beschränkt. Exkretionsblase V-förmig. Typus *Spelophallus primas*.

Ueber die Verwandtschaftsverhältnisse unserer Gattung brauchen wir gar keine Bedenken zu hegen. Sie steht der *Spelotrema* außerordentlich nahe. Da aber alles darauf hindeutet, daß sich *Spelotrema* als eine sehr artenreiche Sippe entpuppen wird, habe ich gedacht, es sei am besten, schon jetzt für unseren Wurm eine neue Gattung zu schaffen. Wahrscheinlich wird es nicht sehr lange dauern, bis auf diese Art mehrere folgen.

Spelotrema excellens Nicoll.

Syn. *Spelotrema excellens* Nicoll: Observations on the Trematode Parasites of British Birds. Annals and Mag. etc. Ser. 7. Vol. XX. Sept. 1907. *Spelotrema simile* Nicoll (nec Jägerskiöld): Some new and little-known Trematodes. Annals and Mag. of Nat. History. Ser. 7. Vol. XVII. June 1906.

Im Dezember 1906 untersuchte ich einen jungen *Larus argentatus*, der drei Individuen einer mir neuen *Spelotrema*-Art enthielt. Ich bildete dieselbe gleich ab, schob aber die Veröffentlichung auf. Seitdem ist aber die Art von Nicoll, der unseren Wurm früher mit *Spelotrema similis* verwechselt hatte, unter dem Namen *Spelotrema excellens* beschrieben worden. Da aber seine Abbildung — die seinem ersten Aufsatz beigegeben ist — meiner Ansicht nach nicht ganz genügend ist, will ich hier die unter meiner Aufsicht angefertigte Zeichnung veröffentlichen und dieselbe mit einem Schnittbild und einigen Bemerkungen begleiten.

Unter meinem früher gesammelten Material habe ich dieselbe Art aus *Larus marinus* (23. Juli 1898) aus der Nähe von Kristineberg in Bohuslän gefunden. Wahrscheinlich gehört ein schlecht erhaltenes *Spelotrema*-Individuum aus *Haematopus* (Juni 1898 Kristineberg) auch dieser Art an.

Maße.

Körperlänge 0,888, maximale Breite (des Hinterkörpers) 0,360, Mundsaugnapf (im Durchmesser) 0,070, Bauchsaugnapf (im Durchmesser) 0,056, Pharynx $0,042 \times 0,028$, kegelförmiger Körper (Durchmesser der Basalfläche) 0,042, Vesicula seminalis $0,112 \times 0,056$, Testes $0,070 \times 0,090$, Ovarium $0,112 \times 0,042$, Eier $0,022-0,024 \times 0,011 \times 0,012$, Oesophagus (inkl. Pharynx und Präpharynx) 0,420, Darmschenkel 0,210 mm.

Diese Maße sind als Minimalmaße anzusehen, da sie in Balsam eingelegten Präparaten entnommen sind.

Bei einem Vergleich mit den von Nicoll in seiner ersten Arbeit¹⁾ angeführten Maßen sieht man gleich, daß die oben mitgeteilten mit den seinigen sehr gut in Einklang stehen. Es gibt nur eine, aber sehr wichtige, Ausnahme: der Bauchsaugnapf. Nicoll gibt an, dieser sei $0,070-0,095$ mm, d. h. durchschnittlich größer als der Mundsaugnapf. — In einem späteren Aufsatz²⁾ hat er aber diese Angabe selbst berichtigt und gibt hier $0,062-0,086$ mm als Variationsgrenzen des Bauchsaugnapfes an. Wie meine Maße zeigen, kann der Bauchsaugnapf noch

1) Some new and little-known Trematodes. (Annals and Mag. of Nat. Hist. Ser. 7. Vol. XVII. p. 523.)

2) Observations on Trematode parasites of British birds. (Annals and Mag. of Nat. Hist. Ser. 7. Vol. XX. p. 250.)

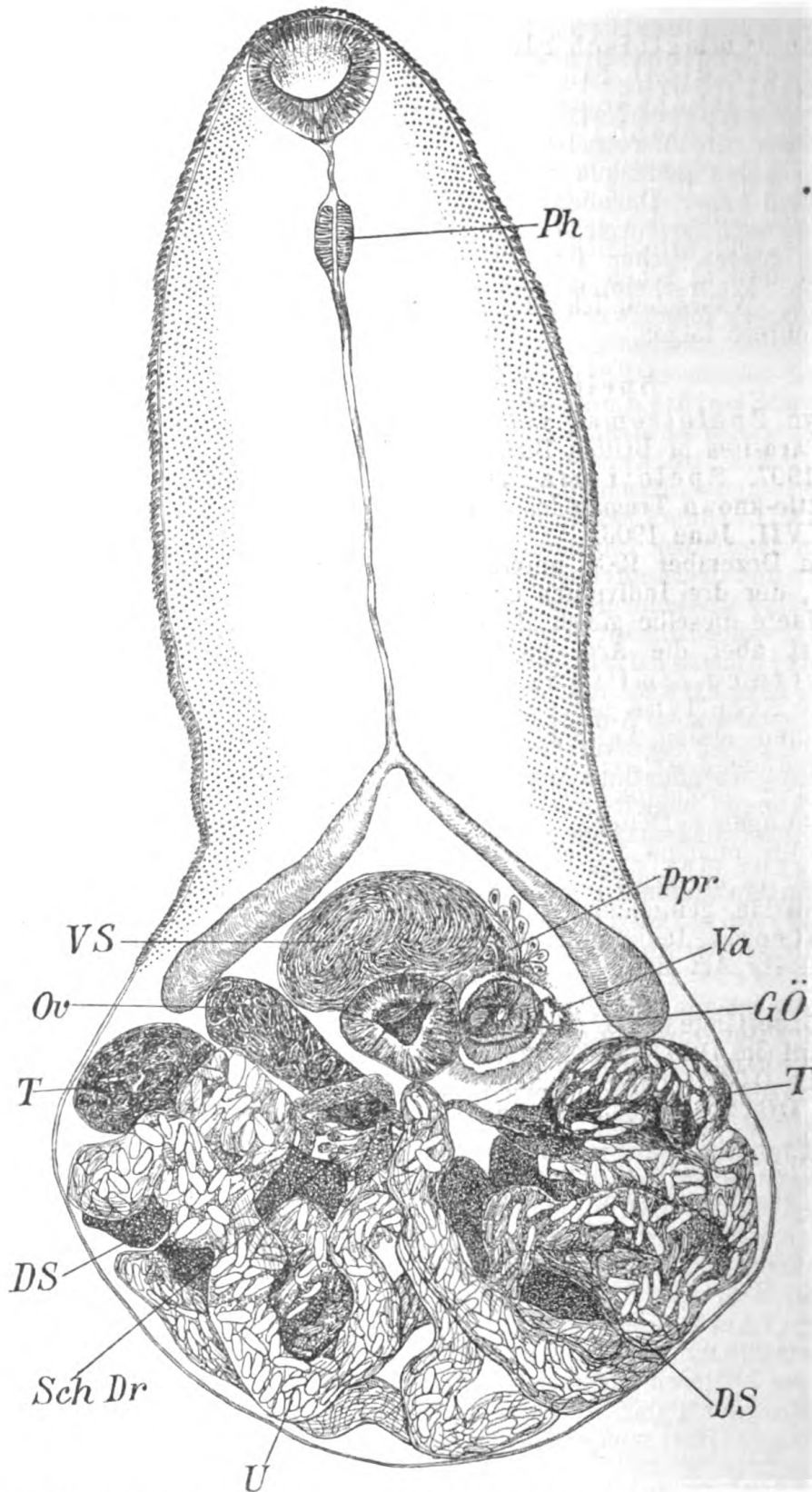


Fig. 4. *Spelotrema excellens* Nicoll von der Bauchseite gesehen. Etwa 200:1.
DsDs Dotterstöcke. *GÖ* Geschlechtsöffnung. *Ov* Ovarium. *Ph* Pharynx. *Ppr* Pars
 prostatica des Ductus ejaculatorius. *SchDr* Schalendrüse. *TT* Testes. *U* Uterus. *Va* Vagina.
VS Vesicula seminalis.

kleiner sein. Nach dieser späteren Beschreibung war ich imstande, die von mir gefundenen Würmer als zu seiner *Spelotrema excellens* gehörig zu bestimmen. Diese Bestimmung hat dadurch an Sicherheit viel gewonnen, daß Mr. Nicoll in der liebenswürdigsten Weise eins von seinen Präparaten zu meiner Verfügung gestellt hat. Hierfür erlaube ich mir auch hier meinen besten Dank abzustatten.

¶ In seinem ganzen Habitus erinnert unser Wurm mehr an *Spelotrema pygmaea* als an *Sp. similis*. Dies rührt nicht nur von dem gegenseitigen Größenverhältnis der beiden Saugnäpfe, sondern auch davon her, daß die *Vesicula seminalis* sehr groß — größer als der Bauchsaugnäpf — und der *Ductus ejaculatorius* (inkl. *Pars prostatica*) kurz und ohne nennenswerte Windungen ist.

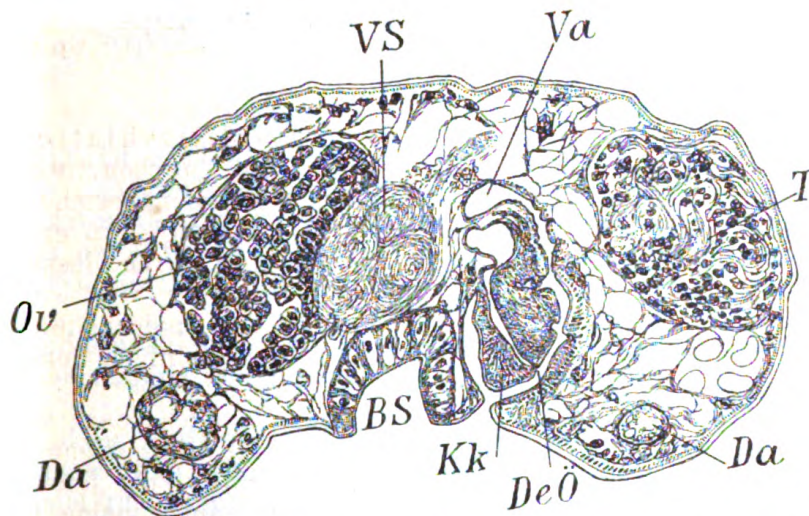


Fig. 5. Querschnitt durch *Spelotrema excellens* durch die Geschlechtsöffnung. Etwa 300 :1. *BS* Bauchsaugnäpf. *DaDa* Darmäste. *DeÖ* (Mündung des *Ductus ejaculatorius*. *KK* Kegelförmiger Körper.

Die schon von Nicoll bemerkte Größe des kegelförmigen Körpers aber erinnert an *Spelotrema similis*. Die Form des kegelförmigen Körpers erinnert jedoch nicht an *Spelotrema similis*, er ist schmaler und mehr zylindrisch¹⁾. Auch bei dieser *Spelotrema*-Art mündet der *Ductus ejaculatorius* nicht ganz an der Spitze des kegelförmigen Körpers. Die Mündung der *Vagina* liegt tief am Grunde des *Sinus genitales*, ganz an der Wurzel des kegelförmigen Körpers. Dieser ist mit einer Art Rinne, welche die Mündung des *Ductus ejaculatorius* umgibt, versehen. Diese Rinne zeigt sich auch an Totopräparaten als eine semizirkuläre Kontur und tritt ebenfalls an Querschnitten hervor. Der kegelförmige Körper ist stark muskulös und auch die Wand des *Sinus genitales* ist muskulös, besonders an der linken ventralen Seite (vergl. Fig. 5).

Die Stachelung der Haut und die allgemeine Anordnung der Organe gehen aus meiner Zeichnung gut hervor. Diese weicht übrigens nicht sehr von der späteren Beschreibung Nicolls ab. Ob die länglich-schmale Form des Ovariums und die Kleinheit der Testes sich als konstant zeigen werden, oder nur mehr individuellen Charakters sind, wage ich jetzt nicht zu entscheiden.

1) Vergl. Fig. 5 mit Fig. 3 in meinem Aufsatz in diesem Centralblatt. Bd. XXVII. No. 20/21. p. 375.

Nachdem diese kleine Mitteilung schon fertig gemacht war, habe ich durch einen Brief von Nicoll die Nachricht erhalten, daß er eine Arbeit im Druck hat, wo er unter anderem auch seine *Spelotrema*-Arten näher behandeln und seine Zeichnungen veröffentlichen will. Ich lasse daher diesmal die anderen von mir gefundenen *Spelotrema*-Arten bis auf weiteres beiseite liegen und teile nur eine kleine synoptische Tabelle mit, die das gegenseitige Verhältnis der mir persönlich bekannten drei Arten ausdrückt.

- A. Bauchsaugnapf größer als Mundsaugnapf. *Vesicula seminalis*
 kleiner als Bauchsaugnapf. Sp. *similia*.
- B. Bauchsaugnapf kleiner als Mundsaugnapf. *Vesicula seminalis*
 größer als Bauchsaugnapf.
- a) Basis des kegelförmigen Körpers etwa ebenso groß als Bauchsaugnapf. Körperlänge 0,8 mm oder größer Sp. *excellens*.
- b) Basis des kegelförmigen Körpers hat einen Durchmesser, der nur halb so groß als der des Bauchsaugnapfes ist. Körperlänge höchstens 0,4 mm. Sp. *pygmaea*.

Maritrema Nicoll.

Schon 1896 fand ich im Darm der *Aegialitis hiaticula* eine sehr kleine Distomide; ich untersuchte das Tierchen, wollte aber nichts darüber veröffentlichen, ehe ich auch ein paar nahestehende Arten gut kennen gelernt hätte. Dann kam Nicolls Arbeit¹⁾, wo er das neue Genus *Maritrema* gut kennzeichnet und drei Arten desselben beschreibt.

Auch er hatte den fraglichen Würmern sehr nahestehende Arten gefunden. Jetzt will ich meine Zeichnungen nebst einigen Bemerkungen den Fachgenossen übergeben.

Die von Nicoll gesehenen Tiere stehen nämlich, nach seinen Beschreibungen zu urteilen, den meinigen so nahe, daß, wenn man die Merkmale nicht genau beachtet, eine Verwechslung sehr leicht möglich ist. Schon deshalb kann es von Interesse sein, auch meine Funde zu veröffentlichen.

Maritrema linguilla n. sp.

Im Sommer 1907 konnte Herr Konservator H. Skoog vom hiesigen Zoologischen Museum dank der Liberalität der hiesigen Isländischen Kompagnie, Gelegenheit nehmen, eine Exkursion nach Eiafjord an der Nordküste Islands zu machen. Unter anderen Sammlungen, die er heimbrachte, waren auch eine wenige der Gattung der *Maritrema* angehörige Würmer. Ehe ich ihre Stellung und ihre Berechtigung, als neue Art angesehen zu werden, bespreche, werde ich sie kurz beschreiben.

Maße.

Körperlänge 0,448—0,530, maximale Breite (des Hinterkörpers) 0,192—0,224, Mundsaugnapf (im Durchmesser) 0,036—0,039, Bauchsaugnapf (im Durchmesser) 0,048—0,054, Pharynx 0,030 × 0,010—0,012, Länge des Oesophagus (inkl. Pharynx und Präpharynx) 0,140—0,155, Darm-schenkel 0,105—0,112, Testes 0,050—0,055 × 0,050—0,055, Ovarium 0,065—0,075 × 0,036, Eier 0,015—0,016 × 0,008—0,009 mm.

Die Körpergestalt ist zungenförmig, aber mit einer Einschnürung in der Höhe des Bauchsaugnapfes, die eine Annäherung an die ausgeprägte Biscuitform hervorruft. Die Stachelung geht sehr weit zurück und deckt auch einen großen Teil des Hinterkörpers. In allen Individuen

1) l. c. 1907. p. 266.

die ich untersucht habe — es sind 4 Stück — ist der Bauchsaugnapf entschieden größer und kräftiger als der Mundsaugnapf. Seine Lage ist

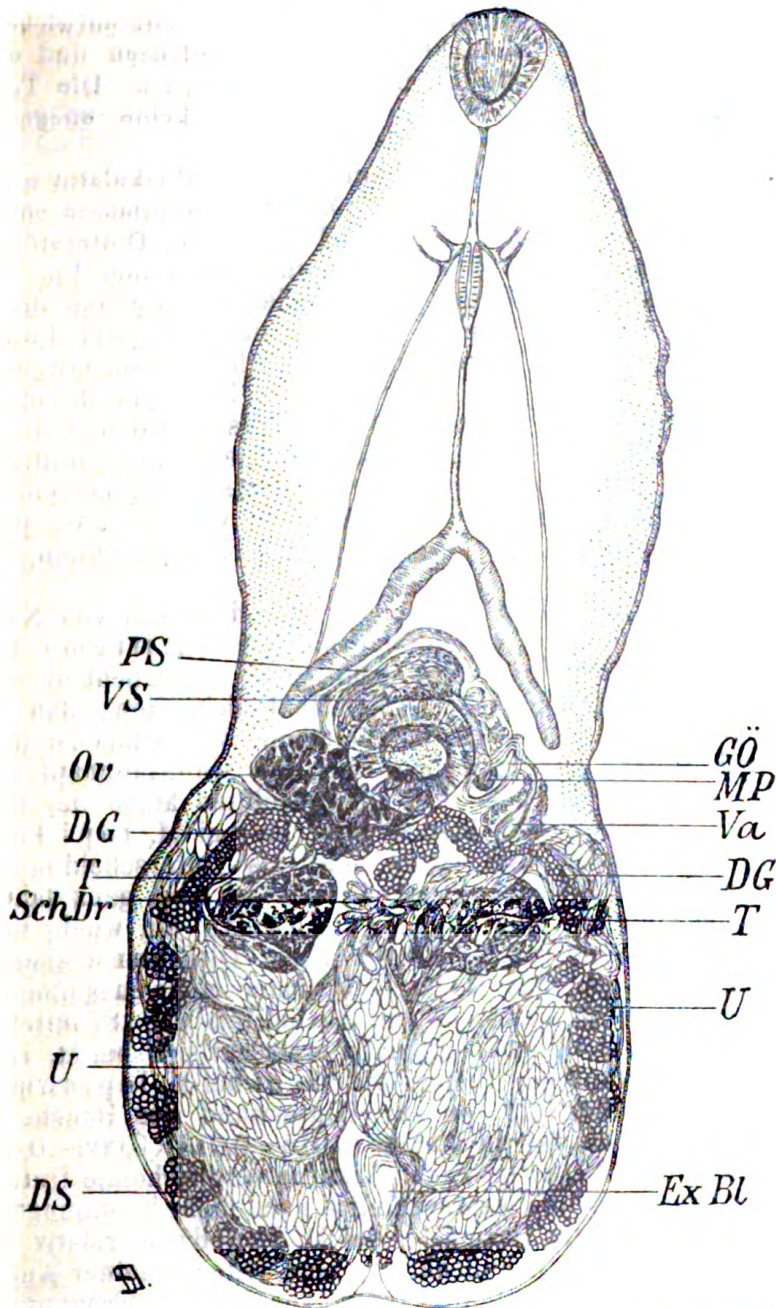


Fig. 6. *Maritrema linguilla* von der Bauchseite gesehen. Etwa 290:1. DG, DG Dottergänge. DS Dotterstock. Ex Bl Exkretionsblase. GÖ Geschlechtsöffnung. MP Männliche Papille. Ov Ovarium. PS Cirrusbeutel. SchDr Schalendrüse. TT Testes. UU Uterus. VS Vesicula seminalis. Va Vagina.

eher hinter als vor der Körpermitte. Der Oesophagus ist lang und mit einem recht langen, aber sehr schmalen Pharynx. Der Präpharynx ist wenigstens ebenso lang wie der Pharynx. Die Darmäste sind kurz, ungefähr von der Länge des postpharyngealen Teiles des Oesophagus.

Die Exkretionsblase ist, soweit ich habe sehen können, V-förmig.

Die Geschlechtsöffnung ist sehr weit. Es existiert, soviel ich habe finden können, eine Art kleine männliche Papille, die in den Sinus genitalis hineinragt. Der Cirrusbeutel ist relativ gut entwickelt. Eine Pars prostatica mit nicht allzu kräftigen Prostatadrüsen und eine recht große Vesicula seminalis sind in ihm eingeschlossen. Die Testes sind relativ klein, liegen symmetrisch und haben keine ausgesprochene größere Achse.

Die Vagina scheint mit ungewöhnlich starker Muskulatur ausgerüstet zu sein. Der Uterus ist sehr voluminös; die Hauptmasse seiner Windungen liegt aber nach hinten von den Testes. Die Dotterstöcke haben die bei *Maritrema* gewöhnliche Lage, die aus meiner Fig. 6 hervorgeht. Ich bemerke nur, daß die quergehenden Dottergänge außerordentlich grob sind. Es sieht beinahe aus, als hätte Nicoll diese Dottergänge als zu den Dotterstöcken im eigentlichen Sinne mitgerechnet¹⁾. Ich glaube aber nicht fehlzugreifen, wenn ich behaupte, die eigentlichen Dotterstöcke hören etwa in der Höhe der Testes auf und die einwärts gehenden breiten Streifen sind nur von mächtigen, prall gefüllten Dottergängen gebildet. Der Ootyp nebst Schalendrüse liegt median zwischen den Testes. Das Ovarium ist groß, aber nicht von der ausgeprägt dreilobierten Gestalt, die Nicoll beschreibt. Die Eier sind klein, aber sehr zahlreich.

Vergleichen²⁾ wir jetzt unsere Art mit den drei von Nicoll beschriebenen, so finden wir gleich, daß sie mit *Maritrema lepidum* aus *Larus argentatus* eine sehr große Ähnlichkeit zeigt. Es finden sich aber solche entscheidende Unähnlichkeiten, daß ich mich genötigt sehe, eine neue Species aufzustellen. Vor allem ist der Bauchsaugnapf bei *M. linguilla* größer als der Mundsaugnapf und nicht kleiner als bei *M. lepidum*. Ob die absoluten Maße der Saugnapfe, die bei *M. linguilla* viel kleiner sind als bei *M. lepidum* (0,037 und 0,051 gegen 0,068 und 0,059 mm) als Unterscheidungsmerkmal irgendwelche größere Bedeutung haben, lasse ich aber ganz dahingestellt.

Der Bauchsaugnapf liegt bei *M. linguilla* ein wenig hinter, bei *M. lepidum* ein wenig vor der Körpermitte. Dies kann aber vielleicht damit zusammenhängen, daß Nicolls Würmer mehr zusammengezogene Vorderkörper haben als die meinigen, die mittels der „Schüttelmethode“ behandelt waren. Die Vesicula seminalis erstreckt sich bei *M. linguilla* nie bis zum Vorderrand der Testes, wie sie es bei *M. lepidum* tut. Sie geht nie weiter zurück als bis zur Hinterwand des Bauchsaugnapfes. Auch sind die Eier ein wenig kleiner (0,015—0,016×0,008—0,009 gegen 0,018—0,019×0,009—0,010). Eine genauere vergleichende Untersuchung der beiden Arten wird uns wahrscheinlich noch mehr Trennungsmerkmale lehren. So scheinen die Darmäste bei *M. lepidum* relativ länger zu sein. Die angeführten Unähnlichkeiten sind jedoch meiner Ansicht nach genügend, um die Berechtigung einer spezifischen Trennung unserer Würmer zu zeigen.

Von *Maritrema humile* unterscheidet sich *M. linguilla* durch die Länge des postpharyngealen Teiles des Oesophagus im Vergleich mit der Länge der Darmäste. *M. linguilla* ist auch größer als *M. humile*. *M. humile* soll durch einen ungewöhnlich dickwandigen

1) l. c. 1907. p. 266.

2) Das Resultat dieses Vergleichs hat dadurch viel an Sicherheit gewonnen, daß Nicoll mir in liebenswürdigster Weise drei Kopien seiner Zeichnungen zugeschiekt hat. Sie kamen aber erst nach dem Abschluß dieser Untersuchung in meine Hände.

Cirrusbeutel ausgezeichnet sein, was von *M. linguilla* gar nicht gilt. Nach Nicolls Präparaten und Zeichnung zu urteilen, ist auch die Körperform bei *M. humile* viel gedrungener und ohne die Einschnürung, die bei *M. linguilla* ganz ausgeprägt ist.

Maritrema subdolum n. sp.

Im Darm eines *Actitis hypoleucos*, der in diesem Frühling in den Gothenburger Scheeren erlegt wurde, fand ich einige Individuen

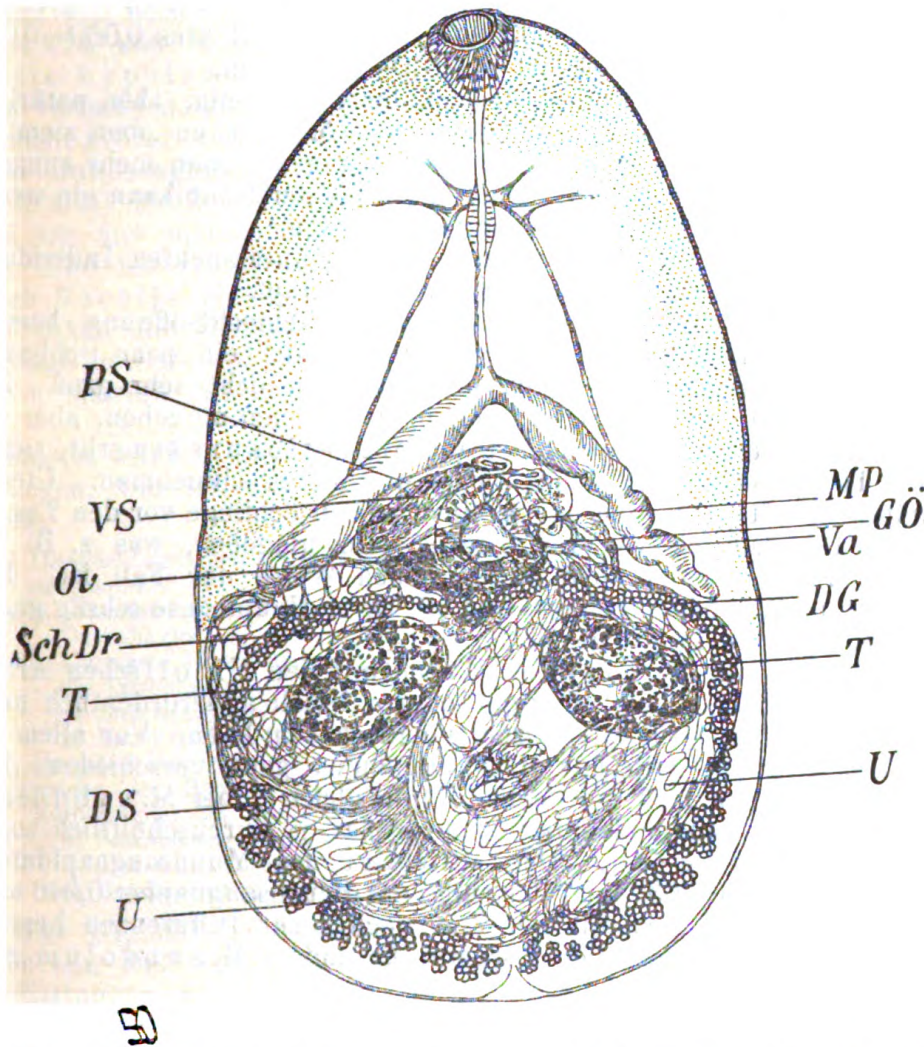


Fig. 7. *Maritrema subdolum* n. sp., von der Bauchseite gesehen. Etwa 290:1. DG Dottergang. DS Dotterstock. GÖ Geschlechtsöffnung. MP Männliche Papille. Ov Ovarium. PS Cirrusbeutel. SchDr Schalendrüse. TT Testes. UU Uterus. Va Vagina VS Vesicula seminalis.

einer *Maritrema*-Art. Schon viel früher (1896—1898) hatte ich aus den Gedärmen des *Aegialitis hiaticula* und des *Haematopus ostralegus*, die gleichfalls an unserer Westküste erlegt waren, andere *Maritrema*-Würmer erhalten. Zuerst glaubte ich, daß mein ganzes Material dem *Maritrema gratiosum* Nicoll angehörte. Eine genauere Untersuchung zeigte jedoch, daß dies nicht der Fall sein konnte. Bald stieg sogar die Vermutung in mir auf, daß mir in der Tat zwei

nahestehende Arten vorlagen. Da ich aber augenblicklich nur von der einen dieser Arten genügend gutes Material besitze, werde ich nur diese beschreiben.

Maße.

Körperlänge 0,352—0,496¹⁾, maximale Breite (des Hinterkörpers) 0,208—0,256, Mundsaugnapf (im Querdurchmesser) 0,031—0,035 (da der Mundsaugnapf ganz wie bei *M. linguilla* öfters eine Annäherung an die Birnform zeigt, habe ich den Querdurchmesser angegeben), Bauchsaugnapf (im Querdurchmesser) 0,042—0,054, Pharynx 0,030—0,033 × 0,015, Oesophagus (inkl. Pharynx und Präpharynx) 0,120—0,150, Darmäste 0,120—0,150, Ovarium 0,060—0,075 × 0,030—0,035, Testes 0,060—0,079 × 0,035—0,050, Eier 0,019—0,021 × 0,010—0,011 mm.

Der Körper ist oval, mehr oder minder blattförmig, aber natürlich mit viel dickerem Hinterkörper. Der Vorderkörper kann aber ziemlich stark ausgezogen werden, wobei eine Annäherung an einen mehr zungenähnlichen Körperumriß eintritt. Die Stachelung der Haut kann ein wenig nach hinten von der Körpermitte verfolgt werden.

Der Mundsaugnapf ist bei allen von mir untersuchten Individuen konstant beträchtlich kleiner als der Bauchsaugnapf.

Eine kleine Papille steht oft aus der Geschlechtsöffnung hervor. Der Ductus ejaculatorius ist recht lang und bildet ein paar Schlingen im Innern des Cirrusbentels. Vesicula seminalis nicht sehr groß. Die beiden Testes sind zwar von Uterusschlingen ringsum umgeben, aber nie bedeckt. Letzteres, wie Nicoll betreffs *M. gratiosum* bemerkt, sicher weil die Testes selbst die ganze Dicke des Tieres einnehmen. Uterus ungewöhnlich voluminös und mit je einer großen Schlinge vor den Testes. Diese werden dadurch von dem Uterus ganz umgeben, was z. B. bei *M. linguilla* durchaus nicht in derselben Weise der Fall ist. Die Testes sind recht groß, ungelappt und mit ihrer Hauptachse schräg gegen die Längsachse des Tieres gestellt.

Vergleichen wir jetzt unseren Wurm mit den Nicoll'schen Arten, so finden wir, daß er dem *M. gratiosum* Nicoll außerordentlich nahe steht, er aber nicht wohl mit diesem identisch sein kann. Vor allem ist das Größenverhältnis zwischen den Saugnapfen ganz verschieden. Bei *M. gratiosum* sind die beiden Näpfe gleich²⁾, bei *M. subdolum* ist aber der Bauchsaugnapf entschieden größer, ja durchschnittlich sogar mehr als 33 Proz. größer. Der Mittelwert des Mundsaugnapfdurchmessers ist nämlich 0,033 mm, derjenige des Bauchsaugnapfes 0,046 mm. Ich glaube aber, daß sich mit der Zeit noch mehr Differenzen herausstellen werden: so betreffs der Körpergröße, indem *M. subdolum* eine

1) Das letzte Maß rührt von einem stark ausgestreckten Individuum her; die zusammengezogenen Tiere überstiegen nie 0,400 mm in der Länge mit einem Oesophagus von 0,120 und Darmästen von 0,135 mm in der Länge.

2) Nicoll sagt (l. c. 1907, p. 267): „Of the specimens measured about 60 per cent showed the oral sucker greater than the ventral, but taking the average of the figures obtained it was found that both approximated 0,050 mm. The limits in each case are 0,043—0,062 mm.“ Dies setzt aber voraus, daß bei 40 Proz. der gemessenen Individuen der Bauchsaugnapf in der Größe einen ausgeprägten Vorzug dem Mundsaugnapf gegenüber besitzen muß. Ich kann mich nicht des Gedankens erwehren, das Nicoll's *M. gratiosum* sich in der Tat als aus 2 Arten bestehend erweisen wird. Vielleicht wird schon seine nächste Arbeit dies zeigen. Der englische Forscher selbst bemerkt, daß die Individuen, die aus *Haematopus* und *Larus ridibundus* stammen, in ein paar Hinsichten von den anderen abweichen. Vielleicht wird es sich zeigen, daß dieselben mit den von mir in *Aegialitis hiaticula* und *Haematopus* gefundenen übereinstimmen. Wir müssen aber erst genauere Beschreibungen und gute Zeichnungen haben, bevor wir ein Urteil aussprechen können.

Maximalgröße hat, die kaum 0,50 mm übersteigen kann, *M. gratiosum* dagegen eine Minimalgröße von 0,45 mm hat. Die Körperform scheint verschieden zu sein. Bei *M. gratiosum* findet sich ein relativ langer Präpharynx; bei *M. subdolum* ist der Präpharynx auch bei voll ausgestreckten Tieren kaum nennenswert länger als der Pharynx. Aus diesen Gründen stelle ich die von mir gefundenen Würmer als neue Art auf. Vielleicht gehören sie zur *M. gratiosum*, wie diese jetzt begrenzt ist, aber nur unter der Voraussetzung, daß diese Art sich als eine Kollektivart zeigt.

Ich will noch bemerken, daß die Würmer, die ich aus *Aegialitis hiaticula* und *Haematopus* erhalten habe, nicht mit denen aus *Actitis hypoleucis* ganz identisch sind. Es sind zwei Unähnlichkeiten vorhanden, die ich hervorheben will. Erstens ist der Bauchsaugnapf nicht größer, sondern nur ebenso groß, oder sogar ein wenig kleiner als der Mundsaugnapf (Mundsaugnapf 0,036—0,042, Bauchsaugnapf 0,036—0,039 mm); zweitens ist die Hauptachse der Testes nicht schräg, sondern, soviel ich aus meinen alten Präparaten ersehen kann, transversal gestellt. Ehe ich reichlicheres Material bekommen habe und vor allem, ehe ich Nicolls Würmer durch Autopsie oder durch seine definitiven Abbildungen und Beschreibungen kennen gelernt habe, werde ich aber die Frage betreffs der Begrenzung dieser Arten offen lassen. *M. subdolum* scheint mir aber gut begrenzt und leicht zu identifizieren zu sein.

Zuletzt will ich einen Versuch machen, durch eine synoptische Tabelle darzulegen, wie ich das Verhältnis zwischen den *Maritrema*-Arten auffasse.

- A. Darmäste erreichen etwa die Höhe des Vorderrandes des Bauchsaugnapfes.
 - a) Darmäste etwa so lang wie der postpharyngeale Teil des Oesophagus *M. linguilla.*
 - b) Darmäste $1\frac{1}{2}$ —2 mal so lang als der postpharyngeale Teil des Oesophagus
 - α) Bauchsaugnapf kleiner als Mundsaugnapf *M. lepidum.*
 - β) Bauchsaugnapf größer als Mundsaugnapf *M. humile.*
- B. Darmäste länger, reichen wenigstens bis zur Höhe des Hinterrandes des Bauchsaugnapfes, ja sogar bis zur Höhe des Vorderrandes der Testikel.
 - α) Bauchsaugnapf kleiner oder höchstens gleich groß mit dem Mundsaugnapf *M. gratiosum.*
 - β) Bauchsaugnapf größer als Mundsaugnapf *M. subdolum.*

Was endlich die Stellung der Gattung *Maritrema* betrifft, so glaube ich, daß ihre ganze Organisation für ihre Verwandtschaft mit den Gattungen *Spelotrema* und *Spelophallus* spricht. In der allgemeinen Topographie der Tiere sind es die Dotterstöcke, die in der Lage und Anordnung eine recht ausgeprägte Abweichung zeigen. Weiter sind die Testes auch nach vorne hin je von einer Schlinge des Uterus umgeben, was bei *Spelotrema* und *Spelophallus* nicht der Fall ist. Die am schwersten wiegende Unähnlichkeit aber besteht natürlich darin, daß *Maritrema* einen deutlichen Cirrusbeutel besitzt. Dagegen ist der Sinus genitalis sehr klein und der kegelförmige Körper fehlt ganz. Es ist aber doch **möglich**, daß wir ein ganz rudimentäres Gegenstück dazu in der kleinen männlichen Papille zu sehen haben, die ich bei *M. linguilla* und *M. subdolum* gefunden habe. — Dieser sehr wichtigen Unähnlichkeiten ungeachtet, glaube ich doch, daß *Maritrema* am nächsten mit *Spelotrema* und *Spelophallus* verwandt ist.

Galactosomum lacteum (Jägerskiöld).

Am Gehirn von *Cottus scorpius* Bloch finden sich an unserer Westküste beinahe immer kleine Cysten, je eine junge unreife *Monostomide* enthaltend. Dieses Tierchen wurde 1896 von mir als *Monostomum lacteum* beschrieben¹⁾ und Looss²⁾ hat später für diesen durch seine eigentümlichen Kopulationsorgane so eigentümlichen Wurm den Gattungsnamen *Galactosomum* vorgeschlagen.

Seitdem ich diesen Fund gemacht hatte, habe ich immer nach dem betreffenden geschlechtsreifen Wurm gesucht. Ich habe alle fischfressenden Säugetiere und Vögel, derer ich an unserer Westküste habhaft werden konnte, genau durchsucht; aber ohne Erfolg. Da meine Untersuchungen nur im Frühjahr, Sommer und Herbst betrieben werden konnten, gelangte ich bald zu der Ueberzeugung, daß der definitive Wirt des *Galactosomum lacteum* in einem Vogel zu suchen sei, der nur im Winter unsere Westküste in größerer Zahl besuchte. Dabei war der Cormoran (*Phalacrocorax carbo*) in erster Linie verdächtig.

Seitdem ich als Intendant des hiesigen Zoologischen Museums nach Gotenburg gerufen wurde, habe ich während der letzten Winter, zum Teil um dem reifen *Galactosomum lacteum* nachzuforschen, Besuche bei Kristineberg (der bekannten Zoolog. Station der Akademie zu Stockholm) abgestattet. Es wurden dabei viele Cormorane erlegt und alle enthielten im Darne *Galactosomum lacteum* und zwar sowohl ganz junge Tiere mit keinen oder nur wenigen Schaleiern als ältere, deren Uterus schon ganz bräunlich durchschimmerte.

Einer von den erlegten Cormoranen hatte gerade einen großen *Cottus scorpio* im Magen, dessen Gehirn mit *Galactosomum lacteum*-Cysten reichlich besetzt war!

Es kann nach den mitgeteilten Funden gar kein Zweifel mehr über die spätere Lebensgeschichte des *Galactosomum lacteum* vorhanden sein, aber der Zyklus ist noch nicht geschlossen. Zwischen Schalenei und dem encystierten jungen Wurm liegt eine noch unerforschte Strecke der Lebensbahn unseres Tieres.

Es freut mich, mitteilen zu können, daß die Untersuchung des geschlechtsreifen Tieres gezeigt hat, daß meine oben angeführte Beschreibung des encystierten Wurmes durchaus zutreffend ist. Nur sind Uterus und Dotterstöcke beim voll ausgebildeten Tier sehr leicht wahrzunehmen.

Die Eier sind sehr klein — aber zahlreich und messen etwa 0,022 × 0,011 und sie besitzen keine Filamente.

Schon vor einigen Jahren hat mein Freund Th. Odhner meine Aufmerksamkeit darauf gerichtet, daß das von P. Olsson³⁾ beschriebene *Monostomum semifuscum* aus dem Darm von *Sula bassana*, nach Olssons Figur zu urteilen, Aehnlichkeit mit *Galactosomum lacteum* zeigte. Da die größten Eigentümlichkeiten dieses Wurmes aber gerade in den Kopulationsorganen lagen, ist an eine Identifizierung oder auch nur eine Vereinigung dieser Würmer in einem und demselben Genus gar nicht zu denken, ehe wieder Würmer aus *Sula bassana*

1) Ueber *Monostomum lacteum* n. sp. in Zoologiska Studier. (Festskrift Wilhelm Lilljeborg tillegnad etc.) Upsala 1896.

2) Weitere Beiträge zur Kenntnis der Trematodenfauna Aegyptens. (Zoolog. Jahrb. Bd. XII. 1899. Heft 5 u. 6. p. 671.)

3) Bidrag till Skandinavians Helminthfauna. I. (Kongl. Sv. Vet. Akad. Handl. Vol. XIV. No. 1. p. 28. Taf. 4. Fig. 65 u. 66. Stockholm 1876.)

gefunden werden. Denn Olssons Zeichnung gibt gerade über die Endteile der Geschlechtswege geringe oder keine Auskunft. Die Original-exemplare von *Monostomum semifuscum*, die jetzt, wie Olssons ganze Sammlung von Helminthen, im Zoologischen Museum von Gotenburg aufbewahrt werden, sind leider einmal — ehe sie hierher kamen — eingetrocknet gewesen; daher ist es unmöglich, aus ihnen irgendwelchen Schluß zu ziehen. So viel ist doch sicher, daß *Galactosomum lacteum* Jägerskiöld und *Monostomum semifuscum* mit einander verwandt sind.

Ehe ich diesmal die Feder niederlege, will ich auf die auffallende Ähnlichkeit zwischen *Galactosomum lacteum* mihi und *Distomum erinaceum* Poirier¹⁾ hinweisen. Dieses stammt aus „des kystes sphériques de 1 mm de diamètre et libres dans l'intestin du Marsouin, *Delphinus delphis*“. Poiriers Zeichnung, auf welcher zwar der Uterus angedeutet ist, aber wo keine Dotterstöcke zu sehen sind, macht den Eindruck, als liege hier ein noch nicht ganz ausgebildetes Tier vor, d. h. eins, welches noch in dem eingekapselten Stadium ist, ganz wie *Galactosomum lacteum* am Gehirn von *Cottus*. Wahrscheinlich ist der Delphin nicht der wirkliche Wirt, sondern die von Poirier gefundenen Kapseln sind mit irgendwelchem Fisch in den Delphin hineingekommen. Der wirkliche Wirt, falls hier wirklich ein *Galactosomum* vorliegt, ist dagegen wahrscheinlich ein fischfressender Meeresvogel. Für meine Annahme, daß *Dist. erinaceum*, wie ihn Poirier beschreibt, noch nicht geschlechtsreif ist, spricht, daß offenbar weder Eier noch Schalendrüse, ebensowenig wie Dotterstöcke von Poirier gefunden sind. — Gegen meine Annahme, daß hier ein *Galactosomum* vorliegt, spricht aber der Umstand, daß Poirier einen Bauchsaugnapf beschreibt und abbildet. Dieser liegt aber ganz bei der Geschlechtsöffnung, so daß wir berechtigt sind anzunehmen, es liege eine Verwechslung mit irgend einem Teil der eigentümlichen, bei *Galactosomum* vorkommenden Kopulationsorgane, z. B. der „stacheligen Körper“ vor. Die ganze Topographie des *Distomum erinaceum* stimmt so ganz und gar mit derjenigen des *Galactosomum lacteum* überein, daß dies doch nur durch wirkliche Verwandtschaft hervorgerufen sein kann. Daß es aber nicht dieselbe Art sein kann, geht unter anderem daraus hervor, daß *Distomum erinaceum* über den ganzen Körper von einem besonders kräftigen Stachelkleid bedeckt ist, während das Stachelkleid des *Galactosomum lacteum* nur bis zum hinteren Testis geht und durch nicht besonders kräftige Stacheln ausgezeichnet ist.

Es wäre von Interesse, falls die Originalexemplare Poiriers — von denen in seiner Arbeit nicht angegeben wird, wo sie aufbewahrt sind — revidiert werden könnten oder wenn die Art überhaupt wiedergefunden werden könnte. Denn ohne eine solche Revision ist es doch unmöglich, die wahre Stellung des Tieres anzugeben.

Gotenburg im Juli 1908.

1) *Trematodes nouveaux ou peu connus*. (Bull. de la soc. philomatique de Paris. T. IV. 1886. p. 37. Fig. 6.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss der Fiebertemperaturen auf die Mikroben und die Schutzkräfte des Organismus.

Erste Mitteilung.

Von Dr. med. **Sulima**, St. Petersburg.

Mit 3 Kurven.

Es ist bekannt, daß die normalen Körpertemperaturen eines Warmblüters um 1,0—2,0° schwanken, während bei Mikroben, selbst bei streng pathogenen, die Grenzen der ihnen günstigen Temperaturen bedeutend weiter sind.

Dabei scheint es eine Regel zu sein, daß das Wachstumsoptimum der pathogenen Mikroben innerhalb oder sehr nahe der normalen Körpertemperaturgrenzen des Wirtes liegt; höhere Fiebertemperaturen dagegen liegen schon oberhalb der für die Bakterien günstigen Wärmegrade.

Ferner ist bekannt, daß die Grenzen zwischen Wachstumsoptimum und -Maximum für die pathogenen Arten gewöhnlich recht enge sind. Deshalb erschien es wichtig, eingehender zu studieren, welchen Einfluß die für die menschliche Pathologie in Betracht kommenden Wärmegrade einmal auf das Gedeihen der Mikroben und dann auf den Ablauf der im Organismus bekannten Abwehrmaßregeln ausüben.

Für die Mikroben war erstens die Temperaturgrenze zu bestimmen, bei der ihre Vermehrungstätigkeit abzunehmen anfing. Daraus dürfte auf eine allgemeine Verschlechterung ihrer Lebensbedingungen geschlossen werden können, und es war anzunehmen, daß auch andere Aenderungen ihrer Funktionen damit parallel gingen. Denn es unterliegt keinem Zweifel, daß manche Arten schon bei Temperaturen unterhalb des Wachstumsoptimums *in vitro* einige ihrer Funktionen einzubüßen anfangen, z. B. die Pigmentbildung, die Toxinbildung, die Produktion von gewissen aromatischen Stoffen usw.

Was den Warmblüterorganismus anbelangt, so war zunächst das Verhalten der Phagozytose bei verschiedenen Temperaturen interessant. Eine Abschwächung der Leukocytentätigkeit von einer bestimmten Temperatur an dürfte als annäherndes Maß für eine allgemeine Abnahme der Zelltätigkeit in dem betreffenden Organismus betrachtet werden können.

Von der chemischen Wirkung der Körpersäfte (Bakterizidie und Agglutination) ist wohl im voraus zu erwarten, daß sie der Abschwächung der Mikroorganismen parallel verläuft.

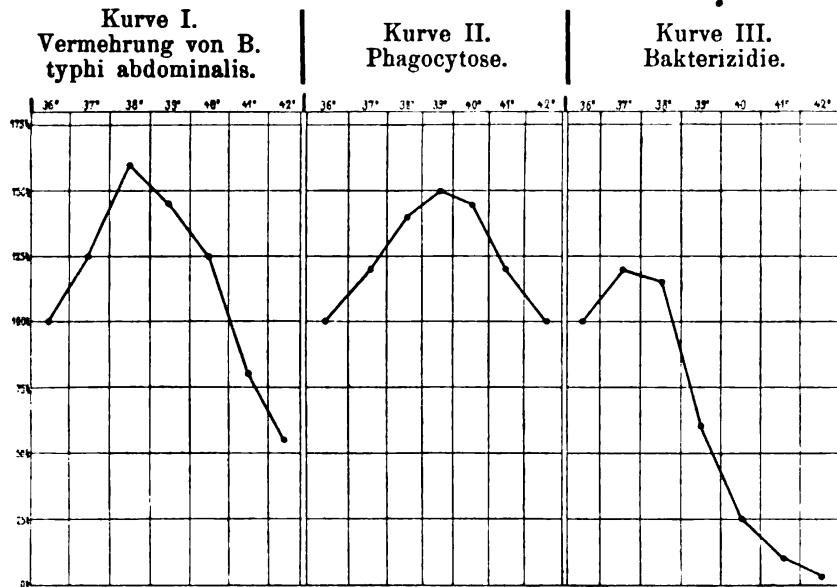
Zunächst habe ich am *Bac. typhi* etwas eingehender den Einfluß verschiedener Temperaturen (36—42° C) auf seine Vermehrung studiert, denn er kann als Repräsentant derjenigen Mikroben betrachtet werden, die eine Krankheit mit kontinuierlichem Fieber erzeugen und dieses also auch ertragen können.

Eine Emulsion (1500—2000 Keime in 1 ccm) wurde in einer Mischung von 20 Proz. Nährbouillon mit 80 Proz. physiologischer NaCl-Lösung angelegt, in Röhrchen verteilt und 24 Stunden in einen Paraffinwasserthermostaten von 36—42° gebracht (80 Proz. Alkoholthermoregulatoren). Die Aussaaten wurden sofort von der Ausgangsemulsion und nach 3, 7 und 24 Stunden von allen Röhrchen mit genau kalibrierten Kapillarpipetten (0,05 ccm) in Gelatine angelegt. Die beiden letzten Serien wurden dabei 400—600-fach verdünnt.

Kurve I stellt die Durchschnittszahlen aus 8 Versuchen der bei entsprechenden Temperaturen nach 3, 7 und 24 Stunden erhaltenen Koloniezahlen dar. Auf allen unseren Kurven sind die bei 36° erhaltenen Werte = 100 Proz. gesetzt; die den anderen Temperaturen entsprechenden Werte im Prozentverhältnis dazu ausgerechnet.

Das Vermehrungsoptimum für *Bac. typhi* liegt also bei 38°, von da an fängt die wachstumshemmende Wirkung der Temperaturen an.

Viele, auch saprophytische, Mikroben wurden von uns in analoger Weise untersucht. Stets wurden junge, kräftige Kulturen in entsprechenden Nährflüssigkeiten bei 36—42° eine entsprechende Zeit gezüchtet und dann verglichen.



Dem *Bac. typhi* analog verhalten sich folgende Mikroorganismen: *Bac. paratyphi* A und B, *metatyphi*, *dysenteriae* Shiga und Kruse, *typhi exanthematici* Horiuchi, *coli commune*, *enteritidis*, *faecalis alcaligenes*, *anthracis*, *diphtheriae*, *tuberculosis hominis*, *pneumoniae* Friedl., *suipestifer*, *muripestifer*, *typhi murium*, *pyocyaneus*, *subtilis*, *mesentericus*, *butyricus*, *Kapselbacillus* Hamilton, *Proteus* Hammelberg, *indicus*, *isaricus ruber*. Weiter: *Staphylococcus pyogenes aureus*, *albus*, *citreus*, *Micrococcus cereus*, *flavus*, *Sarcina alba*, *Vibrio Dunbar*, *Danubicus*, *Massauah*, *Nasik*, *Soor*, *Torula aurantiaca*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*, *flavescens*. Der *Bacillus* der Hühnercholera und besonders *Streptococcus p.* entwickeln sich bei 42° schlechter als *Bac. typhi*.

Die nächstehenden Mikroben reagieren stärker auf die Temperaturerhöhung; bei 39—40° zeigen sie eine etwas ausgesprochenere Wachstumsverminderung als *Bac. typhi*, und bei 42° hören sie fast ganz auf, sich zu vermehren. Es sind: *Pneumococcus* Fraenkel-Weichselbaum, *Vibrio* Finkler-Prior, *Micrococcus tetragenus*, *Bac. megatherium*, *praepolens*, *Proteus mirabilis*, *Sarcina aurantiaca*. *Bac. rhinoscleromatis* wächst schon bei 41° sehr schwach.

Eine weitere Kategorie von Mikroben wächst schon bei 39° sehr schlecht, von 40° an gibt es nur noch Spuren oder gar kein Wachstum mehr.

Das sind: *Gonococcus*, *Bac. erythrosporus*, *anthracoides*, *ferrugineus*, *helvolum* und Käsespirillum.

Bei anderen Mikroben dagegen beginnt die Wachstumsverminderung erst bei 40°. Zu ihnen gehören: *B. psittacosis* Neisser, Typus Aërtrick Neisser, *B. tuberculosis avium*, *Vibrio Metschnikowi*, *B. prodigiosus*, *lactis sapon.*, *ficianus*, *acidificans*, *faecalis alcaligenes* (ein anderer Stamm), *pseudodysenteriae* Zakelmann, Fleischvergifter Gläsich, *Oidium lactis*.

Das Temperaturoptimum der Pigmentbildung liegt bei den Mikroben gewöhnlich niedriger als das Vermehrungsoptimum bei: *B. prodigiosus*, *pyocyaneus*, *isaricus ruber*, *fluorescens putidus*, *erythrogenes*, *kiliense fluorescens non liquefaciens*, *fluorescens liquefaciens*.

Uns interessieren besonders die entsprechenden Schwankungen in der Toxinbildung und der Virulenz. Um diese Frage zu studieren, scheinen *B. diphtheriae*, *Staphylococcus* und *B. tetani* sehr geeignet zu sein. Dieser Teil der Untersuchung ist noch nicht abgeschlossen; ich möchte aber der Vollständigkeit halber schon hier einige vorläufige Resultate mitteilen.

Es ist bekannt, daß die Temperatur eine sehr große Rolle bei der Toxinbildung spielt.

Das Toxin aus unserer 10 Tage alten Diphtheriebouillonkultur (ein Gemisch aus 6 Kölbchen) tötete Meerschweinchen (250 g) in Dosen von 0,008—0,009 ccm nach 5—6 Tagen. Die Kultur wurde durch Papier filtriert und mit 0,5 Proz. Phenol versetzt. Parallel gewonnenes Toxin von bei 39—40° gezüchteten Kulturen erzeugte in denselben Dosen nur lokale Erscheinungen mittleren Grades.

Die durch sehr dickes Papier filtrierte Bouillon (Gemisch von 6 Kölbchen) einer bei 39—40° gezüchteten Staphylokokkenkultur hämolytierte am 5. Tage die roten Blutkörperchen des Kaninchens in Dosen von 0,1 ccm, während das Filtrat einer bei 36—37° gezüchteten Kultur erst in Dosen von 0,2 ccm denselben Effekt erzeugte. Am Ende der 2. Woche dagegen hämolytierten vom Filtrat der ersten Kulturen erst 0,4 ccm, von dem der zweiten schon 0,1 ccm.

Was den Einfluß der Temperatur auf die Schutzkräfte des Organismus anbetrifft, so ist hier der Zellentätigkeit die ausschlaggebende Rolle zuzuschreiben.

Versuche über Phagocytose wurden teils in Kapillarröhrchen (Wright), teils in kurzen Reagensgläsern ausgeführt. Die erste Methode ist bequem und leicht. Das Gemisch von Serum, Leukocyten und Mikroben, in die Kapillaren angesaugt, die zugeschmolzen in entsprechende Wasserthermostaten eingebracht werden, erreicht die gewünschte Temperatur sehr schnell.

Bei den Röhrchenversuchen wird wegen des größeren Flüssigkeitsquantums zuerst das Gemisch von Leukocyten und Serum bereitet, auf Röhrchen verteilt und in entsprechenden Thermostaten 3—5 Minuten bis zur Erreichung der gewünschten Temperatur, gehalten. Erst jetzt werden in die Röhrchen Mikroben eingebracht und durch möglichst gleichmäßiges Schütteln verteilt.

Gegen die Kapillarmethode kann man einwenden, daß bei ihr die Phagocytose schon bei Zimmertemperatur anfängt, und daß die Leuko-

cyten, besonders aus der Peritonealhöhle, sich leicht an die Wände festkleben und so der Untersuchung entgehen. Doch ist sie, besonders für Versuche am Menschen und überhaupt mit direkt aus dem Blute entnommenen Leukocyten, für die meisten Fälle geeignet.

In den Thermostaten bleiben die Gemische 5—25 Minuten; bei den Kapillaren werden dann die zugeschmolzenen Spitzen abgebrochen, der Inhalt auf schwacherwärmte Objektträger ausgeblasen und gleichmäßig verteilt. Schnell eingetrocknete, nicht zusammengeschrumpfte Leukocyten erleichtern die Auszählung der phagocytierten Mikroben bedeutend. Aus den Röhrchen legt man die Präparate mit der Platinöse an, indem man den Niederschlag von den Wänden, aber nicht die Flüssigkeit nimmt, denn die Leukocyten, die phagocytiert haben, zeigen die Tendenz, sich an die Wände festzusetzen und zu verkleben. Der Inhalt der Oese wird mit schnellen Zickzackbewegungen auf dem schwach erwärmten Objektträger ausgestrichen. Die Präparate werden 30 Minuten bis 110° fixiert und nach Giemsa gefärbt.

Bei Gewinnung der Leukocyten aus dem Blute (Menschen, Meerschweinchen, Rinder, Ziegen) wird dasselbe unmittelbar in physiologische NaCl-Lösung, die 0,8 Proz. Natriumcitrat enthält, gebracht. Das Doppelvolumen der Salzlösung darf nicht überschritten werden, denn bei einer geringeren als 0,4-proz. Konzentration des Natriumcitrates kann das Blut gerinnen. Die erhaltene Mischung wird zentrifugiert, die klare Flüssigkeit abgesaugt und die obere Schicht der Blutkörperchen, wo sich die Hauptmasse der Leukocyten sammelt, zum Versuche gebracht.

Um die Leukocyten aus der Peritonealhöhle zu erhalten, spritzt man dem Meerschweinchen 30 ccm und dem Kaninchen 100 ccm Bouillon in die Bauchhöhle ein. Nach 6—7 Stunden wird das an polynuklearen Leukocyten reiche Exsudat mit Hilfe einer kugelig erweiterten Glasspipette oder eines Troicart mit Gummischlauch entnommen und in die erwähnte Salzlösung gebracht. Man zentrifugiert die Mischung möglichst kurz, um eine starke Verklebung der Leukocyten zu vermeiden. Die klare Flüssigkeit wird dekantiert. Zu den Leukocyten wird das 10-fache Volumen physiologischer NaCl-Lösung zugesetzt und die gut mit einer Pipette durchmischte Emulsion direkt zum Versuche gebraucht.

Das Serum, das nicht älter als 48 Stunden sein darf, wurde von der den Leukocyten entsprechenden Tierspecies genommen.

Es wurden zur Phagocytose *B. typhi*, *Staphylococcus pyogenes aureus* und abgeschwächte, keine Fäden bildende Milzbrandbacillen verwendet. 8—12-stündige Agarkulturen der betreffenden Bakterien wurden in physiologischer NaCl-Lösung, die 10 Proz. Bouillon enthielt, aufgeschwemmt, so daß auf 1 Leukocyten 15—25 Keime trafen.

Das Verhältnis des Serums zu den beiden Emulsionen war gewöhnlich wie 1—2 : 1 : 1.

Um vergleichbare Resultate zu erhalten, ist es nötig, mindestens in 400—500 Leukocyten die phagocytierten Mikroben durchzuzählen, denn die Phagocytose bei den einzelnen Leukocyten ist sehr ungleichmäßig, und der Fehler, der durch das wechselnde Vorkommen von maximal und schwach phagocytierenden Leukocyten bedingt ist, kann nur durch das Auszählen einer großen Anzahl ausgeglichen werden. Man kann sich die Vergleichsarbeit erleichtern, indem man die Leukocyten in 2 annähernde Gruppen scheidet, in die maximale phagocytierenden und in eine Gruppe aller übrigen. Für jede Gruppe berechnet man die Durchschnittszahl aller gefressenen Mikroben aus einer großen Anzahl durchgezählter Zellen und dann aus den beiden Zahlen den Gesamt-

durchschnitt der phagocytierten Mikroben für die betreffende Temperatur. Z. B.: Bei 36° Durchschnittszahl der Gruppe I (maximal phagocytierend) 20 Keime, Durchschnittszahl der II. Gruppe (übrige Zellen) 9 Keime.

Gesamtdurchschnitt = $\frac{20 + 9}{2} = 14,5$ Keime. Bei 39° Gruppe I 28 Keime,

Gruppe II 15 Keime; Gesamtdurchschnitt = $\frac{28 + 15}{2} = 21,5$ Keime.

Die so erhaltenen Größen drücken nicht die absolute Stärke der Phagocytose aus, schon darum, weil es immer bedeutend weniger Leukocyten der I. Gruppe gibt als der II. Für unsere Vergleichszwecke genügt dieses Verfahren aber vollständig, indem es dasselbe Verhältnis für die verschiedenen Temperaturen, wie die genaue Durchzählung von Hunderten von Leukocyten gibt.

Die Durchzählung der phagocytierten Mikroben muß mit starker Vergrößerung und bei sehr guter Beleuchtung vorgenommen werden, denn viele Mikroben sind infolge beginnender Auflösung nur noch schlecht färbbar.

Die Phagocytose erreicht (Kurve II) ihr Maximum bei 39°, doch kann man oft bei Kaninchen und Meerschweinchen keinen Unterschied zwischen 39 und 40° finden. Jedenfalls aber wächst oberhalb von 39° die Intensität der Phagocytose nicht mehr, sondern fängt meistens an zurückzugehen. Der Unterschied zwischen der Phagocytose bei verschiedenen Temperaturen wird desto ausgeprägter, je kürzer die Dauer des Phagocytoseversuchs ist. Nach 5—10 Minuten ist der Unterschied zwischen 36 und 39° ungefähr 50—60 Proz, nach 20—25 Minuten ca. 40 Proz. Die Kurve II stellt die Durchschnittszahlen aus einer großen Anzahl von Versuchen dar.

Es wurde weiter der Temperatureinfluß auf die Bakterizidie von Seris, Leukinen und Phakinen untersucht. Vorläufig wurde immer annähernd die Menge der Versuchsflüssigkeit, z. B. von Serum (Meerschweinchen, Kaninchen, normal oder immun, Rinderserum) bestimmt, bei welcher nach 7 Stunden bei 40° die Entwicklung von *B. typhi* (1500—2000 Keime in 1 ccm) völlig aufgehalten wurde. Wenn z. B. dazu 20 Proz. Serum nötig waren, nahmen wir für den Versuch folgende Mischungen: die von 20 Proz., 17,5 und 15 Proz. Diese Mischungen, aus Serum, physiologischer NaCl-Lösung und 5 Proz. Bouillon bestehend, wurden mit *B. typhi* beschickt (1500—2000 Keime in 1 ccm). Je 2 ccm wurden in Röhrchen gebracht und ebenso wie die Kontrolle in den entsprechenden Thermostaten 24 Stunden gehalten. Die Aussaaten wurden unmittelbar nach 3, 7 und 24 Stunden mit den schon erwähnten Pipetten (0,05 ccm) in Gelatine gemacht. Die Resultate waren eindeutig für alle unsere Sera (Kurve III). Bei 37° war die Zahl der gewachsenen Kolonien größer als bei 36°, d. h. die günstige Wirkung der höheren Temperaturen auf die Mikrobenvermehrung wird hier nicht durch die Bakterizidie aufgehoben. Bei 38°, ungeachtet des Vermehrungsoptimums, ist die Zahl der entwickelten Kolonien gewöhnlich kleiner als bei 36°. Von 39° an gibt die Bakterizidie schärfere Resultate, denn hier fällt ihre Wirkung mit dem schädigenden Einfluß der Temperatur auf die Vermehrung zusammen.

Die „Leukine“ wurden nach Schneider (1) durch die Extraktion der Kaninchenleukocyten mit 5-proz. inaktiviertem Serum bereitet. Die Resultate stimmten mit den bei den Seris gewonnenen überein.

Die Versuche waren mit dem Bacillus der Hühnercholera, Sta-

phylococcus und Streptococcus ausgeführt. „Leukine“ im 30- bis 40-proz. Gemisch mit physiologischer NaCl-Lösung töteten 1500 bis 2000 Keime in 1 ccm bei 39—42° ab, während bei 36—38° nach 24 Stunden Wachstum erfolgte.

Gleiche Resultate ergaben die bakteriziden Versuche mit „Plakanthrakocidinen“ (Gruber und Futaki) (2) von Kaninchen in 3—5-proz. Lösung. Gegenüber den virulenten Anthraxbacillen (1500—2000 Keime in 1 ccm). Die Plättchenextrakte wurden mit bei 65° C inaktiviertem Kaninchenserum dargestellt.

Auf Stärke und Schnelligkeit der Hämolyse (Antikaninchenserum der Ziege) sind die Temperaturdifferenzen in den angegebenen Grenzen ohne Einfluß.

Was die Agglutination betrifft, so scheint sie von 39° an schneller zu erfolgen und einen dichteren Niederschlag zu bilden, als bei niedrigeren Temperaturen.

Endlich ergaben gemeinsam mit Schneider angestellte Versuche, daß von 38° an aus den Kaninchenleukocyten wirksamere „Leukine“ gewonnen werden, als bei 36—37°. Die Versuche werden von Schneider publiziert werden.

Wir vergessen nicht, daß die Resultate in vitro erhalten sind. Doch glauben wir, auf Grund der Versuche zu folgenden Schlüssen berechtigt zu sein:

Man kann erwarten, daß Temperaturen über 39° für den Kampf des menschlichen Organismus mit Mikroben ungünstig sind. Sie schwächen schon, nach der Phagocytose zu urteilen, die funktionelle Tätigkeit der Zellen ab. Diese Schwächung kann kaum durch den schädigenden Einfluß hoher Temperaturen auf die Mikrobenvermehrung und die ausgesprochene Erhöhung der vielleicht vorhandenen Bakterizidie kompensiert werden. Hauptsächlich die an Endotoxinen reichen Mikroben (Typhus, Cholera) könnten noch bei der angenommenen starken Auflösung übermäßig den Organismus vergiften.

Andererseits könnte man von einer mäßigen Steigerung der Körpertemperatur in manchen Fällen eine Besserung der Aussicht auf den Sieg des Körpers über die Parasiten erwarten. Wir kennen infektiöse Krankheiten, die bei normalen Körpertemperaturen verlaufen; noch zahlreicher sind solche, die längere afebrile Perioden haben. Zahlreich weiter sind auch die Fälle, wo die Widerstandskraft des Körpers geschwächt wird durch Ueberanstrengungen aller Art, Erkältungen usw., die oft günstige Bedingungen zur Ansiedelung des Infektionserregers bieten. In allen diesen Fällen sind periodische oder einmalige Steigerungen der oft subnormalen Körpertemperatur mit anschließendem, mehr oder weniger langem Warmhalten des Organismus vielleicht sehr rationell. Genaue und genügend zahlreiche Beobachtungen über die in jedem einzelnen Falle zweckmäßige Dauer und Intensität der künstlichen Erwärmung fehlen noch.

Die Krankheit, bei der wir diese Methode zur Orientierung durchzuführen versuchten, war der Keuchhusten. Die normale Temperatur, bei der die unkomplizierten Fälle dieser Krankheit verlaufen, ihre Dauer und der Charakter der Anfälle, der über den Verlauf der Krankheit ein zuverlässiges Urteil erlaubt, machen ihn dazu sehr geeignet.

Unsere ersten Untersuchungen wurden ausgeführt in St. Petersburg in dem von Prof. Rauffuss geleiteten Kinderspital, wo uns eine große Menge von unkomplizierten Keuchhustenfällen bei übrigens ganz gesunden Kindern zur Verfügung stand und ein sehr gutes Personal vorhanden war.

Die Einpackung in 2—3 große wollene Decken — den anämischen Patienten wurde noch eine Wärmflasche gegeben — erlaubt, die Körpertemperatur allmählich zu heben und auf der gewünschten Höhe zu halten. Warme Getränke unterstützen die Maßnahmen gut. Schon nach 30 Minuten fängt die Temperatur zu steigen an. Nach 1—1½ Stunden steigt sie schon um 0,5—1,0° C und nach 1½—2 Stunden um 1°, selbst um 1,5° an.

Wir steigerten die Temperatur nicht weiter als 38,0°, höchstens 38,5°, im Munde gemessen. Das vertrugen selbst unsere jüngsten, 11-monatlichen Patienten.

Nach 1½—2-stündiger Einpackung werden die Kranken 2—3 Minuten in ein Bad von 38° C gesetzt und das Wasser auf 36—35° abgekühlt, so daß der Patient erfrischt und erleichtert ins Bett kommt. Bei etwas aufgeregten Kindern wischt man Kopf und Hals mit schwachem Alkohol ab.

Wir haben noch keine Ausnahme in der günstigen Wirkung dieses Verfahrens und keine Komplikationen, selbst bei ganz kleinen Kindern, gesehen.

Schon nach der ersten Einpackung schläft der Patient nachts viel ruhiger. Die Zahl der täglichen typischen Hustenanfälle nimmt um ein Drittel ab, und sie fangen gewöhnlich erst gegen Morgen an. Die Gedunsenheit des Gesichtes wird geringer, das Erbrechen seltener, der Ernährungszustand bessert sich und die Krankheit geht schneller in die letzte Periode über.

Wir machten die Einpackungen gegen 4—5 Uhr abends, in schweren Fällen eine kürzere auch gegen 9—10 Uhr morgens.

Nach 2—3 Tagen machten wir oft eine Pause von 1 Tag. Wenn man mit den Einpackungen zu früh aufhört, verschlechtert sich der Zustand wieder und nähert sich allmählich dem der gleichzeitig infizierten Kontrollkinder (Schüler derselben Klasse und Anstalt), die ohne Einpackungen behandelt wurden.

Von der Literatur, die zu den von uns studierten Fragen Beziehung hat, möchte ich einstweilen nur die direkt mit Tierexperiment durchgeführten Arbeiten erwähnen. Doch arbeiteten alle Autoren mit Mikroben, die eine fieberhafte Krankheit erzeugen.

Rovighi (3), Walter (4), Filehne (5), Remlinger (6) erwärmten ihre infizierten Tiere im Thermostaten, während Löwy und Richter (7) und Barankejewa (8) sich des Sachs-Aronsohn'schen Stiches bedienten, um die Temperaturen des Organismus zu steigern.

Im Gegenteil zu den übrigen hatten Remlinger und Barankejewa eine schädliche Wirkung der Temperatursteigerung konstatiert.

München, Hyg. Institut, 7. August 1908.

Literatur.

- 1) Schneider, Münch. med. Wochenschr. 1908.
- 2) Gruber und Futaki, Deutsche med. Wochenschr. 1907.
- 3) Rovighi, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. 1908.
- 4) Walter, Wratsch. 1890.
- 5) Filehne, Proceed. of the Physiol. Soc. 1894.
- 6) Remlinger, Compt. rend. de Soc. de Biologie. 1906.
- 7) Löwy und Richter, Deutsche med. Wochenschr. 1895.
- 8) Barankejewa, Russ. Wratsch. 1907.

Nachdruck verboten.

Ueber den Mechanismus der Komplementabsorption durch Bakterienextrakte.

[Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag
(Vorstand: Prof. F. Hueppe).]

Von Dr. **H. Toyosumi**, Tokio, Japan.

Die Antikörper, welche mit den entsprechenden Bakterien zusammen komplementbindend wirken, wurden von Bordet und Gengou, welche dieses Phänomen entdeckt haben, als Ambozeptoren gedeutet. Als von Wassermann und Bruck statt Vollbakterien gelöste Bakterienstoffe (Bakterienextrakte) verwendet wurden, mit welchen sich dasselbe Phänomen erzielen ließ, haben auch die Autoren betreffs des Mechanismus der Komplementbindung sich der Ansicht von Bordet und Gengou angeschlossen. Wassermann und Bruck stellen sich ganz dem Gedankengang der Ehrlichschen Anschauung entsprechend vor, daß die gelösten Bakterienstoffe im Extrakte in der Form von freien Rezeptoren vorhanden sind (Neisser und Shiga), welche mit der cytophilien Gruppe des Ambozeptors eine Bindung eingehen, wodurch dann die komplementophile Gruppe des Ambozeptors das Komplement an sich reißt. Bevor diese Anschauung geäußert wurde, konnte in Arbeiten aus diesem Institute gezeigt werden, daß in den Bakterienextrakten freie Rezeptoren für Agglutinine, bei welchen dieser Begriff von Neisser und Shiga eingeführt wurde, gar nicht existieren (Weil). Auch für die bakteriziden Ambozeptoren ließ sich das Vorhandensein von bindenden Gruppen in den Extrakten nicht nachweisen (Bail und Kikuchi). In weiteren Untersuchungen konnten Weil und Axamit den Nachweis erbringen, daß auch die Komplementbindung ohne Mithilfe des bakteriziden Ambozeptors vor sich geht, indem in einem Extrakt-Immunserumgemisch bei Anwesenheit von Vibrionen Komplementbindung eintrat, die Vibrionen aber die gesamte Ambozeptorenmenge gebunden hatten.

Auf Grund anderer Versuche, die den Gegenstand einer eigenen Untersuchung von mir bilden, haben auch Neufeld und Händel die Ansicht ausgesprochen, daß für die Komplementbindung Ambozeptoren nicht in Betracht kommen. Infolge der prinzipiell wichtigen Frage der freien Rezeptoren, welche für die gesamten Vorstellungen der Antikörpererzeugung mittels Bakterienextrakten eine bedeutende Rolle spielen, wurden zunächst die Versuche von Weil und Axamit unter anderen Bedingungen durchgeführt. Unsere Versuche, die wir hier mitteilen wollen, sind durchweg an Cholera, und zwar im Reagensglas, ausgeführt, weil hier die Verhältnisse doch viel einfacher liegen als im Tierkörper, wobei man selbstverständlich über eine konstante Komplementmenge nicht verfügen kann.

Versuchstechnik: Der Choleraextrakt wurde auf die Weise hergestellt, daß eine Kollische Schale in 10 ccm Kochsalzlösung abgospült, 2 Stunden auf 60–65° C erhitzt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt, hierauf klar zentrifugiert wurde. Als Immunserum benutzten wir das Serum eines Kaninchens, welches mit toten Cholera-vibrionen vorbehandelt wurde. Als Komplement wurde frisches Serum von Meerschweinchen von ungefähr 200 gr angewandt; größere Tiere eignen sich nicht, weil sie öfters eine nicht unbeträchtliche Menge von bakteriziden Ambozeptoren gegenüber Cholera besitzen.

Zunächst sollte festgestellt werden, ob, ähnlich wie in den Versuchen von Weil und Axamit, im Extrakt-Immunserumgemisch eine Besetzung

der nachher hinzugefügten Vibrionen stattfindet. Das Weitere geht aus Versuchstabellen hervor.

Versuch I.

I-S. Chol. Pfeiff. + Extr. Chol. Pfeiff. + Vibr. Chol. Pfeiff.				Kompl.	
0,05	0,2	$\frac{2}{5}$ Oese	} 1 Std. bei 37° C abzentrifugiert u. gewaschen.	0,1	Granula
0,01	0,2	"		0,1	"
0,005	0,2	"		0,1	"
0,001	0,2	"		0,1	"
0,0005	0,2	"		0,1	"
0,01	ϕ	"		0,1	"
ϕ	0,2	"		0,1	Vibr. + einz. Gr. desgl.
ϕ	ϕ	"	0,1	0,1	

Versuch II.

I-S. Chol. Pfeiff. + Extr. Chol. Pfeiff. + Vibr. Chol. Pfeiff.				+Kompl.	
0,05	0,2	} 1 Std. bei 37° C	$\frac{2}{5}$ Oese	0,1	Granula
0,01	0,2		"	0,1	"
0,005	0,2		"	0,1	"
0,001	0,2		"	0,1	"
0,0005	0,2		"	0,1	ca. $\frac{4}{5}$ Gr. + $\frac{1}{5}$ Vibr.
0,01	ϕ		"	0,1	Granula
ϕ	0,2		"	0,1	Vibr. + einz. Gr. desgl.
ϕ	ϕ	"	0,1	0,1	

Aus diesen Versuchen, welche oftmals mit dem gleichen Resultate wiederholt wurden, geht klar hervor, daß der Choleraextrakt nicht mit den Ambozeptoren des Choleraimmunserums in Verbindung tritt, denn wenn dies der Fall wäre, so dürften die freien Rezeptoren daselbst, welche nach der üblichen Anschauung eine stärkere Affinität zu den Ambozeptoren besitzen als die fixen Rezeptoren, keine Ambozeptoren für die gleichzeitig (Versuch I) und noch weniger für die nachträglich (Versuch II) hinzugefügten Vibrionen übrig lassen.

Nun könnte aber diesen Versuchen, sowie sämtlichen folgenden, folgender Einwand gemacht werden. Im Extrakt-Immunserumgemisch findet wohl eine Verbindung zwischen Extrakt und Immunserumambozeptoren statt, doch genügt die Menge der freien Rezeptoren nicht, um sämtliche Ambozeptoren des Immunserums zu verankern, und die nachträglich hinzugefügten Vibrionen würden dann von diesem Reste sensibilisiert und durch das später zugesetzte Komplement in Granula umgewandelt. Dieser Einwand konnte erstens durch Titration des Immunserums und zweitens durch Behandlung des Immunserums mit Vibrionen ausgeschlossen werden.

Versuch III.

I-S. Chol. Pfeiffer + Vibr. Chol. Pfeiffer		Einmal gew. Bodensätze + Kompl. 0,1 (1 Std. b. 37° C)		Ueberstehende Flüssigk. + Kompl. 0,1 u. Vibr. $\frac{2}{5}$ Oese (1 Std. bei 37° C)
0,01	$\frac{2}{5}$ Oese	} $\frac{1}{5}$ Std. b. 37° C abzentrifug.	Granula	Vibrionen + einzelne Gr. desgl.
0,005	"		"	"
0,001	"		"	"
0,0005	"		Granula + einzelne Vibr.	"
0,0001	"		Vibrionen + einzelne Gr.	"
ϕ	"		desgl.	"
ϕ	"		"	"

Die Titration des Immunserums ergibt, daß 0,0001 ccm nicht mehr genügende Ambozeptoren enthält, um die von uns stets angewandte Bakterienmenge zu sensibilisieren; 0,0005 stellt gerade den Grenzwert dar. Nun hat aber, wie aus den obigen Versuchen (I, II) hervorgeht, diese Grenzmenge durch die Behandlung mit dem Extrakte keinen Ambozeptorenverlust erlitten, wodurch der Schluß gerechtfertigt ist, daß sich im Extrakte keine bindenden Gruppen für Ambozeptoren befinden.

Nun wurde, wie der obige Versuch des weiteren zeigt, die überstehende Flüssigkeit auf ihren Ambozeptorengehalt untersucht. Da zeigte sich, daß selbst in der stärksten Immunsorumkonzentration $\frac{2}{5}$ Oese Vibrionen sämtliche Ambozeptoren gebunden haben. Nun entspricht aber der Extrakt von 0,2 ccm den freien Rezeptoren von 1,2 Oese, und diese haben, obwohl sie mit einer stärkeren Avidität zu den Ambozeptoren begabt sein sollen als die Vollbakterien, selbst an den schwächsten Immunsorumkonzentrationen gar keinen Ambozeptor gebunden. Nach diesen Erörterungen und experimentellen Feststellungen glauben wir zu dem Ausspruch berechtigt zu sein, daß von freien Rezeptoren im Sinne von Neisser und Shiga bei Bakterien keine Rede mehr sein kann.

Nun haben wir unsere Versuche noch nach mehreren Richtungen hin erweitert. So wäre es denkbar, daß an dem Vorgange der Komplementbindung der bakterizide Ambozeptor doch irgendwie beteiligt wäre, und zwar in der Weise, daß durch die Komplementabsorption vielleicht seine komplementophile Gruppe in irgend einer Weise in Aktion tritt, denn durch die bisher mitgeteilten Versuche konnten wir nur die Intervention der cytophilen Gruppe ausschließen. Wir haben also weitere Versuche derart angestellt, daß wir durch Hinzufügen des Komplementes zum Extrakt-Immunsorumgemisch die Komplementbindung vor sich gehen ließen, um uns hierauf vom Vorhandensein oder Fehlen der Wirkung des bakteriziden Ambozeptors zu überzeugen.

Versuch IV.

I-S. Chol. Pfeiffer + Extr. Chol. Pfeiffer + Komplement	Vibr. Chol. Pfeiffer	Bodensatz (sofort untersucht)	Bodens. + Kompl. 0,1 (1 Std. bei 37 °C)
0,05 0,2 0,1	$\frac{2}{5}$ Oese	Vibrionen	Granula
0,01 0,2 0,1		"	"
0,005 0,2 0,1		"	"
0,001 0,2 0,1		"	ca. $\frac{2}{5}$ Gr. + $\frac{2}{5}$ V. die Hälfte Granula
0,0005 0,2 0,1		"	—
0,01 0,2 0,1		Granula	—
0 0,2 0,1		Vibr. + einz. Gr. desgl.	Vibr. + wenige Gr. desgl.
0 0,2 0,1		"	"

Versuch V.

I-S. Chol. Pfeiffer + Extr. Chol. Pfeiffer + Komplement	Vibr. Chol. Pfeiffer	Bodensatz (sofort untersucht)	Bodens. + Kompl. 0,1 (1 Std. b. 37 °C)
0,05 0,2 0,1	$\frac{2}{5}$ Oese	Vibrionen	Granula
0,01 0,2 0,1		"	"
0,005 0,2 0,1		"	"
0,001 0,2 0,1		"	Gr. + einzelne V. desgl.
0,0005 0,2 0,1		"	—
0,01 0,2 0,1		Granula	—
0 0,2 0,1		Vibrionen	Vibr. + einzelne Gr. desgl.
0 0,2 0,1		"	"

Aus diesen Versuchen entnimmt man ebenfalls, daß nach kompletter Komplementbindung die nachträglich zugesetzten Vibrionen bis zum Grenzwerte der Immunsorumverdünnungen sensibilisiert sind, d. h. daß diese Vibrionen den intakten bakteriziden Ambozeptor vorgefunden haben. Das Komplement ist also durch einen ganz anderen Vorgang im Extrakt-Immunsorumgemisch gebunden und läßt auch die komplementophile Gruppe des Ambozeptors frei.

Um uns zu überzeugen, ob für die Komplementbindung ein Bindungsprozeß überhaupt in Betracht kommt, mußten noch folgende Versuche angestellt werden. Gibt man zum Extrakt-Immunsorumgemisch nach-

träglich Vibrionen und zentrifugiert dieselben ab, so sind mit Entfernung derselben auch die sämtlichen auf die Bakterien wirkenden Antikörper (Bakteriolysine, Agglutinine) entfernt. Es war nun von Interesse, zu untersuchen, ob nach diesem Vorgange das seiner Antikörper bereaubte Extrakt-Immunserumgemisch noch komplementbindend wirkt. Die beifolgenden Versuchsprotokolle geben darüber Aufschluß.

Versuch VI.

I-S. Chol. Pf. + Extr. Chol Pfeiff.	Vibr. Chol. Pfeiffer	Bodens. + Kompl. 0,1 (1. Std. bei 37° C)	Ueberstehende Flüssigk. + Kompl. 0,1, 1 Std. bei 37° C; denen sensibilisierte Vibr. Chol. Pfeiffer zugesetzt u. 1 Std. bei 37° C untersucht
0,05	0,2	2/6 Oese " " " " " " " " " " " " " "	Granula " " " " Gr. + wenige Vibr. desgl. Granula Vibr. + einz. Gr. desgl.
0,01	0,2		
0,005	0,2		
0,001	0,2		
0,0005	0,2		
0,0001	0,2		
0,01	0		
0	0,2		
0	0		Vibr. + wenige Granula desgl. Vibrionen mehr Vibr. + wenige Gr. mehr Gr. + wenige Vibr. Granula Granula + einzelne Vibr. Granula

Versuch VII.

I-S. Chol. Pfeiff. + Extr. Chol. Pfeiffer	Vibr. Cholera Pfeiffer	Bodensatz + Kompl. 0,1 (1 Std. bei 37° C)	Ueberstehende Flüssigk. +, Kompl. 0,1, 1 Std. bei 37° C, dann sensibilis. Hammel- blutkörperchen zugesetzt
0,05	0,1	2/6 Oese " " " " " " " " " " " " " "	meistens Granula " Granula" Vibr. mehr + Granula wenig Granula Vibrionen Vibr. + einzelne Granula
0,01	0,1		
0,005	0,1		
0,001	0,1		
0,0005	0,1		
0,01	0		
0	0,1		
0	0		
			Hemmung vollständige Hemmung " " komplette Lösung " " " "

Versuch VIII.

I-S. Chol. Pfeiff. + Extr. Chol. Pfeiffer	Vibr. Cholera Pfeiffer	Bodensatz + Kompl. 0,1 (1 Std. bei 37° C)	Ueberstehende Flüssigk. + Kompl. 0,1, 1 Std. 37° C, dann sensibilisierte Blut- körperchen zugesetzt
0,05	0,1	2/6 Oese " " " " " " " " " " " " " "	Granula + wenige Vibr. + Granula + zieml. viel Vibr. Granula Vibr. + wenige Granula Granula Vibrionen Vibr. + einzelne Granula
0,01	0,1		
0,005	0,1		
0,001	0,1		
0,0005	0,1		
0,0001	0,1		
0,01	0		
0	0,1		
0	0		Hemmung fast komplette Hemmung vollständige Hemmung " starke Hemmung " Komplette Lösung " " " "

Die Vibrionen wurden auf die Weise sensibilisiert, daß 1 Oese derselben in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 0,005 ccm des Immunserums hinzugefügt, hierauf 1 Stunde bei 37° C belassen wurde. Die Hammelblutkörperchen waren mit der doppelt komplett lösenden Immunserumdosis (0,002) behandelt.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Extrakt-Immunserumgemisch selbst nach Entfernung der darin vorhandenen auf Bakterien wirkenden Immunkörper in vollem Maße befähigt ist, Komplement zu absorbieren. Bei der Untersuchung der Komplementabsorption mittels sensibilisierten Blutkörperchen ist auffallend, daß gerade die stärksten Immunserumkonzentrationen viel weniger wirksam sind, als die schwächeren. Im ersten Augenblicke mußte man hierbei an die Neisser-Wechsbergische Komplementablenkung denken. Wir können jedoch diesem

Phänomen eine ganz natürliche Erklärung geben. Es läßt sich nämlich direkt beobachten, daß in den stärkeren Serumkonzentrationen im Extrakt-Immunsersumgemisch sichtbare Präzipitation auftritt. Nach Zusatz von Vibrionen und Entfernung derselben durch Zentrifugieren wird selbstverständlich das Präzipitat mitentfernt und mit diesen, wie wir wissen, die wirksame komplementbindende Kraft; die überstehende Flüssigkeit ist demnach nicht mehr befähigt, das Komplement vollständig zu absorbieren. In den schwächeren Serumkonzentrationen, wo es nicht mehr zu sichtbarer Präzipitation kommt, bleibt die wirksame Substanz in Lösung und demnach die komplementbindende Fähigkeit erhalten. Daß sich dieses Phänomen viel besser an der Hämolysehemmung als an den sensibilisierten Vibrionen demonstrieren läßt, liegt daran, daß die sensibilisierten Blutkörperchen nicht so viel Komplement zur Auflösung bedürfen als sensibilisierte Vibrionen.

Nun müssen wir zum Schluß die Frage erörtern, welche Immunsersumstoffe die Komplementbindung bedingen. Der bakterizide Ambozeptor ist weder mit seiner cyto- noch komplementophilen Gruppe daran beteiligt. Auch die Agglutinine greifen nicht vermittelt ihrer haptophoren Gruppe in den Prozeß ein (Weil), da ja nach Entfernung der Agglutinine durch Bakterien, trotzdem ungeschwächte Komplementbindung eintritt (Versuch VI, VII, VIII). Der einzige Vorgang, der die Komplementbindung schwächt, ist die Entfernung des sichtbaren Präzipitates, welches seinerseits starke Komplementbindung hervorruft. Folglich sind im Präzipitate die zur Komplementbindung befähigten Komponenten vorhanden. Die Präzipitine würden also die gelöste Bakteriensubstanz derart verändern, daß sie Komplementbindung hervorruft. Diese Veränderung würde die gelöste Bakteriensubstanz auch dann erfahren, wenn sie nicht als Präzipitat ausfällt, sondern in der Lösung bleibt. Es würde sich also, wie Weil und Axamit sich ausdrücken, um eine „Isolierung“ der komplementbindenden Bakteriensubstanz durch die Serumpräzipitine handeln. Nun können wir hier nicht auf die Frage näher eingehen, ob die Bakterienagglutinine und Präzipitine identisch sind. Jedenfalls würde es nicht gegen unserer Anschauung sprechen, wenn dies der Fall wäre. Dann würden eben die Agglutinine jene komplementophile Veränderung der Bakteriensubstanz auf physikalischem Wege hervorrufen, ohne jedoch eine Bindung mit der gelösten Bakteriensubstanz einzugehen.

Literatur.

- 1) Bordet u. Gengou, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVI. 1902.
- 2) Bail u. Kikuchi, Arch. f. Hyg. Bd. LIII.
- 3) Neisser u. Shiga, Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 4.
- 4) Neisser u. Wechsberg, Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 18.
- 5) Neufeld u. Händel, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXVIII.
- 6) Wassermann u. Bruck, Med. Klin. 1905. No. 55.
- 7) Weil, Arch. f. Hyg. Bd. LIII.
- 8) Weil u. Axamit, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 53.

Nachdruck verboten.

Ueber die Agglutinabilität der mit Formalin fixierten roten Blutkörperchen und der Blutkörperchenstromata.

Beitrag zum Studium der Hämagglutination.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität zu Bologna (Direktor: Prof. G. Tizzoni).]

Von Dr. G. Guyot, I. Assistenten.

Es ist kaum ein Dezennium verflossen, seit Bordet seine grundlegenden Untersuchungen über die Hämagglutination angestellt und Ehrlich im Verein mit seinen Mitarbeitern ein wissenschaftliches Gebäude auf den Grundlagen der Hämolyse aufgerichtet hat, und schon ist die Literatur um eine große Menge von Arbeiten bereichert, die das eine oder das andere oder gleichzeitig beide Phänomene aufklären wollen, da für viele die Erscheinung der Hämolyse eng mit derjenigen der Hämagglutination verbunden ist. Trotz dieser großen Fülle von schon vorhandenen Arbeiten kann man sagen, daß wir recht wenig Positives über das innere, eigentliche Wesen der Hämolyse und Hämagglutination wissen.

Die Ursache des Fehlens sicherer Kenntnisse, die uns über das materielle oder dynamische Wesen der beiden Erscheinungen aufklären könnten, liegt zweifelsohne an der komplexen Natur der Substanzen oder der Elemente, welche die eigentlichen Reagentien des Prozesses enthalten. Jeder begreift z. B., wie schwierig es ist, von so komplexen Substanzen wie den Seris jenen Teil oder jenen Komplex von Komponenten zu trennen, welche die besondere Eigenschaft besitzen, an den roten Blutkörperchen jene Erscheinungen hervorzurufen, die wir mit unseren Augen beobachten können. Es ist daher ein großes Verdienst v. Liebermanns¹⁾, daß er versucht hat, den Wirkungsmechanismus der Sera mit Hilfe der Analogieen aufzuklären, die man experimentell zwischen diesen und Substanzen bestimmter chemischer Natur, wie Kieselsäure, oder solchen finden kann, mit denen leichter zu experimentieren ist, wie Ricin, Abrin, Saponin und Lecithin.

Wenn auch die chemische Zusammensetzung der roten Blutkörperchen weniger komplex und konstanter ist, so bieten sie doch bei den gewöhnlichen Versuchen dadurch Schwierigkeiten, daß es sich bei ihnen bei Befolgung der gewöhnlichen Technik um lebende und an sich sehr labile Elemente handelt.

Um nun nach dieser Richtung hin das Experiment zu vereinfachen und so besser die Reagentien kennen zu lernen, die bei dem Zustandekommen derjenigen Erscheinungen beteiligt sind, welche wir bis jetzt sozusagen noch zu empirisch kennen, wird es erforderlich sein, nicht nur das auszuschneiden zu suchen, was den Versuch unbequem macht, sondern auch dasjenige, was sich bei dem Versuche selbst allmählich als störend herausstellt.

Zunächst wollen wir nun bei dem Thema der Hämagglutination verweilen. Bei einem Streifzuge durch die Literatur können wir leicht feststellen, daß zwar wiederholte Versuche zur Ergründung der agglutinierenden Substanz unternommen und viele Hypothesen über ihre

1) v. Liebermann, Ueber Hämolyse und Hämagglutination. (Arch. f. Hyg. Bd. LXII. 1907.)

Natur aufgestellt sind — man hat sie sowohl einzeln für sich als auch in Beziehung zu anderen verwandten Substanzen (bakteriellen Agglutininen, Präzipitinen) betrachtet —, daß sich aber die Beobachter wenig oder gar nicht damit beschäftigt haben, die Natur der agglutinablen Substanz kennen zu lernen. Im großen und ganzen begnügte man sich mit der leichten Erklärung, daß die roten Blutkörperchen unter der Wirkung der Agglutinine visköser werden, in manchen Fällen sogar anschwellen, und daß sie sich infolgedessen zu Klümpchen vereinigen, welche infolge ihres spezifischen Gewichtes zu Boden sinken, indem sich noch während der Präzipitation die klumpige Masse vermehrt. Soviele ich weiß, hat jedoch noch niemand den Beweis dafür geliefert, daß die roten Blutkörperchen unter der Wirkung der hämagglutinierenden Substanzen eine größere Viskosität erworben haben. Ein derartiger Beweis würde uns übrigens in der Tat in der Erklärung der Agglutinationserscheinung um einen Schritt vorwärts bringen und uns ihre physikalischen Grundlagen erklären; viel wichtiger bei dieser Untersuchung ist es aber, den wahrscheinlich chemischen Prozeß kennen zu lernen, der das Auftreten der physikalischen Erscheinung vorbereitet.

Meiner Ueberzeugung nach wird man besser vorwärts kommen, wenn es möglich sein wird, den Versuch in dem Sinne zu vereinfachen, daß man die Hämagglutinationsversuche nur mit demjenigen Teile des roten Blutkörperchens anstellt, der aktiv bei der Entstehung des zu untersuchenden Phänomens beteiligt ist.

Um die Versuche in dieser Richtung zu fördern, wird es, glaube ich, von Nutzen sein können, einige Resultate kennen zu lernen, die ich bei meinen Versuchen¹⁾ „über bakterielle Hämagglutination“ erhalten habe. Ich halte es deshalb der Mühe wert, sie zum Gegenstande der vorliegenden Mitteilung zu machen.

I. Hämagglutinationsversuche mit roten Blutkörperchen, die mittels Formalin fixiert worden sind.

Ich kam auf den Gedanken, zu untersuchen, ob die mit Formalin fixierten roten Blutkörperchen die Fähigkeit, agglutiniert zu werden, haben, nachdem es mir gelungen war, zu zeigen, daß die mit Formalin fixierten hämagglutinierenden Bakterien nichts von ihrem Agglutinationsvermögen eingebüßt hatten. Der Lösung dieser Frage habe ich hauptsächlich aus zwei Gründen Bedeutung beigelegt: Erstens, um festzustellen, ob die Agglutination der roten Blutkörperchen eine vitale Erscheinung sei, und zweitens, um zu sehen, ob, angenommen die Erscheinung sei nicht vitaler Natur, das Formalin irgend einen Einfluß auf die agglutinable Substanz habe.

Auf Grund der Analogie und der Verwandtschaft, die zwischen der Agglutination der Bakterien und der Agglutination der roten Blutkörperchen besteht, konnte man allerdings a priori auch annehmen, daß das Formalin die agglutinable Substanz nicht verändert, und daß diese nicht in enger Beziehung zu dem Leben der Zellen steht; letztere Eigenschaft ist uns durch die Agglutination von mit Formalin getöteten Bakterien bekannt (Fickers Diagnostikum, homogene Kulturen von Arloing zur Seraagglutination bei Tuberkulose etc.). Da indessen ein objektiver Nachweis zur Stütze dieser Hypothese noch immer fehlt, so hielt ich es für nützlich, direkt den Versuch zu Rate zu ziehen.

1) Ueber bakterielle Hämagglutination (Bakterio-Hämagglutination). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLVII. 1908. Heft 5. p. 640.)

Was die Versuchstechnik anbelangt, so bin ich in folgender Weise verfahren:

Rote Blutkörperchen wurden durch Defibrination gewonnen, in der gewohnten Weise wiederholt gewaschen und dann mit wässriger (0,80-proz.) Kochsalzlösung, der man Formalin im Verhältnisse von 1:10 hinzufügte, aufgenommen. Nach 24 Stunden wurden die so fixierten roten Blutkörperchen zur Befreiung von dem Formalin gewaschen und alsdann mit wässriger Salzlösung¹⁾ aufgenommen, um sie der Agglutinationsprobe zu unterwerfen. Diese wurde entweder mittels makroskopischer Methode in Reagenzröhrchen oder mittels mikroskopischer Methode im hängenden Tropfen bei Beobachtung ex tempore (5—10 Minuten) vorgenommen. Die in der beschriebenen Weise mit Kochsalzlösung im Verhältnisse von 5 Proz. aufgenommenen roten Blutkörperchen bildeten eine homogene Suspension von völlig isolierten Elementen, welche in ihrem Aussehen nur wenig oder gar nicht von den nicht fixierten roten Blutkörperchen verschieden waren.

Es folgen jetzt 3 Beispiele der ausgeführten Versuche:

A. Agglutination mit Blutseris (Sero-Agglutination).

Reagentien { Normale Sera von Mensch und Pferd.
Normale rote Blutkörperchen von Mensch und Pferd.

	Agglutination mit	
	Menschenserum	Pferdeserum
Rote Blutkörperchen von Mensch	— (*)	+++
„ „ „ Pferd	+++	— (*)

—|(*) = Spuren von Autoagglutination.
+++ = vollkommene Agglutination.

B. Agglutination mit hämagglutinierenden Bakterien (Bakterio-Hämagglutination).

Reagentien { 3 Stämme (b, d, r) von Coli-Bakterien²⁾.
Normale Blutkörperchen von Meerschweinchen, Kaninchen und Pferd.

	Agglutination mit		
	Coli b	Coli d	Coli r
Rote Blutkörperchen von Meerschweinchen	+++	++	+++
„ „ „ Kaninchen	++	+++	+++
„ „ „ Pferd	+++	+++	+++

C. Agglutination mit Bohnensamenextrakt (pflanzliche Hämagglutination) nach Landsteiner und Raubitschek³⁾.

Reagentien { Bohnensamenextrakt.
Rote Blutkörperchen von Mensch, Meerschweinchen und Affe.

	Agglutination
Rote Blutkörperchen von Mensch	+++
„ „ „ Affe	++
„ „ „ Meerschweinchen	++

1) Ich habe die roten Blutkörperchen mit wässriger Salzlösung anstatt mit einfachem Wasser aufgenommen, da die Anwesenheit des Salzes zum Zustandekommen der Agglutination erforderlich ist (Joos, Eisenberg und Wolk, Bordet).

2) Die Stämme b, d und r der zu diesen Versuchen verwandten Coli-Bakterien bilden einen Teil derjenigen, welche in meiner Arbeit „Ueber die bakterielle Hämagglutination“ (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLVII. 1908. Heft 5. p. 640) studiert worden sind.

3) Landsteiner u. Raubitschek, Beobachtungen über Hämolysen und Hämagglutination. — Atoxische Hämagglutinine im Samen von Papilionaceen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 7. p. 664.)

Aus dieser dreifachen Versuchsreihe geht also hervor, daß die mit Formalin fixierten roten Blutkörperchen ihre Agglutinabilität bewahren und zwar, wie ich noch hinzufügen will, ganz intakt; denn Kontrollversuche mit homologen nicht fixierten und mit Kochsalzlösung aufgenommenen roten Blutkörperchen, die ich hier der Kürze halber unangeführt lassen zu können glaube, zeigen, daß kein Unterschied zwischen der Agglutinabilität der fixierten und der nicht fixierten roten Blutkörperchen besteht.

II. Agglutinationsversuche mit Blutkörperchenstromata.

Da sich aus den vorhergehenden Untersuchungen ergeben hat, daß die fixierten roten Blutkörperchen ihre Agglutinabilität bewahren, so tat ich einen Schritt vorwärts, um zu sehen, ob der für die Agglutination empfindliche Anteil durch das Skelett des roten Blutkörperchens oder durch sein Plasma dargestellt würde.

Ich nahm rote Blutkörperchen, brachte sie in sterilisiertes destilliertes Wasser und ließ sie darin so lange, bis alles Hämoglobin herausgetreten war. Darauf ließ ich mit Hilfe der Zentrifuge die Blutkörperchenstromata sich absetzen, entfernte das Wasser, welches das Hämoglobin in Lösung enthielt, und fügte dann wässrige Salzlösung hinzu, so daß ich eine deutlich trübe Suspension der Stromata erhielt. Eine Probe dieser Suspension ließ bei mikroskopischer Untersuchung eine große Menge von Körperchen erkennen, die bald als von einer ringförmigen Kontur begrenzte Scheiben, bald als gebogene Körper auftraten und dadurch zu erkennen waren, daß ihr Rand stärker lichtbrechend als der übrige Teil war. Wurde dieses Material den Agglutinationsproben mit *Seria*, Bakterien und pflanzlichen agglutinierenden Substanzen unterworfen, so gab es eine positive Reaktion, und zwar in sehr deutlicher Weise, da die Stromata sich zu Gruppen vereinigten, sich untereinander gewissermaßen verkitteten und so die charakteristischen Schöllchen bildeten.

Ich gebe hier 3 Beispiele dieser Proben wieder.

A. Agglutination mit hämagglutinierendem Serum.

Reagentien { Serum von Pferd und Mensch.
Blutkörperchenstromata von Pferd und Kaninchen.

	Agglutination mit	
	Pferdeserum	Menschenserum
Stromata von Pferd	—	++
„ „ Kaninchen	++	+++

B. Agglutination mit hämagglutinierenden Bakterien.

Reagentien { Coli-Bakterien a und d.
Blutkörperchenstromata von Mensch, Pferd und Kaninchen.

	Agglutination mit	
	Coli a	Coli d
Stromata von Mensch	+++	—
„ „ Pferd	—	++
„ „ Kaninchen	—	++

Beobachtung. Bei dem Versuche mit den unversehrten roten Blutkörperchen ist Coli a agglutinierend für den Menschen, nicht für

das Pferd und das Kaninchen, Coli d ist nicht agglutinierend für den Menschen, dagegen agglutinierend für das Pferd und Kaninchen.

C. Agglutination mit hämagglutinierenden pflanzlichen Substanzen.

Reagentien { Bohnenextrakt nach Landsteiner und Raubitschek.
Blutkörperchenstromata von Mensch, Affe und Pferd.

	Agglutination
Blutkörperchenstromata von Mensch	+++
„ „ Pferd	+++
„ „ Affe	++

Die Agglutinabilität der Stromata der roten Blutkörperchen, die aus meinen Untersuchungen deutlich hervorgeht, ist schon früher hinsichtlich des Ricins von Stillmark¹⁾ und noch kürzlich von v. Liebermann²⁾ beobachtet worden. Letzterer zeigte auch, daß das Ricin seine saure Gruppe an das Stroma (Base) der roten Blutkörperchen bindet, wobei das Hämoglobin austritt (Hämolyse) und die Blutkörperchen sich zusammenballen; auf diese Weise tritt dann eine Agglutination ein. Außer dem Nachweise der Agglutinabilität der roten Blutkörperchen durch das Ricin gelang es demselben Autor auch, bei denselben Blutkörperchenstromata die Agglutination mittels einer Säure aufzuheben, welche wirksamer war (Salzsäure) und eine stärkere Affinität für die Base (Stroma) des roten Blutkörperchens zeigte als die agglutinierende (saure) Gruppe des Ricins.

Diese Beobachtungen Stillmarks und v. Liebermanns erhalten eine Bestätigung durch die Ergebnisse meiner Untersuchungen, welche unsere Kenntnisse von der Agglutinabilität der Blutkörperchenstromata durch alle Arten von hämagglutinierenden Substanzen erweitern und befestigen.

Wenn man sich auch nicht zu große Vorteile von der Anwendung der beiden jetzt nachgewiesenen fundamentalen Tatsachen auf das Studium der Hämagglutination versprechen darf, so kann man doch als Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen folgendes hervorheben: Einerseits ist die Technik durch die Verwendung der fixierten roten Blutkörperchen oder der Blutkörperchenstromata um eine Methode bereichert worden, die bequemer als die bisher gebräuchliche ist; andererseits hat sich herausgestellt, daß gerade das Blutkörperchenstroma die agglutinable Substanz enthält und also an diesem die analytische Untersuchung vorgenommen werden muß, um die Agglutinationserscheinung aufzuklären.

1) Arb. d. pharmakologischen Institutes in Dorpat. 1888.

2) l. c.

Nachdruck verboten.

Ueber die Einwirkung von Fibrin auf die bakteriziden und hämolytischen Eigenschaften des Serums.

[Aus der medizinischen Poliklinik der Universität Bonn: Prof. Dr. Leo.]

Von Dr. **Erich Kindborg.**

Die verschiedensten Wege hat die Forschung eingeschlagen, um die verwickelten Beziehungen der Serumbestandteile unter sich und zu den Objekten ihrer Wirksamkeit zu lösen. Geht man diesen oft recht verschlungenen Wegen nach, so ist es mitunter von Interesse und vielleicht sogar von Wichtigkeit, auch einmal einem Seitenpfade, d. h. einem solchen, der nicht unmittelbar den gesteckten Endzielen näher bringt, ein Stückchen zu folgen. Auf einem dieser Seitenpfade der Serumforschung begegnen wir einer Reihe von Arbeiten, die sich mit der Frage beschäftigen, inwieweit bestimmte chemische Körper dem Serum seine wirksamen Bestandteile zu entziehen befähigt sind. Selbstverständlich bezieht sich dies nicht auf Fällungsmittel, welche die Eiweißkörper des Serums in grober Weise verändern, sondern es gibt vielmehr eine Reihe von Körpern, die ohne äußerlich wahrnehmbare Veränderung des Serums dessen Wirksamkeit in der einen oder anderen Weise entkräften. Diese Beziehungen sind eingehend von Wendelstadt¹⁾ am Glykogen untersucht worden mit dem Ergebnis, daß dieser bekannte Stoff durch Komplementbindung die Hämolysen verhindert; dabei spielt das Mengenverhältnis von Komplement und Ambozeptor insofern eine Rolle, als ein Uberschuß von Ambozeptor das Glykogen nicht zur Wirkung kommen läßt. Infolgedessen erwies sich das Glykogen als Hämolysen hemmend zwar bei Normalserum, aber nicht bei Immunserum, da bekanntlich in ersterem weniger Ambozeptor im Verhältnis zur Komplementmenge, als in letzterem vorhanden ist. Im Anschluß an diese Befunde hat dann Wendelstadt noch eine Reihe anderer Körper untersucht, von denen einige — in besonders hohem Maße das Inulin — ebenfalls antihämolytische Wirkung zeigten, während sie anderen, auch anderen Stärkearten, vollständig abging. Ueber die Angriffsweise der als wirksam befundenen Stoffe wurden weitere Untersuchungen nicht angestellt. Eine Substanz mit dem Vermögen, Komplement und Ambozeptor auszufällen, fand dann v. Lingelsheim²⁾ in dem Schleim des Carrageen-Mooses. Ueber die Adsorption von Komplement durch feste Substanzen berichtete Landsteiner auf der Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie 1906 zu Berlin³⁾. Dieser Forscher hat sich mit dem Thema der Adsorption von Eiweiß durch feste Substanzen besonders beschäftigt und darüber mehrere Arbeiten veröffentlicht. An dieser Stelle seien nur seine gemeinsam mit Stanković⁴⁾ angestellten Versuche zitiert, da in ihnen bereits derjenige

1) Wendelstadt, Ueber die Einwirkung von Glykogen auf hämolytische Vorgänge. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Abt. I. Bd. XXXIV. p. 831.)

2) v. Lingelsheim, Ausfällung bakterizider und globulizider Blutfermente durch Pflanzenschleim. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. p. 308.)

3) Landsteiner, Ueber Adsorptionsverbindungen [Autoreferat]. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. Anhang. p. 25.)

4) Landsteiner und Stanković, Ueber die Adsorption von Eiweißkörpern

Körper eine Rolle spielt, mit dem sich auch meine im nachstehenden wiedergegebenen Untersuchungen beschäftigt haben, nämlich das Fibrin. Von dieser Substanz wurde nachgewiesen, daß sie mit anderen Proteinen die Fähigkeit teilte, Hämagglutinine aus Abrin- und Ricinlösungen auszufällen. Auch die Hämagglutinine normaler Sera, dagegen nicht spezifischer (also ähnlich wie beim Glykogen!) wurden durch Proteinsubstanzen ausgefällt. Von dem Fibrin wußte man andererseits, daß ihm die Eigenschaft zukam, Fermente an sich zu ziehen; und es hat auch an Versuchen nicht gefehlt, mit Hilfe dieser Eigenschaft aus dem Serum einzelne Bestandteile auszufällen, um es auf diese Weise zu analysieren. Indessen haben die darauf gerichteten, von Ottolenghi¹⁾ unternommenen Versuche, wie der genannte Forscher selbst angibt, nicht zum Ziele geführt. Diese Mißerfolge waren mir, als ich auf Anregung meines verehrten Chefs, Herrn Prof. Leo, an die Untersuchung des Serums mit Hilfe der Fibrinmethode heranging, noch unbekannt; sonst hätten sie mich vielleicht davon zurückgehalten. So aber erschienen mir die anzustellenden Versuche um so eher ein Ergebnis zu versprechen, als die Methode, durch Fibrin den fermentativen Bestandteil auszufällen, sich Herrn Prof. Leo bei der Untersuchung der Magenverdauung bestens bewährte²⁾. Von dem Gedanken an diese Versuche ausgehend, hatte ich allerdings erwartet, daß das Fibrin, wenn überhaupt wirksam, denjenigen Serumbestandteil, der in seinem Charakter den Fermenten entspricht, nämlich das Komplement, an sich ziehen würde. Meine im nachstehenden wiedergegebenen Untersuchungen haben aber aufs neue bestätigt, wie wenig bei experimentellen Arbeiten eine vorgefaßte Meinung, selbst auf Grund naheliegender Analogieschlüsse, berechtigt ist.

Technik.

Die von mir angestellten Versuche setzen sich zusammen aus bakteriziden und hämolytischen. Zur Ausführung der ersteren diente meist Kaninchenserum, das steril aus der Carotis entnommen wurde; nur in einigen Versuchen gelangte auf dem Schlachthof unter möglichster Vorsicht aufgefangenes Hammelblut zur Verwendung. Die Einwirkung des mit Fibrin auf die verschiedenste Weise behandelten Serums auf die Bakterien erfolgte bei Bruttemperatur und zwar bildeten die Objekte der Wirksamkeit Typhus- und Colibacillen. Zur Bestimmung der Keimzahl wurde die Neissersche Zählmethode an von Zeit zu Zeit gegossenen Agarplatten angewendet; allerdings konnte in den einzelnen Versuchen nicht immer die gleiche Stundenzahl innegehalten werden, da zum Plattengießen die zwischen dem poliklinischen Krankendienst zur Verfügung stehende Zeit benutzt werden mußte. Auch die Beurteilung der Ergebnisse hat natürlich diese Verschiedenheit in der Zeit des Plattengusses, die vielleicht dem Leser auffallen könnte, und daher der Erklärung bedurfte, keinen Einfluß. Kaum der Erwähnung bedarf es indessen, daß die auf den Platten gewachsenen Kolonien jedesmal einer eingehenden Kontrolle unterzogen wurden, um auszuschließen,

und über Agglutininverbindungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. p. 108 bzw. 110. 117.)

1) Ottolenghi, Ueber das Vorhandensein von Komplement im Fibrin. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 584.)

2) Leo, Ueber die Wirkungsweise von Salzsäure und Pepsin bei der Magenverdauung. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLVI. Heft 3. — Die Salzsäuretherapie. Berlin (A. Hirschwald) 1908. p. 33 f.)

daß das Aufgehen zufällig in die Serumproben gelangter Bakterienkeime die Vermehrung der Typhus- und Coli-Bacillen vortäuschen konnte. Auch wurden vor der Beschickung der Serumröhrchen mit Bakterienmaterial Probeplatten angelegt, um dadurch die Sterilität des Serums und des einwirkenden Fibrins mit Sicherheit zu erweisen.

Die Sterilität des Fibrins wurde in verschiedener Weise erreicht: gelangte in Glycerin konserviertes Rinderfibrin zur Verwendung, so wurde es nach gründlichem Auswaschen, erst in Wasser, dann physiologischer (0,85-proz.) Kochsalzlösung zwischen Fließpapier getrocknet und durch halbstündiges Erhitzen im kochenden Wasserbade sterilisiert. Dieselbe Sterilisation erfuhr auch das bei 37° getrocknete und pulverisierte Rinderfibrin, das in einigen Versuchen eine Rolle spielt. Später ging ich dazu über, in Flocken zerlegtes Fibrin in physiologischer Kochsalzlösung (nicht wie vorher trocken) zu sterilisieren und vorrätig zu halten. Auch wurde in der Meinung, daß das Kochen vielleicht die Wirksamkeit des Fibrins beeinträchtigen kann, solches aus steril entnommenem Kaninchen- und Hundeblut bereitet, indem das Blut in Perlenkölbchen defibriert und das gewonnene Fibrin mit physiologischer Kochsalzlösung des öfteren gewaschen, auf diese Weise von anhaftenden Blutkörperchen befreit wurde, eine Häufung von Prozeduren, die natürlich die Sterilität des Materials nicht immer gewährleistete. Da es sich überdies herausstellte, daß solches — nennen wir es „vitales“ — Fibrin dem erhitzten an Leistungsfähigkeit nicht überlegen war, kam ich wieder auf die Methode des Sterilisierens in physiologischer Kochsalzlösung zurück. Bei der Uebertragung von Fibrinflocken aus dieser Flüssigkeit ließ es sich nun nicht vermeiden, daß kleine anhaftende Flüssigkeitsmengen mitübertragen wurden. Um einem etwa darauf gegründeten Einwande zu begegnen, als hätten diese geringen Mengen indifferenten Flüssigkeit durch Verdünnung des bakteriziden Serums dessen Wirksamkeit beeinträchtigt, wurde in allen späteren Versuchen auch den Kontrollproben ein oder mehrere Tropfen der nämlichen Kochsalzlösung, aus der das Fibrin entnommen war, zugesetzt. Bei den hämolytischen Versuchen war der Natur der Sache nach ein steriles Arbeiten nicht erforderlich; daher konnte das Fibrin vor dem Zusatz zum Serum einfach zwischen Fließpapier getrocknet werden. Dasselbe geschah auch zur nachträglichen Gewichtsbestimmung von Fibrinflocken bei denjenigen bakteriziden Versuchen, in denen das Fibrin vor Einsaat der Bakterien aus dem Serum entfernt wurde. Im übrigen finden sich nähere Angaben über Behandlung und Herstammung des Fibrins im Text der einzelnen Versuche.

I. Abteilung: Bakterizide Versuche.

Die Versuche dieser Abteilung dienten der Aufgabe, festzustellen, ob Fibrin überhaupt auf die bakterizide Serumwirkung einen Einfluß ausübe, ob sich gegebenenfalls zwischen einzelnen Fibrinsorten Unterschiede zeigten, insbesondere ob das Fibrin durch Erhitzen (zum Zwecke der Sterilisation) Einbuße erleide; ferner sollten die optimalen Bedingungen der Fibrinwirkung festgestellt und schließlich Untersuchungen darüber angestellt werden, ob in Fibrinaktivem Serum gezüchtete Bacillen, ebenso wie in unbehandeltem Serum vorgezüchtete Bacillen, ebenso wie in unbehandeltem Serum zeigte. Als Versuchsobjekte dienten Typhus- und Coli-Bacillen.

Gruppe 1 (Vorversuche).

Dienen zur Bestimmung, ob das Fibrin auf die Serumwirkung überhaupt Einfluß hat.

Versuch Ia.

Kaninchenserum, Rinderfibrin, Typhusbacillen. 6 ccm Serum werden mit Fibrin und zwar mit Flocken (Glyzerin-) Fibrin und mit pulverisiertem, bei 37° getrocknetem, zu je 0,1 g kräftig geschüttelt und $\frac{1}{2}$ Stunde im Zimmer stehen gelassen. Dann werden je 2 ccm Serum abgegossen. Dazu unbehandeltes aktives Serum als Kontrolle (doppelt angesetzt)

	Kontrolle 1 (Reines Serum)	Kontrolle 2 (Reines Serum)	Serum nach Ein- wirkung von pul- verisiertem Fi- brin $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur nach kräftigem Auf- schütteln	Serum nach Ein- wirkung von Flockenfibrin $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zim- mertemperatur nach kräftigem Auf- schütteln
Anfangs	25 000	24 000	46 000	14 000
Nach 10 Stunden	2	50	8	∞
„ 20 „	2	15	400	(Röhrchen trüb)

Ergebnis: Nach kräftigem Schütteln und halbstündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur hat das pulverisierte Fibrin nicht, dagegen das Flockenfibrin auf Kaninchenserum eingewirkt und dasselbe seiner ursprünglich hohen bakteriziden Kraft beraubt. Das Versagen des pulverisierten Fibrins kann entweder durch eine Abschwächung infolge der mit ihm vorgenommenen Prozedur des Trocknens und des langen Aufhebens, oder durch eine ursprünglich geringere Aktivität erklärt werden.

Versuch Ib.

Das nämliche Serum, gleichzeitig mit Ia angesetzt; das Fibrin ist aber nicht nach $\frac{1}{2}$ Stunde entfernt, sondern während der ganzen Dauer des Versuchs im Serum belassen worden.

	Kontrollen (Dieselben wie zu Ia)	2 ccm Serum + 0,1 Fibrin (Flocke)	2 ccm Serum + 0,1 Fibrin (Pulver)
Anfangs		8000	23 000
Nach 10 Stunden		∞	∞
		(Röhrchen trüb)	(Röhrchen trüb)

Ergebnis: Bei dauerndem Verbleib im Serum hat nicht nur das (schon nach kurzer Zeit wirksame) Flockenfibrin, sondern auch das pulverisierte die bakterizide Wirkung des Serums aufgehoben.

Versuch II.

Kaninchenserum, Rinderfibrin, Typhusbacillen. Flockenfibrin und Fibrinpulver werden zu je 5 ccm Serum zugesetzt und bei Zimmertemperatur verschiedene Zeit darin belassen; dann werden je 2 ccm Serum abgegossen. Kontrolle: Unbehandeltes Serum (doppelt angesetzt).

	Kon- trolle 1 (Reines Serum)	Kon- trolle 2 (Reines Serum)	Serum nach 1-stündiger Einwirkung von pulve- risiertem Fibrin bei Zimmer- temperatur	Serum nach 1-stündiger Einwirkung v. Flocken- fibrin bei Zimmer- temperatur	Serum nach 3-stündiger Einwirkung v. Flocken- fibrin bei Zimmer- temperatur	Serum nach 9-stündiger Einwirkung v. Flocken- fibrin bei Zimmer- temperatur
Anfangs	38 000	80 000	80 000	35 000	70 000	100 000
Nach 2 Std.	240	370	370	300	270	350
„ 12 „	15	20	12	2	2	360

Ergebnis: In diesem Versuch ist das Fibrin, auch das Flockenfibrin, bei Zimmertemperatur, selbst nach 9-stündigem Aufenthalt im Serum unwirksam geblieben. Der Grund hierfür kann darin liegen, daß

diesmal das Umschütteln unterblieben und daher das Fibrin nicht genügend mit dem Serum in Berührung gekommen ist.

Versuch III.

Dieser Versuch dient zur Aufklärung, ob das Umschütteln dem Fibrin die Möglichkeit einer größeren Wirksamkeit bietet, als ruhiges Verbleibenlassen im Serum, Kaninchenserum, Rinderfibrin, Typhusbacillen.

Flocken von je 0,5 g Fibrin werden in 5 ccm Serum eingebracht und teils unter fortwährendem Schütteln, teils bei ruhigem Verbleib $\frac{1}{2}$ Stunde unter Zimmertemperatur im Serum belassen; dann werden je 2 ccm Serum abgefüllt. Dazu unbehandeltes Serum als Kontrolle (doppelt angesetzt).

	Kontrolle 1 (Reines Serum)	Kontrolle 2 (Reines Serum)	Serum nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Fibrineinwirkung bei Zimmertemperatur ohne Umschütteln	Serum nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Fibrineinwirkung bei Zimmertemperatur fortwährend geschüttelt
Anfangs	34 500	12 400	23 000	9 500
Nach 10 Stunden	220	2	4	15
„ 20 „	70 000	430	0	120 000

Ergebnis: Das Fibrin hat bei ruhigem Verbleib im Serum unter Zimmertemperatur innerhalb einer halben Stunde gar nicht eingewirkt; fortwährendes Schütteln hat in derselben Zeit eine wenn auch geringe, so doch deutliche Wirkung gezeitigt.

Ergebnis der Vorversuche (Gruppe 1).

Ein gewisser Einfluß des Fibrins auf das Serum ist nicht abzusprechen; es soll weiter ermittelt werden, welche Umstände zur Manifestierung dieses Einflusses führen.

Gruppe 2.

In der Erwägung, daß das Fibrin durch die zum Zwecke der Sterilisation notwendige Erhitzung an seiner Wirksamkeit Einbuße erleiden könne, werden einige Versuche mit steril gewonnenem („vitalem“) Fibrin angestellt. Näheres über die Technik in dem vorstehenden Sonderabschnitt.

Versuch IV.

Kaninchenserum, vitales Kaninchenfibrin. Einwirkung $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur auf 4 ccm Serum, wovon 2 ccm nachher abgefüllt. Die Fibrinflocken wurden nachträglich zwischen Fließpapier getrocknet und gewogen. Unbehandeltes Serum als Kontrolle (doppelt angesetzt) Typhusbacillen.

	Kontrolle 1 (Reines Serum)	Kontrolle 2 (Reines Serum)	Serum nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung von 0,24 Fibrin (kompakte Flocken)	Serum nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung von 0,8 Fibrin (vielfach verästelte Flocken)
Anfangs	80 000	80 000	55 000	57 000
Nach 4 Stunden	5 000	2 500	3 800	2 400
„ 9 „	13 400	9 000	21 000	15 000

Ergebnis: Auch bei nicht erhitztem („vitalem“) Fibrin ist nach halbständigem Verbleib im Serum bei Zimmertemperatur eine Wirkung weder von seiten der kompakten Flocke, noch der verästelten, die doch eine größere Berührungsfläche bietet, erkennbar.

Versuch V.

Dem vorigen entsprechender Versuch mit vitalem Kaninchen- und Hundefibrin. Kaninchenserum, Typhusbacillen.

	Kontrolle 1 (Reines Serum)	Kontrolle 2 (Reines Serum)	Serum nach $\frac{1}{2}$ -stün- diger Einwirkung von vitalem Kanin- chenfibrin (0,55 g) bei Zimmertempe- ratur	Serum nach $\frac{1}{2}$ -stün- diger Einwirkung von vitalem Hunde- fibrin (0,1 g) bei Zimmertemperatur
Anfangs	30 000	22 000	7400	22 000
Nach 4 Stunden	30	17	20	19
„ 9 „	75	52	250	13

Ergebnis: Weder das Kaninchen- noch das Hundefibrin haben bei Zimmertemperatur im Zeitraum von $\frac{1}{2}$ Stunde erkennbar auf das Serum eingewirkt.

Versuch VI.

Versuch mit vitalem Hundefibrin nach etwas längerer Einwirkung (2 Stunden) bei Zimmertemperatur, ohne Schütteln, auf Kaninchenserum. Von 4 ccm in dieser Weise behandelten Serums werden 2 ccm zum Versuch abgefüllt. In eine andere Probe von 2 ccm Serum wird das Fibrin zugleich mit den Bakterien (Typhusbacillen) eingebracht und dauernd darin belassen.

	Kontrolle 1 (Reines Serum)	Kontrolle 2 (Reines Serum)	Serum nach zwei- stündiger Ein- wirkung von vitalem Hundefibrin	Serum mit dauernd (bei Brut- temperatur) darin belassenem Hunde- fibrin
Anfangs	6 000	20 000	20 000	17 000
Nach 7 Stunden	390	950	1 050	∞
„ 18 „	140 000	∞	∞	∞

Ergebnis: Auch bei zweistündigem Verbleib hat das vitale Hundefibrin nicht auf das Serum eingewirkt, obwohl dessen bakterizide Fähigkeit, wie die Kontrollen anzeigen, nicht sehr groß war. Hingegen ist das Serum durch das dauernd (bei Bruttemperatur) darin belassene Fibrin seiner bakteriziden Wirkung beraubt worden. Es liegen also analoge Verhältnisse vor, wie es im Versuch Ib bei dem pulverisierten, erhitzten Rinderfibrin der Fall war.

Versuch VII.

Versuch mit vitalem Kaninchenfibrin bei vorübergehender und bei dauernder Einwirkung. 5 ccm Kaninchenserum werden bei Zimmertemperatur (Monat Juni) $\frac{1}{2}$ Stunde mit Fibrin behandelt, dann 2 ccm abgefüllt. Zu 2 anderen ccm Serum wird Fibrin zugleich mit den Bakterien (Typhusbacillen) zugesetzt. Beide Proben werden zugleich in den Brutschrank gestellt. Kontrollen: Erstens unbehandeltes Serum, sodann wird an einer zweiten Kontrolle geprüft, ob etwa die geringen, mit der Fibrinflocke übertragenen Flüssigkeitsmengen durch Verdünnung des Serums einen Einfluß ausüben konnten. Zu diesem Zwecke werden zu 2 ccm Serum 4 Tropfen derselben NaCl-Lösung zugegeben, aus der die Fibrinflocke entnommen war.

	Kontrolle 1: (Reines Serum)	Kontrolle 2 (Serum + 4 gtt. NaCl- Lösung)	Serum nach $\frac{1}{2}$ -stün- diger Einwirkung von vitalem Kanin- chenfibrin bei Zimmertemperatur	Serum mit dauernd während des bakte- riziden Versuches darin belassenem Fibrin
Anfangs	12 600	12 400	19 700	18 400
Nach 6 Stunden	30	45	830	150 000
„ 12 „	115	55	28 000	∞

Ergebnis: Durch Zusatz von 4 Tropfen NaCl-Lösung ist eine Beeinflussung des Serums im Sinne einer Verdünnung nicht erfolgt. Die Wirkung des Fibrins beruht also keinesfalls auf einer Verdünnung des Serums durch die geringen, der Fibrinflocke anhaftenden Flüssigkeitsmengen.

Als Wirkung des Fibrins ist in diesem Versuche, im Gegensatz zu dem vorigen, eine Herabsetzung der bakteriziden Kraft des Serums schon nach halbstündiger Beeinflussung erkennbar, wofür möglicherweise die im Monat Juni höhere Zimmertemperatur (genauere Be-

stimmung hat leider nicht stattgefunden) maßgebend gewesen ist. Dauernder Verbleib des Fibrins im Serum während des bakteriziden Versuches selbst hat, wie schon mehrmals festgestellt, die bakterizide Wirkung völlig aufgehoben.

Zusammenfassendes Ergebnis der Versuche aus Gruppe 2.

Die vorstehenden Versuche haben ergeben, daß das vitale (steril entnommene und aufbewahrte) Fibrin an Wirksamkeit das durch Kochen sterilisierte nicht übertrifft, sondern daß die Wirkungsweise beider insofern übereinstimmt, als beide Arten bei dauerndem Verbleib im Serum während des bakteriziden Versuches dieses sehr beträchtlich, bei vorübergehendem in Zimmertemperatur wenig oder gar nicht beeinflussen.

Da die Wirkung gleich ist, die sterile Gewinnung des Fibrins aber nicht unbedeutende technische Schwierigkeiten bietet, wird in den folgenden Versuchen wieder auf die Methode des Erhitzens zurückgegriffen.

Gruppe 3.

Diese Versuche sollen darüber Aufschluß geben, ob eventuell und unter welchen Bedingungen auch bei vorübergehendem Verbleib des Fibrins im Serum eine stärkere Beeinflussung des letzteren zu erzielen ist.

Versuch VIII.

Versuch, ob länger dauernde Einwirkung des Fibrins vor Beginn des bakteriziden Versuches Erfolg hat. Zu diesem Zwecke verbleibt Hundefibrin, durch einstündiges Kochen in physiologischer NaCl-Lösung sterilisiert, 12 Stunden bei Zimmertemperatur in 5 ccm Kaninchenserum, von dem nachher 2 ccm zum Versuch abgefüllt werden. In eine andere Serumprobe wird das Fibrin zugleich mit den Bakterien (Typhusbacillen) eingebracht und während des bakteriziden Versuches darin belassen. Kontrolle: Unbehandeltes Serum und solches nach Zusatz von 3 Tropfen der das Fibrin enthaltenden Kochsalzlösung (Begründung siehe vorher).

	Kontrolle 1 (Reines Serum)	Kontrolle 2 (Serum + 3 gtt. NaCl-Lösung)	Serum nach 12-stündiger Einwirkung von Hundefibrin bei Zimmertemperatur doppelt angesetzt		Serum mit dauernd während des bakteriziden Versuches darin belassenem Hundefibrin
Anfangs	30 000	6000	7000	6000	6000
Nach 6 Stunden	20	40	0	10	500
" 11 "	6	5	2	50	2700
" 24 "	0	0	0	0	∞

Ergebnis: Auch nach sehr langem Aufenthalt im Serum bei Zimmertemperatur hat das Fibrin nicht die geringste Wirkung gezeigt. Diese zeigt sich hingegen sofort wieder, sobald das Fibrin während des bakteriziden Versuches bei Bruttemperatur im Serum belassen wird.

Versuch IX.

In diesem Versuche sollen die Fibrinwirkung bei Zimmer- und bei Bruttemperatur einander gegenübergestellt werden. Beide Male wirkt Fibrin 13 Stunden lang auf 4 ccm Serum, von denen nachher je 2 zum bakteriziden Versuch abgefüllt werden.

Als Kontrollen dienen Serumproben, denen jedesmal ein Tropfen Kochsalzlösung zugesetzt ist, und von denen die eine bei derselben Temperatur, wie die Fibrinprobe im Zimmer, die andere ebenso lange im Brutschrank gestanden hat. Da bekanntlich die Bruttemperatur an sich schon komplementenschädigend wirkt, gelingt es nur selten, und bloß bei besonders stark wirksamem Serum, wie im vorliegenden Versuche, nach längerer Einwirkung von Brutwärme noch eine nennenswerte Bakterizidie anzutreffen. Aus diesem Grunde wurde auch nur mit einem Tropfen

Kochsalzlösung verdünnt. Es sei auch noch besonders hervorgehoben, daß alle Serumröhrchen sich durch angelegte Probeplatten, selbst nach 13-stündigem Aufenthalte im Brutschrank, als steril erwiesen.

Kaninchenserum. Durch einstündiges Erhitzen sterilisiertes Hundefibrin. Typhusbacillen.

	Kontrolle 1 Serum + 1 gtt. NaCl-Lösung nach 13-stündi- gem Aufenthalt in Zimmer- temperatur	Serum nach 13- stündiger Fi- brineinwir- kung bei Zim- mertempe- ratur	Kontrolle 2 Serum + 1 gtt. NaCl-Lösung nach 13-stündi- gem Aufenthalte im Brutschrank	Serum nach 13- stündiger Fi- brineinwir- kung bei 37°
Anfangs	6900	8700	7200	7400
Nach 6 Stunden	400	25400	350	8400
„ 11 „	540	∞	70	12200
„ 24 „	20 (bleibt klar)	∞ (wird trüb)	26000 (wird trüb)	60000 (wird trüb)

Ergebnis: In diesem Versuche hat auch der vielstündige Verbleib des Serums bei Zimmertemperatur hingereicht, um in Gestalt einer völligen Aufhebung der Bakterizidie die Fibrinwirkung zur Geltung kommen zu lassen. Die Entwicklung der Typhusbacillen hat sogar in diesem Serum etwas üppiger stattgefunden, als in der bei Bruttemperatur mit Fibrin behandelten Probe. Vielleicht lag der Grund hierfür in einer quantitativen Verschiedenheit der Fibrinflocken, die nur nach Augenmaß zugesetzt worden waren.

Versuch X.

Versuch mit protrahierter Fibrineinwirkung bei Zimmertemperatur. Rinderfibrin, durch Erhitzen sterilisiert, wirkt 17 Stunden bei Zimmertemperatur auf 4 ccm Kaninchenserum, von denen nachher zwei zum bakteriziden Versuche abgefüllt werden. Außerdem Serumprobe mit dauernd während des bakteriziden Versuchs darin belassenem Fibrin. Kontrolle mit und ohne NaCl-Zusatz nach ebenso langem Aufenthalt und Zimmertemperatur. Aeltere Typhuskultur; daher geringere Aussaatmengen.

	Kontrolle 1 (Reines Serum)	Kontrolle 2 (Serum + 3 gtt. NaCl- Lösung)	Serum nach 17- stündiger Fibrin- einwirkung bei Zimmertempe- ratur	Serum mit dau- ernd während des bakteriziden Ver- suches in Brut- temperatur darin belassenem Fibrin
Anfangs	85	540	900	530
Nach 5 Stunden	50	50	390	840
„ 11 „	50	85	3000	∞
„ 24 „	2	12	70000	Röhrchen trüb

Ergebnis: Das an sich nicht sehr starke Serum ist durch dauernde Einwirkung des Fibrins bei Bruttemperatur völlig, durch vorübergehende, allerdings sehr lange Einwirkung, bei Zimmertemperatur faßt völlig seiner bakteriziden Fähigkeiten beraubt worden.

Versuch XI.

Dient zur genauen Vergleichung der Fibrinwirkung bei Brut- und bei Zimmertemperatur. Rinderfibrin, durch Erhitzen in Kochsalzlösung sterilisiert, wirkt teils bei 37°, teils bei einer durchschnittlichen Zimmertemperatur von 10° 12 Stunden lang auf je 2 ccm Kaninchenserum ein, wird dann entfernt. Die Fibrinflocken werden nachträglich zwischen Fließpapier getrocknet und dann gewogen. Dazu 2 Kontrollen: Eine bleibt 12 Stunden im Zimmer, die andere ebenso lange im Brutschrank; in beiden Proben ist das Serum mit 2 Tropfen Kochsalzlösung verdünnt. Außerdem noch eine ganz unbeeinflusste Serumkontrollprobe. Aussaat: Typhusbacillen.

	Kontrolle 1 (Reines Serum)	Kontrolle 2 (Serum + 2 gtt. NaCl-Lösung nach 12-stündigem Aufenthalt im Zimmer bei 10°)	Serum nach 12-stündiger Einwirkung von 0,3 Fibrin bei Zimmertemperatur (10°)	Kontrolle 3 (Serum + 2 gtt. NaCl-Lösung nach 12-stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37°)	Serum nach 12-stündiger Einwirkung von 0,5 Fibrin bei Brutttemperatur (37°)
Anfangs	18 000	15 500	11 000	6500	5 400
Nach 5 Stunden	340	200	300	900	60 000
„ 12 „	8 000	10 000	60 000	∞	∞
				(Leichte Trübung im Röhrchen)	(Starke Trübung im Röhrchen)

Ergebnis: Das an sich nicht sehr wirksame Serum hat durch 12-stündige Fibrineinwirkung bei Brutttemperatur seine bakterizide Kraft völlig verloren. Der Aufenthalt im Brutschrank allein hat eine solche Wirkung nicht hervorgeht. Hingegen hat die 12-stündige Einwirkung von Fibrin bei einer Temperatur von 10° nur eine etwas üppigere Bakterienentwicklung nach vorausgehender starker Abnahme zur Folge gehabt.

Versuch XII.

Abermalige Prüfung von Kaninchenserum, auf welches Fibrin (durch Erhitzen sterilisiertes Rinderfibrin) bei einer Durchschnittstemperatur von 10° 13 Stunden eingewirkt hat. Typhusbacillen.

	Kontrollen (Serum + 2 gtt. NaCl-Lösung)	Serum nach 13-stündiger Fibrineinwirkung bei 10°
Anfangs	3200	10 000
Nach 6 Stunden	20	740
„ 11 „	474	150 000

Ergebnis: Nur geringe Abschwächung des Serums, die sich in einer üppigen Bakterienentwicklung nach vorübergehender Abnahme (genau wie im vorigen Versuche) kundgibt.

Ergebnisse der Versuche aus Gruppe 3.

Durch eine Reihe von Versuchen ist festgestellt worden, daß Fibrinzusatz bei Brutttemperatur die bakterizide Kraft des Serums aufhebt, bei niederer Temperatur dagegen nur einen geringen und unsichern Einfluß hatte.

Gruppe 4.

In dieser Gruppe soll untersucht werden, ob die im vorstehenden beobachteten Verhältnisse auch für Bact. coli Geltung haben.

Versuch XIII.

Hammelserum wird im kalten Raum auf 15 Stunden der Fibrinwirkung ausgesetzt. Von 4 ccm werden 2 zum bakteriziden Versuch abgefüllt. In eine andere Serumprobe wird das Fibrin zugleich mit den Bakterien eingebracht und während des bei Brutttemperatur ausgeführten bakteriziden Versuches darin belassen. Coli-Bakterien. Kontrolle wie früher.

	Kontrolle (Reines Serum + 2 gtt. NaCl-Lösung)	Serum nach 15-stündiger Fibrineinwirkung in der Kälte	Serum mit darin während des bakteriziden Versuches belassenem Fibrin
Anfangs	25 000	8 000	36 000
Nach 4 Stunden	38	82	6 000
„ 7 „	63	32	36 000
„ 12 „	6 000	35 000	∞
			(Röhrchen trüb)

Ergebnis: Wie in den mit Typhusbazillen ausgeführten Versuchen hat das Fibrin bei Kälte auch nach 15-stündiger Einwirkung so gut wie gar keinen Einfluß ausgeübt, dagegen ist der Verbleib des Fibrins im Serum bei Bruttemperatur auf die bakterizide Kraft von nicht zu verkennender Einwirkung gewesen.

Versuch XIV.

Dieselbe Anordnung wie im vorigen Versuch. Durchschnittstemperatur des kalten Raumes 7°. Einwirkung des Fibrins gleichfalls 15 Stunden. Coli-Bakterien. Kontrolle doppelt angesetzt.

	Kontrolle 1 (Serum + 2 gtt. NaCl- Lösung)	Kontrolle 2 (Dieselbe + wie 1)	Serum nach 15- stündiger Einwir- kung des Fibrins bei 7°	Serum mit dauernd während des bakte- riziden Versuches darin belassenem Fibrin
Anfangs	42 000	104 000	33 400	59 400
Nach 4 Stunden	8	15	12	630
„ 7 „	3	2	5	375
„ 22 „	2	3	1	∞
				(Röhrchen trüb)

Ergebnis: Wiederum hat die 14-stündige Einwirkung von Fibrin in der Kälte das Serum nicht beeinflusst. Der dauernde Verbleib des Fibrins im Serum während des bakteriziden Versuches bei Bruttemperatur hat trotz einer vorübergehenden starken Abnahme der Keimzahl einen bei Vergleich der nach 22 Stunden hervorgebrachten Werte deutlich zutage tretenden Einfluß gehabt.

Versuch XV.

Dieselbe Versuchsanordnung. Kaninchenserum.

	Kontrolle (Serum + 2 gtt. NaCl-Lösung)	Serum nach 15-stün- diger Einwirkung von Fibrin bei 7°	Serum mit dauernd während des bakterizi- den Versuches darin belassenem Fibrin
Anfangs	23 000	60 000	37 000
Nach 2 Stunden	38	140	260
„ 4 „	1	19	124
„ 8 „	1	6	986
„ 10 „	0	57	36 000
„ 24 „	0	∞	∞
		(Röhrchen trüb)	(Röhrchen trüb)

Ergebnis: Die Einwirkung von Fibrin in der Kälte hat die bakteriziden Kräfte des Serums so gut wie unbeeinflusst gelassen, während bei Bruttemperatur eine Herabsetzung der Bakterizidie deutlich ist (entsprechend vorigem Versuch).

Versuch XVI.

Nochmals dieselbe Versuchsanordnung. Kaninchenserum.

	Kontrolle (Serum + 2 gtt. NaCl-Lösung)	Serum nach 15-stündiger Fibrineinwirkung bei 7°
Anfangs	17 200	18 000
Nach 4 Stunden	9	20
„ 6 „	1	2
„ 10 „	0	0

Ergebnis: Nicht die geringste Beeinflussung des Serums durch Fibrin auch bei protrahierter Einwirkung in der Kälte.

Versuch XVII.

Nachdem die Fibrinwirkung bei 7° so gut wie völlig versagt hatte, wird der Versuch für dieselbe Zeitdauer (15 Stunden) bei bedeutend höherer Temperatur, und zwar der gewöhnlichen Zimmerwärme von 15°, angesetzt. Außerdem wird eine Probe zur Beobachtung kurzdauernder (1-stündiger) Wirkung der Bruttemperatur angestellt, und in einer dritten Probe wird Fibrin wiederum zugleich mit den Bakterien

eingbracht und während des bakteriziden Versuches belassen. Als Kontrolle dient Serum, mit einem Tropfen NaCl-Lösung verdünnt, das 15 Stunden bei 15° bzw. 1 Stunde bei 37° gestanden hat. Kaninchenserum. Coli-Bacillen.

	Kontrolle 1 (Serum + 1 gtt. NaCl- Lösung nach 15-stündigem Aufenthalt bei 15°)	Serum nach 15-stündiger Fibrinein- wirkung bei 15°	Kontrolle 2 (Serum + 1 gtt. NaCl nach 1-stün- digem Auf- enthalt bei 37°)	Serum nach 1-stündiger Fibrinein- wirkung bei 37°	Serum mit dauernd während des bakteriziden Versuches darin belasse- nem Fibrin
Anfangs	58 000	13 000	50 000	112 000	15 000
Nach 1 Stunde	300	970	1 070	800	260
Nach 5 Stunden	6	140	12	24	20
„ 8 „	2	3 000	4	30	12 000
„ 10 „	0	24 000	18	50	75 000

Ergebnis: Die 15-stündige Fibrineinwirkung bei mittlerer Zimmer-temperatur (15°) hat zwar die bakterizide Kraft des sehr wirksamen Serums nicht völlig aufgehoben, aber doch erheblich herabgesetzt, und zwar viel stärker, als die kurz dauernde Einwirkung des Fibrins bei Bruttemperatur. Das im Serum belassene Fibrin hat ebenfalls eine nicht unbedeutende Abschwächung des Serums hervorgebracht, aber doch auch die anfängliche Bakterizidie nicht verhindern können. In beiden Fällen der Fibrinwirkung ist diese also erst nach 8 Stunden eingetreten, während nach 5 Stunden noch die Bakterizidie auf der Höhe ist. Man darf aus diesem mit früheren Versuchen übereinstimmenden Verhalten wohl den Schluß ziehen, daß die Einwirkung des Fibrins auf das Serum im allgemeinen nur langsam von statten geht.

Ergebnis der Versuche aus Gruppe 4.

Die Versuche mit *Bact. coli* haben dieselben Resultate, wie diejenigen mit *Bact. typhi* ergeben, d. h. bakterizides Serum kann durch Zusatz von Fibrin dieser Eigenschaft gegenüber den genannten Bakterienarten verlustig gehen. Der Einfluß des Fibrins tritt am besten zutage, wenn dieses zugleich mit den Bakterien dem Serum zugesetzt und während des bakteriziden Versuches bei Bruttemperatur darin belassen wird. Läßt man das Fibrin vor Einsaat der Bakterien auf das Serum einwirken, so ist zu beachten, daß zum Eintritt der Fibrinwirkung längere Zeit erforderlich ist, und daß sie um so energischer vor sich geht, je höher die Temperatur ist.

Gruppe 5.

In einer früheren Arbeit¹⁾ habe ich, anschließend an Versuche von Trommsdorff, gezeigt, daß Typhusbacillen imstande sind, sich an den Aufenthalt in aktivem Serum zu gewöhnen und nach mehrfacher Umzüchtung dessen bakterizider Wirkung nicht mehr unterliegen. Diese von mir als „Serumfestigkeit“²⁾ bezeichnete Eigenschaft der Bakterien beruhte auf einer Unempfindlichkeit gegenüber dem Komplement: in einem komplementarmen Serum fand nämlich die Gewöhnung in viel geringerem Grade, in einem komplementlosen, d. h. durch Hitze inaktivierten Serum gar nicht statt. In

1) Ueber die Immunisierung von Typhusbacillen gegen die bakteriziden Kräfte des Serums. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. p. 61.)

2) In neueren Arbeiten ist mehrfach das Wort „Serumfestigkeit“ für das Verhalten unagglutinierbarer Typhusstämmen gebraucht worden. Nachdem ich einmal diesen Ausdruck zur Bezeichnung der Widerstandsfähigkeit von Bakterien gegen die bakterizide Wirkung des Serums in die Literatur eingeführt habe, ist eine Umprägung des Wortbegriffs unzulässig.

den nun folgenden Versuchen sollte festgestellt werden, welche Stellung die in Fibrin-Serum mehrfach vorgezüchteten Bakterien einnehmen, um daraus rückschließen zu können, welche Veränderungen in dem Serum durch die Fibrineinwirkung vor sich gingen.

Versuch XVIII.

Typhusbacillen, die in mit Fibrin behandeltem Kaninchenserum 3mal vorgezüchtet worden sind, werden in aktives Kaninchenserum übertragen. Die Behandlung des Serums mit Fibrin ist auf zweierlei Weise erfolgt: Einmal hat das Fibrin vor Einsaat der Bakterien lange Zeit (je 15 Stunden) bei Zimmertemperatur auf das Serum eingewirkt; bei der zweiten Art der Vorzüchtung war das Fibrin zusammen mit Bakterien in das Serum eingebracht worden und (bei Bruttetemperatur) darin verblieben. Als Kontrolle wurden Typhusbacillen, die in inaktiviertem ($\frac{1}{2}$ -stündlich auf 56° erhitztem) Serum vorgezüchtet waren und sich den früheren Versuchen gemäß wie normale verhalten mußten, verwendet. Außerdem dienten zum Vergleich solche, die in unverändertem aktiven Serum vorgezüchtet waren, von denen daher die Eigenschaft der Serumfestigkeit angenommen werden durfte.

	In inaktivem Serum	In mit Fibrin versetztem Serum	In Serum, auf das Fibrin vorher längere Zeit eingewirkt hat	In unverändertem aktiven Serum
3mal vorgezüchtete Typhusbacillen werden in aktives Kaninchenserum übertragen				
Anfangs	11 000	10 000	8 800	10 800
Nach 7 Stunden	776	36 000	80 000	86 000
„ 13 „	56 000	Röhrchen trüb	Röhrchen trüb	Röhrchen trüb

Ergebnis: Das zum bakteriziden Versuche benutzte Serum hat sich nicht sehr wirksam gezeigt. Immerhin ist bei den inaktiv vorgezüchteten Bacillen eine vorübergehende starke Abnahme unverkennbar, zu einer Zeit, wo in den anderen Proben schon üppige Bakterienentwicklung erfolgt ist. Zwischen den in unbeeinflusstem aktiven Serum und dem in Fibrin-Serum vorgezüchteten Bakterien zeigt sich in diesem Versuche kein Unterschied. Sehr gleichmäßige Einsaat.

Versuch XIX.

Typhusbacillen werden in Kaninchenserum, auf das Fibrin je 13 Stunden bei Zimmertemperatur eingewirkt hat, 3mal vorgezüchtet. Desgleichen in unverändertem aktiven Serum, dem nur (des Ausgleichs der Verdünnung wegen) je 2 Tropfen Kochsalzlösung zugesetzt worden sind. Uebertragung in aktives Kaninchenserum. Als Kontrolle der bakteriziden Wirkung: Bouillonkultur.

	Gewöhnliche Typhusbacillen aus Bouillon (Kontrolle)	In aktivem durch 2 Tropfen NaCl-Lösung verdünntem Serum, 3mal vorgezüchtete Typhusbacillen	In Serum, auf das Fibrin je 13 Stunden bei Zimmertemperatur eingewirkt hat, 3mal vorgezüchtete Typhusbacillen
Anfangs	73 000	4400	8500
Nach 6 Stunden	650	Röhrchen trüb	Röhrchen trüb
	(Mittel aus 2 Platten)		

Ergebnis: Hochgradige Abnahme der gewöhnlichen Typhusbacillen; üppige Entwicklung trotz anfänglicher Minderzahl der in aktivem Serum, gleichviel ob mit oder ohne Fibrinbehandlung vorgezüchteten Bacillen.

Versuch XX.

Bakterizider Versuch mit Colibacillen.

Für diese Bakterienart war der Nachweis, daß sie sich gegen die Wirkung bakteriziden Serums immunisieren ließ, erst zu erbringen. Vorzüchtung erfolgte 4mal in unverdünntem aktiven Kaninchenserum und ebenso oft in mit Fibrin versetztem. Uebertragung wieder in aktives Kaninchenserum. Als Kontrolle der bakteriziden Wirksamkeit: Bouillonkultur.

	Gewöhnliche Coli- bacillen aus Bouillon (Kontrolle)	In unverändertem aktivem Serum 4mal vorgezüchtete Coli- bacillen	In gleichzeitig mit den Bakterien mit Fibrin versetzten Serum 4mal vorgezüchtete Coli- bacillen
Anfangs	1 000	242	184
Nach 3 Stunden	41	242	75
" 7 "	4	Röhrchen trüb	69
" 24 "	12 400		Röhrchen trüb
	Röhrchen klar		

Ergebnis: Die in aktivem Serum 4mal vorgezüchteten Coli-Bacillen sind vom bakteriziden Serum gar nicht mehr beeinflusst worden. Zufällig genaue Uebereinstimmung der Anfangszahl mit der Keimzahl nach 3 Stunden. Die in Fibrin-Serum vorgezüchteten Bacillen haben sich zwar etwas langsamer entwickelt, immerhin aber bei sehr geringer Aussaatmenge der bakteriziden Kraft des Serums in auffälliger Weise widerstanden.

Versuch XXI.

Gegenüberstellung den 4mal in Fibrin-Serum vorgezüchteten Coli-Bacillen mit gewöhnlichen Bouillonbacillen.

	Gewöhnliche Colibacillen aus Bouillon (Kontrolle)	In Fibrin-Serum 4mal vorgezüchtete Typhus- bacillen
Anfangs	2000	2000
Nach 3 Stunden	20	20
" 8 "	1	Röhrchen trüb, Platte grau

Ergebnis: Die in Fibrin-Serum vorgezüchteten Bacillen sind zwar vom bakteriziden Serum noch beeinflusst worden, haben aber doch, verglichen mit gewöhnlichen Bacillen aus Bouillonkultur, eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gezeigt.

Ergebnis der Versuche aus Gruppe 5.

Der Beweis, daß Bakterien durch mehrfache Vorzüchtung in aktivem Serum vollständige Angewöhnung an dasselbe („Serumfestigkeit“) erlangen können, ist auch für den Colibacillus erbracht. In mit Fibrin behandeltem Serum entsprechend oft vorgezüchtete Bacillen (Typhus und Coli) erlangen ebenfalls einen gewissen Grad von Anpassung, wenn auch nicht einen so hohen, wie die aus unbeeinflusstem Serum hervorgegangenen. Da ich in meiner früheren Arbeit den Nachweis geführt habe, daß die Erlangung der Serumfestigkeit an die Gegenwart von Komplement gebunden ist, so erscheint wohl der Schluß nicht ungerechtfertigt, daß in dem mit Fibrin behandelten Serum mindestens keine völlige Komplemententziehung stattgefunden haben kann.

II. Abteilung.

Um über die Art der Fibrineinwirkung auf Serum noch genaueren Aufschluß zu erlangen, werden der einfacheren Technik halber

Hämolytische Versuche

angestellt.

Gruppe 6.

Vorversuche zur Feststellung, ob Fibrin wie auf die Bakterizidie so auch auf die Hämolyse hemmend einwirkt. Die Untersuchungen werden auch auf Immunserum ausgedehnt. Als Objekte der Hämolyse dienten in den ersten Versuchen je 2 Tropfen mit Kochsalzlösung gewaschener, wiederholt zentrifugierter Erythrocyten; späterhin, da diese

Konzentration an die hämolytische Kraft der Sera zu hohe Ansprüche stellte, einfach 2 Tropfen des zu lösenden defibrinierten Blutes. Das verwendete Fibrin war in Glyzerin aufbewahrtes Rinderfibrin, das für diese Versuche einer Sterilisation nicht unterworfen wurde. Nur in einigen Fällen wurde steriles Fibrin, das gerade vorhanden war, aufgebraucht. Sämtliche Serumproben wurden mit Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt.

Versuch XXII.

Normales Kaninchenserum löst Hammelblut. Zusatz von 2 Tropfen gewaschener Hammelblutkörperchen. Serumverdünnung laut Versuchstabelle. Auffüllung mit NaCl-Lösung auf je 2 ccm. Zugleich mit den Erythrocyten war steriles Rinderfibrin in das Serum eingebracht und, analog dem bei den bakteriziden Versuchen bewährten Verfahren, während der Dauer der Hämolyse darin belassen worden. Versuch bei Zimmertemperatur.

	Kaninchen-Normalserum					
	ohne Fibrin (Kontrolle)			mit Fibrin		
Hämolyse:	0,5	0,1	0,05	0,5	0,1	0,05
Nach 9 Std.	teilweise	0	0	teilweise	0	0
„ 24 „	„	schwach	schwach	„	0	0

Ergebnis: Geringe, aber doch deutliche Herabsetzung der Hämolyse normalen Serums nach sehr langer Fibrineinwirkung bei Zimmertemperatur.

Versuch XXIII.

Versuch mit Immunserum. Ochsenkaninchen-Ochsenblut. Zweierlei Rinderfibrin: Sterilisiertes und nicht sterilisiertes, wohl aber gewaschenes Glyzerin-Fibrin zur Gegenüberstellung der Wirkung. Sonstige Anordnung wie im vorigen Versuche.

	0,1 Immunserum ohne Fibrin (doppelt angesetzt)		0,1 Immunserum + Fibrin (durch Erhitzen sterilisiert)	0,1 Immunserum + Fibrin (nicht erhitzt)
	Hämolyse:			0
Nach 9 Std.	teilweise	teilweise	0	0
„ 24 „	„	„	0	0

Ergebnis: Immunserum ist durch Fibrinzusatz seiner hämolytischen Wirkung völlig beraubt worden. Zwischen erhitztem und nicht erhitztem Fibrin kein Unterschied.

Gruppe 7.

Versuche zur genaueren Feststellung der Fibrinwirkung auf die Hämolyse durch Immunsere.

Dabei wird so vorgegangen, daß versucht wird, ob die durch Fibrinwirkung aufgehobene Hämolyse durch nachträglichen Zusatz von Serumbestandteilen, und welcher, wieder herzustellen ist.

Die Versuche dieser Gruppe sind alle übereinstimmend in der Weise angestellt, daß die zur Hämolyse bestimmten Proben erst 1½ Stunden bei Bruttemperatur und dann bis zum anderen Tage im Eisschrank (bei ca. 7°) verblieben.

Vor dem hämolytischen Versuch fand die Fibrinbehandlung der betreffenden Serumproben durch 1½-stündige Einwirkung von gewaschenem, aber nicht erhitztem Glyzerin-Rinderfibrin bei Bruttemperatur statt.

Versuch XXIV.

Ochsenkaninchen-Ochsenblut. Gleichzeitig Zusatz von normalem Kaninchenserum als Komplement für den Fall, daß die Hämolyse von vornherein durch Komplementmangel beeinträchtigt ist. Alsdann Feststellung, ob das Immunserum durch Fibrinzusatz an hämolytischer Kraft verliert und ob diese durch nachträglichen Komplementzusatz wieder herzustellen ist.

	a)		
	0,2 Immuns- serum	0,1 Immuns- serum	0,2 Immuns- serum + 0,4 Normalserum (Komplement)
Hämolyse:	stark, aber nicht voll- ständig	schwach	0,1 Immuns- serum + 0,4 Normalserum (Komplement) schwach
	b)		
	0,2 Immuns- serum nach Fibrineinwirkung		0,1 Immuns- serum
Hämolyse:	schwach		0
	c)		
	Nachträglicher Zusatz von je 0,4 Komplement zu b		
Hämolyse:	schwach		0

Ergebnis: Die ursprüngliche hämolytische Kraft wird durch Komplementzusatz nicht stärker, also ist im Serum genügend Komplement vorhanden. Durch Fibrineinwirkung wird die Hämolyse abgeschwächt und durch nachträglichen Komplementzusatz nicht wieder hergestellt. Es wird also wahrscheinlich, daß die Fibrinwirkung nicht auf Komplemententziehung beruht.

Versuch XXV.

Im weiteren Verfolg des aus dem vorigen Versuch gewonnenen Ergebnisses wird versucht, ob die durch Fibrinwirkung herabgesetzte Hämolyse durch nachträglichen Zusatz von Immunkörper wiederhergestellt wird. — Gewonnen wird dieser durch halbstündiges Erhitzen des Immuns-erums auf 56°. — Ochsenkaninchen-Ochsenblut.

	a)		
	0,2 Immuns- serum	0,2 Immuns- serum nach Fibrineinwirkung	
Hämolyse:	Stark	0	
	b)		
	Nachträglicher Zusatz von Immunkörper in steigender Menge; dazu Kontrolle, daß Immunkörper allein nicht löst.		
	0,2 Immuns- serum, durch Fibrinsetzung unwirksam geworden,		
	+ 0,1 Immunkörper	+ 0,2 Immunkörper	+ 0,3 Immunkörper allein (Kontrolle)
Hämolyse:	schwach	mittel	stark 0

Ergebnis: Durch nachträgliche Hinzufügung von Immunkörper ist die durch Fibrineinwirkung aufgehobene Hämolyse wiederhergestellt worden und zwar proportional der Menge des zugesetzten Immunkörpers. Es ist also in dem mit Fibrin behandelten Serum Komplement noch vorhanden gewesen; der Immunkörper hingegen ausgezogen worden.

Versuch XXVI.

In der nunmehr neu gewonnenen Anschauung, daß das Fibrin den Immunkörper beeinflusst, wird solcher für sich (1½ Stunden bei 37°) der Fibrinwirkung ausgesetzt, und dann durch Komplement (Normalserum) ergänzt. — In derselben Weise wird unbeeinflusster Immunkörper komplementiert. Kontrolliert wird der Versuch durch Immunkörper ohne Komplement und Komplement ohne Immunkörper. — Gewinnung des Immunkörpers wie im vorigen Versuche durch halbstündiges Erhitzen auf 56°. — Ochsenkaninchen-Ochsenblut.

	0,3 Immunkörper + 0,3 Normal- serum (Komple- ment)	0,3 Immunkörper nach Fibrin- einwirkung + 0,3 Normal- serum (Kom- plement)	0,3 Immunkörper ohne Kom- plement (Kon- trolle 1)	0,3 Komplement ohne Immun- körper (Kon- trolle 2)
Hämolyse:	stark	0	0	0

Ergebnis: Der mit Fibrin behandelte Immunkörper ist durch geeignete Komplementierung nicht mehr zur Wirkung gebracht worden.

Versuch XXVII.

Es wird versucht, ob der Immunkörper an das Fibrin gebunden aus diesem durch Waschen wieder freizumachen ist. Zu Normalserum (Komplement) wird Fibrin, das auf Immunkörper (im vorigen Versuch) und solches, das auf vollständiges Immunserum eingewirkt hat, nach sorgfältigem Auswaschen in physiologische Kochsalzlösung zugesetzt und die hämolytische Wirkung dieser Kombination abgewartet. — Außerdem wird die Waschflüssigkeit beider Fibrinarten mit Komplement versehen; und schließlich ein Teil des Fibrins zerrieben und ausgewaschen, dann ebenfalls komplementiert.

	α)	β)	γ)			
	0,3 Normalserum	0,3 Normalserum + Fibrin, das auf vollständiges Immunserum eingewirkt hat	0,3 Normalserum + Fibrin, das auf Immunkörper eingewirkt hat	0,3 Normalserum + Waschflüssigkeit von α	0,3 Normalserum + Waschflüssigkeit von β	0,3 Normalserum + zerriebenes Fibrin
Hämolyse:	0	0	0	0	0	0

Ergebnis: Die Wiedergewinnung des Immunkörpers aus dem Fibrin ist auf keine Weise gelungen; also ist entweder die Bindung eine sehr feste, oder die Einwirkung des Fibrins auf den Immunkörper geschieht überhaupt nicht durch Bindung, sondern auf andere Weise (Verstopfung?)

Versuch XXVIII.

Zu Immunserum, das einer 2-stündigen Fibrineinwirkung ausgesetzt gewesen ist, wird Komplement und Immunkörper, beides in gleicher Menge, nachträglich zugesetzt, um die Ergebnisse der Versuche XXIV und XXV an einem einheitlichen Versuche nachzuprüfen.

	a)	b)	c)	d)
	Immunserum nach 2-stündiger Einwirkung von Fibrin	Zusatz von Komplement (je 0,1 Normalserum)		
Hämolyse:	0,2 teilweise	0	0	0
	mit nachträglichem Zusatz von Immunkörper (je 0,1), durch halbstündiges Erhitzen auf 56° gewonnen	Zusatz von Komplement (je 0,1 Normalserum)		
Hämolyse:	fast völlig	teilweise	0	0
	Kontrolle:		Kontrolle:	
Hämolyse:	0,1 Immunkörper für sich	0	0,1 Normalserum für sich	0

Ergebnis: Nach Zusatz von Komplement ist die Hämolyse genau so stark, wie ohne solches; durch Immunkörper-Zusatz ist sie dagegen wesentlich gesteigert worden: ein Beweis, daß es in dem mit Fibrin behandelten Serum an Immunkörpern gefehlt hat.

Versuch XXIX.

Dieser Schlußversuch bildet in seiner Anordnung ein Analogon zu den bakteriziden Versuchen, in denen sich die Fibrinwirkung stets dann am stärksten erwies, wenn das Fibrin während der ganzen Dauer des Versuches im Serum verblieb. Entsprechend wird Fibrin während der ganzen Dauer der hämolytischen Einwirkung (1½ Stunde bei Bruttemperatur darauf bis zum anderen Tage im Eisschrank) in den Serumproben belassen. Das einwirkende Serum wird aus Immunkörper und Komplement (Normalserum) zusammengesetzt. Aufsteigende Mengen des Immunkörpers; gleiche Menge Komplement. Ochsenkaninchen-Ochsenblut.

	a)					b)		
	0,2 Komplement (Normalserum)					0,2 Komplement (Normalserum)		
	+ Immunkörper:					+ Immunkörper:		
Hämolyse:	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,005	0,004	0,003
	völlig	völlig	völlig	völlig	völlig	teilweise	schwach	0

		b) Dasselbe bei gleichzeitiger Fibrineinwirkung (Parallelreihe)							
		0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,05	0,04	0,03
Hämolyse:	stark	stark	teilweise	schwach	0	0	0	0	0
		aber nicht völlig							

Ergebnis: Auch beim hämolytischen Versuch hat, wie beim bakteriziden, die dauernde Anwesenheit von Fibrin die ausgesprochenste Wirkung gezeitigt: Bei einer Verdünnung des Immunkörpers, die noch zur völligen Hämolyse führte, ist durch die Gegenwart von Fibrin die hämolytische Wirkung auf 0 reduziert worden.

Ergebnis der hämolytischen Versuche.

Die hämolytischen Versuche haben den bakteriziden vollkommen entsprochen und die Ergebnisse der letzteren erweitert. Fibrin hemmt, wie die Bakterizidie, so auch die Hämolyse und zwar normaler, wie Immunsera. In besonders hohem Maße ist dies bei dauerndem Verbleib des Fibrins im Serum der Fall. Aus dem Umstand, daß nachträglicher Zusatz von Komplement die Hämolyse nicht wiederherstellt, wohl aber der Zusatz von Immunkörper dies tut, ist zu schließen, daß die Fibrinwirkung sich auf den Immunkörper erstreckt. Bestätigt wird diese Folgerung durch Versuche Immunkörper, mit und ohne Fibrinbehandlung durch Komplementzusatz zu aktivieren. Indessen soll nicht verschwiegen bleiben, daß in einem Versuche mit einem komplementarmen Serum auch das Komplement durch Fibrin geschädigt wurde.

Gesamtergebnis und Schlußwort.

Als Gesamtergebnis liegen die nachstehend in kurzen Sätzen zusammengefaßten Befunde vor:

1) Der Zusatz von Fibrin ist geeignet, die bakterizide und hämolytische Kraft des Serums bis zur völligen Aufhebung abzuschwächen.

2) Zum Eintritt der Fibrinwirkung ist längere Zeitdauer und höhere Temperatur erforderlich, weshalb die Fibrinwirkung dann am besten zum Ausdruck kommt, wenn das Fibrin während der ganzen Dauer des bakteriziden oder hämolytischen Versuches im Serum bleibt und Gelegenheit hat, bei Brutwärme einzuwirken.

3) Hämolytische Versuche haben ergeben, daß das Fibrin den Immunkörper angreift;

denn mit Fibrin behandelte Immunkörper läßt sich durch Normalserum nicht mehr komplementieren;

mit Fibrin behandeltes hämolytisches Serum, das seine Wirksamkeit ganz oder teilweise eingebüßt hat, kann durch nachträglichen Zusatz von Immunkörper, aber nicht von Komplement, reaktiviert werden.

4) Damit stimmt auch überein, daß in Fibrin-Serum vorgezüchtete (Typhus- oder Coli-) Bacillen, ebenso wie in unbeeinflusstem Normalserum vorgezüchtete, die Eigenschaft der Serumfettigkeit erlangen, wozu nach früheren Untersuchungen des Verfassers die Gegenwart von Komplement unerläßlich ist. Solches muß also, unbeschadet der Fibrinwirkung, im Serum verblieben sein.

Wir stehen also vor der immerhin auffälligen Tatsache, daß in normalem und Immunsrum der Ambozeptor den Einflüssen einer fremden Substanz in höherem Maße unterliegen kann, als das

sonst äußeren Einflüssen weit eher zugängliche Komplement. Suchen wir zur Erklärung dieser Erscheinung auf bereits bekannte Tatsachen zurückzugreifen, so fällt nach unseren Versuchen das Fibrin wohl unter das allgemeine von Bail und Pettersson¹⁾ aufgestellte Gesetz, daß der Zusatz von Organbestandteilen geeignet ist, die bakterizide Kraft wirksamen Serums aufzuheben. Die genannten Autoren denken sich das Zustandekommen der von ihnen beobachteten Erscheinung in der Weise, daß die Verbindung Immunkörperbakteriolytisches Ferment bei Anwesenheit von Organzellen unmöglich ist, weil aus den Organen lösliche Komplemente nicht bakteriolytischer Natur zu der komplementophilen Gruppe des Ambozeptors eine größere Affinität aufzuweisen haben. Für unsere zum großen Teile mit gekochten Fibrin ausgeführten Versuche können wir diese Erklärung nicht übernehmen, sondern können uns höchstens vorstellen, daß sich das Serum aus dem Fibrin andere chemische Substanzen auslaugt, welche die komplementophile Gruppe des Ambozeptors verstopfen. Mit dieser Auslaugungstheorie würde auch die Beobachtung übereinstimmen, daß die Fibrinwirkung im allgemeinen lange Zeit erfordert und durch höhere Temperatur begünstigt wird. Ebensowohl besteht natürlich die Möglichkeit, daß der Immunkörper von Fibrin absorbiert wird. Wir möchten sogar den Gedanken an dem eingangs erwähnten Versuche von Landsteiner die letztere Deutung für wahrscheinlicher ansprechen, wenn uns auch die Wiederfreimachung des Immunkörpers aus dem Fibrin nicht gelungen ist.

Eine besondere Stellung nehmen diejenigen unserer Versuche ein, welche mit seiner natürlichen Eigenschaften nicht beraubtem — „vitralem“ — Fibrin angestellt worden waren. Diese Versuche haben ebenfalls eine Hemmung der Bakterizidie bzw. Hämolyse ergeben, nicht mehr und nicht weniger, als der Wirkung anderen Fibrins entsprach, das durch Kochen sterilisiert worden war. Das Auffallende an diesen Befunden ist der Gegensatz zu den Versuchen von Sieber²⁾, der bei wiederholter Bearbeitung des Fibrins mit Wasser bakterizide Stoffe sich lösen sah, und von Ottolenghi, der feststellen konnte, daß wirksames Fibrin in kurzer Zeit eine große Menge Komplement an die Sera und die Kochsalzlösung, womit es digeriert wird, abgibt. Nun haben wir gerade, wie im Text auseinandergesetzt, von der das Fibrin beherbergenden NaCl-Lösung Zusätze zu dem auf seine bakterizide Kraft zu prüfenden Serum gemacht, in der Absicht, den Einfluß einer etwaigen Verdünnung des Serums durch die an dem Fibrin haftenden Flüssigkeitsmengen festzustellen. Dabei ergab sich jedoch immer, daß ein solcher Zusatz belanglos war, während man nach den Resultaten Ottolenghis wohl eine Verstärkung der bakteriziden Wirkung hätte erwarten dürfen. Noch auffallender ist der Gegensatz zu den jüngst von Bergel³⁾ aus der Bierschen Klinik in Berlin publizierten Versuchen, denen zufolge dem Fibrin und seinen Extrakten in hohem Grade hämolytische und bakterizide Eigenschaften zukommen. Diese und Ottolenghis Versuche widersprechen nicht nur den unserigen, sondern auch den

1) Bail und Pettersson, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 540 bezw. 545.)

2) Sieber, Ueber die bakterienfeindlichen Stoffe des Blutfibrins. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. p. 571 bezw. 579.)

3) Bergel, Ueber hämolytische Wirkungen des Fibrins. (Deutsche med. Wchschr. 1908. No. 9. p. 369.)

älteren von Bail und Pettersson¹⁾, die weder in dem Fibrin, noch in dessen wässerigen Extrakten eine bakterizide Kraft konstatieren konnten. Auf der anderen Seite finden unsere Feststellungen eine Stütze in denen von Delézenne²⁾, der gefunden hat, daß Fibrin die Enterokinase absorbiert und daß dieser Körper in seinem System die Stellung eines Ambozeptors einnimmt. Diese Wirkungsweise des Fibrins kann sehr wohl als ein Analogon für seine von uns festgestellte Fähigkeit, aus normalen und Immunseris den Ambozeptor herauszuziehen, angesehen werden. Wenn aber das Fibrin einmal in stande ist, Hämolyse und Bakterizidie zu hemmen, ein anderes Mal befähigt, beide Funktionen selbständig auszuüben, so liegt hier offenbar ein „Zwiespalt“ seiner Natur vor, den aufzuklären es weiterer Forschungen bedürfen wird. Gelingt es aber für diese scheinbaren Widersprüche eine befriedigende Lösung zu finden, so dürften wir dieser weitere Einblicke nicht nur in das Wesen des Fibrins, dieses interessanten und wichtigen Serumbestandteiles, sondern auch in die Wirkungsweise hämolytischer und bakterizider Sera zu verdanken haben.

Nachdruck verboten.

Ueber die Immunisierung des gesunden Menschen mit Kochschem Tuberkulin.

[Aus dem Institute für Hygiene der Kgl. Universität Parma.
Vorstand: Prof. E. Bertarelli.]

Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. E. Bertarelli.

Ins Deutsche übertragen von Dr. K. Rühl-Turin.

Ueber die immunisierende Wirkung des Kochschen Tuberkulins (altes Tuberkulin) bei Tieren sind einige Arbeiten veröffentlicht worden, welche nicht miteinander übereinstimmen.

Dagegen habe ich in der medizinischen Literatur, über welche ich verfügen konnte, keine Angaben gefunden über die eventuellen immunisierenden Eigenschaften des Tuberkulins beim gesunden Menschen, während doch so vieles über die Anwendung des Tuberkulins beim kranken Menschen geschrieben worden ist.

Deshalb halte ich es für nützlich, einige Beobachtungen mitzuteilen, welche sich auf diese Frage beziehen. Es handelt sich um einen Versuch, welchen ich als den einzigen auf diesem Gebiete betrachten zu können glaube. Vorläufig werde ich mich darauf beschränken, einige allgemeine Daten zu erwähnen, und werde erst die Protokolleinzelheiten mitteilen, wenn sich meine Untersuchungen auf die Bestimmung des Antituberkulins und des opsonischen Vermögens erstreckt haben werden.

Da ich in meiner Familie der Gefahr einer tuberkulösen Infektion ausgesetzt war, nahm ich mir vor mehr als 2 Jahren vor, mich einer vorbeugenden resp. Schutzbehandlung mit Tuberkulin zu unterziehen.

1) l. c. p. 592.

2) Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1902, siehe v. Brücke, Die Ergebnisse neuerer Untersuchungen über das Trypsin. (Schmidts Jahrb. Bd. CCXCI. 1906. p. 113, 114 und Ottolenghi, l. c.)

Zu diesem Versuche wurde ich nicht durch die Hoffnung veranlaßt, daß eine Behandlung mit Tuberkulin, auch in rationeller Weise ausgeführt, mich in einer sehr wirksamen Weise gegen den Kochschen Bacillus schützen würde. Ich ging vielmehr von der Meinung aus, daß eine sorgfältige immunisierende Behandlung wenigstens den Organismus gegen die tuberkulinischen Intoxikationen kräftigen, resp. widerstandsfähiger machen würde, welche während des tuberkulösen Prozesses stattfinden.

Unter diesem Standpunkte schien die Annahme rationell, daß wenigstens einige der Allgemeinerscheinungen ausbleiben würden, welche die Tuberkulose begleiten, wie z. B. das Auftreten des Fiebers mit den Besonderheiten, welche dasselbe in dieser morbösen Form aufweist.

Von diesen Annahmen ausgehend, habe ich an mir und an anderen, zu meinem Hause gehörenden Personen eine etappenweise Tuberkulinbehandlung (mit altem Kochschen Tuberkulin) eingeleitet. Ich konnte jedoch nur an mir selbst die Behandlung beenden, weshalb die Resultate, welche ich hier kurz mitteilen werde, sich nur auf meine Person beziehen.

Für diese etappenweise Behandlung habe ich eine der am meisten bei der Tuberkulinkur angewendeten Methoden ausgewählt, und zwar folgende: Ich fing mit sehr schwachen Dosen an ($\frac{1}{1000}$ mg) und stieg auf äußerst hohe Dosen (1 ccm) Tuberkulin, welche bei der Kur mit Tuberkulin nie erreicht werden.

Ich habe die Behandlung im Mai 1906 eingeleitet und dieselbe bis etwa März 1907 fortgesetzt; im ganzen machte ich 72 Einspritzungen; der Zwischenraum zwischen einer Einspritzung und der nachfolgenden betrug einmal 3, einmal 4 Tage.

Die Einspritzungen haben nie lokale noch allgemeine Reaktionen hervorgerufen: Nur in einigen Fällen kam es bei mir vor, daß ich, da ich die Einspritzung allein machen wollte und kein freies Gewebe mehr an den Weichen fand, die Gegend der Schenkel zur Injektion auswählte, und daß dann der Einspritzung eine geringe lokale und allgemeine Reaktion folgte. Eine gleiche Erscheinung habe ich auch bei anderen Personen beobachtet, wüßte aber nicht, wie ich sie erklären sollte.

Was meinen Gesundheitszustand vor dem Beginn des Versuches anbetrifft, so kann ich nur erwähnen, daß er ausgezeichnet war. Leider wurden vor der Tuberkulinbehandlung keine serologischen Untersuchungen vorgenommen.

Gegen das Ende des Jahres 1907 habe ich für eine kurze Zeit die Einspritzungen wieder regelmäßig gemacht; dabei fing ich mit einer Dosis von 2 mg Tuberkulin an und stieg in kurzer Zeit bis auf 1,25 ccm.

Selbst diese enormen Tuberkulindosen, welche, soviel ich weiß, nie einem Menschen eingespritzt worden sind, haben bei mir nie irgend einen Uebelstand hervorgerufen. Abgesehen von einzelnen lokalen Verhärtungen des Gewebes und von einigen unbedeutenden Rötungen der Haut, hat bei mir das Tuberkulin, auch in den höchsten Dosen inokuliert, nie die geringsten Störungen verursacht.

Kann eine derartige Behandlung beim gesunden Menschen eine Wirksamkeit haben?

Da ich keine direkten Versuche resp. Untersuchungen anstellen konnte, habe ich einige indirekte Untersuchungen ausgeführt.

Vorläufig sind dieselben auf folgende Proben beschränkt:

- a) Prüfung des Agglutinationsvermögens,
- b) Prüfung der bakteriziden Eigenschaften,
- c) Untersuchung in bezug auf die Anwesenheit von durch Ablenkung des Komplements nachweisbaren Antikörpern.

Diese Proben bieten im besonderen Falle der Tuberkulose einige nicht unbedeutende technische Schwierigkeiten dar.

Ich beschränke mich hier auf einige wenige Angaben und behalte mir vor, die Protokolleinzelheiten später bei Veröffentlichung der vollständigen Arbeit zu beschreiben.

Zum Nachweis des Agglutinationsvermögens habe ich homogenisierte Tuberkulosekulturen angewendet und gleichzeitig Vergleichsproben mit Serum gesunder, nicht mit Tuberkulin behandelter Menschen ausgeführt. Ich habe bereits darauf hingewiesen, daß vor der Immunisierung keine Kontrollbestimmungen gemacht worden waren.

Bei der Agglutinationsprobe läuft man beim Tuberkelbacillus, auch bei Anwendung homogener Kulturen, Gefahr, grobe Fehler zu machen: Da aber der Ausgang der Probe ein negativer war, hat es keinen Zweck, daß ich hier dieselben erwähne. Die Versuche wurden mit vollem Serum und mit Verdünnungen 1:5, 1:10, 1:20, 1:50, 1:100 ausgeführt.

Auch bei der Untersuchung des bakteriziden Vermögens stößt man auf große Schwierigkeiten. Ich habe es mit Platten auf Serum versucht und dabei den Brutschrank feucht gehalten, um ein Austrocknen des Kulturbodens zu vermeiden; nichtsdestoweniger geben die Kulturen, abgesehen von einer eventuellen bakteriziden Wirkung, schlechte Resultate, stellenweise erweisen sich auch die Vergleichsplatten steril. Deshalb habe ich von der Plattenmethode Abstand genommen und bin einfach vorgegangen, wie folgt:

Die Verdünnungen meines Serums wurden mit einer Platinöse der homogenen Kultur von Tuberkulosebacillen infiziert, und die so bereiteten Suspensionen wurden 2—24 Stunden bei einer Temperatur von 30° C gelassen. Danach säte ich eine Platinöse der Suspension in große, Glycerinkartoffel enthaltende Roux'sche Röhren in der Weise, daß ich das Material auf den Kulturboden in der üblichen Weise ausstrich, nachdem ich die Oberfläche des letzteren etwas abgerieben hatte.

Ich habe darauf verzichtet, die Kolonien zu zählen, und mich darauf beschränkt, dieselben zu klassifizieren, indem ich die Entwicklung als eine sehr üppige, reichliche, schwache oder nicht stattgefunden bezeichnete.

Wie gesagt, bietet diese Methode nicht eine solche Genauigkeit dar, wie die Methode der Platten, welche gewöhnlich bei anderen Keimen angewendet wird. Jedenfalls konnte auch diese Methode, im Falle eines etwas starken bakteriziden Vermögens, annehmbare Angaben liefern.

Die Untersuchungen des bakteriziden Vermögens wurden mit unverändertem und mit inaktiv gemachtem Serum ausgeführt und mit vollem und mit auf $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{20}$ verdünntem Serum. Zum Vergleiche habe ich das Serum von zwei nicht mit Antituberkulin behandelten Menschen angewendet.

Zuletzt wurden auch Versuche in bezug auf die Komplementablenkung gemacht. Zu diesem Zwecke wurde einerseits als Antigen das durch 5-tägige Mazerierung bei 5° C aus Kulturen vom menschlichen Tuberkulosebacillus gewonnene Material und andererseits das inaktivierte Serum angewendet. Zur Bereitung des eben genannten Materials wurden die Kulturen gründlich in einem Mörser aus Achat zerstoßen und zerrieben, in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und dann zentrifugiert (es wurden zwei Stämme von Tuberkulosebacillen angewendet, einer von Král und der andere von Dr. Parodi herkommend, aus dem Institute für pathologische Anatomie, Vorstand: Prof. Foà). Als hämolitisches System wurden durch spezifisches Serum (von behandelten

Kaninchen herstammend) und Kaninchenkomplement sensibilisierte Schaferythrocyten angewendet.

Ich hatte Proben angestellt direkt auf Tuberkulin (als Antigen angewendet), habe sie aber dann verworfen, und zwar einerseits wegen der dunkeln Farbe des Tuberkulins und andererseits, weil letzteres schon ein schwaches spontanes, hämolytisches Vermögen besitzt, welches die Resultate der Versuche ändert. In der eben beschriebenen Weise habe ich zweimal Untersuchungen ausgeführt mit einem Zwischenraum von 14 Tagen und resp. 2 Monaten nach der letzten Tuberkulineinspritzung.

Ich werde hier nicht die analytischen Einzelheiten der Untersuchungen beschreiben, mit welchen ich mich in einer ausführlichen Weise in einem späteren Bericht aller einzelnen Proben beschäftigen werde, wenn es mir gelingen wird, die Untersuchungen des opsonischen Vermögens meines Serums zu vollenden. Vorläufig möchte ich mich auf einen kurzen Bericht meiner Beobachtungen beschränken:

1) Was das Auftreten von Agglutininen für den Tuberkelbacillus anbelangt, so hat mein Serum ein Agglutinationsvermögen aufgewiesen, welches nicht über eine Verdünnung von 1:10 stieg. Das beobachtet man auch, wie ich festgestellt habe, bei einzelnen normalen Seren. Dieses Agglutinationsvermögen ist übrigens auch bei größeren Konzentrationen des Serums ein inkonstantes und erreicht auch nur unbedeutende Werte (wenige Massen).

Ich kann also schließen, daß beim gesunden Menschen eine längere Zeit fortgesetzte Behandlung mit graduellen Einspritzungen von altem Kochschen Tuberkulin nicht das Auftreten von Agglutininen für den Kochschen Bacillus bedingt.

2) Mein Blutserum hat sowohl voll wie verdünnt ein bakterizides Vermögen aufgewiesen, welches nicht dasjenige des normalen Serums übertrifft, wenigstens nicht in einer merklichen Weise.

Eine immunisierende Behandlung mit Tuberkulin ist also nicht imstande, die bakteriziden Schutztätigkeiten des Organismus zu verstärken, wie ich übrigens aprioristisch angenommen hatte.

3) Hinsichtlich der Komplementablenkung hat dagegen mein Serum unzweifelhafte ablenkende Eigenschaften aufgewiesen. Es mußten also im Serum Antikörper für den Tuberkelbacillus vorhanden sein, welche imstande waren, sich mit dem Keime zu binden und das Komplement zu fixieren.

Dies stellt die interessanteste meiner Beobachtungen dar. Es beweist, daß das Tuberkulin tatsächlich die Fähigkeit besitzt, Antikörper für den Tuberkelbacillus zu erzeugen, und man könnte auch glauben, daß eine Behandlung mit Tuberkulin eine teilweise Immunität gegen den Tuberkelbacillus herbeiführt.

Ich will mich auf die beobachteten Tatsachen beschränken und keine weiteren Schlußfolgerungen ziehen. Wir wissen ja, daß das Agglutinationsvermögen, das bakterizide Vermögen und die durch die Ablenkung des Komplements nachgewiesene Anwesenheit von Antikörpern nur einige der Exponenten des immunisierenden Prozesses darstellen.

Es wäre schwierig, aus meinen Beobachtungen eine praktische Schlußfolgerung zu ziehen; auch könnte ich nicht mit Sicherheit behaupten, ob die Resultate meiner Versuche meine Ueberzeugung der Wirksamkeit resp. der Nützlichkeit der prophylaktischen Behandlung mit

Tuberkulin verstärkt haben. Aus den Proben geht hervor, daß unter der Wirkung des Tuberkulins im Organismus eine Reaktion stattfindet. Dafür spricht in einer unzweifelhaften Weise das Resultat der Probe in bezug auf Komplementablenkung (es handelt sich um einen einzigen Fall, es ist aber nicht leicht, andere gesunde Menschen zu finden, welche geneigt sind, der Wissenschaft zuliebe sich etwa 100 Tuberkulin-einspritzungen machen zu lassen).

Der Organismus verhält sich also gegenüber den Tuberkulin-einspritzungen nicht passiv und reagiert. Es müssen jedoch die bei dieser Reaktion erzeugten Substanzen eine sehr schwache Wirkung auf den Tuberkelbacillus entfalten (Abwesenheit des Agglutinationsvermögens und des bakteriziden Vermögens des Serums). Auf Grund des von mir Beobachteten glaube ich schließen zu können, daß man, wenn man der Tuberkulinbehandlung irgend einen Wert zuschreiben will, dieser Wert in den Grenzen der Auffassung beschränkt bleiben muß, von welcher ich ausgegangen bin, als ich meine Untersuchungen vornahm.

Vom praktischen Standpunkte könnte diese immunisierende Behandlung, wenn sie auch wirksam ist — der Nachweis des Antituberkulins und die Bestimmung des opsonischen Vermögens werden mir erlauben, mein Urteil zu bestätigen und seine Tragweite auszudehnen — keine ausgedehnte Anwendung finden, denn man muß bedenken, daß die Behandlung, wenn sie auch auf eine etappenweise Behandlung, auf nur 40—50 Einspritzungen reduziert würde, doch immer eine umständliche Methode darstellen würde.

Diese Resultate sollten jedoch die Veranlassung dazu geben, die Untersuchungen auf diesem Gebiete auf diejenigen Fälle auszudehnen (Assistenzpersonal der Sanatorien usw.), in welchen ein auch partieller Immunisierungsversuch gegen die Tuberkulose vollständig gerechtfertigt wäre.

Nachdruck verboten.

Immunisierende und lyssizide Wirkung des Cholesterins, Lecithins und verschiedener Lecithin enthaltender tierischer Teile.

[Hygienisches Institut der Königl. Universität Sassari.]

Von Prof. **Claudio Fermi.**

Nachdem ich in einer früheren Arbeit¹⁾ die gegen die Wut immunisierende Kraft der normalen Nervensubstanz der Ratte, des Schafes, des Kaninchens, des Ochsen, des Hundes usw. bewiesen hatte, blieb mir nur noch übrig, festzustellen, welchem der verschiedenen Bestandteile derselben diese Wirkung zugeschrieben werden muß. Ich gebe hier einen Ueberblick über die von mir angestellten Versuche:

1) Fermi, C., Normale Hirnschubstanz und antirabischer Impfstoff gegen Lyssa. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. Heft 5.)

A. Immunsierende Wirkung der Lipoldstoffe.

I. Immunsierende Wirkung des Aetherextraktes der normalen Nervensubstanz.

Ich unternahm diese Versuche, indem ich die vaccinierende Wirkung des Aetherextraktes der normalen Nervensubstanz des Ochsen prüfte.

Bekanntlich löst der Aether verschiedene Fettstoffe, wie z. B. das Lecithin, Cholesterin, Kephalin usw.

Der Kürze halber unterlasse ich die Beschreibung der Methode, nach welcher die erwähnten Extrakte zubereitet werden, und führe ohne weiteres die mit einer öligen Emulsion derselben vorgenommenen Versuche an:

Versuch 23. April 1907. 3 mit Straßenvirus infizierten Ratten werden subkutan 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, eine jede von 1 ccm, einer öligen Emulsion aus 5-proz. Aetherextrakt vom Hirn eines gesunden Ochsen gemacht.

Resultat: 2 dieser Tiere verenden nach 9 Tagen, aber nicht an Wut; das 3. weist am 4. Mai 9 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt an demselben Tage 8 Uhr nachm.

II. Immunsierende Wirkung der normalen Nervensubstanz, von welcher das Aetherextrakt gewonnen worden war.

Neben den mit Aetherextrakt angestellten Versuchen hielt ich es nicht für unnütz, auch die Nervensubstanz zu untersuchen, aus der das erwähnte Aetherextrakt gewonnen worden war. Da einmal das Aetherextrakt keine immunsierende Wirkung zeigte, blieb noch übrig, festzustellen, ob die erwähnte Wirkung eventuell in der rückständigen Nervensubstanz zurückgeblieben sei.

Zu diesem Zwecke nahm ich folgenden Versuch vor:

Versuch 23. April 1907. 3 schwarzen, subkutan mit Straßenvirus infizierten Ratten werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion vom Hirn eines gesunden Ochsen, aus dem das Aetherextrakt entnommen worden war, verabreicht.

Resultat: 1 der Tiere verendet nach 9 Tagen, aber nicht an Wut; ein anderes weist am 3. Mai 12 Uhr mittags Lähmung auf und stirbt an demselben Tage 6 Uhr abends; das 3. weist am 4. Mai 4 Uhr nachm. Lähmung auf, stirbt am 5. Mai 7 Uhr vorm.

Schlußfolgerung: Das Aetherextrakt der normalen Hirnschubstanz des Ochsen erweist sich als unwirksam, hingegen als sehr toxisch für Muriden. Auch dieselbe Hirnschubstanz des Ochsen, der das Aetherextrakt entnommen wurde, erwies sich inaktiv.

Was ist also aus der immunsierenden Kraft geworden, da sie sowohl aus dem Aetherextrakte wie aus der rückständigen Nervensubstanz verschwunden ist?

a) Man könnte annehmen, die immunsierende Kraft sei von der mit dem Aetherextrakte vereinigten Nervensubstanz und nicht von den beiden getrennten Bestandteilen gegeben.

b) Daß der Aether die immunsierende Kraft zerstört habe, indem er die Kombination der lipoiden Stoffe mit dem Zellplasma der Nervensubstanz umändert, oder direkt die Bestandteile der Nervensubstanz alteriert.

Dies werden spätere Versuche entscheiden, und zwar soll einerseits das wiederum mit der rückständigen Nervensubstanz vereinigte Aetherextrakt und andererseits die auf einige Zeit der Aethereinwirkung unterzogene Nervensubstanz untersucht werden.

III. Immunisierende Wirkung des Lecithins und des Cholesterins sowohl getrennt als miteinander kombiniert.

Diese beiden Fettstoffe wurden mir von der Firma Merck zuge-
stellt. Ich versuchte dieselben in Oelemulsion und in wässriger Ver-
teilung sowie in verschiedenen Konzentrationen, nämlich zu 5, 2,5, 2 und
1 Proz. Der Prozentsatz der in diesen Emulsionen enthaltenen Fettstoffe
ist, wie man sieht, bedeutend höher als jener der 4-proz. Emulsion der
Nervensubstanz, die von mir angewendet wurde.

Diese beiden Fettstoffe wurden auch zusammen versucht, um uns
immer mehr der Nervensubstanz zu nähern.

Die diesbezüglichen Versuche waren:

Lecithin 5-proz. Oelige Emulsion.

Versuch 23. April 1907. 3 weißen Ratten, die subkutan mit Straßenvirus
infiziert worden waren, werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von in Oel ge-
löstem 5-proz. Lecithin verabreicht.

Resultat: 2 von den Tieren verenden am 8. Mai, d. h. nach 15 Tagen, aus un-
bekannter Ursache; das 3. bleibt am Leben.

Kontrollversuch 23. April 1907. 2 weiße Mäuse werden subkutan mit Straßen-
virus infiziert.

Resultat: Die Tiere starben am 6. Tage an Wut.

Lecithin 2-proz. Wässrige Lösung.

Versuch 23. April 1907. 5 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse
erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, je $\frac{1}{4}$ ccm, einer mit Karbolsäure ver-
setzten 2-proz. Lecithinemulsion.

Resultat: 1 der Mäuse zeigt am 9. Mai 9 Uhr abends Lähmung und verendet
am 10. Mai 7 Uhr abends. Eine andere wird am 26. Mai 10 Uhr vorm. ohne Lähmung
tot aufgefunden; die übrigen 3 bleiben am Leben.

Kontrollversuch: 2 weiße Mäuse werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat: Die beiden Mäuse weisen am 3. Mai 9 Uhr vorm. Lähmung auf und
verenden am 4. Mai 8 Uhr vorm.

Lecithin 2-proz. Oelige Emulsion.

Versuch 11. Juni 1907. 5 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte
Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $\frac{1}{4}$ ccm einer öligen 2-proz.
Lecithinemulsion.

Resultat: 2 der Tiere weisen am 17. Juni 8 Uhr vorm. Lähmung auf und ver-
enden am 18. Juni 7 $\frac{1}{2}$ Uhr vorm.; eine 3. weist am 21. Juni 7 Uhr vorm. Lähmung
auf und verendet am 21. Juni 9 Uhr abends; eine andere weist am 21. Juni 9 Uhr
abends Lähmung auf und verendet am 22. Juni 7 Uhr vorm.; die 5. bleibt am Leben.

Lecithin 1-proz. Oelige Emulsion.

a) Mit Straßenvirus infizierte Tiere.

Versuch 20. April 1907. 3 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Mäuse
erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, je $\frac{1}{4}$ ccm, einer öligen 1-proz. Lecithin-
lösung.

Resultat: 1 der Mäuse stirbt nach 5 Tagen infolge unbekannter Ursache und
die anderen beiden bleiben am Leben. Sie lebten noch am 1. Sept. 1907.

Kontrollversuch 20. April 1907. 2 weiße Mäuse werden subkutan mit Straßen-
virus infiziert.

Resultat: Die Tiere zeigen am 3. Mai 9 Uhr vorm. Lähmung und sterben am
14. Mai 8 Uhr vorm.

b) Mit fixem Virus infizierte Tiere.

Versuch 20. April 1907. 3 weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse
erhalten 7 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm, einer öligen 1-proz.
Lecithinemulsion.

Resultat: 1 der Mäuse weist am 25. April 6 Uhr nachm. Lähmung auf und
verendet am 26. April 10 Uhr vorm.; eine andere zeigt am 26. April 8 Uhr vorm.
Lähmung und verendet an demselben Tage 8 Uhr nachm.; die 3. weist am 15. Mai
8 Uhr abends Lähmung auf und verendet am 16. Mai 8 Uhr abends, d. h. nach 27 Tagen
an Wut.

Cholesterin 5-proz. Oelige Emulsion.

Versuch 23. April 1907. 3 schwarze, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von in Oel gelöstem 5-proz. Cholesterin. Resultat: Die Tiere verenden nach 10 Tagen aus unbekannter Ursache (vielleicht durch Intoxikation).

Lecithin und Cholesterin 5-proz. Oelige Emulsion.

a) Mit Straßenvirus infizierte Tiere.

Versuch 24. April 1907. 3 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm, einer Mischung von öligem 5-proz. Lecithin- und Cholesterinemulsion.

Resultat: Die 3 Tiere bleiben am Leben; sie leben noch am 1. Sept. 1907.

b) Mit fixem Virus infizierte Tiere.

Versuch 24. April 1907. 3 weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm, einer Mischung aus gleichen Teilen öligem 5-proz. Lecithin- und Cholesterinemulsion.

Resultat: Die 3 Tiere bleiben am Leben; sie leben noch am 1. Sept. 1907.

Lecithin und Cholesterin 2-proz.

a) Mit Straßenvirus infizierte Tiere.

Versuch 13. März 1908. 10 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm, einer öligen Emulsion von einer Mischung (Lecithin 2 g, Cholesterin 2 g, Olivenöl 100 g, Thymol 0,1 g).

Resultat: 2 der Tiere sind am 27. März 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben am 28. März 7 Uhr vorm.; 2 andere sind am 30. März 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben an demselben Tage 7 Uhr abends. Die anderen 6 bleiben am Leben.

Der Prozentsatz der Ueberlebenden wäre also 60 Proz. gewesen.

Kontrollversuch 13. März 1908. 2 weiße Mäuse werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat: Die beiden Tiere sind am 27. März 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben am 28. März 7 Uhr vorm.

Versuch 24. Okt. 1907. 10 schwarze, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 15 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen einer öligen Mischung von Lecithin und Cholesterin nach folgender Formel: Lecithin 2 g, Cholesterin 2 g, Olivenöl 100 ccm.

Resultat: 3 der Tiere sind am 4. Nov. 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben an demselben Tage 6 Uhr abends; 2 andere sind am 10. Nov. 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben am 11. Nov. 7 Uhr vorm. Die übrigen 5 bleiben am Leben.

Man hatte also eine Sterblichkeit von 50 Proz.

Versuch 29. Jan. 1908. 7 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer öligen Mischung von Lecithin und Cholesterin (Lecithin 2 g, Cholesterin 2 g, Oel 100 ccm).

Resultat: 1 Maus wird am 13. Febr. 7 Uhr tot aufgefunden, die anderen bleiben am Leben.

Das aus unbekannter Ursache gestorbene Tier beiseite lassend, hätte die Mischung von Cholesterin und Lecithin zu 2 Proz. in dieser meiner zweiten Untersuchung 100 Proz. der Tiere gerettet. Der Durchschnittsprozentsatz der geretteten Tiere wäre in diesen beiden Versuchen mit der Mischung von Lecithin und Cholesterin 70 Proz.

b) Mit fixem Virus infizierte Tiere.

Versuch 14. März 1908. 7 weiße, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 7 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer öligen Emulsion von einer Mischung Lecithin und Cholesterin (Lecithin 2 g, Cholesterin 2 g, Olivenöl 100 ccm, Thymol 0,1 g).

Resultat: 1 Tier ist am 21. März 7 Uhr gelähmt und stirbt am 23. März 7 Uhr vorm.; ein anderes ist am 22. März 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am gleichen Tage 12 Uhr mittags. Die anderen 5 bleiben am Leben.

Der Prozentsatz der Ueberlebenden ist somit 71 Proz.

Versuch 11. Juni 1907. 5 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm, einer Mischung aus Lecithin und Cholesterin zu 2 Proz. in einer öligen Emulsion.

Resultat: 2 der Tiere weisen am 17. Juni 8 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden am 18. Juni 7 $\frac{1}{2}$ Uhr vorm.; ein 3. ist am 18. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 19. Aug. 7 Uhr vorm.; das 4. ist am 18. Aug. 7 Uhr vorm. gelähmt und verendet am 20. Aug. 7 Uhr vorm.; das 5. bleibt am Leben.

Kontrollversuch: 2 schwarze Mäuse werden subkutan mit fixem Virus infiziert.

Resultat: Die Tiere weisen am 17. Aug. 8 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 18. Aug. 7 Uhr nachm.

Schlußfolgerung: Aus dieser Reihe von Versuchen geht hervor:

1) Die Versuche mit Cholesterin und mit Lecithin in der Proportion von 5 Proz. in öliger Emulsion führten zu keinem Resultat.

In dieser Konzentration (5 Proz.) scheinen die beiden Lipoidstoffe etwas toxisch, denn fast alle Muriden verendeten innerhalb 5—10 Tagen, aber nicht an der Wut. Der Prozentsatz dieser Lipoidstoffe (5 Proz.) ist, wie gesagt, ungefähr 10mal höher als jener der Emulsion der 5-proz. normalen Nervensubstanz.

2) Die 1—5 proz. ölige Lecithinemulsion gab bessere Ergebnisse, da sie 7 von 8 (87 Proz.) mit Straßenvirus infizierte und nur 1 von 8 (12,5 Proz.) mit fixem Virus infizierte Tiere rettete. In diesen Emulsionen nähert sich der Gehalt an Lecithin und Cholesterin mehr dem der nervösen Substanz zu 5 Proz.

3) Ebenfalls wirksam scheint die Mischung des Lecithins und Cholesterins zu 2—5 Proz. zu sein, denn fast alle mit Straßenvirus 20 : 29 (70 Proz.) infizierte Tiere blieben am Leben. Von den mit fixem Virus infizierten Tieren wurde nur 1 von 5 (20 Proz.) bei einer 3-tägigen und 8 von 10 (80 Proz.) bei einer 7-tägigen Behandlung gerettet.

4) Es scheint, daß die Mischung der öligen Emulsion von Lecithin und Cholesterin zu 5 Proz. weniger toxisch sei als die beiden getrennt injizierten Emulsionen. Andere Versuche werden dies bestätigen.

IV. Immunisierende Wirkung der frischen und der getrockneten Eidotter.

Nachdem so die verschiedenen vom Organismus isolierten Fettstoffe versucht worden waren, war es nötig, auch einige organische Verbindungen zu versuchen, welche dieselben in großer Menge enthalten, wie z. B. Eidotter, Eiweiß, Bioplastin etc.

Bekanntlich enthält der Eidotter ungefähr 10 Proz. (3,41 Proz. Manasse) Lecithin. Da außerdem die zu stark konzentrierten Emulsionen dieser Substanz, subkutan injiziert, nicht leicht reabsorbiert werden, so versuchte ich dieselbe Konzentration, die bei der Nervensubstanzemulsion angewandt worden war, d. h. in einer Verdünnung von 5 Proz. mit Zusatz von 1 Proz. Karbolsäure. Die 5-proz. Eidotteremulsion enthielt somit ungefähr 0,5 Lecithin.

Immunisierende Wirkung des Eiweiß vom frischen Ei.

a) Mit Straßenvirus infizierte Tiere.

Versuch 1, 11. April 1907. 4 weißen, mit Straßenvirus subkutan infizierten Mäusen werden 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, je zu $\frac{1}{4}$ ccm, eines mit Karbolsäure versetzten Hühnereidotter zu 5 Proz. verabreicht.

Resultat: 1 der Tiere wird am 4. Mai tot aufgefunden, d. h. nach 25 Tagen, die 3 übrigen bleiben am Leben.

Kontrollversuch 11. April 1907. 2 weiße Mäuse werden mit Straßenvirus infiziert.

Resultat: Die beiden Tiere sind am 25. April 4 Uhr nachm. gelähmt und verenden am 26. April 8 Uhr vorm., d. h. nach 15 Tagen.

Versuch 2, 21. Juni 1907. 5 schwarzen, subkutan mit Straßenvirus infizierten Mäusen werden täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm, einer 5-proz. mit Karbolsäure versetzten Hühnereidotteremulsion verabreicht.

Resultat: 1 der Tiere ist am 1. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt und verendet am 1. Juli 10 Uhr vorm.; 1 anderes wird am 10. Aug. 7 Uhr vorm. tot aufgefunden; die übrigen bleiben am Leben.

Versuch 3, 24. Juli 1907. 7 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm, einer 5-proz. mit Karbolsäure versetzten Hühnereidotteremulsion. Im ganzen erhalten sie $7\frac{1}{2}$ ccm.

Resultat: Sämtliche Tiere bleiben am Leben.

Kontrollversuch: 2 weiße Mäuse werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat: Die Tiere sind am 8. Aug. 7 Uhr vorm. gelähmt und verenden am selben Tage 7 Uhr nachm.

Versuch 4, 1. Sept. 1907. 10 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $\frac{1}{4}$ ccm einer 5-proz. mit Karbolsäure versetzten Hühnereidotteremulsion.

Resultat: 2 Tiere werden am 10. Sept. 7 Uhr vorm. tot aufgefunden; 2 andere sind am 16. Sept. 7 Uhr vorm. gelähmt und verenden an demselben Tage 4 Uhr nachm. Die übrigen bleiben am Leben.

b) Mit fixem Virus infizierte Tiere.

Versuch 16. Juni 1907. 3 weiße, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm, einer 5-proz. mit Karbolsäure versetzten Eidotteremulsion. Im ganzen erhalten sie $1\frac{1}{2}$ ccm pro Tier.

Resultat: 1 Maus ist am 22. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und verendet am 24. Juni 4 Uhr nachm. Die beiden anderen sind am 23. Juni 7 Uhr nachm. gelähmt und verenden am 25. Juni 7 Uhr vorm.

Immunisierende Wirkung der getrockneten Eidotter.

Schon in einer anderen Arbeit hatte ich Gelegenheit, nachzuweisen, daß das Austrocknen die immunisierende Kraft der normalen wie auch der Wutnervensubstanz vermindert oder gänzlich aufhebt. Es war daher nicht ohne Interesse, auch zu versuchen, ob der Eidotter mit dem Austrocknen auch die immunisierende Wirkung gegen die Tollwut verlöre.

Zu diesem Zwecke trocknete ich 3 Tage lang auf Aetzkali bei einer Temperatur von 20° eine gewisse Menge von Eidotter, bereitete dann eine mit Karbolsäure versetzte 5-proz. Emulsion, die ich, wie folgt, versuchte:

Versuch 1. Sept. 1907. 10 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer 5-proz. mit Karbolsäure versetzten Emulsion von getrocknetem Eidotter.

Resultat: 1 Maus weist am 16. Sept. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 16. Sept. 11 Uhr vorm.; eine andere ist am 16. Sept. 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt an demselben Tage 8 Uhr vorm.; eine 3. ist am 17. Sept. 10 Uhr vorm. gelähmt und verendet am gleichen Tage 4 Uhr nachm.; eine 4. weist ebenfalls am 17. Sept. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet an demselben Tage 11 Uhr vorm.

Schlußfolgerung: Aus den verschiedenen, oben angeführten Versuchen ergibt sich:

1) Daß die vorher mit Straßenvirus infizierten und dann mit einer 5-proz., mit Karbolsäure versetzten Hühnereidotteremulsion behandelten Muriden fast alle am Leben blieben, nämlich 14 von 16, d. h. 87 Proz. Gänzlich unwirksam erwies sie sich hingegen gegen die subkutane Infektion mit fixem Virus.

2) Daß von 8 weißen, mit Straßenvirus infizierten und mit getrocknetem Eidotter behandelten Mäusen 6, d. h. 75 Proz., gerettet wurden.

3) Daß von den mit Straßenvirus subkutan infizierten Muriden wie gewöhnlich kein einziges gerettet wurde.

V. Immunisierende Wirkung des Eiweißes.

Da ich einmal den Hühnereidotter versucht hatte, hielt ich es für nicht unnütz, zwecks eines Vergleiches auch die immunisierende Wirkung des Eiweißes zu versuchen.

Versuch 1, 7. Mai 1907. 4 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm, einer 5-proz. mit Karbolsäure versetzten Hühnereiweißemulsion.

Resultat: 1 Maus wurde am 12. Mai, 2 andere am 16. resp. 17. Mai tot aufgefunden; die 4. bleibt am Leben.

Kontrollversuch 7. Mai 1907. 2 weiße Mäuse werden mit Straßenvirus subkutan infiziert.

Resultat: Die beiden Tiere sind am 21. Mai 7 Uhr vorm. gelähmt und verenden am 21. Mai 3 Uhr nachm.

Versuch 2, 1. Sept. 1907. 10 schwarze, subkutan mit Straßenvirus infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm, einer 15-proz. mit Karbolsäure versetzten Hühnereiweißemulsion.

Resultat: 2 Mäuse werden am 12. Sept. 10 Uhr vorm. tot aufgefunden; 3 andere weisen am 20. Sept. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden an demselben Tage 9 Uhr abends. Die anderen 5 bleiben am Leben.

Kontrollversuch 1. Sept. 1907. 3 schwarze Mäuse werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat: Die 3 Tiere weisen am 16. Sept. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden an demselben Tage 4 Uhr nachm.

Schlußfolgerung: Den ersten Versuch, der ungewisse Resultate lieferte, übergehend, sehen wir aus dem zweiten, daß von 8 mit Straßenvirus subkutan infizierten und dann 15 Tage hindurch (2 Einspritzungen subkutan täglich) mit Hühnereiweiß behandelten Mäusen 5 gerettet wurden, d. h. 62 Proz.

VI. Immunisierende Wirkung des Bioplastin-Lecithin (Serono).

Neben den mit Eidotter angestellten Versuchen wollte ich ebenfalls ein bekanntes, aus Eidotter hergestelltes Präparat versuchen, welches auch 10 Proz. Lecithin enthält, nämlich das sogenannte Bioplastin.

Dieses Präparat wurde in natürlicher Konzentration angewandt, während der Hühnereidotter in wässriger Emulsion zu 5 Proz. wie die normale Nervensubstanz angewandt wird.

Der Gehalt an Lecithin im Bioplastin (10 Proz.) war also 20mal stärker als jener des Eidotters.

Die angestellten Versuche sind folgende:

Versuch 1, 9. Febr. 1907. 1 schwarze, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratte erhält 10 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm Bioplastin; im ganzen 20 ccm.

Resultat: Das Tier ist am 20. Febr. 8 Uhr vorm. gelähmt und verendet am 21. Febr. 10 Uhr vorm.

Versuch 2, 9. Febr. 1907. 1 schwarze, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratte erhält 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm Bioplastin; im ganzen 30 ccm.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 3, 16. Juni 1907. 3 weiße, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse erhalten 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von $\frac{1}{4}$ ccm Bioplastin; im ganzen $1\frac{1}{2}$ ccm.

Resultat: 2 Mäuse sind am 21. Juni 8 Uhr nachm. gelähmt und verenden am 23. Juni 7 Uhr vorm.; die 3. weist am 1. Juli 7 Uhr vorm. Paralyse auf und verendet an demselben Tage 4 Uhr nachm.

Versuch 4, 21. Juni 1907. 5 schwarze, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von $\frac{1}{4}$ ccm Bioplastin; im ganzen erhält jedes Tier $7\frac{1}{2}$ ccm.

Resultat: 1 Maus ist am 1. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt um 10 Uhr desselben Tages; 1 andere weist am 8. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 9. Juli 7 Uhr vorm.; 2 andere werden am 10. Aug. 7 Uhr vorm. tot aufgefunden. Das 5. Tier bleibt am Leben.

Kontrollversuch 21. Juni 1907. 2 schwarze Mäuse werden mit Straßenvirus subkutan infiziert.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 1. Juli 6 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden an demselben Tage 12 Uhr mittags.

Versuch 5, 24. Juli 1907. 7 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von $\frac{1}{4}$ ccm Bioplastin; im ganzen erhält jedes Tier $7\frac{1}{2}$ ccm.

Resultat: 1 Tier wird am 28. Juli 10 Uhr vorm. tot aufgefunden, d. h. nach 4 Tagen; 1 anderes weist am 8. Aug. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 9. Aug. 12 Uhr mittags; die übrigen 5 bleiben am Leben.

Kontrollversuch: 2 weiße Mäuse werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat: Die Tiere sind am 8. Aug. 7 Uhr vorm. gelähmt und verenden am 8. Aug. 7 Uhr nachm.

Schlußfolgerung: Aus den oben mitgeteilten Versuchen ergibt sich:

1) Daß das Bioplastin (Serono) eine genügende immunisierende Wirkung gegen die Tollwut bei Muriden besitzt; von 13 mit Straßenvirus infizierten und mit demselben behandelten Tieren wurden 9 gerettet, d. i. 69 Proz. Man beachte außerdem, daß die anderen Tiere lange Zeit nachher und aus unbekanntem Gründen zugrunde gingen.

2) Die Kontrolltiere hingegen starben wie gewöhnlich alle ohne Ausnahme.

3) Das Bioplastin war folglich, obwohl, wie gesagt, es 20mal mehr Lecithin als die Emulsion von Hühnereidotter zu 5 Proz. besitzt, weniger wirksam als dieses; denn während in der Tat die Eidotteremulsion 87 Proz. der Muriden rettete, wurden mit Bioplastin nur 69 Proz. gerettet.

VII. Immunisierende Wirkung einer Mischung von Lecithin, Cholesterin und antirabischem Impfstoff gegen fixes Virus.

Zwecks Vermehrung der immunisierenden Wirkung des Antiwutimpfstoffes sowie jener der lipoiden Stoffe versuchte ich Mischungen von Lecithin und Hirnemulsion von mit antirabischem Impfstoff immunisierten Hunden mit normaler Nervensubstanz gegen eine fixe Virus-Infektion. Diese Mischungen wurden folgendermaßen zubereitet:

Lecithin Merck 2 g
mit Karbolsäure versetzte 5-proz. Emulsion von Hundehirn 100 „

Versuch 1, 8. Juni 1907. 1 schwarze Ratte, die mit fixem Virus subkutan infiziert worden war, wurden 3 Tage lang täglich 3 Einspritzungen von je 1 ccm obiger Mischung verabreicht.

Resultat: Das Tier blieb am Leben.

Versuch 2, 8. Juni 1907. 1 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte Ratte erhält 3 Tage lang täglich 3 Einspritzungen von je 1 ccm obiger Mischung, nur daß das Hirn des einen mit normaler Nervensubstanz vom Ochsen immunisiert worden war.

Resultat: Das Tier weist am 15. Juni 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 16. Juni 7 Uhr vorm.

Versuch 3, 8. Juni 1907. 1 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte Ratte erhält 3 Tage lang täglich 3 Einspritzungen von je 1 ccm einer Mischung von Cholesterin und Hirnemulsion von einem mit frischem fixem Virus immunisierten Hunde.

Resultat: Das Tier ist am 14. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und verendet am 26. Juni 7 Uhr vorm.

Versuch 4, 8. Juni 1907. 1 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte Ratte erhält 3 Tage lang täglich 3 Einspritzungen von je 1 ccm einer Mischung wie oben, nur daß das Hirn von einem Hunde stammte, der mit normaler Nervensubstanz vom Ochsen immunisiert worden war.

Resultat: Das Tier weist am 15. Juni 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 16. Juni 7 Uhr vorm.

Versuch 5, 8. Juni 1907. 4 schwarze Mäuse werden mit fixem Virus subkutan infiziert; dann erhalten 2 derselben 3 und 2 andere 2 Einspritzungen täglich von je $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung (zu gleichen Teilen) von 2-proz. Cholesterin und Lecithin und Hirnschubstanz von einem mit normaler und Wutnervensubstanz immunisierten Hunde. 2 Mäuse erhalten je $2\frac{1}{4}$ ccm, die beiden anderen $2\frac{1}{2}$ ccm.

Resultat: Die 4 Tiere weisen gleichzeitig mit einem Kontrolltier am 11. Juni 9 Uhr abends Lähmung auf und verenden am 12. Juni 7 Uhr vorm. mit Ausnahme von zweien, die 7 Uhr abends sterben.

Schlußfolgerung: Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Mischung von Lecithin, Cholesterin und antirabischem Impfstoff bei den Muriden vollständig unwirksam gegen die subkutane Infektion mit fixem Virus war, wenn nur 3 Tage lang 3 Injektionen täglich gemacht werden.

B. Immunisierende Wirkung des Serums der mit lipoiden Stoffen immunisierten Kaninchen.

Nach Abschluß des Studiums über die immunisierende Wirkung der auf subkutanem Wege injizierten lipoiden Stoffe hielt ich es nicht ohne Interesse, die immunisierende Wirkung des Blutes von Tieren zu bestimmen, die mit obigen Substanzen behandelt worden waren.

VIII. Immunisierende Wirkung des Serums von Kaninchen, die mit Aetherextrakt der normalen Nervensubstanz behandelt worden waren.

Ich begann mit der Immunisierung der Kaninchen, um dann zum Versuche des Serums zu schreiten.

a) Immunisierung der Kaninchen.

Versuch 1, 26. April 1907. 1 Kaninchen erhält 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von 2 ccm, einer öligen Lösung von 2-proz. Aetherextrakt von gesundem Ochsenhirn. 10 Tage später wird das Tier durch Verblutung getötet, um das Serum zu bereiten.

Versuch 2, 11. Mai 1907. 1 Kaninchen erhält 25 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von 2 ccm, einer öligen Emulsion von Aetherextrakt eines gesunden Ochsenhirns. Am 26. Juni wird das Tier in die Hornhaut mit fixem Virus infiziert.

Resultat: Am 28. Juni 10 Uhr vorm. weist das Tier Lähmung auf, um 4 Uhr wird es durch Verblutung getötet und mit dem Blute das Serum bereitet.

Versuch 3, 20. Juni 1907. 1 Kaninchen vom Gewicht von 1550 g erhält 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer 2-proz. öligen Emulsion von Aetherextrakt vom gesunden Ochsenhirn.

20 Tage nach der letzten Einspritzung wird das Tier durch Verblutung getötet und das Serum bereitet.

Nach dem Tode wog das Tier 1500 g.

b) Versuch der immunisierenden Wirkung des Serums.

Nachdem das Serum der mit Aetherextrakt behandelten Kaninchen hergestellt war, versuchte ich die Wirkung desselben an Muriden. Da es sich darum handelte, das Serum von Kaninchen, die mit normaler Nervensubstanz behandelt worden waren, zu vergleichen, so versuchte ich es an Muriden, die schon seit 6—8 Tagen mit Straßenvirus infiziert worden waren, denn auch nach dieser Zeit (nicht später) ist das Serum von Kaninchen, die mit normaler Nervensubstanz immunisiert worden waren, noch imstande, die erwähnten Tiere zu retten.

Versuch 1, 10. Juli 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten täglich 2 Einspritzungen von je $\frac{1}{4}$ ccm Serum von einem Kaninchen, das mit Ochsenhirn-Aetherextrakt immunisiert worden war. Die Einspritzungen genannten Serums werden 6 Tage nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die 3 Mäuse sind am 24. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt und verenden am 24. Juli zwischen 9 und 10 Uhr vorm.

Versuch 2, 10. Juli 1907. Voriger Versuch wird an anderen 3 Mäusen wiederholt, doch mit dem Unterschiede, daß die Serumeinspritzungen 8 Tage nach der Infektion begonnen werden.

Resultat: Sämtliche 3 Tiere werden am 24. Juli 7 Uhr vorm. paralysiert aufgefunden und verenden an demselben Tage 9 Uhr vorm.

IX. Immunisierende Wirkung des Serums von mit Lecithin und Cholesterin behandelten Kaninchen.

Wie bereits früher geschehen, wollen wir auch in diesem Falle die Versuche bezüglich der Serumbereitung mitteilen, um dann zu denen überzugehen, die sich auf das Studium der immunisierenden Wirkung dieses Serums beziehen.

a) Immunisierung der Kaninchen.

Versuch 1, 26. April 1907. 1 Kaninchen erhält 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm einer öligen 2-proz. Cholesterinemulsion. 10 Tage nach der letzten Einspritzung wird das Tier durch Verblutung getötet und das Serum bereitet.

Versuch 2, 20. Juni 1907. 1 Kaninchen vom Gewicht von 1550 g erhält 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 1 ccm einer 2-proz. öligen Cholesterinemulsion. 20 Tage nach der letzten Einspritzung wird das Tier durch Verblutung getötet und das Serum bereitet.

Das Tier wog 1700 g.

Versuch 3, 11. Mai 1907. 1 Kaninchen erhält 25 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm einer 2-proz. öligen Emulsion aus einer Mischung von Cholesterin und Lecithin. Am 20. Juni wird das Tier in die Hornhaut mit fixem Virus infiziert.

Resultat: Das Tier weist am 29. Juni Lähmung auf und wird am gleichen Tage durch Verblutung getötet und das Serum bereitet.

b) Versuch der immunisierenden Wirkung des Serums.

Versuch 1, 10. Okt. 1907. 3 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm, Serum von mit einer 2-proz. Mischung von Lecithin und Cholesterin in öliger Emulsion immunisierten Kaninchen. 6 Tage nach der Infektion werden die Einspritzungen vorgenommen.

Resultat: 1 Maus weist am 25. Juli 7 Uhr nachm. Lähmung auf und verendet am 25. Juli 4 Uhr nachm.; die beiden anderen bleiben am Leben.

Versuch 2, 10. Juli 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus infizierte Mäuse erhalten wie oben die Serum einspritzungen, die 8 Tage nach der Infektion begonnen werden.

Resultat: 1 Maus ist am 25. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt und verendet am selben Tage 4 Uhr nachm. Die anderen beiden bleiben am Leben.

Kontrollversuch: 2 weiße Mäuse werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 24. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 25. Juli 7 Uhr das eine, das andere 9 Uhr vorm.

X. Immunisierende Wirkung des Serums von Kaninchen, die mit Hühnereidotter behandelt worden waren.

a) Immunisierung der Kaninchen.

Zu diesem Zwecke wird eine 5-proz. Eidotteremulsion verwendet.

Versuch 1, 11. Mai 1907. 1 Kaninchen von 2100 g Gewicht erhält 25 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Eidotteremulsion; im ganzen erhält das Tier 100 ccm Flüssigkeit. Am 20. Juni wird es subkutan mit fixem Virus infiziert.

Resultat: Am 25. Juni 3 Uhr nachm. ist das Tier gelähmt und verendet am 26. Juni 7 Uhr vorm.

Versuch 2, 11. Mai 1907. 1 Kaninchen von 5300 g Gewicht erhält täglich 2 Einspritzungen von je 2 ccm einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Eidotteremulsion; im ganzen erhält es 100 ccm Flüssigkeit. Am 26. Juni wird das Tier mit fixem Virus in die Hornhaut infiziert.

Resultat: Am 28. Juni weist es Lähmung auf und wird sogleich behufs Zubereitung des Serums durch Verblutung getötet.

Kontrollversuch 21. Juni 1907. 1 Kaninchen wird in die Hornhaut mit fixem Virus infiziert.

Resultat: Das Tier weist am 26. Juni Lähmung auf und stirbt am 28. Juni 7 Uhr vorm.

b) Versuch des Serums.

Versuch 1, 10. April 1907. 3 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je $\frac{1}{4}$ ccm von Serum eines mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Hühnereidotteremulsion immunisierten Kaninchens. Die Einspritzungen werden 6 Tage nach der Infektion mit Straßenvirus vorgenommen.

Resultat: 2 Mäuse sind am 25. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben 4 Uhr nachm.; die 3. bleibt am Leben.

Versuch 2, 10. Febr. 1907. Die oben angegebenen Versuche werden an 3 anderen Mäusen wiederholt, indem die Einspritzungen 8 Tage nach erfolgter Infektion begonnen werden.

Resultat: 1 Maus weist am 25. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 25. Juni 4 Uhr nachm. Die beiden anderen bleiben am Leben.

Schlußfolgerung: Aus diesen 3 Versuchsreihen geht hervor:

1) Das Aetherextrakt, die Mischung von Lecithin und Cholesterin ebenso wie der Eidotter waren bei Kaninchen vollständig unwirksam gegen die Infektion in die Hornhaut mittels fixem Virus; selbst bei Verlängerung der

Behandlung auf 15—25 Tage gingen sämtliche Tiere an Wut zugrunde.

2) Das Serum von Kaninchen, die mit Aetherextrakt von normaler Nervensubstanz behandelt worden waren, erwies sich im Gegensatze zum Serum von Kaninchen, die mit der normalen Nervensubstanz selbst behandelt worden waren, als völlig unwirksam der subkutanen Infektion durch Straßenvirus gegenüber, die 6—8 Tage vorher stattgefunden hatte. Denn in der Tat starben alle Mäuse an Tollwut.

3) Das Serum von Kaninchen, die mit einer Mischung von Lecithin und Cholesterin behandelt worden waren, zeigte sich wirksamer als das Serum von Kaninchen, die mit Aetherextrakt behandelt worden waren, doch immer weniger als das mit normaler Nervensubstanz behandelte Kaninchen. In der Tat wurden von 3 Tieren 2 gerettet.

4) Das Serum von Kaninchen, die mit einer mit Karbolsäure versetzten Eidotteremulsion behandelt worden waren, zeigte ungefähr die gleiche Wirkung, wie das Serum von mit einer Mischung von Lecithin und Cholesterin behandelten Kaninchen.

XI. Immunisierende Wirkung einer Mischung von Serum und antirabischem Impfstoff unter Zusatz von Lecithin und Cholesterin.

Ich wollte ebenfalls die immunisierende Wirkung folgender Mischung versuchen:

a) Serum von einem Pferde, das mit einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion von fixem Virus, $12\frac{1}{2}$ ccm, immunisiert worden war.

b) Serum von einem wie oben immunisierten ($12\frac{1}{2}$ ccm) Hunde.

c) Serum vom Hirn eines Kaninchens, das mit einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion von fixem Virus (25 ccm) immunisiert worden war.

d) Lecithin, 2 ccm.

e) 1-proz. Karbolsäure, 20 ccm.

Sodann versuchte ich die Wirkung dieser Mischung, indem ich die Injektionen 48, 72 und 84 Stunden nach der Infektion mit fixem Virus begann.

Versuch 1, 28. Mai 1907. 2 schwarze, subkutan mit fixem Virus infizierte Ratten erhalten 3 Tage lang täglich 3 Einspritzungen, jede von 1 ccm, obiger Mischung. Die Injektionen werden 48 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: 1 Ratte ist am 5. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt 7 Uhr nachm., d. h. 9 Tage später; die andere bleibt am Leben.

Versuch 2, 28. Mai 1907. Derselbe Versuch wird an 2 anderen Ratten wiederholt und zwar werden die Einspritzungen 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: 1 Ratte ist am 6. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und verendet am 7. Juni 5 Uhr nachm.

Versuch 3, 28. Mai 1907. Der Versuch wird noch einmal wiederholt, indem die Einspritzungen 84 Stunden nach der Infektion vorgenommen werden.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 2. Juni 8 Uhr abends Lähmung auf und verenden am 5. Juni 7 Uhr vorm.

Schlußfolgerung: Diese Versuche zeigen, daß die Mischung von Serum und antirabischem Vaccin ihre immunisierende Wirkung durch Zusatz von Lecithin und Cholesterin steigert. Denn mit dieser Mischung wäre es gelungen, auch einige Ratten zu retten, selbst wenn die Einspritzungen 48—72 Stunden nach der Infektion mit fixem Virus vor-

genommen wurden. Obige Behandlung blieb natürlich erfolglos, wenn die Einspritzungen 84 Stunden nach der Infektion stattfanden.

C. Lyssizide Wirkung der lipoiden Stoffe in vitro.

Nachdem ich einmal eine immunisierende Wirkung der Lipoidsubstanzen gegen die Tollwut festgestellt hatte, blieb mir nur noch übrig, zu entscheiden, ob besagte Wirkung in einer die Wut direkt vernichtenden bestehe.

Obwohl mir dies sehr unwahrscheinlich schien, da ich bisher unter den zahlreichen von mir versuchten Antiseptics noch keines gefunden hatte, welches fähig war, die Tiere selbst unter Einspritzung derselben nach kaum 15 Minuten nach vorgenommener Infektion zu retten, hielt ich es dennoch für zweckmäßig, experimentell diese Frage klarzulegen.

Hierzu wurde ich außerdem durch eine kürzlich von Dr. Almagia in dem Bulletin der R. Accad. Medica zu Rom veröffentlichten Mitteilung über die Neutralisierung des fixen Virus in vitro durch Cholesterin bewegt.

Verf. bereitete die Mischung [1-proz. hydroalkoholische Emulsion und fixes Virus (die Proportionen sind nicht angegeben)], brachte sie auf 2—3 Stunden in eine Temperatur von 37° und inokulierte mit derselben 4 Kaninchen subdural. Die Tiere sind im Gegensatz zu den Kontrolltieren alle am Leben geblieben.

Die Bedeutung dieser Tatsache bewog mich, eine ziemliche Anzahl von Versuchen bezüglich dieser Frage anzustellen.

Da es zweifelhaft war, ob die neutralisierende Wirkung der hydroalkoholischen Cholesterinemulsion Almagias mehr dem Alkohol als dem Cholesterin zuzuschreiben sei, bereitete ich meine Emulsionen entweder in Oel oder direkt mit Emulsion von fixem Virus. Die versuchten Konzentrationen der lipoiden Stoffe, die Proportion der Mischung der Lipoidstoffe mit dem fixen Virus, die Dauer des Kontaktes sowie die Temperatur, in der die Mischung gehalten wurde, wurden verschiedentlich versucht.

Lyssizide Wirkung des Lecithins. Temperatur 20°. Dauer des Kontaktes 30 Minuten.

Versuch 2. Juni 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer aus 1 ccm Emulsion von fixem Virus 1:10 und 0.5 ccm 2-proz. Lecithin bestehenden Mischung eingespritzt. Diese Mischung war 30 Minuten lang in einer Temperatur von 20° gewesen.

Einer anderen Maus wurde $\frac{1}{4}$ ccm derselben Mischung, die außerdem 1.0 ccm Lecithin enthielt, eingespritzt; eine 3. Maus erhielt eine Einspritzung derselben Mischung mit 1.5 ccm Lecithin.

Resultat: Die 3 Mäuse werden gleichzeitig am 8. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt aufgefunden, von ihnen stirbt eine am 9. Juni, die andere am 10. Juni und die 3. am 12. Juni, alle zwischen 6—7 Uhr vorm.

Kontrollversuch 2. Juni 1907. 2 schwarze Mäuse werden mit $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung von 5 ccm fixem Virus 1:10 und 1.5 ccm Olivenöl injiziert.

Resultat: 1 Maus weist am 6. Juni 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am 7. Juni 4 Uhr nachm.; die 2. ist am 8. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und verendet am 9. Juni 9 Uhr abends.

Lyssizide Wirkung des Cholesterins. Temperatur 20°. Dauer des Kontaktes 30 Minuten.

Versuch 2. Juni 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung von fixem Virus 1:10 und 0.5 ccm 2-proz. Cholesterin eingespritzt. Die Mischung war 30 Minuten lang in einer Temperatur von 20° gewesen.

Einer 2. Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung eingespritzt, die 1.0 ccm Cholesterin enthält, eine 3. erhält eine Einspritzung von einer Mischung mit 1.0 ccm Cholesterin.

Resultat: Die 3 Mäuse werden gleichzeitig am 8. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt aufgefunden, 1 stirbt am gleichen Tage 8 Uhr nachm., 1 andere am 9. Juni 7 Uhr vorm. und die 3. am 10. Juni 7 Uhr vorm.

**Lyssizide Wirkung des Lecithins. Temperatur 37°.
Dauer des Kontaktes 3 Stunden.**

Versuch 11. Juni 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer aus 1 ccm Emulsion von fixem Virus 1:10 und 0,5 ccm 2-proz. Lecithin bestehenden Mischung eingespritzt. Diese Mischung war 3 Stunden lang in einer Temperatur von 37° aufbewahrt worden.

Eine andere Maus erhielt eine Einspritzung von $\frac{1}{4}$ ccm derselben Mischung, jedoch mit 1,0 ccm Lecithin, eine 3. eine Mischung mit 1,5 ccm.

Resultat: 2 Mäuse sind am 20. Juni 10 Uhr vorm. gelähmt und sterben am selben Tage 9 Uhr abends, die 3. ist am 23. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und verendet am 24. Juni 7 Uhr vorm.

**Lyssizide Wirkung des Cholesterins. Temperatur 37°.
Dauer des Kontaktes 3 Stunden.**

Versuch 15. Juni 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer aus 1 ccm Emulsion von fixem Virus 1:10 und 0,5 ccm 2-proz. Cholesterin bestehenden Mischung eingespritzt. Diese Mischung war 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 37° aufbewahrt worden. Eine 2. Maus erhielt eine Einspritzung derselben Mischung, aber mit 1,0 ccm Cholesterin, und eine 3. mit 1,5 ccm Cholesterin.

Resultat: 2 Mäuse sind am 20. Juni 8 Uhr vorm. gelähmt und verenden am 21. Juni 9 Uhr abends; die 3. weist am 22. Juni 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 23. Juni 9 Uhr abends.

Lyssizide Wirkung einer Mischung von Lecithin und Cholesterin. Temperatur 37°. Dauer des Kontaktes 3 Stunden.

Versuch 15. Juni 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung von 1 ccm einer Emulsion von fixem Virus 1:10 und 0,5 ccm einer 2-proz. Lecithin- und Cholesterinmischung eingespritzt. Diese Mischung war 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 37° aufbewahrt worden. 1 anderen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm derselben Mischung mit 1,0 ccm Lecithin und Cholesterin und einer 3. dieselbe Mischung mit 1,5 ccm Lecithin und Cholesterin eingespritzt.

Resultat: 1 Maus ist am 16. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 20. Juni 7 Uhr vorm. Die beiden anderen weisen am 20. Juni 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verenden am 23. Juni, die eine 8 Uhr vorm. und die andere 9 Uhr abends.

Kontrollversuch 15. Juni 1907. 1 schwarzen Maus wird eine Mischung von 1 ccm fixem Virus 1:10 und 1,5 ccm Olivenöl eingespritzt.

Resultat: Das Tier ist am 19. Juni 6 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 20. Juni 7 Uhr vorm.

**Lyssizide Wirkung des Lecithins. Temperatur 20°.
Dauer des Kontaktes 24 Stunden.**

Um die Frage besser entscheiden zu können, verlängerte ich die Dauer des Kontaktes auf 24 Stunden.

Versuch 16. Juni 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer aus 1 ccm Emulsion von fixem Virus 1:10 und 0,5 ccm einer öligen 2-proz. Lecithinemulsion bestehenden Mischung eingespritzt. Dieselbe war 24 Stunden lang bei einer Temperatur von 20° aufbewahrt worden. 1 andere Maus erhielt $\frac{1}{4}$ ccm derselben Mischung mit 1,0 ccm Lecithin.

Eine 3. Maus erhielt $\frac{1}{4}$ ccm derselben Mischung mit 1,5 ccm Lecithin.

Resultat: 1 der Mäuse bleibt am Leben (0,5 ccm Lecithin), die beiden anderen weisen am 24. Juni 7 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben 7 Uhr vorm.

**Lyssizide Wirkung des Cholesterins. Temperatur 20°.
Dauer des Kontaktes 24 Stunden.**

Versuch 16. Juni 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer aus 1 ccm öliger Emulsion von fixem Virus 1:10 und 0,5 ccm einer öligen Emulsion von 2-proz. Cholesterin bestehenden Mischung eingespritzt. Diese Mischung war 24 Stunden lang bei einer Temperatur von 20° aufbewahrt worden.

1 andere Maus erhielt 1 ccm derselben Mischung mit 1,0 ccm Cholesterin; eine 3. dieselbe Mischung mit 1,5 ccm Cholesterin.

Resultat: 1 Maus (1,0 ccm Cholesterin) bleibt am Leben; 1 andere ist am 22. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 24. Juni 9 Uhr abends; die 3. ist am 23. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 24. Juni 8 Uhr abends.

Lyssizide Wirkung einer Mischung von Lecithin und Cholesterin. Temperatur 20°. Dauer des Kontaktes 24 Stunden.

Versuch 16. Juni 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer aus 1 ccm Emulsion von fixem Virus 1:10 und 0,5 ccm einer 2-proz. Mischung von Lecithin und Cholesterin eingespritzt. Diese Mischung war 24 Stunden lang bei einer Temperatur von 20° aufbewahrt worden. 1 andere Maus erhält $\frac{1}{4}$ ccm derselben Mischung jedoch mit 1,0 ccm Lecithin und Cholesterin. Eine 3. dieselbe Mischung mit 1,5 ccm.

Resultat: 1 Maus ist am 20. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 22. Juni 7 Uhr vorm.; 1 andere ist am 24. Juni 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 25. Juni 7 Uhr vorm.; die 3. (1,5 ccm Lecithin und Cholesterin) bleibt am Leben.

Kontrollversuch 16. Juni 1907. 1 schwarze Maus wird mit $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung von 1 ccm Emulsion von fixem Virus 1:10 und 1,5 ccm Olivenöl infiziert.

Resultat: Am 20. Juni 10 Uhr vorm. ist das Tier paralytisiert und stirbt am 21. Juni 9 Uhr vorm.

Lyssizide Wirkung des Lecithins und Cholesterins, direkt mit fixem Virus emulsioniert. Temperatur 37°. Dauer des Kontaktes 3 Stunden.

Im Zweifel, ob das Oel die Wirkung der Lipoidstoffe aufheben könne, dachte ich sie direkt mit frischem fixen Virus zu emulsionieren.

Lecithin.

Versuch 6. Juli 1907. 2 schwarzen Mäusen wird subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus 0,5 g Lecithin und 3 ccm 1-proz. Emulsion von fixem Virus bestehenden Mischung eingespritzt. Die Mischung war 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 37° aufbewahrt worden.

Resultat: Die 2 Mäuse sind am 12. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben am 13. Juli 7 Uhr vorm.

Cholesterin.

Versuch 6. Juli 1907. 2 schwarze Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus 0,5 g Cholesterin und 3 ccm 1-proz. Emulsion von fixem Virus bestehenden Mischung. Dieselbe war 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 37° aufbewahrt worden.

Resultat: 1 Maus ist am 14. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 15. Juli 9 Uhr vorm.; die andere bleibt am Leben.

Lypoidstoffe: Wirkung des Lecithins und Cholesterins, direkt mit fixem Virus emulsioniert. Temperatur 20°. Dauer des Kontaktes 24 Stunden.

Lecithin.

Versuch 7. Juli 1907. 2 schwarze Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus 0,5 g Lecithin und 3 ccm 1-proz. Emulsion von fixem Virus bestehenden Mischung. Dieselbe war 24 Stunden bei einer Temperatur von 20° aufbewahrt worden.

Resultat: 1 Maus ist am 14. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 15. Juli 9 Uhr vorm.; die andere bleibt am Leben.

Cholesterin.

Versuch 7. Juli 1907. 2 Mäuse erhalten subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer aus 0,5 g Cholesterin und 3 ccm 1-proz. Emulsion von fixem Virus bestehenden Mischung. Dieselbe war 24 Stunden lang bei einer Temperatur von 20° aufbewahrt worden.

Resultat: Die beiden Mäuse weisen am 13. Juli 10 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben 4 Uhr nachm.

Kontrollversuch: 2 Mäuse werden mit fixem Virus subkutan infiziert.

Resultat: Die Tiere weisen am 12. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 13. Juli 10 Uhr vorm.

Lyssizide Wirkung von Eidotter, Eiweiß und Bioplastin.

Zwecks Vervollständigung der Frage wollte ich auch die wuttötende Wirkung obiger Substanzen versuchen.

Eidotter.

Versuch 17. Juli 1907. 1 schwarze Maus erhält subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung von 1 ccm fixem Virus 1:10 und 1 ccm Eidotter. Die Mischung blieb 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 37°. 1 andere Maus erhielt eine Einspritzung von $\frac{1}{4}$ ccm derselben Mischung mit 2 ccm Eidotter.

Resultat: Die beiden Mäuse sind am 23. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt, eine stirbt am 24. Juli 8 Uhr vorm., die andere am 25. Juli 7 Uhr vorm.

Eiweiß.

Versuch 17. Juni 1907. 1 schwarze Maus erhält subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung von 1 ccm fixem Virus 1:10 und 1 ccm Hühnereiweiß, welche 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 37° gehalten wurde. 1 andere Maus erhielt dieselbe Mischung, nur daß dieselbe 2 ccm Eiweiß enthielt.

Resultat: Die 2 Mäuse weisen am 25. Juni 7 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 26. Juni 7 Uhr vorm.

Bioplastin.

Versuch 17. Juni 1907. 1 schwarze Maus erhält subkutan $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung von 1 ccm fixem Virus 1:10 und 1 ccm Bioplastin, nachdem die Mischung 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 37° gehalten worden war. 1 andere Maus erhielt die gleiche Mischung mit 2 ccm Bioplastin.

Resultat: Die 2 Mäuse sind am 25. Juni paralysiert und zwar die eine 4 Uhr nachm., die andere 7 Uhr vorm., und sterben am 26. Juni 7 Uhr vorm.

Schlußfolgerung: Das Lecithin, Cholesterin sowie Eidotter, Eiweiß und Bioplastin sind aller Wirkung in vitro beraubt. In der Tat erwiesen sich diese Substanzen nicht nur in öliger Emulsion, sondern auch direkt mit fixem Virus emulsiert unwirksam, selbst wenn der Kontakt auf 3 Stunden bei einer Temperatur von 37° oder auf 24 Stunden bei einer Temperatur von 20° ausgedehnt wurde.

In dem Bulletin der R. Accad. Medica zu Rom. Bd. XXXIV. Heft 5 erwiderte Dr. Almagia folgendes:

Auf Seite 14 liest man: „Fermi änderte wesentlich die Versuchsbedingungen. In der Tat, während ich eine hydroalkoholische Cholesterinsuspension anwandte und die Einspritzungen an Kaninchen subdural vornahm, benutzte Fermi ölige Lösungen und führte die Einspritzungen bei Mäusen subkutan aus.“

Auch diese anderen Bemerkungen sind haltlos:

1) In diesem Falle handelte es sich nicht darum, die Methode Almagias einer Kontrolle zu unterziehen, sondern zu entscheiden, ob das Cholesterin eine wuttötende Kraft besitzt oder nicht; um diese Frage zu entscheiden, war es wohl unumgänglich notwendig, daß wir uns seiner Methode bedienen. Wenn nun dieselbe falsch wäre oder wenn eine bessere bestände? Konnte vielleicht der dem Cholesterin zugefügte Alkohol nicht irgend einen Zweifel bezüglich des Wertes der erzielten Resultate wachrufen?

Die Erwärmung auf 60—65° genügt nicht, um den Alkohol aus der schwachen Alkoholsuspension des Cholesterins zu vertreiben. Aus einigen von Dr. Repetto angestellten Versuchen wurde hervorgehoben, daß leichte Alkohollösungen zu 20 Proz. nach einer 10 Minuten langen Erhitzung auf 65° noch 18 Proz. Alkohol und nach 1 Stunde noch 10 Proz. enthalten.

Almagia hätte Recht gehabt, die Befolgung seiner Methode zu beanspruchen, wenn er, anstatt die wuttötende Wirkung des Cholesterins zu proklamieren, diejenige des Cholesterins + Alkohol, auf 65° erwärmt, angezeigt hätte.

Vollständig falsch ist die Behauptung, daß ich nur mit öligen Cholesterinlösungen die Versuche gemacht habe, und begreife ich in der Tat nicht, wie Almagia auf eine so irrierte Behauptung gekommen sein kann. Er möge nur meine im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907 veröffentlichte vorläufige Mitteilung gut durchlesen, um sich zu überzeugen, daß ich auch die wuttötende Wirkung des reinen, direkt im fixen Virus emulsierten Cholesterins versucht habe (was sehr leicht gelingt); ja er würde sogar sehen, daß ich die Wirkung von 3 Stunden

(wie auch Almagia tat) auf 24 Stunden verlängerte und trotzdem stets ein negatives Resultat erhielt.

Einen anderen Fehler hätte ich Almagia nach begangen, indem ich die Einspritzungen subkutan anstatt subdural ausführte.

Doch sollte sich Almagia nicht vielmehr über diesen Irrtum freuen? Denn wenn ich dies getan, habe ich mich vielleicht nicht in für ihn sehr günstige Bedingungen ausgesetzt? Ist es wohl jemand unbekannt, daß das Wutvirus schwerer auf subkutanem Wege als auf subduralem tötet? Wer begreift nicht, daß, wenn jenes mit Cholesterin behandelte Virus seine Virulenz noch auf subkutanem Wege behält, es dieselbe umsomehr behalten müsse, wenn es auf subduralem Wege eingespritzt wird?

Als meinen letzten Fehler betrachtet er endlich, daß ich das Virus an Mäusen anstatt an Kaninchen probiert habe.

Auf diesen Punkt will ich nicht weiter eingehen und glaube, daß auch Almagia, wenn er darüber nachdenkt, nicht darauf bestehen wird, denn er weiß sehr wohl, daß gewöhnlich die subkutan, besonders mit römischem fixen Virus eingespritzten Mäuse stets weniger empfänglich sind, als die subdural behandelten Kaninchen, daß folglich die Ersetzung dieser Tiere meinerseits nicht zu meinem Schaden, wohl aber zu meinem Vorteile geschehen ist.

Zum Schlusse erinnere ich noch daran, daß vor kurzem Marie im Pasteurschen Institut zu Paris diese Versuche bezüglich der wuttötenden Wirkung des Cholesterins wiederholte und wörtlich sagt: *La cholé- stérine et la lécithine se sont montrées sans action sur le virus fixe in vitro.*

D. Lyssizide Wirkung des Serums von Kaninchen, die mit lypoiden Stoffen immunisiert worden waren, im Vergleich mit jener des Serums von Kaninchen, die mit normaler Nervensubstanz immunisiert worden waren.

Eine Frage von nicht geringerer Bedeutung schien mir das Studium der wuttötenden Wirkung des Serums von mit den verschiedensten Lypoidstoffen immunisierten Tieren zu sein.

Die diesbezüglich unternommenen Versuche waren:

a) Serum von Kaninchen, die mit Aetherextrakt immunisiert worden waren.

Versuch 2. Juli 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung von 1 ccm Emulsion von fixem Virus 1:500 und 0,05 ccm Serum von Kaninchen, die mit einer öligen Emulsion von Aetherextrakt von gesundem Ochsenhirn immunisiert worden waren, injiziert.

Eine 2. Maus erhält dieselbe Einspritzung mit der gleichen Mischung, die jedoch 0,1 ccm des erwähnten Serums enthält. Eine 3. Maus wird in derselben Weise behandelt, nur daß die Mischung 0,2 ccm Serum enthält.

Resultat: 2 Mäuse sind am 9. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben am 10. Juli 7 Uhr vorm.; die 3. bleibt am Leben.

b) Serum von mit Lecithin- und Cholesterinserum immunisierten Tieren.

Versuch 2. Juli 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung von 1 ccm Emulsion von fixem Virus 1:500 und 0,05 ccm Serum von einem Kaninchen, das mit einer Mischung von 2-proz. Lecithin und Cholesterin immunisiert worden war, eingespritzt. Die Mischung war 3 Stunden lang bei einer Temperatur von 20° aufbewahrt worden.

1 anderen Maus wurde die gleiche Mischung eingespritzt, nur daß dieselbe 0,1 ccm erwähnten Serums enthielt. Eine 3. Maus wurde in derselben Weise behandelt, nur enthielt die Mischung 0,2 ccm Serum.

Resultat: 2 Mäuse sind am 8. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben am 10. Juli 7 Uhr vorm. Die 3. ist am 10. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 11. Juli 5 Uhr nachm.

c) Mit Hühnereidotter immunisierte Kaninchen.

Versuch 2. Juli 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung von 1 ccm Emulsion von fixem Virus 1:500 und 0,05 ccm Serum von Kaninchen, die mit 5-proz. Hühnereidotter immunisiert worden waren, eingespritzt. Die Mischung wurde 3 Stunden lang bei 20° gehalten. 1 andere Maus erhielt eine gleiche Einspritzung mit derselben Mischung, die jedoch 0,1 ccm genannten Serums enthielt; 1 Maus wurde in derselben Weise behandelt, nur daß die Mischung 0,2 ccm Serum enthielt.

Resultat: 2 Mäuse wiesen am 8. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet die eine am 9., die andere am 10. Juli 10 Uhr vorm. Die 3. bleibt am Leben.

Serum von Kaninchen, die mit normaler Nervensubstanz immunisiert worden waren.

Um die lyssizide Wirkung des Serums von Tieren, die mit Lypoidstoffen immunisiert worden waren, mit jener des Serums von Tieren, die mit normaler Nervensubstanz immunisiert worden waren, zu vergleichen, stellte ich folgende Versuche an:

Versuch 2. Juli 1907. 1 schwarzen Maus wird $\frac{1}{4}$ ccm einer aus 1 ccm Emulsion von fixem Virus 1:600 und 0,05 ccm Serum vom Kaninchen, das mit einer 5-proz. Emulsion von frischem gesunden Kaninchenhirn immunisiert worden war, bestehenden Mischung eingespritzt. Ein 2. Kaninchen erhält eine ähnliche Einspritzung, aber mit 0,1 ccm des obigen Serums, und ein 3. eine mit 0,2 ccm Serum.

Resultat: Alle 3 Mäuse bleiben am Leben.

Kontrollversuch: 3 schwarze Mäuse werden mit einer Emulsion 1:500 von fixem Virus subkutan infiziert.

Resultat: Sämtliche Tiere werden am 8. Juli 7 Uhr vorm. gelähmt aufgefunden und sterben am 10. Juli 7 Uhr vorm.

Schlußfolgerung: 1) Das Serum von Kaninchen, die mit einer Mischung von Lecithin und Cholesterin immunisiert worden waren, erwies sich aller Wirkung der Lipoidstoffe beraubt. In der Tat gingen sämtliche mit einer Mischung des erwähnten Serums und fixem Virus injizierten Tiere an Wut zugrunde.

2) Das Serum von Kaninchen, die mit Eidotter immunisiert worden waren, zeigte nur eine leichte und zweifelhafte lyssizide Wirkung. Nur 1 von 3 mit einer Mischung des genannten Serums und fixem Virus injizierten Tieren ging an Wut zugrunde.

3) Man kann daher den Schluß ziehen, daß das Serum von mit obigen Lipoidstoffen immunisierten Tieren keine oder fast keine lyssizide Wirkung besitzt; jedenfalls ist dieselbe geringer als die des Serums von Tieren, die mit normaler Nervensubstanz immunisiert worden waren. In der Tat blieben alle mit einer Mischung genannten Serums und fixem Virus injizierten Tiere am Leben.

E. Bakterientötende Wirkung der Lipoidstoffe.

Um dieses Studium zu vervollständigen, wollte ich auch versuchen, was übrigens sehr unwahrscheinlich ist, ob die Lipoidstoffe auch eine bakterientötende Wirkung besäßen.

Zu diesem Zwecke stellte ich folgende Versuche an:

Zu 20 ccm Glycerinagar fügte ich 0,5 g Lecithin Merck, was 2,5 Proz. entsprach, sodann wiederholte ich dasselbe Verfahren mit Cholesterin, goß den Inhalt der beiden Agarröhrchen in eine Petri-Kapsel und führte dann auf erstarrtem Agar eine Strichimpfung der verschiedenen zu untersuchenden Mikroorganismen aus. Die Kapseln

wurden in eine Temperatur von 35° gebracht und nach 4 Tagen erhielt ich folgendes Resultat¹⁾:

Mikroorganismenarten	2,5-proz. Cholesterin	2,5-proz. Lecithin
Staphylococcus pyogenes aureus	++	++
Micrococcus tetragenus septicus	++	++
Sarcina lutea	++	—
Bacillus typhi	—	—
Bacillus paratyphi	+++	+++
Bacillus anthracis	—	+++
Bacillus subtilis	++	—
Vibrio cholerae	+	+
Vibrio Massauah	+	+
Bacillus diphtheriae	?	?
Saccharomyces albus	+	+
Penicillium glaucum	++	++

Zusammenfassung der erhaltenen Resultate und Erwägungen. Zur Bequemlichkeit des Lesers fassen wir die erhaltenen Resultate kurz zusammen, indem wir die nötigen Erwägungen hinzufügen. Aus dieser an 210 Tieren vorgenommenen Arbeit ergibt sich folgendes:

1) Sowohl das Aetherextrakt der Hirnsubstanz als auch die vom Aetherextrakt befreite Substanz selbst zeigen sich (so geht wenigstens aus dieser ersten Reihe von Versuchen hervor) der immunisierenden Wirkung gegen die Tollwut bar. Jene Substanzen wiesen hingegen eine Art Giftigkeit auf. Es erübrigt der experimentelle Nachweis, ob das Verschwinden der immunisierenden Wirkung durch die Trennung der verschiedenen Bestandteile der Nervensubstanz oder durch die Alteration einiger derselben oder durch ihre Verbindung mittels des Aethers zu erklären sei. Jedenfalls kommen wir später auf diese Frage zurück.

2) Aktiver zeigte sich die 1—2-proz. Emulsion von Lecithin, denn sie rettete 12,5 Proz. der mit fixem Virus infizierten Muriden und 86 Proz. der mit Straßenvirus infizierten. Man beachte, daß bei diesen Emulsionen der Gehalt an Lecithin und Cholesterin sich mehr der 5-proz. Emulsion der Nervensubstanz näherte.

3) Es scheint, daß die in der Emulsion organischer Stoffe enthaltenen Lipidstoffe besser vertragen werden. Das Bioplastin, welches 10 Proz. Lecithin enthält, wird besser vertragen als das 5-proz. Lecithin.

4) Ebenfalls wirksam scheint die Mischung von 2-proz. und 5-proz. Lecithin und Cholesterin zu sein, denn 70 Proz. der mit Straßenvirus infizierten Muriden bleiben am Leben. Von den mit fixem Virus infizierten Muriden wurde nur 1 von 5 (20 Proz.) bei einer 3-tägigen und 8 von 10 (80 Proz.) bei einer 7-tägigen Behandlung gerettet.

5) Die mit Karbolsäure versetzte 5-proz. Emulsion von frischem Hühnereidotter erwies sich sehr wirksam; 81 Proz. der subkutan mit Straßenvirus infizierten Muriden wurden gerettet.

Gänzlich unwirksam erwies sie sich hingegen gegen die subkutane Infektion mit fixem Virus.

6) Es scheint, daß das Austrocknen ebenfalls (wie dies bei der normalen Nervensubstanz der Fall war) die immunisierende Wirkung des Eidotters, obwohl in geringerem Grade, vermindert. Die Zahl der mit getrocknetem Eidotter behandelten Tiere sank von 81 Proz. auf 75 Proz.

1) Die verschiedenen in der Tabelle enthaltenen Zeichen geben, wie man leicht versteht, die verschiedenen Entwicklungsgrade der Kulturen an.

7) Auch das Bioplastin Sero no besitzt eine ziemlich starke immunisierende Wirkung gegen die Tollwut: 69 Proz. der subkutan mit Straßenvirus infizierten und mit demselben behandelte Mäuse wurden gerettet.

Auch diese Substanz erwies sich vollständig inaktiv gegen die subkutane Infektion mit fixem Virus, wenn die Tiere mit derselben nur für 3 Tage behandelt werden.

8) Zu meiner Ueberraschung hatte das Hühnereiweiß eine gewisse immunisierende Wirkung bewiesen, da es gelang, 62 Proz. der subkutan mit Straßenvirus infizierten Tiere zu retten. Weitere Forschungen werden noch angestellt, um den Beweis für diese Tatsache zu liefern.

9) Die Mischung von Lecithin, Cholesterin und antirabischem Impfstoff zeigte sich ebenfalls unwirksam der subkutanen Infektion mit fixem Virus gegenüber, wenn die Behandlung mit dieser Substanz auf 3 Tage beschränkt wird.

10) Um die immunisierende Wirkung der verschiedenen Lipoidstoffe untereinander und mit dem Vaccin (5-proz. frisches fixes Virus) zu vergleichen, gebe ich nachstehend den Prozentsatz der am Leben gebliebenen Tiere an.

a) Vorher mit Straßenvirus subkutan infizierte Tiere.

1) Vaccin (frische 5-proz. normale oder Wutnervenssubstanz)	gerettet	100	Proz.
2) Lecithin	"	86	"
3) Frischer Eidotter	"	81	"
4) Getrockneter Eidotter	"	75	"
5) Mischung von Cholesterin und Lecithin	"	70	"
6) Bioplastin	"	67	"
7) Frisches Hühnereiweiß	"	62	"
8) Cholesterin	"	11	"

b) Vorher mit fixem Virus subkutan infizierte Tiere.

1) Mischung von Cholesterin und Lecithin 2—5 Proz.	gerettet	80	Proz.
2) Lecithin	"	12,5	"
3) Vaccin (frische 5-proz. normale oder Wutnervenssubstanz)	"	0	"

Diese Tabelle ergibt:

11) Daß das antirabische Vaccin wirksamer ist als alle Lipoidstoffe, die gegen das Straßenvirus experimentiert wurden, und daß es hingegen minderwertiger war als dieselben gegen fixes Virus. Denn von den mit Straßenvirus infizierten Muriden rettete das Vaccin 100 Proz., während das Lecithin nur 86 Proz. rettete; bei den mit fixem Virus infizierten Tieren hingegen, während das Vaccin gänzlich unwirksam war, rettete das Lecithin noch 12,5 Proz. und die Mischung Lecithin und Cholesterin 80 Proz. der behandelten Muriden. Noch fehlt die Erklärung, wie es kommt, daß die Lipoidstoffe das Vaccin bei den mit fixem Virus infizierten Tieren übertreffen, während sie alle demselben bei den mit Straßenvirus infizierten nachstanden.

12) Daß unter den lipoiden Stoffen der wirksamste gegen eine Straßenvirusinfektion das Lecithin gewesen ist, indem es 86 Proz. der Muriden rettete, nach diesem käme der frische Eidotter (81 Proz.), dann der getrocknete Eidotter (75 Proz.), dann die Mischung von Cholesterin und Lecithin mit 70 Proz.; das Bioplastin mit 69 Proz., Hühnereiweiß mit 62 Proz. und Cholesterin mit 11 Proz. Folglich wäre das Cholesterin der weniger wirksame der experimentierten lipoiden Stoffe. Gegen eine fixe Virusinfektion dagegen war die Mischung Lecithin und Cholesterin (70 Proz.) aktiver als das Lecithin (12,5 Proz.) gewesen.

Wenn alle Säugetiere auf subduralem Wege durch die Tollwut infiziert werden können, so lassen sich doch nicht alle mittels Anti-

wutsera und Impfstoffe gleichwohl immunisieren. Folglich können Sera, Impf- und Lipoidstoffe, welche den Muriden gegenüber eine immunisierende Kraft besitzen, den Kaninchen und Hunden gegenüber sehr wohl (wie man an anderer Stelle sehen kann) unwirksam sein. Deshalb wundere sich Almagia nicht, wenn es ihm nicht gelungen ist, Kaninchen mit Cholesterin zu immunisieren.

13) Woher stammt die immunisierende Kraft der normalen Nervensubstanz? Nicht vom bloßen Lecithin- und Cholesteringehalt, denn, wie wir bereits gesehen, besitzen diese Substanzen, vereint wie getrennt eingespritzt, eine immunisierende Wirkung gegenüber dem Straßenvirus, die schwächer ist als jene der normalen Nervensubstanz. Diese besitzt eine immunisierende Wirkung, die ungefähr 9mal stärker ist als jene des Cholesterins und das Lecithin und auch die Mischung von Lecithin und Cholesterin übertrifft. Wir werden daher auf den Gedanken gebracht, daß eine starke Beteiligung der anderen Bestandteile der Nervensubstanz und besonders anderer lipoiden Stoffe, wie Protagon, Cerebroside, Cerebrinoside, Cerebrine und Zellplasma etc. in ihren verschiedenen mehr oder weniger stabilen Verbindungen stattfindet. Man kennt in der Tat z. B. verschiedene Arten von Lecithin, das distarische, das dipalmitische, das dioleische, je nach der Fettsäure, die damit verbunden ist.

Wenn die immunisierende Wirkung nur in den lipoiden Stoffen läge, so dürfte dieselbe nicht verschwinden, wie es doch geschieht, sobald die Nervensubstanz einer Temperatur von 75° während 15 Minuten, dem Magensaft, der Wirkung von Aether, ja sogar einem kurzen und einfachen Austrocknen ausgesetzt wird.

Aus meinen früheren Versuchen ergibt sich, daß von 28 subkutan mit Straßenvirus infizierten Tieren, die täglich 2 Einspritzungen (15 Tage lang) von einer Emulsion aus normaler oder Wutnervensubstanz, welche bei oben erwähnter Temperatur gehalten worden war, empfangen hatten, alle ohne Ausnahme mit den Kontrolltieren zugrunde gingen.

Wäre die immunisierende Wirkung nur mit dem Lecithin und dem Cholesterin verbunden, so dürfte sie nicht fehlen in solchen Organen, die sehr reich an Lecithin sind, wie z. B. die Testikel, und noch weniger dürfte sie in der normalen Nervensubstanz einiger Tiere fehlen, wie sich dies besonders aus meinen Versuchen mit der Hirnsubstanz von Vögeln, Reptilien und Fischen und selbst mit der weißen und grauen Hirnsubstanz von Säugetieren, wenn diese beiden Stoffe getrennt injiziert werden, ergibt.

Würde alles nur von dem Lecithin abhängen, so könnte die Nervensubstanz nicht bis zu einer Emulsion von 1 : 10000 und 1 : 20000 wirksam sein; in diesem Falle würde sich das Lecithin in der enormen Verdünnung von ungefähr 1 : 100000 befinden, während wir gesehen haben, daß dieser Stoff schon bei 1 Proz. viel von seiner Wirkung verloren hat.

Endlich erwähne ich, daß auch die neutralisierende Wirkung des botulinischen Giftes nach Kempner und Schepilewsky¹⁾ größer wäre bei der Nervensubstanz als bezüglich des getrennten Cholesterins und Lecithins und daß die antitetanische Wirkung der Nervensubstanz je nach der Gattung der Tiere, der sie angehört, veränderlich ist. Nach Metschnikoff²⁾, Blumenthal³⁾, Askawa⁴⁾ fehlt sie in der

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. 1898. p. 212.

2) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898. p. 81 u. 263.

3) Dtsche med. Wochenschr. 1898. p. 185.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. 1898. p. 166 u. 234.

Hirnschubstanz bei Hühnern und Fröschen, ja nach Metschnikoff wäre die antitetanische Wirkung nur der Nervenschubstanz der Säugetiere eigen.

14) Das Serum von Kaninchen, die mit Aetherextrakt normaler Nervenschubstanz behandelt wurden, zeigte sich im Gegensatz zum Serum von Kaninchen, die mit frischer normaler Nervenschubstanz immunisiert worden waren, vollständig wirkungslos gegen die subkutane Infektion mit Straßenvirus, die 6–8 Tage vor der Behandlung hervorgerufen worden ist; alle Mäuse starben an Tollwut.

15) Das Serum von Kaninchen, die mit einer Mischung von Lecithin und Cholesterin behandelt wurden und das Serum von Kaninchen, die mit Eidotter behandelt worden waren, erwies sich wirksamer, denn 1–2 von 3 Tieren wurden gerettet.

Folglich zeigte sich das Serum von Kaninchen, die mit Lipoidschubstanz behandelt worden waren, weniger aktiv als das Serum von Kaninchen, die mit normaler Nervenschubstanz immunisiert worden waren.

16) Der Zusatz von Lecithin und Cholesterin scheint ein wenig die immunisierende Wirkung der Mischung von Serum und Antiwutvaccin zu vermehren, denn mit dieser Mischung war es gelungen, einige Ratten von der subkutanen Infektion durch fixes Virus zu retten, selbst 48 bis 72 Stunden nach der Infektion; beim Beginn der Behandlung hingegen, 84 Stunden nach der Infektion, erzielte man vollständig negative Resultate.

17) Das Lecithin, Cholesterin, Eidotter und Hühnereiweiß sowie Bioplastin haben keine in vitro wuttötende Wirkung; nicht nur in öliger Emulsion, sondern auch mit fixem Virus emulsiert, auch wenn der Kontakt dieser Schubstanzen mit dem Virus auf 3 Stunden bei einer Temperatur von 37° oder auf 24 Stunden bei einer Temperatur von 20° verlängert wird¹⁾.

18) Das Serum von Kaninchen, die mit einer Mischung von Lecithin und Cholesterin immunisiert worden waren, erwies sich ohne wuttötende Wirkung, denn sämtliche mit einer Mischung dieses Serums und fixem Virus injizierte Tiere erlagen der Tollwut.

19) Das Serum von Kaninchen, die mit Eidotter behandelt worden waren, zeigte nur eine leichte wuttötende Wirkung, denn nur 1 der 3 mit einer Mischung von fixem Virus und Serum behandelten Tiere blieb am Leben.

Wir können also schließen, daß sich das Serum von Tieren, die mit Lipoidstoffen behandelt worden waren, ohne oder fast ohne wuttötende Wirkung erweist, jedenfalls war die Wirkung geringer als die des Serums von Kaninchen, die mit normaler Nervenschubstanz immunisiert worden waren.

20) 2,5-proz. Cholesterin und Lecithin erwiesen sich vollständig ohne bakterientötende Wirkung, da alle versuchten Mikroorganismen entwickelten sich fast gleich auf beiden erwähnten Schubstanzen.

1) Cholesterin und Lecithin wurde neuerdings auch durch Marie ohne lyssizide Wirkung gefunden (Compt. rend. de la soc. de biol. 1907. p. 1187. 29 juin).

Nachdruck verboten.

Ueber den sonderbaren Unterschied, der zwischen der antirabischen Wirkung der Hirnsubstanz in toto und jener der weissen und der grauen Substanz getrennt besteht.

[Hygienisches Institut der Königl. Universität Sassari.]

Von Prof. **Claudio Fermi.**

Nach dem Nachweis der hervorragenden immunisierenden Wirkung der normalen Nervensubstanz gegen die Tollwut verschiedener Klassen von Tieren und nach der Untersuchung, welchen der verschiedenen Bestandteile die Nervensubstanz die oben erwähnte immunisierende Kraft verdankt, wollte ich die antirabische Wirkung der verschiedenen Teile des cerebros spinalen Nervensystems studieren. Zu diesem Zwecke untersuchte ich den Unterschied der normalen und der Wutnervensubstanz gleichzeitig an dem Nervensystem gesunder und wutkranker Tiere, indem ich mit der weissen und der grauen Substanz einzeln und zusammen experimentierte.

Meine Forschungen wurden in folgender Weise angestellt:

Die weisse und die graue Hirnsubstanz werden genau getrennt, dann wird von jeder eine 5-proz. Emulsion bereitet. Mit 2 getrennten und gemischten Emulsionen zu gleichen Teilen werden 3 Gruppen von Tieren (Muriden), die mit Straßenvirus subkutan infiziert worden waren, immunisiert.

Gehen wir ohne weiteres zu den Versuchen über.

I. Antirabische Wirkung der normalen weissen und grauen Hirnsubstanz vom Menschen getrennt und vereinigt.

Erste Versuchsreihe.

a) Immunisierende Wirkung der weissen Hirnsubstanz vom Menschen.

Versuch 10. Dez. 1907. 5 weisse, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion von der weissen Substanz eines gesunden Menschenhirns.

Resultat: 2 der Tiere sind am 23. Dez. 4 Uhr nachm. gelähmt und sterben am 24. Dez. 7 Uhr vorm.; die anderen 3 sind am 24. Dez. um 7 Uhr gelähmt; von diesen verendet eine am 24. Dez. 7 Uhr abends, die beiden anderen am 25. Dez. 7 Uhr vorm.

Folglich hat die weisse Hirnsubstanz sich ohne jede immunisierende Wirkung erwiesen.

b) Immunisierende Wirkung der grauen Hirnsubstanz vom Menschen.

Versuch 10. Dez. 1907. 5 weisse, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion grauer Substanz von einem gesunden Menschenhirn.

Resultat: 2 der Tiere sind am 23. Dez. 4 Uhr nachm. gelähmt und sterben am 24. Dez. 7 Uhr vorm.; ein anderes ist am 24. Dez. 4 Uhr nachm. gelähmt und stirbt am 25. Dez. 7 Uhr vorm.; die beiden anderen sind am 25. Dez. 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben 7 Uhr nachm.

Kontrollversuch: 2 schwarze Ratten werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat: Die Tiere sind am 21. Dez. 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben am 23. Dez. 4 Uhr nachm.

Folglich ist auch die graue Hirnsubstanz ohne jede immunisierende Wirkung.

Zweite Versuchsreihe.

a) Immunisierende Wirkung der weißen Hirnsubstanz vom Menschen.

Versuch 10. Jan. 1908. 5 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion von weißer Hirnmasse eines gesunden Menschen.

Resultat: 2 Tiere sind am 22. Jan. 4 Uhr nachm. gelähmt und verenden am 24. Jan. 7 Uhr abends; ein 3. ist am 24. Jan. 7 Uhr nachm. gelähmt und verendet am 26. Jan. 4 Uhr nachm.; das 4. ist am 26. Jan. 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 27. Jan. 7 Uhr vorm.; das letzte ist am 28. Jan. 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt 7 Uhr abends.

Auch in diesem Versuche besaß somit die weiße Hirnsubstanz keine immunisierende Wirkung.

b) Immunisierende Wirkung der grauen Hirnsubstanz vom Mensch

Versuch 10. Jan. 1908. 5 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion von grauer Hirnsubstanz eines gesunden Menschen.

Resultat; 1 der Tiere wird am 21. Jan. 7 Uhr vorm., d. h. nach 11 Tagen, tot aufgefunden; 1 anderes ist am 22. Jan. 4 Uhr nachm. gelähmt und stirbt am 24. Jan. 8 Uhr abends; ein 3. ist am 24. Jan. 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 27. Jan. 7 Uhr vorm.; die beiden letzten sind am 27. Jan. um 7 Uhr gelähmt und sterben am 28. Jan. 7 Uhr vorm.

Mithin ist auch in diesem Falle die immunisierende Wirkung der grauen Hirnsubstanz negativ gewesen.

c) Immunisierende Wirkung der weißen und grauen Hirnsubstanz gemischt.

Versuch 10. Jan. 1908. 5 weiße Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen (à 1 ccm) einer Mischung zu gleichen Teilen von obigen beiden Emulsionen der grauen und der weißen Hirnsubstanz.

Resultat: 1 der Ratten ist am 20. Febr. 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 21. Febr. 7 Uhr vorm. Die anderen bleiben am Leben.

Folglich hat die weiße und die graue Hirnsubstanz gemischt 80 Proz. der Tiere gerettet.

Kontrollversuch 10. Jan. 1908. 2 weiße Ratten werden mit demselben Virus subkutan infiziert.

Resultat: Beide Tiere sind am 21. Jan. 4 Uhr nachm. gelähmt und verendet das eine am 23. Jan. 7 Uhr vorm., das andere um 8 Uhr.

Schlußfolgerung: Während die Mischung der normalen weißen und der grauen Hirnsubstanz vom Menschen eine starke immunisierende Wirkung zeigt, so daß sie 80 Proz. der Tiere rettete, waren die weiße und die graue Substanz, getrennt angewandt, vollständig inaktiv, denn sämtliche mit der einen oder der anderen Substanz immunisierten Tiere gingen zugrunde.

II. Immunisierende Wirkung der weißen und der grauen Hirnsubstanz vom wutkranken Hunde, getrennt und gemischt angewandt.

Erste Versuchsreihe.

a) Immunisierende Wirkung der weißen Hirnsubstanz vom wutkranken Hunde.

Versuch 2. Febr. 1908. 5 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion von weißer Hirnsubstanz eines wutkranken Hundes.

Resultat: 1 der Ratten wird am 10. Febr., d. h. nach 8 Tagen, tot aufgefunden; 2 andere sind am 13. Febr. 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben am 15. Febr. 7 Uhr vorm.; 1 andere ist am 16. Febr. 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 17. Febr. 7 Uhr vorm. Die 5. bleibt am Leben.

Folglich zeigt sich auch die weiße Hirnsubstanz vom wutkranken Hunde fast ohne immunisierende Wirkung, denn 80 Proz. der mit derselben behandelten Tiere gehen zugrunde.

b) Immunisierende Wirkung der grauen Hirnsubstanz vom wutkranken Hunde.

Versuch 2. Febr. 1908. 5 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion grauer Hirnsubstanz eines wutkranken Hundes.

Resultat: 2 Tiere sind am 13. Febr. 7 Uhr nachm. gelähmt und sterben am 15. Febr. 7 Uhr vorm. Die anderen 3 bleiben am Leben.

Auch die graue Hirnsubstanz von einem wutkranken Hunde zeigt somit eine schwache immunisierende Wirkung, da es nur gelang, 60 Proz. der Tiere zu retten.

c) Immunisierende Wirkung der weißen und grauen Hirnsubstanz eines wutkranken Hundes, gemischt verabreicht.

Versuch 2. Febr. 1908. 5 weiße Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von 1 ccm, einer Mischung zu gleichen Teilen der beiden erwähnten Emulsionen von weißer und grauer Hirnsubstanz.

Resultat: 1 der Ratten ist am 16. Febr. 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 17. Febr. 7 Uhr vorm. Die anderen bleiben am Leben.

Auch die Mischung der weißen und der grauen Wutsubstanz zeigt also eine starke immunisierende Wirkung, sie rettete 80 Proz. der Tiere.

Kontrollversuch 2. Febr. 1908. 2 weiße Ratten werden mit Straßenvirus wie oben infiziert.

Resultat: Die beiden Tiere sind am 16. Febr. 7 Uhr vorm. gelähmt und verenden am 17. Febr. 7 Uhr vorm.

Zweite Versuchsreihe.

a) Weiße Hirnsubstanz vom wutkranken (fixes Virus) Hunde.

Versuch 6. März 1908. 5 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von 1 ccm, einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion weißer Rindenssubstanz von einem durch fixes Virus gestorbenen Hunde.

Resultat: 1 Tier ist am 21. März 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt um 5 Uhr nachm.; 2 andere zeigen am 22. März 7 Uhr vorm. Lähmung; 1 derselben stirbt am gleichen Tage um 12 Uhr mittags und das andere am 23. März 7 Uhr vorm. Das 4. ist am 23. März 4 Uhr nachm. gelähmt und stirbt am 24. März 5 Uhr nachm. Die letzte ist am 26. März 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 27. März 7 Uhr vorm.

Die Sterblichkeit wäre somit 100 Proz.

b) Graue Hirnsubstanz.

Versuch 6. März 1908. 5 weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von 1 ccm einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion von grauer Rindenssubstanz eines an fixem Virus verstorbenen Hundes.

Resultat: 3 Tiere sind am 21. März 7 Uhr vorm. gelähmt und die beiden anderen 6 Uhr nachm. Das 1. stirbt am gleichen Tage 5 Uhr nachm., das 2. um 7 Uhr vorm. und das 3. um 4 Uhr nachm. Die beiden letzten sind am 23. März 7 Uhr vorm. paralysiert und sterben am selben Tage.

Man hatte also eine Sterblichkeit von 100 Proz.

c) Weiße und graue Substanz gemischt.

Versuch 6. März 1908. 6 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen, jede von 1 ccm, einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion einer Mischung zu gleichen Teilen von weißer und grauer Rindenssubstanz eines an fixem Virus gestorbenen Hundes.

Resultat: 1 Ratte ist am 17. März 10 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 18. März 7 Uhr abends; 1 andere ist am 21. März 6 Uhr abends gelähmt und stirbt am 23. März 7 Uhr vorm. Die anderen 4 bleiben am Leben.

Der Prozentsatz der Ueberlebenden ist somit 60 Proz. ungefähr.

Schlußfolgerung: Aus diesen zwei Versuchsreihen ergibt sich 1) daß, während die weiße und die graue Hirnsubstanz eines wutkranken Hundes (fixes Virus) eine starke immunisierende Wirkung aufweist, indem sie

70 Proz. der Tiere rettet, es mit der weißen und der grauen Substanz, getrennt verabreicht, nicht gelang, mehr als 10 resp. 30 Proz. der mit Straßenvirus subkutan infizierten Muriden zu retten.

2) Daß die Mischung der beiden Hirnsubstanzen sich gleichförmig verhält, ohne Unterschied, ob es sich um normale oder Wuts Substanz handelt. Das geringe Uebergewicht, das die beiden Substanzen vom wutkranken Tiere getrennt aufgewiesen haben gegenüber denen vom gesunden Tiere, muß noch durch weitere Versuche bestätigt werden.

III. Antirabische Wirkung der weißen und der grauen Hirnsubstanz, von denen die eine am Morgen und die andere am Abend getrennt injiziert werden.

Versuch 6. März 1908. 5 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von 1 ccm einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion, die eine von weißer Rindensubstanz am Morgen und die andere von grauer Rindensubstanz am Abend.

Resultat: 2 Ratten sind am 21. März 6 Uhr nachm. gelähmt und sterben am 23. März 4 Uhr nachm.; eine 3. ist am 22. März 6 Uhr nachm. gelähmt und stirbt am 23. März 7 Uhr vorm.; die anderen bleiben am Leben.

Der Prozentsatz der Ueberlebenden war somit 40 Proz.

IV. Antirabische Wirkung der weißen und der grauen Hirnsubstanz, die 7 Tage lang getrennt injiziert werden.

Versuch 6. März 1908. 5 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 2 Einspritzungen von 1 ccm einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion weißer Rindensubstanz während der ersten 7 Tage und grauer Rindensubstanz während der anderen Tage.

Resultat: 1 Ratte ist am 24. März 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 25. März 7 Uhr vorm.; die andere ist am 25. März 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt um 7 Uhr nachm.; die anderen bleiben am Leben.

Der Prozentsatz der Ueberlebenden war somit ungefähr 60 Proz.

Kontrollversuch 6. März 1908. 2 weiße Ratten werden mit Straßenvirus subkutan infiziert.

Resultat: Die beiden Tiere sind am 19. März 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben am 21. März 7 Uhr vorm.

Schlußfolgerung: 1) Während das immunisierende Vermögen der Mischung der weißen und der grauen Hirnsubstanz gleich 70 Proz. (Prozentsatz der geretteten Muriden) war, fiel es auf 40 Proz., wenn die weiße Substanz am Morgen und die graue am Abend 15 Tage lang demselben Tiere injiziert wurde, und wurde auf 60 Proz. reduziert, wenn 7 Tage lang die weiße und 7 Tage lang die graue Substanz eingespritzt wurde.

2) Es scheint also, daß das immunisierende Vermögen vermindert wird, auch wenn die beiden Substanzen demselben Tiere, aber getrennt injiziert werden.

V. Immunisierende Wirkung des Serums von Hunden und Kaninchen, die mit weißer und grauer Substanz getrennt wie gemischt immunisiert worden waren.

A. Hundeserum.

a) Serum von einem mit weißer, normaler Menschenhirns Substanz immunisierten Hunde.

Versuch 22. Jan. 1908. 2 weiße, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen von $\frac{1}{4}$ ccm Serum von einem Hunde,

der mit einer 5-proz., mit Karbolsäure versetzten Emulsion von weißer Menschenhirnsubstanz immunisiert worden war; im ganzen erhielt jede Maus 1,5 ccm Serum. Die Injektionen werden 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 27. Jan. 1 Uhr nachm. Lähmung auf und verenden am 28. Jan. 7 Uhr vorm.

Versuch 22. Jan. 1908. 2 schwarze, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse erhalten 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm Serum, von einem mit der oben angegebenen Emulsion von weißer Hirnsubstanz immunisierten Hunde. Jede Maus erhält 2 ccm Serum; die Einspritzungen werden 48 Stunden nach erfolgter Infektion begonnen.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 27. Jan. 1 Uhr nachm. Lähmung auf und verenden am 28. Jan. 7 Uhr vorm.

b) Serum von einem mit grauer, normaler Menschenhirnsubstanz immunisierten Hunde.

Versuch 22. Jan. 1908. 2 schwarze, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen vom Serum einer mit einer 5-proz. Lösung von Karbolsäure versetzten grauen Hirnsubstanz eines Menschen. Jedes Tier erhält im ganzen 1,5 ccm Serum; die Einspritzungen wurden 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 27. Jan. 1 Uhr nachm. Lähmung auf und sterben um 4 Uhr nachm.

Versuch 22. Jan. 1908. 2 schwarze, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse erhalten 4 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm Serum, von einer mit Karbolsäure versetzten Emulsion zu 5 Proz. von grauer Menschenhirnsubstanz. Jede Maus erhält im ganzen 2 ccm Serum. Die Einspritzungen werden 48 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 27. Jan. 1 Uhr nachm. Lähmung auf und sterben um 4 Uhr nachm.

c) Wirkung der beiden Sera gemischt.

Versuch 25. Jan. 1908. 2 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von $\frac{1}{4}$ ccm einer Mischung der beiden erwähnten Sera. Im ganzen bekommt jede Maus 1,5 ccm Serum. Die Einspritzungen werden 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 30. Jan. Lähmung auf; 1 derselben verendet am selben Tage 4 Uhr nachm.; das andere am 31. Jan. 7 Uhr vorm.

d) Serum von einem mit gemischter grauer und weißer Menschenhirnsubstanz immunisierten Hunde.

Versuch 18. Jan. 1908. 2 weiße, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm Serum, einer Mischung der beiden Emulsionen der erwähnten weißen und grauen Substanzen immunisierter Hunde. Jedes Tier erhält 1,5 ccm Serum. Die Einspritzungen werden 48 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 18. Jan. 1908. 2 mit fixem Virus subkutan infizierte weiße Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von $\frac{1}{4}$ ccm Serum eines mit der obigen Substanz immunisierten Hundes. Im ganzen erhält jedes Tier 1,5 ccm Serum. Die Einspritzungen werden 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 27. Jan. 7 Uhr vorm. Lähmung auf, 1 derselben stirbt am gleichen Tage und das andere am 28. Jan. 7 Uhr vorm.

B. Kaninchenserum.

a) Serum von mit normaler weißer Menschenhirnsubstanz immunisierten Kaninchen.

Versuch 22. Jan. 1908. 2 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm Serum, von Kaninchen, die mit einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion weißer Menschenhirnsubstanz immunisiert worden waren. Im ganzen erhielt jedes Tier 1,5 ccm Serum. Die Einspritzungen wurden 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 27. Jan. 1 Uhr nachm. Lähmung auf und verenden am gleichen Tage 7 Uhr abends.

Versuch 22. Jan. 1908. 2 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 4 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm Serum, eines Kaninchens, welches mit einer mit Karbolsäure versetzten 5-proz. Emulsion weißer Menschenhirnsubstanz immunisiert worden war. Jedes Tier erhielt 2 ccm Serum. Die Einspritzungen wurden 48 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 27. Jan. 1 Uhr nachm. Lähmung auf und sterben am 28. Jan. 7 Uhr vorm.

b) Serum von mit normaler grauer Menschenhirnschubstanz immunisierten Kaninchen.

Versuch 22. Jan. 1908. 2 schwarze, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm Serum, eines Kaninchens, das mit einer mit Karbolsäure versetzten grauen Menschenhirnschubstanz immunisiert worden war. Im ganzen erhielt jede Maus 1,5 ccm Serum. Die Injektionen wurden 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die Tiere weisen am 27. Jan. 1 Uhr nachm. Lähmung auf und sterben am selben Tage 7 Uhr nachm.

c) Wirkung der beiden Substanzen gemischt.

Versuch 22. Jan. 1908. 2 schwarze, subkutan mit fixem Virus infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm Serum, einer Mischung der beiden erwähnten Sera. Im ganzen erhält jedes Tier 1,5 ccm Serum. Die Einspritzungen wurden 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: 1 der Tiere wird am 27. Jan. 7 Uhr vorm. tot aufgefunden, das andere ist am 27. Jan. 1 Uhr nachm. gelähmt und stirbt am selben Tage 7 Uhr nachm.

d) Serum eines mit einem Gemisch von weißer und grauer Menschenhirnschubstanz immunisierten Kaninchens.

Versuch 18. Jan. 1908. 2 weiße, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 3 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm Serum, eines Kaninchens, welches mit einer Mischung der beiden Emulsionen — weiße und graue Substanz — immunisiert worden war. Jedes Tier erhält 1,5 ccm Serum. Die Einspritzungen wurden 48 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die beiden Tiere bleiben am Leben.

Versuch 18. Jan. 1908. 2 weiße, mit fixem Virus subkutan infizierte Mäuse erhalten 2 Tage lang täglich 2 Einspritzungen, jede von $\frac{1}{4}$ ccm Serum, eines Kaninchens, das mit der obigen Substanz immunisiert worden war. Im ganzen erhält jedes Tier 1 ccm Serum. Die Einspritzungen wurden 72 Stunden nach der Infektion begonnen.

Resultat: Die beiden Tiere weisen am 27. Jan. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 28. Jan. 7 Uhr vorm.

Zusammenfassung der Schlußfolgerungen: Aus den verschiedenen Serien der bezüglich der immunisierenden Wirkung der weißen und der grauen normalen Wuthirnschubstanz — einzeln oder vermischt — sowie bezüglich des Serums mit derselben Substanz immunisierter Tiere angestellten Versuche ergibt sich:

1) Daß die weiße und graue Substanz normalen Menschenhirns gemischt, 80 Proz. der mit Straßenvirus subkutan infizierten Tiere rettete, während hingegen die weiße und die graue Substanz, separat angewandt, sich als völlig inaktiv erwiesen. In der Tat starben sämtliche, sowohl mit der einen als mit der anderen Substanz immunisierten Muriden an der Wut.

2) Daß die weiße und die graue Hirnschubstanz eines wutkranken Hundes (fixes Virus), gemischt verabreicht, ebenfalls 80 Proz. der Tiere retteten, während sie getrennt verabreicht nur 20 Proz. resp. 60 Proz. retteten.

3) Daß die Mischung der beiden Hirnschubstanzen sich identisch verhält, als ob es sich um normale oder Wutnervenschubstanz handelte. Das leichte Uebergewicht, das die beiden Substanzen vom wutkranken Tiere (getrennt verabreicht) demjenigen eines gesunden Tieres gegenüber aufweisen, muß noch durch weitere Untersuchungen bestätigt werden.

4) Daß das Serum von mit weißer Menschenhirnschubstanz immunisierten Hunden wie jenes von mit grauer Substanz immunisierten die Mäuse zu retten nicht imstande war durch eine subkutane Infektion mit Straßenvirus, die 48 Stunden vorher vorgenommen war.

5) Daß auch die Mischung der beiden obigen Sera inaktiv war.

6) Daß hingegen das Serum von Hunden, die mit beiden Substanzen gemischt immunisiert wurden, sehr wirksam war.

7) Daß die gleichen, mit Kaninchenserum angestellten Versuche die mit Hundeserum erzielten Resultate vollständig bestätigen.

8) Die Tatsache, die ich durch eine lange Reihe von Versuchen an Muriden bewiesen habe, daß die normale Nervensubstanz ein starkes immunisierendes Vermögen gegen Wut besitzt und diese zweite Tatsache, daß die weiße und graue Hirnschubstanz dagegen ganz unwirksam sind, wenn sie getrennt voneinander injiziert wurden, falls die Tatsache an anderen Tieren (Kaninchen und Hunden) bestätigt wird, nehmen der antirabischen Pasteurschen Theorie jeden Grund. Die Wirksamkeit des Pasteurschen Impfstoffes wäre nicht mehr von den Wutkeimen und von den Produkten derselben abhängig, sondern von der normalen Nervensubstanz und eigentlich von der vereinigten weißen und grauen Hirnschubstanz. In der Tat, wenn die Nervensubstanz nicht von einer ihr eigenen Antiwutwirkung begabt wäre, und er seinen Impfstoff mit dem geeignetsten Teile des Nervensystems, welcher die meisten Wutkeime und deren Produkte besitzt, d. h. mit der isolierten grauen Substanz bereitet hätte, würde er, anstatt ein wirksames Vaccin zu erhalten, wie dies seiner Theorie nach der Fall sein müßte, zu keinem Resultat gelangt sein.

Hiermit will ich durchaus nicht die Entdeckung Pasteurs herabsetzen, weil sie sich auf einen so genialen wie logischen Begriff stützt und weil, wenn auch die Theorie irrig, die Entdeckung eine zufällige war, dies geschah nur infolge einer Tatsache, die ebenso fremd wie unvorherzusehen war, wie dies gerade jene der immunisierenden Wirkung der normalen Nervensubstanz war.

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>v. Benczur, Gyula, Kleiner Beitrag zur Frage der Identität des Typhus- und Colibacillus, p. 275.</p> <p>Bertarelli, E., Ueber die Immunisierung des gesunden Menschen mit Kochschem Tuberkulin, p. 353.</p> <p>Eisenberg, Ueber Fetteinschlüsse bei Bakterien, p. 257.</p> <p>Fermi, Claudio, Immunisierende und lyssizide Wirkung des Cholesterins, Lecithins und verschiedener Lecithin enthaltender tierischer Teile, p. 357.</p> <p>—, Ueber den sonderbaren Unterschied, der zwischen der antirabischen Wirkung der Hirnschubstanz in toto und jener der weißen und der grauen Substanz getrennt besteht, p. 378.</p> <p>Guyot, G., Ueber die Agglutinabilität der mit Formalin fixierten roten Blutkörper-</p> | <p>chen und der Blutkörperchenstromata, p. 330.</p> <p>Jägerskiöld, L. A., Kleine Beiträge zur Kenntnis der Vogeltrematoden, p. 302.</p> <p>Kindborg, Erich, Ueber die Einwirkung von Fibrin auf die bakteriziden und hämolytischen Eigenschaften des Serums, p. 335.</p> <p>Lösener, Zur Aetiologie der in Ostpreußen heimischen Ruhr, p. 285.</p> <p>Splendore, A., Ueber das Virus myxomatousum der Kaninchen, p. 300.</p> <p>Sulima, Ueber den Einfluß der Fiebertemperaturen auf die Mikroben und die Schutzkräfte des Organismus, p. 318.</p> <p>Toyosumi, H., Ueber den Mechanismus der Komplementabsorption durch Bakterienextrakte, p. 325.</p> <p>Tsuda, K., Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. IV., p. 277.</p> |
|--|---|

Nachdruck verboten.

Ueber die feine Struktur der Bakterien.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität zu Palermo (Direktor: Prof. A. Trambusti).]

Von Dr. **Alessandro Amato.**

Mit 2 Tafeln.

Ein Thema, das wegen seiner großen Bedeutung vom allgemeinen biologischen Gesichtspunkte aus seit ungefähr 20 Jahren die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gelenkt hat, ist die Struktur der Bakterien.

Es würde in der Tat von größter Bedeutung sein, wenn man wüßte, ob diese kleinen Organismen einen Kern enthalten, oder nicht, d. h. ob sie eine Ausnahme von der bei den Protisten beobachteten allgemeinen Regel machen.

Das Studium dieser Verhältnisse könnte uns vielleicht von Vorteil bei der Klärung von bis jetzt noch ungelöst gebliebenen, äußerst wichtigen Fragen sein, wie z. B. ihrer Phylogenese und ihrer Stellung in der Klassifikation, während es andererseits auch Licht in einige zellphysiologische Fragen bringen könnte.

Wenn auch die Untersuchungen über diesen Gegenstand in großer Zahl vorhanden sind, so sind doch die Schlüsse der Autoren, die sich damit beschäftigt haben, so verschieden, daß die Struktur der Bakterien noch immer einer der strittigsten Punkte der Cytologie ist.

* * *

Besitzt die Bakterienzelle einen Kern oder nicht? Dies ist die Hauptfrage, nach deren Lösung alle Forscher trachten, welche sich mit der feinen Struktur der Bakterien beschäftigt haben. Die Antworten, die sie auf diese Frage gegeben haben, sind sehr verschieden; einige leugnen die Existenz des Kernes oder eines Aequivalentes, andere — und diese sind in der Majorität — nehmen das Vorhandensein eines mehr oder weniger im Protoplasma ausgedehnten Kernes an; wieder andere endlich glauben, einen echten Kern deutlich nachgewiesen zu haben. Fischer glaubt, daß die Bakterienzelle durchaus keinen Kern besitzt, und daß die färbbaren Granulationen, die man im Cytoplasma antreffen kann, einfach Produkte der Ernährung sind. Derselben Ansicht haben sich auch Migula, Massart und Hinze angeschlossen.

Der erste, der die Existenz eines diffusen Kernes bei den Bakterien annahm, war Bütschli. Derselbe stellte vergleichende Beobachtungen zwischen Bakterien und Cyanophyceen an, welche letztere von der Mehrzahl der Botaniker als den Bakterien sehr nahestehend angesehen werden, und welche sich ihrer Größe wegen besser für eine cytologische Untersuchung eignen. Er konnte bei den Cyanophyceen eine alveoläre Struktur beobachten, deren zentrales Netzwerk sich intensiv färbt und an den Knotenpunkten stark färbbare Granula enthält; er nennt dieselben rote Granula wegen der metachromatischen Färbung, welche sie mit blauen oder violetten Farben annehmen.

Er betrachtet sie als Chromatingranula und den zentralen Teil der Zelle als das Aequivalent eines Kernes.

Bei den Schwefelbakterien fand derselbe Bütschli eine ähnliche Struktur, jedoch mit dem Unterschiede, daß der Zentralkörper fast die ganze Zelle einnimmt, während die Cytoplasmaschicht aufs äußerste reduziert ist. Bei den Species von kleineren Dimensionen verschwindet das Cytoplasma fast vollständig und die Zelle besteht dann hauptsächlich aus dem Zentralkörper oder Kerne. Diesen letzten Gedanken hatten schon einige Bakteriologen geäußert; diese stützten sich nämlich auf die lebhaftere Affinität der Bakterien zu den kernfärbenden Substanzen und kamen dadurch zu der Annahme, daß sie aus einem Kerne ohne Cytoplasma beständen (Klebs, Hueppe), und daß das Chromatin sich im Cytoplasma verbreitet befände (Weigert). Diese Ansicht Bütschlis wurde auch von Zettnow, Warlich, Frenzel, Schewiakoff, Gotschlich und Mitrophanow geteilt.

Trambusti und Galeotti haben im Innern eines von ihnen untersuchten Bacillus zentrale Körper beschrieben, welche bei ihrer Teilung Bilder geben, die von den genannten Autoren auf einen wahrscheinlich mitotischen Vorgang zurückgeführt werden.

Feinberg hat jüngst ein zentrales Filament beobachtet, das die Reaktionen des Kernes mit der Romanowskyschen Methode zeigt.

Auch Marx und Woithe betrachteten die färbbaren Granulationen als Chromatin, das im Cytoplasma verbreitet ist.

Kürzlich hat Schaudinn in einer Arbeit über den Bac. Bütschlii und in einer anderen über das Sporonema einen wichtigen Beitrag zur Frage der Bakterienstruktur geliefert. Im Innern dieser Bakterien fand er färbbare Granula, welche in ihrer Anordnung während der verschiedenen Lebensphasen des Bacillus Änderungen erleiden, und aus dem Umstande, daß sie bei der Bildung der Sporen beteiligt sind, schließt er, daß sie Chromatinbildungen sind und eine Art von diffusem Kern darstellen.

Auch Swellengrebel ist kürzlich bei seinen Untersuchungen über den Bac. maximus buccalis zu ähnlichen Schlüssen gekommen.

Der erste, der das Vorhandensein eines echten Kernes in den Bakterien behauptete, ist Schottelius; er hat in einigen Bacillen ein von einer Hyaloplasmazone umgebenes Granulum beschrieben.

Sjöbring beschreibt einen sphärischen Kern, der eine gewisse Anzahl von Granulis enthält und sich scheinbar durch Karyokinese teilt.

Auch die Beobachtungen von Wagner, Ilkewicz, Ziemann und Protopopoff sprechen zugunsten des Vorhandenseins eines echten Kernes.

Einer der eifrigsten Verfechter der Existenz eines echten Kernes in der Bakterienzelle ist Meyer. Durch Fixierung mit Formalin und Färbung mit Fuchsin gelang es ihm, bei einer gewissen Zahl von Bacillen (Bac. asterosporus, Bac. tumescens, Bac. subtilis, Granulobacter) stark gefärbte, gleich große Granula zu differenzieren, die er als Kerne deutet. Oft, besonders in den jungen Bakterien, beobachtete er nur einen einzigen Kern; in anderen Fällen sind die Kerne in einer Anzahl von 4—6 vorhanden. Dieser Autor hat auch die Teilung dieser Kerne durch Verlängerung mit darauffolgender Abschnürung beobachten können. Nakanishi hat mittels Methylenblaufärbung bei verschiedenen Bakterien species einen sphärischen, färbbaren Körper beobachtet, welchen er als Kern ansieht; derselbe teilt sich durch Verlängerung mit darauffolgender Abschnürung.

Vejdovsky beschreibt beim Bac. megatherium und bei 3 aus

dem Darne von *Periplaneta orientalis* isolierten Bacillen die Bakterienzelle folgendermaßen: Sie ist aus einem homogenen Cytoplasma gebildet; an dessen beiden Polen befindet sich eine gefärbte Kapsel und im Zentrum eine sphärische Masse, die er als den Kern ansieht. In vielen Fällen ist der Kern nicht sichtbar und findet sich durch zwei gefärbte Streifen ersetzt, welche die Stadien der Anaphase eines karyokinetischen Prozesses darstellen würden.

Kürzlich endlich ist es Raymann und Kruis gelungen, durch Anwendung einer besonderen Technik im *Bac. mycoides*, *Bac. radicosus*, *Bac. oxalaticus* und *Bac. tumescens* ein ganz intensiv gefärbtes Granulum und manchmal dicht daneben zwei Granula zu beobachten, die sie für ein Dyasterstadium der Mitose halten.

Kunstler und Gineste wollen endlich in allerjüngster Zeit im *Spirillum periplaneticum* einen typischen Kern gefunden haben.

Scagliosi, der kürzlich mittels seiner Fixierungs- und Härtungsmittel für die Bakterienzelle die Bildung und Keimung der Sporen studiert hat, ist der Ansicht, daß die Bakterienzelle einen ziemlich großen Kern besitzt, während das Cytoplasma stark reduziert ist. Der Bakterienleib würde demnach hauptsächlich aus Kernsubstanz bestehen. Ein Beweis hierfür ist der Umstand, daß die junge Bakterienzelle eine außerordentliche Neigung, sich mit Kernfarbstoffen zu färben, und eine progressive Färbbarkeit besitzt, wobei ein deutliches Schwinden des linienförmig gewordenen Kernes eintritt.

Guilliermond hat in allerneuester Zeit (1906—07) den *Bac. megatherium*, *Bac. radicosus*, *Bac. mycoides*, *Bac. asterosporus* und *Bac. alvei* untersucht und dabei Kernfarbstoff fixierende Granula und während der Sporulation die Bildung einer kleinen, ovalen Masse beobachten können, welche einem Kerne ähnlich sieht und sich in eine Spore umwandelt. Auf Grund dieser Befunde kommt er dann zu dem Schlusse, daß die Bakterien Chromatin enthalten, das mehr oder weniger im Cytoplasma verteilt und an der Sporenbildung beteiligt ist.

* * *

Bei dieser großen Meinungsverschiedenheit schien es mir nicht ohne Interesse zu sein, die folgenden Untersuchungen anzustellen.

Ich bediente mich hierbei einer Technik, die für das Studium der feinen Struktur einiger Zellbestandteile so wertvoll geworden ist. Ich meine hiermit die vitale Färbung mit Brillantkresylblau.

Dieser Farbstoff, welcher durch die Arbeiten von Cesaris-Demel, Ferrata und anderen Forschern viel zur Aufklärung der inneren Struktur der mononukleären Leukocyten und besonders der roten Blutkörperchen beigetragen hat, kann meiner Meinung nach auch für das Studium der feinen Cytologie der Bakterien von großem Nutzen sein.

Die von mir geübte Technik ist der von Cesaris-Demel für die Untersuchung der Erythrocyten angegebenen fast gleich; daher will ich mich auch nicht mit einer eingehenden Beschreibung derselben aufhalten.

Ich möchte nur folgendes erwähnen: Auf einem Objektträger breitet man eine dünne Schicht in absolutem Alkohol gelösten Brillantkresylblaus aus, läßt den Alkohol verdampfen und bringt dann auf diese Stelle einen Tropfen Bouillonkultur, oder, wenn man es mit einer Strichkultur auf festem Medium zu tun hat, einen Tropfen steriler Bouillon, in der man etwas von dem mit der Oese entnommenen Kulturmaterial sich verteilen läßt.

Diese ganz einfache Methode hat den großen Vorteil, die stark wirkenden physikalischen oder chemischen Fixierungsmittel auszuschalten; auf diese Weise kann die Bakterienzelle, deren Form zwar unverändert, deren Bestandteile aber differenziert sind, eine gewisse Zeit lang der Beobachtung zugänglich sein.

Ich habe meine Aufmerksamkeit auf die unten angegebenen Bakterien gerichtet, und zwar habe ich meine Untersuchungen mit Material angestellt, das sowohl aus Bouillon- als auch aus Agarstrichkulturen stammte.

Die Beobachtungen wurden mit dem apochromatischen Objektiv von Koristka 2 mm, Ap. 1,40 mm und mit den Kompensationsokularen 4—6—8 vorgenommen.

In den beifolgenden Figuren habe ich die von mir beobachteten Bilder möglichst treu und gewissenhaft wiederzugeben versucht.

* * *

Zur Vermeidung von unnötigen Wiederholungen werde ich mich bei der Besprechung meiner Beobachtungen nicht mit eingehenden Beschreibungen der bei jeder einzelnen Beobachtung gefundenen verschiedenen Formen aufhalten, sondern werde mich darauf beschränken, das Gesamtbild der bei jedem Bacillus gefundenen Resultate zu besprechen. Dazu werde ich die verschiedenen beobachteten Bilder in einer Weise zusammenstellen, die mir am logischsten zu sein scheint, wobei ich den Zeitpunkt ihres Auftretens in der Weise berücksichtige, daß ich die verschiedenen Bilder, welche jeder Bacillus in seinen verschiedenen Lebensphasen zeigt, wiedergebe.

Kartoffelbacillus.

Bei dem Kartoffelbacillus habe ich folgendes beobachten können: Bei den sehr jungen Formen, die sich eben aus der Spore entwickelt haben, nimmt der Bakterienkörper eine metachromatische Färbung in Rosa an, während in seinem zentralen Teile ein rundliches, homogenes Körperchen hervortritt, das sich intensiv blau mit leicht violetter Tönung färbt. Dieses Körperchen, welches seinen Platz im Innern des Bakterienleibes verändern kann, spaltet sich nach Einschnürung in zwei. Auf seine Teilung folgt die Bildung einer Scheidewand im mittleren Teile des Bakterienleibes und die Teilung des Bakteriums in 2 Tochterbakterien (Taf. I, Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6). Alsdann zerfällt dieses Zentralkörperchen in ganz feine Granula, während der Bakterienleib eine veilchenblaue Farbe annimmt (Taf. V, Fig. 7, 8, 9, 10); auf seinem Grunde treten immer zwei ganz kleine, kaum sichtbare Granula hervor. Manchmal habe ich auch ein etwas größeres Granulum beobachten können, das seitlich und im mittleren Teile des Bakterienleibes lag (Taf. I, Fig. 11). Entsprechend der Mitte des Bakterienleibes bildet sich ferner ein intensiv färbbarer Streifen (Taf. I, Fig. 12). Während dieser Streifen die Affinität für den Farbstoff verliert und das Bakterium sich wieder in 2 Tochterbakterien spaltet, tritt in jedem von ihnen wieder die chromatische Substanz in der Form von Granulis auf, welche der Peripherie des Bakterienleibes zustreben (Taf. I, Fig. 12, 13, 14, 15, 16). Die Fig. 15 zeigt uns eine neue Teilungsphase des Bacillus, die ich beim *Bac. subtilis* und beim *Bac. mycoides* besser habe verfolgen können.

Aus den oben beschriebenen Granulis geht durch ihre Anhäufung im zentralen Teile des Bacillus und durch ihre Verschmelzung ein stark

färbbarer, dicker, sphärischer oder ovaler Körper (Taf. I, Fig. 17) hervor, der sich später in eine Spore umwandelt.

Diese Umwandlung findet durch ein Zurückziehen der chromatischen Substanz an seine beiden entgegengesetzten Pole statt, während der zentrale Teil immer heller und stärker lichtbrechend wird, bis man schließlich die Spore deutlich im zentralen Teile des Bacillus, der sich intensiv färbt, liegen sieht (Taf. I, Fig. 18). Manchmal habe ich in einer Phase, in welcher die Spore noch nicht vollkommen gebildet ist, aber noch immer eine leichte Färbung annimmt, einen kleinen, rundlichen, in ihrem zentralen Teile gelegenen Körper beobachten können (Taf. I, Fig. 19). Dieser Körper verschwindet dann, vielleicht infolge der Bildung oder Verdickung der Sporenmembran, welche den Farbstoff nicht mehr hindurchdringen läßt. Der Bakterienleib zerfällt alsdann und die Spore wird frei (Taf. I, Fig. 20, 21).

Auf dem Wege der Keimung nimmt die Spore einen leicht metachromatischen rosa Farbenton an und in ihrem Innern tritt wieder der homogene, rundliche, färbbare Körper auf, der immer deutlicher wird, während die Spore sich verlängert, ihre Membran verliert und sich in ein junges Bakterium umwandelt (Taf. I, Fig. 22, 23, 24).

Bacillus subtilis.

Die Fig. 25, 26, 27 der Taf. I zeigen, daß auch in diesem Bacillus in den ersten Lebensphasen ein intensiv färbbarer, zentraler Körper existiert, der imstande ist, sich zu teilen, und auf dessen Teilung die Teilung des Bacillus erfolgt.

Auch hier zerfällt und verschwindet dieser Zentralkörper (Taf. I, Fig. 28), es bildet sich ein intensiv färbbarer Teilungstreifen (Taf. I, Fig. 29) und die chromatische Substanz tritt wieder in der Form von Granulis auf, welche der Peripherie des Bakterienleibes zustreben (Taf. I, Fig. 30, 31, 32). Die Fig. 33, 34, 35 der Taf. I stellen einen Teilungsprozeß des Bakteriums dar, der schon in Fig. 15 beim Kartoffelbacillus angedeutet ist. Wie wir besser beim *Bac. mycoides* sehen werden, geht ihm die Bildung zweier polarer Anhäufungen und einer Aequatorialplatte voraus. Durch Querteilung bildet diese letztere eine polare Anhäufung in jedem der beiden Tochterbakterien; in diesen letzteren tritt dann wieder die chromatische Substanz auf, die in der Form von Granulis zerstreut ist, während die polaren Anhäufungen sich verdünnen und völlig verschwinden (Taf. I, Fig. 35).

Die Fig. 36 der Taf. I zeigt uns, daß auch hier der Sporenbildung, wenn man es auch nicht genau beobachten konnte, die Bildung eines rundlichen, intensiv färbbaren Körpers vorangehen muß, eines Körpers, der sich in eine Spore umwandelt, während die chromatische Substanz sich gegen seine beiden entgegengesetzten Pole hin zurückzieht.

Der Bakterienleib zerfällt dann und die Spore wird frei (Taf. I, Fig. 37, 38, 39).

Bacillus mycoides.

Auch bei dem *Bac. mycoides* ist in den jungen Formen ein intensiv färbbarer Zentralkörper vorhanden (Taf. II, Fig. 1), welcher in den erwachsenen Bakterienformen verschwindet, während sich dagegen zerstreut liegende Granula vorfinden.

Bei diesem Bacillus habe ich einen Teilungsprozeß verfolgen können, den ich beim Kartoffelbacillus und beim *Bac. subtilis* nur gesehen und angedeutet habe. Es häufen sich nämlich die Granula an den Polen

und in dem mittleren Teile des Bakteriums an und lassen durch Verschmelzung zwei polare Anhäufungen und eine mediale Platte entstehen: durch die Teilung dieser medialen Platte geht dann eine polare Anhäufung in jeder der beiden Tochterbakterien hervor, indem sich die andere Anhäufung schon vorher gebildet hat (Taf. II, Fig. 4, 5, 6—8); während nun diese Anhäufungen sich reduzieren und völlig verschwinden, tritt die chromatische Substanz in Granulaform wieder auf (Taf. II, Fig. 6—8). Die Fig. 9, 10, 11, 12, 13 der Taf. II zeigen, daß die Sporenbildung auch hier durch einen Prozeß stattfindet, welcher dem schon bei den vorhergehenden Bakterien beschriebenen ähnlich ist; ich gehe also nicht weiter auf ihn ein. Ich muß nur bemerken, daß die Sporenbildung nicht nur in dem zentralen Teile des Bakteriums stattfindet, sondern sich auch an einem seiner Enden vollziehen kann (Taf. II, Fig. 14). Die Fig. 15, 16, 17, 18, 19, 20 der Taf. II stellen Formen dar, die dadurch entstanden sind, daß ich den *Bac. mycoides* sich bei einem Wärmegrade habe entwickeln lassen, der höher als sein Entwicklungsoptimum ist.

Spirillum volutans.

Aus den Fig. 21—32 der Taf. II kann man entnehmen, daß die Sporen des *Spirillum volutans* durch einen mit dem bei den Bakterien beschriebenen identischen Prozeß durch Umwandlung der intensiv färbbaren, rundlichen Anhäufungen entstehen. Diese großen Granula gehen ihrerseits nach meinen Beobachtungen aus einem Prozesse wiederholter Teilung hervor, bei dem einige Figuren entstehen, welche sich mit einer Mitose eines großen Granulums (Taf. II, Fig. 25) vergleichen lassen, wie man es bei den ganz jungen Formen findet (Taf. II, Fig. 24—27). Die kleinen, zerstreut liegenden Granula, welche nicht an der Sporenbildung teilnehmen, stellen vielleicht ein Assimilations- oder Stoffwechselprodukt der Bakterienzelle dar.

Die Fig. 33, 34, 35 der Taf. II zeigen Formen, die man in alten Kulturen sieht.

* * *

Aus allen meinen Untersuchungen geht also deutlich hervor, daß in der erwachsenen Bakterienzelle zerstreut mehr oder weniger kleine Granulationen vorhanden sind, die durch die Teilung oder den Zerfall eines einzigen rundlichen, homogenen und stark färbbaren Körpers entstehen, den man in der jungen Bakterienzelle findet.

Diese Granula, welche das Brillantkresylblau intensiv aufnehmen, und welche im Ruhezustande der Peripherie des Bacillenleibes zustreben, zeigen während der Teilungsphasen des Bakteriums eine besondere Anordnung und Verschmelzung.

Dieselben bilden, abgesehen von den Anhäufungen an den Polen des Bacillus, in seinem zentralen Teile eine Art von Aequatorialplatte.

Diese Platte teilt sich quer in 2 Teile und bildet dann eine der polaren Anhäufungen in jedem der beiden Tochterbacillen; die andere Anhäufung hat sich schon in den ersten Phasen der Teilung des Bacillenleibes gebildet.

Auch bei der Sporenbildung spielen diese Granula eine sehr wichtige Rolle; denn von ihnen stammen jene großen, rundlichen, intensiv färbbaren Körper ab, aus denen dann die Sporen entstehen.

Die in ihnen enthaltene chromatische Substanz sucht sich immer mehr gegen die beiden entgegengesetzten Enden der Spore zurückzu-

ziehen, während sie immer stärker lichtbrechend und schwieriger zu färben wird.

Von besonderer Bedeutung ist ferner eine beim Kartoffelbacillus beobachtete Erscheinung, daß nämlich in den ersten Phasen der Sporenbildung ein kleines zentrales Körperchen auftritt. Dieses Körperchen, das als ein echter Kern der Spore betrachtet werden könnte, verschwindet in der reifen Spore, vielleicht dadurch, daß sich die Membran verdickt und so für Farblösungen wenig durchgängig wird; es tritt alsdann in den ersten Phasen der Sporentwicklung wieder auf, um dann das stark färbare Körperchen der jungen Bacillen zu bilden. Aus diesem Körperchen, welches schon imstande ist, sich durch einen direkten Teilungsprozeß, an den sich dann die Teilung des Bakterienleibes in 2 Tochterbacillen anschließt, in 2 Teile zu spalten, entstehen durch einen Teilungs- oder Zerfallsprozeß die zerstreut liegenden Granula der erwachsenen Bacillen.

* * *

Stellen diese Granula nun ein Aequivalent des Kernes dar oder nicht?

Ich glaube ja, und zwar auf Grund der Anordnung, die sie bei der Teilung des Bacillus und der Sporenbildung annehmen. Man könnte mir nun einwerfen, daß das Brillantkresylblau nur sehr leicht die Kerne der mononukleären Leukocyten und der Mehrzahl der anderen Zellen im lebenden Zustande färbt, während es diese Granula im Körper der Bakterien intensiv färbt.

Abgesehen davon, daß ich auf diesen Einwand gerade so antworten könnte, wie es Schaudinn auf die von Meyer vorgebrachten Einwände getan hat, daß nämlich der Kern nur morphologisch charakterisiert werden kann, während man den Eigentümlichkeiten der Färbung der Granula wenig oder gar keine Bedeutung beilegen darf, stehen uns doch auch noch andere Tatsachen zur Verfügung, die zur Aufklärung dieser Frage dienen. Abgesehen davon, daß der Kern der kernhaltigen Erythrocyten ebenso wie der Kern anderer zelliger Elemente von dieser Substanz gefärbt wird (wie es übrigens auch Cesaris-Demel beobachtet hat), möchte ich auf folgende wichtige Tatsache die Aufmerksamkeit lenken, daß nämlich das sphärische Körperchen der Hefen, das heute fast allgemein als Kern angesehen wird, das Brillantkresylblau intensiv aufnimmt und sich wie die Granula der Bakterien intensiv blau, mit leicht violetterm Ton färbt. Man könnte also vielleicht annehmen, daß die Kernsubstanz der Zellen, die zu einer sehr niedrigen Pflanzenklasse gehören, sich manchen Farbstoffen gegenüber etwas anders verhalten kann, als die Zellkerne von Tieren, die einer höheren Klasse angehören.

Auch diese meine Ansicht über das verschiedene Verhalten der Kernsubstanz gegenüber dem Brillantkresylblau wird nicht mehr Verwunderung erregen können, wie es vielleicht auf den ersten Blick geschehen kann, wenn man bedenkt, daß aus der Arbeit von Francini über die Struktur und Funktion der Plexus chorioidei hervorgeht, daß die Kerne des Epithels der Plexus chorioidei sich im lebenden Zustande bei neugeborenen Meerschweinchen und Föten sehr leicht mit Brillantkresylblau färben, während sie bei erwachsenen Meerschweinchen und bei Fröschen die Farbe nur bei sehr lange fortgesetzter Färbung annehmen.

Was wunder also, daß die Kernsubstanz der Zellen einer sehr niedrigen

Pflanzenklasse, wie der Bakterien, sich gegenüber dem Brillantkresylblau in anderer Weise verhält, als die Kerne der tierischen Zellen, wenn schon ein gewisser Unterschied im Verhalten bei den Kernen desselben Tieres im fötalen und im erwachsenen Zustande besteht?

Es würde mir indessen die Annahme nicht fernliegen, daß die kleinen Granula, welche nicht die Anhäufungen in der Teilungsphase bilden und an dem färbbaren Körper, aus dem die Spore entsteht, keinen Anteil haben, als Assimilations- oder Stoffwechselprodukte der Bakterienzelle gedeutet werden können.

* * *

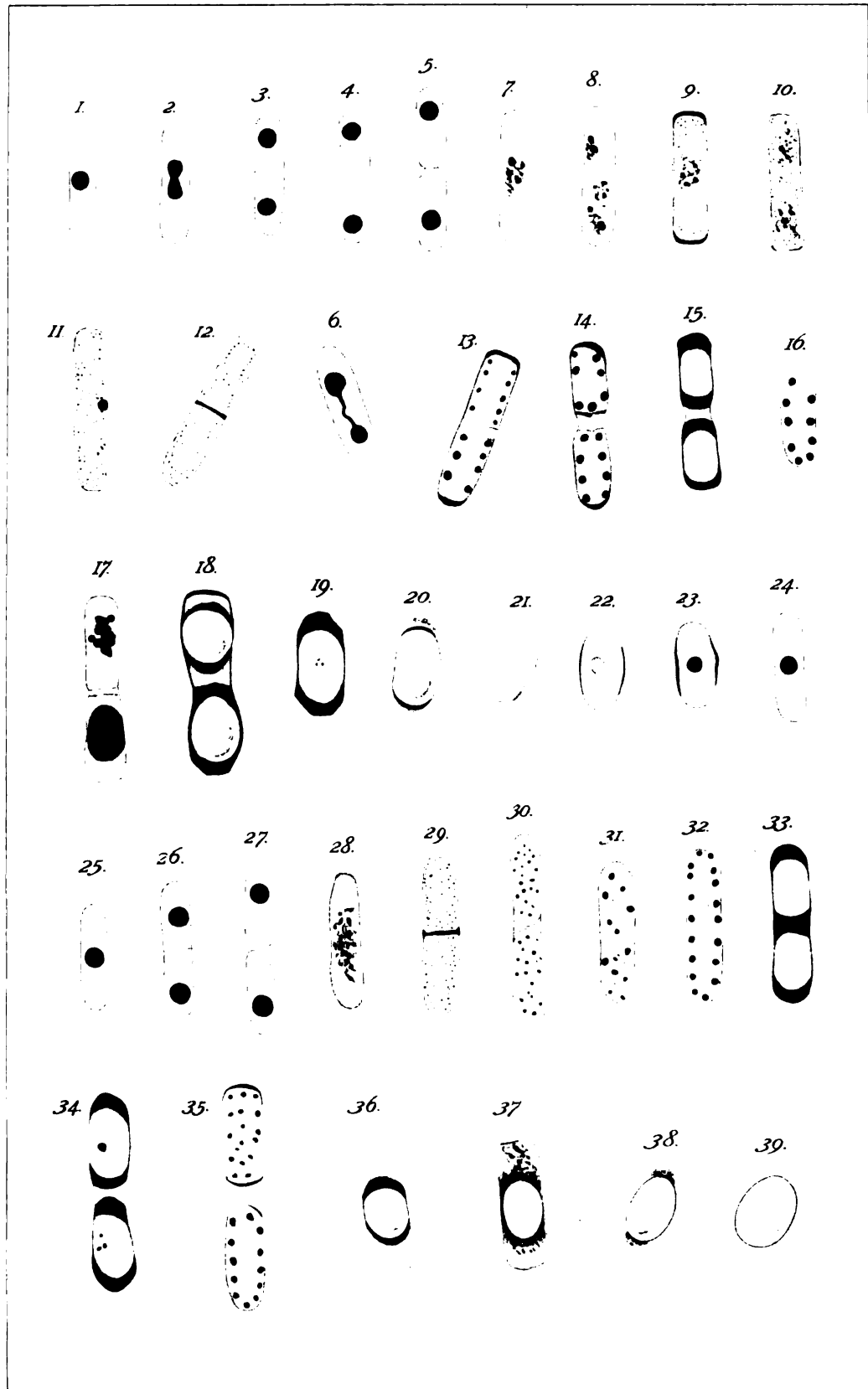
Nun wollen wir sehen, wie sich meine Resultate mit denen der anderen Autoren in Uebereinstimmung bringen lassen.

Aus den vielen Arbeiten, die ich oben aufgezählt habe, geht deutlich hervor, daß, abgesehen von der Hypothese des Fehlens jeglichen Kern-äquivalentes in der Bakterienzelle, einer Hypothese, die man von Tag zu Tag immer mehr verläßt, zwei Theorien heute noch sehr aufrecht erhalten werden. Von diesen nimmt eine die Existenz eines echten Kernes an, die andere spricht sich zugunsten des Vorhandenseins von im Bakterienleibe verteilt liegender Kernsubstanz oder eines chromidialen Systems (nach der jüngst von Hertwig gegebenen Bezeichnung) aus.

Ich glaube, daß diese Meinungsverschiedenheit daher rührt, daß die Autoren im wesentlichen nur einige Lebensphasen der untersuchten Bakterien in Betracht gezogen haben. Denn, wie aus meinen Beobachtungen hervorgeht, zeigen die meisten der von mir untersuchten und in ihrer Entwicklung verfolgten Bakterien in einem sehr jungen Stadium ein homogenes, intensiv färbbares Körperchen, welches, ähnlich wie das bei den Hefen beobachtete, als echter Kern betrachtet werden könnte. Dieses Körperchen ist, wie wir gesehen haben, auch imstande, sich durch einen direkten Teilungsprozeß zu teilen.

Im erwachsenen Zustande zeigen die Bakterien dagegen zerstreut liegende, mehr oder weniger kleine Granula, die, wie wir gesehen haben, von dem einen einzigen oben genannten Körperchen abstammen.

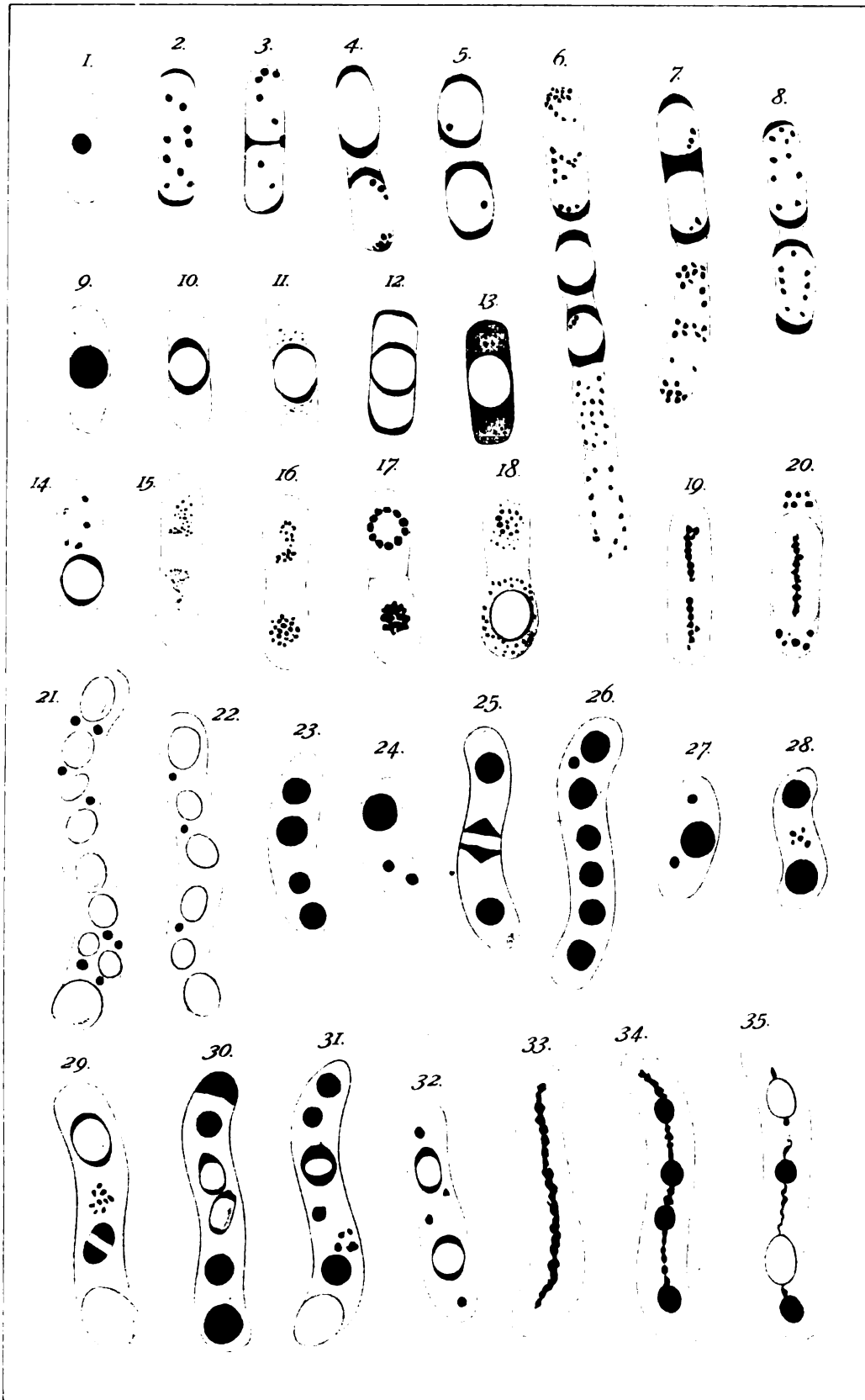
Zur Bestätigung dieser meiner Ansicht möchte ich hier die jüngsten Beobachtungen von Raymann und Kruis anführen. Diesen Autoren, welche die Theorie des Vorhandenseins eines echten Kernes verfechten, gelang es, durch Anwendung einer besonderen Technik und durch vergleichendes Studium der Hefen und der Bakterien in diesen letzteren einen dem Hefenkerne ähnlichen Kern in der Form eines intensiv gefärbten Granulums zu erkennen. Dieser Kern differenziert sich jedoch nach den Angaben der Autoren nur in ganz jungen und in einem günstigen Medium kultivierten Bakterien. Es bleiben endlich noch die Untersuchungen von Vejdovsky zu erwähnen. In einem Mikroorganismus nämlich, der von ihm in den mikroskopischen Schnitten eines Süßwasserflohkrebses, *Gammarus Zschokkei*, entdeckt worden ist, und dem er den Namen *Bacterium Gammari* gegeben hat, konnte er einen sphärischen Körper nachweisen, der von ihm als Kern gedeutet wurde und in dem er verschiedene Phasen einer echten Mitose mit achromatischer Spindel, Chromatinplatte usw. sichtbar machen konnte. Hinsichtlich dieser Beobachtungen glaube auch ich ebenso wie Guilliermond, daß die von Vejdovsky in *Gammarus* gefundene Species nicht ein echtes Bakterium ist, sondern vielmehr einen Pilz darstellt.



A Amato del.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.



A. Amato del.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

der den Hefen sehr nahesteht und sich wie die Schizosaccharomyceten durch indirekte Teilung teilt. Dieser Einwand wurde übrigens V. vej-dovsky auch von Schaudinn auf dem Zoologenkongreß in Bern nach der Prüfung seiner Präparate gemacht.

Die Beobachtungen ferner derjenigen, welche in den Bakterien und Spirillen einen linearen Kern gefunden haben, sind meiner Meinung nach darauf zurückzuführen, daß diese Autoren sehr wahrscheinlich ihre Untersuchungen an Kulturen angestellt haben, welche entweder verhältnismäßig alt waren oder sich bei einer Temperatur entwickelt hatten, die nicht das Optimum für das untersuchte Bakterium darstellt. In diesem Sinne sprechen auch die Figuren, die ich vom *Spirillum volutans* in alten Kulturen (Taf. II, Fig. 33, 34, 35) und vom *Bac. mycoides* erhalten habe, der sich bei einer über seinem Optimum liegenden Temperatur entwickelt hat (Taf. II, Fig. 15, 16, 17, 18, 19, 20).

Literatur.

- Cesaris-Demel, R. *Accad. dei Lincei*. 1906. *Lo Sperimentale*. 1906.
 Ferrata, *Virchows Arch.* 1907. *Arch. scienze med.* 1906.
 Fischer, *Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien*. Jena 1897.
 Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903.
 Migula, *Arb. a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe* 1894. *System der Bakterien*. Jena 1897.
 Massart, *Recueil de l'Inst. botanique*. Bruxelles 1902.
 Hinze, *Ber. d. dtshn botan. Gesellsch.* 1901.
 Bütschli, *Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen*. Leipzig 1890.
 Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig 1895.
Arch. f. Protistenkunde. 1902.
 Klebs, *Allgemeine Pathologie*.
 Hueppe, *Die Formen der Bakterien*. 1886.
 Weigert, *Schmidts Jahrb.* 1887.
 Zettnow, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1891.
 Warlich, *Bakteriologische Studien*. 1891.
 Frenzel, *Biolog. Centralbl.* 1891. *Zeitschr. f. Hyg.* 1892.
 Schewiakoff, *Verh. d. naturhist.-med. Ver. zu Heidelberg*. 1893.
 Gotschlich, *Kolle u. Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganismen*. 1902.
 Mitrophanow, *Journ. intern. d'anat.* 1893.
 Trambusti u. Galeotti, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1892.
 Feinberg, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1900.
 Marx u. Woithe, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1900.
 Schaudinn, *Arch. f. Protistenkunde*. 1902.
 Swellengrebel, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1906. *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1906.
 Schottelius, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1888.
 Sjöbring, *Centralbl. f. Bakt. etc.* Bd. XXVII.
 Wagner, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1892.
 Ilkewicz, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1900.
 Ziemann, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1898.
 Protopopoff, *Ann. de l'Inst. Pasteur*. 1891.
 Meyer, *Sitzungsber. d. Gesellsch. d. ges. Naturwissensch. zu Marburg*. 1887. *Erstes mikroskopisches Praktikum*. 1898.
 Nakanishi, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1901.
 V. vej-dovsky, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1900. *Ibid.* 1904.
 Mencl, *Centralbl. f. Bakt. etc.* 1904. *Ibid.* 1905. *Arch. f. Protistenkunde*. 1907.
 Raymann u. Kruis, *Bull. int. Acad. sc. de Bohême*. 1904.
 Kunstler u. Gineste, *Compt. rend. de l'Ass. d'Anatomistes*. 1904. *Compt. rend. soc. de biol.* 1906. *Compt. rend. de l'Acad. de sc.* 1906.
 Scagliosi, *Arch. di Anatomia patologica e sc. affini*. 1905.
 Guilliermond, *Compt. rend. de l'Acad. de sc.* 1906. *Compt. rend. soc. de biol.* 1907.

Nachdruck verboten.

Nachweis von Tuberkelbacillen im Blute eines Fötus.

[Aus der Universitäts-Frauenklinik in Genf.
Prof. Dr. Oskar Beuttner.]

Von **Dr. B. Huguenin**,

Privatdozent der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie,
Laboratoriumschef der Frauenklinik.

Das familiäre Auftreten der Tuberkulose ist so evident, daß seine Kenntnis von der ärztlichen Welt auf breite Laienkreise übergegangen ist. Gewisse Lebensversicherungsgesellschaften, z. B. die „Genevoise“, legen ein größeres Gewicht auf die anamnestiche Feststellung der Morbidität und Mortalität der Tuberkulose in einer Familie, als auf ein gutes Aussehen eines Lebensversicherungskandidaten, auch wenn die genaueste klinische Untersuchung keine Zeichen gegenwärtiger oder ausgeheilter Tuberkulose aufweist.

Das familiäre Vorkommen der Tuberkulose wurde früher auf Heredität zurückgeführt. Diese Ansicht wich zurück, nachdem Koch den Erreger der Tuberkulose in Form eines unbeweglichen Stäbchens entdeckt hatte; denn es schien, daß die Passage von einem unbeweglichen Bacillus vom mütterlichen zum fötalen Blute, durch die Placenta, unmöglich sei. Diese Ansicht schien auch unwahrscheinlich, weil man so selten Tuberkulose bei Neugeborenen fand.

Das gehäufte Vorhandensein der Tuberkulose bei Mitgliedern derselben Familie erklärt man sich durch die gemeinsam ertragenen, den Ausbruch der Tuberkulose begünstigenden Momente, wie schlechte Wohnung, ungesunde Arbeit, Mangel an Luft und Licht, schlechte Ernährung und Einatmung desselben, durch den Auswurf des zuerst erkrankten Familienmitgliedes, mit Tuberkelbacillen versehenen Staubes. Andererseits dachte man an eine familiäre Prädisposition, wie man für die Tuberkulose auch eine Rassenimmunität anerkannte, um zu erklären, warum nur ein Teil unserer in den gleichen Verhältnissen lebenden Haustiere nicht oder nur sehr selten tuberkulös wird.

Die Untersuchungen Schmorl¹⁾, der in diesem Punkte, wie in anderen der Placentaforschung bahnbrechend war, haben einerseits das sichere Vorkommen von Tuberkeln in der Placenta nachgewiesen und zeigten zugleich, daß die Tuberkel in der Placenta häufiger waren, als man vermuten konnte, was seitdem von verschiedenen Seiten bestätigt wurde. Carl²⁾, ein Schüler Henkes, fand in der Placenta Tuberkelbacillen, welche in mikroskopisch als nicht typische Tuberkel anzusehenden Herden vorkamen. Birch-Hirschfeld und Schmorl³⁾ hatten übrigens schon im Jahre 1891 in einer fötalen Leber, die, ohne Tuberkel zu enthalten, dennoch mikroskopisch als nicht normal zu taxieren war, Tuberkelbacillen nachgewiesen.

Alle diese interessanten Tatsachen haben mich in der Richtigkeit der Hypothese bestärkt, daß es bei der Tuberkulose, wie bei der Syphilis

1) Schmorl u. Kockel, Zieglers Beiträge. Bd. XVI. 1894. p. 313.

2) Carl, Zieglers Beiträge. Bd. XLI. 1907.

3) Birch-Hirschfeld u. Schmorl, Bd. IX. 1891. p. 420.

einen latenten Mikrobismus gibt, d. h. daß ein Organismus Tuberkelbacillen beherbergen kann, die in den Organen ihres Trägers weder makroskopisch noch mikroskopisch sichtbare Gewebsveränderungen zu verursachen vermögen.

Zum Nachweis dieser Hypothese eignete sich die mikroskopische Untersuchungsmethode nicht, einerseits weil sie zeitraubend ist und andererseits, weil sie nicht fehlerfrei ist. Der Meerschweinchenversuch sollte, meiner Ansicht nach, nicht nur als der bequemere, sondern auch als der sicherere Weg gewählt werden.

Mein Verfahren und die Resultate meines Versuches seien in Kürze wiedergegeben:

Protokoll.

Krankengeschichte: Frau H., 36 Jahre alt, ist zum drittenmal schwanger. Sie ist im 6. Monat schwanger. Sie leidet an einer floriden Tuberkulose mit tuberkelbacillenhaltigem Sputum. Da sie diese Schwangerschaft so schlecht verträgt, daß ihr Leben bedroht erscheint, so wird die künstliche Frühgeburt eingeleitet.

Versuch: Ein dem Alter der Schwangerschaft entsprechender gut gebauter, aber bald verstorbener Fötus wird zutage gefördert. Mit sterilisierten Instrumenten eröffnete ich das Pericard, und mit einer frisch sterilisierten Rekordspritze punktierte ich das freigelegte Herz, wobei ich nur mit Mühe etwa 1 ccm flüssiges Blut gewann, das ich sofort unter die Bauchhaut eines 1½ Monate alten Meerschweinchens injizierte. — Das Meerschweinchen blieb in seiner Entwicklung zurück und magerte ab. Es wog im Moment der Sektion, d. h. 2½ Monate nach der Injektion etwa 150 g weniger als 2 andere Exemplare des gleichen Wurfs, die vollkommen gesund geblieben waren. Bald stellte ich an der Injektionsstelle einen harten Knoten fest, der 14 Tage nach der Einspritzung kirschkerne groß war, und der nach und nach walnuß groß wurde. — 2½ Monate nach der Inokulation des fötalen Herzblutes wurde das Meerschweinchen behufs der Sektion getötet, die zeigte, daß der walnußgroße Knoten des Unterhautzellgewebes der Injektionsstelle einer Höhle mit 1½ ccm breiigem Inhalt entsprach. Die Wand der Höhle bestand aus einem weichen, gefäßarmen, transparenten, mit gelben Punkten versehenen Gewebe. Tuberkel fanden sich in den inguinalen und peritrachealen Lymphdrüsen und in der Milz. Mikroskopisch fanden sich nach Ziehl färbbare Stäbchen im breiigen Inhalt der Höhle der Injektionsstelle, in deren Wand, in den Lymphdrüsen, in der Milz und in der Leber, die mikroskopische Tuberkel enthielt. Es besteht also kein Zweifel, daß die vom Meerschweinchen gezeigte Erkrankung Tuberkulose war.

Fötus. Die mikroskopische Untersuchung der Placenta und der Milz, der Leber, der Lungen, der Thymus, der Thyreoidea des Fötus, in dessen Organen ich makroskopisch nichts Abnormes gefunden hatte, ergab keinen vom normalen Bilde abweichenden Befund; auch der Nachweis von Tuberkelbacillen gelang mir nicht.

Aus diesem abgekürzten Protokoll geht hervor, daß ich durch meinen Meerschweinchenversuch die Präsenz von Tuberkelbacillen im Blute eines von einer tuberkulösen Mutter stammenden Fötus nachgewiesen habe; es sei auch hervorgehoben, daß dieser Fötus und seine Placenta keine anatomische Tuberkulose enthielten. Dadurch glaube ich bewiesen zu haben, daß es beim menschlichen Fötus einen latenten tuberkulösen Mikrobismus gibt, wie er jedenfalls für die Lues besteht, sonst wäre es unmöglich, die Syphilis hereditaria tardiva zu erklären.

Hieran will ich keine langen Bemerkungen anschließen, denn es ist mir ganz klar, daß ein einziger Versuch in hygienisch-demographischer Hinsicht nichts beweist, daß er aber bei einwandfreier Anordnung im Sinne der allgemeinen Pathologie volle Kraft besitzt. Die Nachprüfung dieser Untersuchung ist sehr wünschenswert. Ich nähme am liebsten diese Nachuntersuchung selbst vor, aber ich liefere dabei die Gefahr, jahrelang warten zu müssen, bis ich wieder in der glücklichen Lage sein würde, geeignetes Material zu besitzen. Da ich auf diesen ersten Fall 5 volle Jahre lang gewartet habe, so könnten wiederum 5 Jahre ver-

gehen, bis ich den Versuch wieder vornehmen könnte. Darum glaube ich, es sei durch die Mitteilung dieses einzigen positiven Ergebnisses der Sache besser gedient, und ich hoffe, daß Aerzte, welche geeignetes Material besitzen, dieses zu einer Nachprüfung verwenden werden; man könnte so in kurzer Zeit erfahren, wie oft, unter ähnlichen Verhältnissen, der Tuberkelbacillus sich nachweisen läßt.

Herrn Prof. O. Beuttner meinen wärmsten Dank für die Beschaffung des lang gewünschten Materials.

Genf, September 1908.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch anatomischen Institut in Wien
(Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

VII. Zur Aetiologie der Schaumorgane.

Von Prof. Dr. Anton Ghon und weiland Dr. Milan Sachs.

Mit 1 Tafel.

Die in der pathologischen Anatomie seit der Mitteilung von P. Ernst¹⁾ allgemein als Schaumorgane bezeichneten Veränderungen waren zwar schon lange vorher bekannt, mehr Beachtung fanden sie aber erst, als Welch und Nuttall²⁾ den *Bacillus aërogenes capsulatus* als ihre Ursache beschrieben hatten. Dieser anaërober *Bacillus* wurde augenscheinlich auch von Ernst in seinen Fällen gefunden, später von E. Fraenkel³⁾ als häufiger Erreger der Gangrène foudroyante erkannt, und *Bacillus phlegmonis emphysematosae* genannt.

Der Befund von Welch und Nuttall wurde durch die Arbeiten von Goebel⁴⁾, Graham, Steward und Baldwin⁵⁾, Williams⁶⁾, Welch und Flexner⁷⁾, Dunham⁸⁾, Dobbin⁹⁾, Reuling und Her-

1) Ernst, P., Ueber einen gasbildenden Anaëroben im menschlichen Körper und seine Beziehung zur „Schaumleber“. (Virch. Arch. Bd. CXXXIII. 1893.)

2) Welch, W. H. and Nuttall, G. H. F., A gas-producing bacillus (*bacillus aërogenes capsulatus*, nov. spec.) capable of rapid development in the blood vessels after death. (The John Hopkins Hospital Bullet. 1892.)

3) Fraenkel, E., Ueber Gasphlegmonen. Hamburg u. Leipzig (L. Voss) 1893.

4) Goebel, C., Ueber den *Bacillus* der „Schaumorgane“. (Jahrb. d. Hamburger Staatskrankenanstalten. Bd. IV. 1893/94.)

5) Graham, Steward and Baldwin (Columbus medic. Journal 1893); zitiert bei Welch und Flexner.

6) Williams, H. N., The *Bacillus aërogenes capsulatus* in a case of suppurative pyelitis. (The John Hopkins Hosp. Bull. 1896.)

7) Welch, W. H. and Flexner, S., Observations concerning the *Bacillus aërogenes capsulatus*. (The Journal of experimental Medicine. 1896.)

8) Dunham, K. E., Report of five cases of infection by the *Bacillus aërogenes capsulatus* (Welch). (The John Hopkins Hosp. Bull. 1897.)

9) Dobbin, G. W., Puerperal sepsis due to infection with the *Bacillus aërogenes capsulatus*. (The John Hopkins Hosp. Bull. 1897.)

ring¹⁾, Carter Wood²⁾, Howard³⁾, Bernhardt⁴⁾, Sandler⁵⁾ und Westenhoeffer⁶⁾ bestätigt, vor allem aber durch die Arbeit von Hitschmann und Lindenthal⁷⁾, die uns die eingehendsten und wertvollsten Untersuchungen über die Schaumorgane und ihre verwandten Prozesse brachte.

In einer Reihe anderer Arbeiten wurden zwar andere Bakterien als Ursache der typischen Schaumorgane und der ihnen nahestehenden Prozesse beschrieben, doch wiesen schon Hitschmann und Lindenthal, besonders aber E. Fraenkel⁸⁾ auf solche Mängel in einigen dieser Arbeiten hin, daß davon folgende 4 Beobachtungen als ungenügend bewiesen ausgeschaltet werden müssen: Die Beobachtung von Heydenreich⁹⁾, der in einem Falle von Schaumleber ohne Kultur und ohne Benutzung der Färbungsmethode von Gram das *Bact. coli commune* als Erreger nachgewiesen zu haben glaubte; sodann die Beobachtung von Uffenheimer¹⁰⁾, der in einem Falle von Schaumorganen bei einer gangränösen Endometritis einen neuen aëroben Bacillus beschrieb, den er *Bacillus aërogenes aërophilus agilis* nannte; und schließlich zwei von den Beobachtungen Westenhoeffers, der das *Bact. coli commune* in einem Falle als Ursache eines postmortalen Emphysems des Mesenteriums, im anderen als Ursache eines postmortalen Emphysems der Harnblase, des Cavum Douglasii und des Mesenteriums ansah.

Es bleibt also von den Beobachtungen dieser Arbeiten nur die von Buday¹¹⁾ übrig, der in einem Falle von postmortaler Gasbildung der Haut und des Blutes in den Deckglaspräparaten, Kulturen und Schnitten ausschließlich eine Bacillenart nachweisen konnte, die er *Bacillus cadaveris butyricus* nannte. Dieser Bacillus zeigte in den Kulturen lange Fäden, die oft 150 und mehr Glieder hatten, winkelig geknickt oder verschlungen waren, und ließ weder Eigenbewegung noch Sporen nachweisen; er wuchs nur anaërob, bildete in Gelatine mit 1-proz. Traubenzucker kleine Kolonien mit haarartigen Fortsätzen, ähnlich dem

1) Reuling, R. and Herring, A. P., Cavities in the brain produced by the *Bacillus aërogenes capsulatus*. (The John Hopkins Hosp. Bull. 1899.)

2) Carter Wood, F., Puerperal infection with the *Bacillus aërogenes capsulatus*. (Medical Record. 1899.)

3) Howard, W. T., Acute fibrino-purulent cerebro-spinal Meningitis, Ependymitis, Abscess of the cerebrum, Gascysts of the cerebrum, cerebro-spinal exsudation, and of the liver, due to the *Bacillus aërogenes capsulatus*. (The John Hopkins Hosp. Bull. 1899.)

4) Bernhardt, P., Ein Fall von Pneumathämie und Schaumorganen. (Deutsche med. Wochenschr. 1900.)

5) Sandler, A., Ueber Gasgangrän und Schaumorgane. (Centralbl. f. allgem. Path. u. path. Anat. 1902.)

6) Westenhoeffer, Ueber Schaumorgane und Gangrène foudroyante. (Virch. Arch. Bd. CLXVIII.); Weitere Beiträge zur Frage der Schaumorgane und der Gangrène foudroyante. Kadaveröse Fettembolie der Lungenkapillaren. (Virch. Arch. Bd. CLXX.)

7) Hitschmann, F. und Lindenthal, O. Th., Ueber die Schaumorgane und die bakteriellen Schleimhautemphyseme. (Sitzungber. d. Kais. Akademie der Wissenschaften in Wien. Mathem.-naturwiss. Klasse. Bd. CX. 1901.)

8) Fraenkel, E., Ueber die Aetiologie und Genese der Gasphlegmonen, Gaszyten und der Schaumorgane des menschlichen Körpers. (Lubarsch, O. und Ostag, R., Ergebnisse d. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. 1902.)

9) Heydenreich, L., Emphysem der Leber. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Bd. XXI. 1897.)

10) Uffenheimer, A., Ein neuer gaserregender Bacillus (*Bacillus aërogenes aërophilus agilis*, nov. spec.). (Beiträge zur pathol. Anat. u. allgem. Pathol. Bd. XXXI. 1902.)

11) Buday, K., Zur Kenntnis der abnormen postmortalen Gasbildung. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Bd. XXIV. 1898.)

Bac. rhizopodiformis, verflüssigte Gelatine nie, brachte Milch unter reichlicher Gasbildung zur flockigen Gerinnung, ohne stinkende Abbauprodukte zu erzeugen, und entwickelte reichlich Buttersäure; für Kaninchen nicht pathogen, verursachte er bei Meerschweinchen nach subkutaner Injektion kleine Infiltrate, die rasch zurückgingen.

An diese Beobachtung Budays schließt sich in neuerer Zeit noch E. v. Hiblers¹⁾ Mitteilung über einen anaëroben Bacillus, der aus den Schaumorganen eines Diabetikers isoliert wurde und mit dem von uns²⁾ in der zweiten Mitteilung über die Anaërobien beschriebenen identisch sein soll.

Eine dritte Reihe von Arbeiten endlich behandelte Beobachtungen von Gasbildung in der Leber bei pathologischen Veränderungen der Gallenwege und zum Teil auch der Leber selbst, also Fälle, die anatomisch nicht das Bild der typischen Schaumleber zeigten, sondern Gasbildung nur in geringer Menge und vorwiegend in den Gallenwegen nachweisen ließen. Hierher gehören die Beobachtungen von Hintze³⁾, Kerschensteiner⁴⁾ und Stolz⁵⁾. Während aber die beiden ersten Autoren in ihren Fällen als Ursache der Gasbildung nur einen Angehörigen der Gruppe des *Bact. coli commune* fanden, sah Stolz diese in einem Gemenge von Bakterien: *Bact. coli commune*, *Bact. lactis aërogenes* und *Bac. mesentericus*. Ganz abgesehen davon, daß die Fälle von Hintze und Kerschensteiner bakteriologisch nicht so untersucht sind, um als Beweise gelten zu können, nehmen die Beobachtungen dieser 3 Autoren durch den anatomischen Befund der nachgewiesenen Leberveränderungen eine besondere Stellung ein, was schon E. Fraenkel mit Recht hervorgehoben hat; deshalb sollten sie auch nicht den typischen Schaumlebern zugezählt werden, die grob anatomisch und histologisch doch so gleichmäßig charakteristische Veränderungen zeigen.

Der Ansicht Hirschmanns und Lindenthals, sowie E. Fraenkels, daß die Aetiologie der Schaumorgane keine einheitliche sei, muß demnach zugestimmt werden; doch wäre sie nach unserer Meinung dahin richtigzustellen, daß als Erreger für die beim Menschen beobachteten Fälle typischer Schaumorgane bisher nur anaërobe Bakterien mit Sicherheit bewiesen erscheinen, nicht aber aërobe Arten, obgleich es leicht gelingt, im Tierexperimente solche Prozesse auch mit aëroben Bakterien zu erzeugen. Hingegen erscheint die Ansicht, daß unter den Anaërobien in der Aetiologie der menschlichen Schaumorgane dem *Bacillus aërogenes capsulatus* die Hauptrolle zufalle — die Veränderungen mögen spontan oder nach einer Gangrène foudroyante entstanden sein — augenscheinlich durch so viele Beobachtungen gestützt, daß sie auch weiterhin ihre Gültigkeit behalten dürfte.

1) Hibler, E. v., Ueber die Differentialdiagnose der pathogenen Anaërobien. (Verhandlungen der Deutschen Pathol. Gesellschaft. 9. Tagung. 1905.)

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

3) Hintze, Ueber Gasbildung in der Leber bei Cholelithiasis. (Münch. med. Wochenschr. 1895.)

4) Kerschensteiner, Ein Fall von Schaumleber. (Deutsches Archiv f. klin. Medizin. Bd. LXIX. 1901.)

5) Stolz, A., Ueber Gasbildung in den Gallenwegen. (Virchows Arch. Bd. CLXV. 1901.)

Eine Erweiterung der bisher spärlichen Beobachtungen über andere Anaëroben als Erreger von Schaumorganen bringt folgender Fall:

Am 27. August 1902 wurde die 19 Jahre alte A. M. auf die dritte chirurgische Abteilung des k. k. allgemeinen Krankenhauses (Vorstand: Primarius Dr. Frank) aufgenommen: sie hatte 4 Tage vorher geboren (erster Partus); wegen starker Blutung und wegen Anwachsung der Placenta war diese gelöst worden, worauf sich 2 Tage später Fieber und stinkender Ausfluß einstellten.

Bei der Aufnahme ins Spital hatte die Frau außer dem stinkenden Ausflusse aus dem Genitale fuliginösen Belag auf der Zunge und den Lippen, Schmerzen im Bauche, fliegenden Puls und eine Temperatur von 40,5° C.

Am 1. September 1902 starb A. M.

Das Ergebnis der 27 Stunden nach dem Tode vorgenommenen Obduktion (Dr. M. Sachs) war:

Placentarreste; diphtheritische Endometritis; eitrige Metro-lymphangiitis; Pyosalpinx der rechten Seite.

Verruköse Endocarditis der Mitralklappe.

Akuter Milztumor; Degeneration der parenchymatösen Organe.

Emphysem des retroperitonealen und retromediastinalen Bindegewebes. Schaumleber und Schaummilz.

Bei der unmittelbar nach der Sektion ausgeführten bakteriologischen Untersuchung wurde nur die Aetiologie der Schaumorgane berücksichtigt und deshalb unter den nötigen Kautelen von der Leber Saft genommen:

Mikroskopisch fanden sich darin in reichlicher Menge ungleich große, gerade oder leicht gekrümmte Bacillen, die anscheinend alle nur einer Art angehörten und im allgemeinen an den von Welch und E. Fraenkel beschriebenen Bacillus erinnerten (Fig. 1). In den nach der Methode von Gram gefärbten Präparaten erschienen die Stäbchen größtenteils dunkelviolet, zum geringeren Teile mit der Kontrastfarbe tingiert (Fuchsin) oder zeigten beide Farben. Sporen wurden in diesen Präparaten nicht gefunden.

Nur in den anaëroben Kulturen wuchs in reichlichster Menge eine Bakterienart, die morphologisch und färberisch mit dem im Lebersafte nachgewiesenen Bacillus übereinstimmte.

Der gleiche Bacillus fand sich auch in den Schnittpräparaten von der Leber, wo er in den Gasblasen, in den Leberkapillaren, in den Pfortadergefäßen, zwischen den auseinander gerissenen Leberzellenbalken und im interstitiellen Gewebe in reichlicher, oft sogar enormer Menge nachweisbar war, während die Gallengänge und die arteriellen Gefäße keine Bacillen enthielten. Histologisch zeigte die Leber dabei solche Veränderungen, wie wir sie auch sonst in der Schaumleber sehen können: verschieden große, rundliche oder unregelmäßige Hohlräume, die oft nur durch ganz schmale Gewebsbrücken voneinander getrennt waren und neben den Bakterien noch feingekörnte Massen enthielten. Solche Massen lagen auch zwischen den Leberzellenbalken, deren Zellengrenzen undeutlich und deren Kerne schwach, an manchen Stellen gar nicht gefärbt erschienen (Fig. 2).

Nach diesen Befunden hielten wir uns für berechtigt, den isolierten Bacillus als die Ursache der Schaumleber und damit auch als Ursache der anderen Schaumorgane anzusehen.

Dieser Bacillus war obligat anaërob und durch folgende Eigenschaften ausgezeichnet:

Morphologisches Verhalten: Im allgemeinen erinnerte das Stäbchen — wie schon erwähnt — an den Bacillus von Welch und E. Fraenkel; nur war es um ein geringes schlanker und zeigte neben geraden auch mehr oder weniger stark gebogene Formen (Fig. 1). Der eigentümliche

Eindruck von Starrheit, der für den Bacillus von Welch und E. Fraenkel in Deckglaspräparaten so charakteristisch ist, fehlte bei unserem Bacillus; auch die ganz kurzen und dicken Formen, die das Stäbchen von Welch und E. Fraenkel oft zeigt, waren niemals zu sehen. Dagegen fanden wir verschieden lange, gegliederte und ungegliederte Fäden, die teils gerade, teils gebogen, manchmal auch abgeknickt oder eingerollt waren.

Neben diesen regelmäßig gefundenen Formen sahen wir in Präparaten aus Kulturen in Traubenzuckeragar, Stärkeagar und Neutralrotagar hier und da auch Stäbchen mit birnförmigen, keulenartigen oder pfeilspitzenähnlichen Anschwellungen; nicht selten lagen diese Anschwellungen sogar zu mehreren hintereinander und gaben dann den Fäden ein rosenkranzartiges Aussehen.

Junge Kulturen in Traubenzuckeragar zeigten manchmal und dann in reichlicher Menge neben gewöhnlichen auch schraubenförmig gekrümmte Formen; die Schraubenwindungen fanden sich gewöhnlich im Verlaufe der zahlreich vorhandenen gegliederten Fäden, die dadurch teilweise korkzieherartig gewunden erschienen (Fig. 3).

In Präparaten aus alten Kulturen, besonders aus solchen in flüssigen Nährsubstanzen fanden sich dünne kurze Formen und lange dünne, ungegliederte Fäden.

Der Formenreichtum unseres Bacillus war demnach größer als der des Stäbchens von Welch und E. Fraenkel, hingegen geringer als der der Gruppe des malignen Oedembacillus.

Mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen konnte unser Bacillus rasch und gut gefärbt werden; sogar Präparate aus viele Jahre alten und nicht mehr überimpfbaren Kulturen zeigten noch überwiegend ziemlich gut tingierte Formen. Bei Anwendung der Methode von Gram erschienen die Stäbchen in jungen Kulturen gleichmäßig dunkelviolet; in älteren Kulturen hatten sie dagegen teilweise auch die Kontrastfarbe (Fuchsin) angenommen oder waren violett und rot gefärbt (Uebergangsformen). Die Zahl der zweifarbigen, besonders der rot gefärbten Bacillen nahm mit dem Alter der Kulturen zu; wir hielten sie deshalb für Degenerationsformen, wie sie bei allen verwandten anaëroben Bakterien und zwar immer rasch gebildet werden. Weil aber für die Beurteilung des Verhaltens zur Methode von Gram nur die jungen, lebenskräftigen Formen maßgebend sind, muß unser Bacillus als „grampositiv“ bezeichnet werden.

Das Stäbchen bildete endogene und zwar häufiger mittelständige als endständige Sporen (Fig. 4): Wir fanden sie in Agarkulturen mit Zusatz von 1‰ Stärke und 10–25 Tropfen einer Normallösung von Kalilauge; ebenso in Zuckeragarkulturen mit Zusatz von Neutralrot, in Gelatinekulturen und in Plattenstrichkulturen auf Traubenzuckeragar in Wasserstoffatmosphäre. An bestimmte Zeiten war dabei die Entwicklung der Sporen nicht gebunden, doch sei hervorgehoben, daß sie in Stärkeagarkulturen niemals schon nach 48 Stunden, sondern erst viel später zu sehen waren.

Mit Jod oder Jodkali (Lugols Lösung) färbten sich die Bacillen gewöhnlich gleichmäßig hellgelb; nur hier und da zeigten sie dunkelbraune oder schwärzliche Flecken, die in den angeschwollenen Formen neben den Sporen sichtbar waren, sich aber ebenso oft auch in den geraden, sporenfreien Stäbchen, manchmal überhaupt nur in diesen nachweisen ließen. Bacillen aus stärkehaltigen Kulturen verhielten sich bei dieser Färbung nicht anders als solche aus anderen Kulturen, ließen manchmal sogar Braunfärbung ganz vermissen.

Der Bacillus war beweglich und hatte zahlreiche, zarte und peritriche Geißeln, deren Darstellung leicht, manchmal schon mit gewöhnlicher Fuchsinfärbung gelang; oft fanden sich in den Präparaten Geißelzöpfe (Fig. 5).

Kulturelles und biochemisches Verhalten: Strichkulturen auf Traubenzuckeragar (Plattenkulturen in Wasserstoffatmosphäre) zeigten verschieden große Einzelkolonien, die bei guter Isolierung einen Durchmesser von mehr als 2 mm erreichten. Die größeren Kolonien waren gebuchtet, die kleineren rundlich oder rund. Im auffallenden Lichte erschienen die Kolonien weißlichgrau, etwas opak und leicht erhaben in den mittleren, mehr grau in den äußeren Partien; manchmal hob sich der zentrale Teil von der grauen und flachen Peripherie als weißlich glänzendes, kegelförmiges Gebilde besonders scharf ab. Im durchfallenden Lichte erschienen die mittleren Partien bräunlich, die Randpartien hatten eine gleichmäßig graue Farbe und zeigten oft ein wollhaarähnliches Aussehen. Zwischen den verschiedenen Formen der Kolonien gab es fließende Uebergänge.

Dort, wo die Einzelkolonien zusammengeflossen waren, fanden sich größere, unregelmäßig gebuchtete Rasen, die in gewissen Abständen die opaken zentralen Anteile der Kolonien als lichtere und deutlich prominente Gebilde noch erkennen ließen. Von diesen Rasen, seltener auch von den Einzelkolonien, strahlten mitunter büschelförmige oder fingerartige Ausläufer von verschiedener Länge aus. Diese hatten im allgemeinen das gleiche Aussehen wie die peripheren Anteile der Kolonien und gaben den Kulturen oft ein eisblumenartiges oder moosähnliches Aussehen; hier und da gingen sie in einen dünnen, gleichmäßigen Ueberzug über, der sich über mehr oder weniger große Teile der Platte ausbreitete.

Mikroskopisch (Zeiss, Objektiv A, Okular 4) erschienen die Kolonien gelblichbraun, und zwar um so dunkler, je opaker sie waren. Die zentralen Partien der Kolonien hatten oft eine astförmige Zeichnung, ihr Rand hingegen war hell, deutlich gebuchtet und zeigte in unregelmäßiger Anordnung ungleich lange Ausläufer, die bei stärkerer Vergrößerung Einzelbacillen und Fäden gerade so deutlich erkennen ließen wie die Randpartien der schon makroskopisch sichtbaren Ausläufer und diffusen Ueberzüge.

Schüttelkulturen in Traubenzuckeragar (37°) zeigten bei dichter Aussaat eine mehr oder weniger gleichmäßige Trübung und verschieden reichliche Gasbildung. Isolierte Kolonien wurden größer als ein Hanfkorn, waren grauweißlich und hatten an der Peripherie oft deutlich radiär angeordnete Fortsätze.

In Stichkulturen in Traubenzuckeragar war schon in den ersten 24 Stunden ein ziemlich üppiges, bandartiges Wachstum zu erkennen; Gasbildung jedoch trat gewöhnlich erst nach 48 Stunden auf, selten früher, dann aber stürmisch.

In Agar ohne Traubenzucker war das Wachstum ähnlich dem in Traubenzuckeragar.

Zusatz von 1‰ Stärke zum Agar förderte die Entwicklung des Bacillus nicht, doch war die Gasbildung in solchen Nährböden immer ziemlich reichlich.

In Wasseragar (Agar in Wasser gelöst, ohne Pepton und ohne Kochsalz) wurde Wachstum nie beobachtet.

Kulturen in Gelatine und in Traubenzuckergelatine zeigten

bei 37° C rasch diffuse, üppige Trübung, die sich unter Bildung eines dichten, weißlichgrauen Satzes bald wieder zu klären begann. Gas wurde in diesen Kulturen immer gebildet, aber in verschiedenen Mengen. Der Nährboden reagierte stets sauer; und schon nach 24-stündiger Entwicklung erstarrte er nicht mehr, wenn er in kaltes Wasser gestellt wurde.

Bei 18—20° C entwickelten sich Stickskulturen in Gelatine und Traubenzuckergelatine schon nach wenigen Tagen und zeigten dann, je nach der Dichte der Aussaat, ein gleichmäßiges, grauweißliches Band oder runde Einzelkolonien; diese wurden bei guter Isolierung stecknadelkopfgroß, oft auch größer, hatten eine grauweißliche Farbe und einen zarten wolkigen Hof, der bei Lupenvergrößerung feinste, radiär angeordnete Ausläufer erkennen ließ. Aehnliche Kolonien entstanden auch in den Schüttelkulturen, wenn sie bei 18—20° C gehalten wurden. Gelatine und Traubenzuckergelatine wurden auch bei diesen Temperaturen immer, aber im allgemeinen langsam, verflüssigt; Gasbildung war jedoch nur bei dichter Aussaat nachweisbar.

Im allgemeinen wuchsen die Bacillen in Traubenzuckergelatine üppiger als in Gelatine.

Auf Kartoffeln, die unter Wasserstoffatmosphäre bei 37° gehalten wurden, entwickelte sich schon nach einigen Tagen ein leicht erhabener, grau glänzender Rasen.

Kulturen in Fleischbrühe mit Zusatz von 1—2 Proz. Traubenzucker zeigten diffuse starke Trübung und reichlichen Bodensatz; unter Zunahme des Satzes klärte sich der Nährboden später wieder. Gas bildete sich nur spärlich.

In Fleischbrühe ohne Zuckerzusatz waren Wachstum und Gasbildung geringer als in Traubenzuckerbouillon.

Auch in Fleischbrühe mit Zusatz von 2 Proz. Milchzucker erfolgte üppiges Wachstum, die Gasbildung aber war spärlich und gewöhnlich erst spät sichtbar; bei Zusatz von 2 Proz. Rohrzucker zur Fleischbrühe konnte in einigen Versuchen Gas überhaupt nicht nachgewiesen werden.

In Peptonwasser wuchs der Bacillus nur sehr dürftig.

Eiweißfreie Nährböden nach Uschinsky ließen auch dann keine Entwicklung des Bacillus erkennen, wenn ihnen Traubenzucker in der Menge von 2 Proz. zugesetzt worden war.

Milchkulturen in Erlenmeyers Kolben (hohe Schicht) zeigten bei reichlicher Aussaat zunächst mäßige Gasbildung, dann langsame Gerinnung: über dem Gerinnsel, das verschieden fest war und den Boden des Kolbens bedeckte, lag eine hohe Schicht gelblicher oder grünlichgelber, mehr oder weniger klarer Flüssigkeit, die von der gashaltigen Rahmschicht bedeckt war. Diese Veränderungen entwickelten sich nicht immer gleich schnell, gewöhnlich erst spät, und blieben manchmal ganz aus. Das Gerinnsel, das nach und nach fester wurde, ließ nie Zeichen von Auflösung erkennen (Beobachtungsdauer von fast 2 Jahren).

Gleiche oder ähnliche Veränderungen fanden sich in den Milchkulturen, die in hohen Eprovetten mit Wasseragar überschichtet worden waren.

Die Milchkulturen reagierten immer schwach sauer und hatten einen säuerlichen, nie einen stinkenden Geruch.

In erstarrter Ascitesflüssigkeit und in erstarrter Hydrokelenflüssigkeit war das Wachstum nur mäßig üppig, die Gasbildung ge-

ring oder blieb oft ganz aus. Niemals sahen wir Verflüssigung oder Schwärzung des Nährsubstrates.

Kulturen in Traubenzuckeragar mit Zusatz von 1—3 Tropfen konzentriert wässriger Lösung von Neutralrot oder mit Zusatz von 1‰ indigo-schwefelsaurem Natrium wuchsen rasch und üppig, bei vollständiger Entfärbung des Nährbodens.

Indol, Essigsäure und Aceton konnten in Traubenzuckerbouillon — und in Milchkulturen niemals, Schwefelwasserstoff dagegen stets reichlich nachgewiesen werden.

Buttersäure und Aethylalkohol fanden sich immer in geringer, Milchsäure in wechselnder Menge¹⁾.

Die **Lebensfähigkeit** des Bacillus in Kulturen war verschieden: wenn Sporen vorhanden waren, ließen sich die Kulturen noch nach vielen Monaten, einzelne sogar nach mehreren Jahren (5 Jahre) überimpfen und durch 5—10 Minuten auf 70—75° C erhitzen, ohne ihre Uebertragbarkeit zu verlieren; war die Sporenbildung ausgeblieben, so ging der Bacillus recht bald ein und es war dann nötig, die Kulturen alle 8 bis 10 Tage zu überimpfen, um sie sicher zu erhalten.

Pathogenes Verhalten: Die Pathogenität des Bacillus war für unsere gewöhnlichen Versuchstiere nicht groß.

Weißer Mäuse reagierten auf eine intraperitoneale Einverleibung von 24-stündigen Zuckerbouillonkulturen in Mengen bis zu 2 ccm kaum oder gar nicht, bei subkutaner Injektion der gleichen Menge entstanden Infiltrate, woraus sich Geschwüre entwickelten, die wieder verheilten.

Alle Tiere genasen vollständig.

Meerschweinchen vertrugen subkutane Injektionen kleiner Mengen junger Zuckergelatinekulturen ohne Reaktion. Erst Mengen von 2—5 ccm erzeugten an der Injektionsstelle Infiltrate, die Gasknistern nachweisen ließen und nach geschwürigem Zerfall wieder langsam verschwanden:

Ein 480 g schweres Meerschweinchen erhielt subkutan 5 ccm einer 20-stündigen Zuckergelatinekultur (37°) der 4. Generation.

Schon in den ersten 24 Stunden entwickelte sich an der Injektionsstelle eine mächtige, teigige Anschwellung mit deutlichem Gasknistern. Das Tier war sehr matt und ohne Freßlust. In den nächsten 12 Stunden hob sich die Haut an der Injektionsstelle blasig ab, ihre Umgebung blieb teigig geschwollen und zeigte deutlich Gasknistern.

Nach 4 Tagen war die Blase zu einem linsengroßen braungelben Schorf eingetrocknet, der sich bald abstieß. Darauf wurde ein scharf begrenzter, tiefer Substanzverlust sichtbar, dessen Grund mit gelblichen, schmierigen Massen und kleinen braunen Borken bedeckt und dessen Ränder derb infiltriert waren.

Unter langsamer Rückbildung des Geschwüres erfolgte Heilung.

Etwa 1 kg schwere Kaninchen reagierten auf subkutane Injektion von jungen Zuckergelatinekulturen in Dosen von 2—3 ccm gar nicht oder bekamen ein verschieden großes Infiltrat, das aber bald wieder aufgesaugt wurde.

Erzeugung von Schaumorganen gelang mit dem Bacillus bei Kaninchen leicht:

1) Schon an anderer Stelle ist gezeigt worden (siehe diese Zeitschrift. Abt. I. Orig. Bd. XL. p. 42 und Bd. XLI. p. 609), daß Aethylalkohol, Buttersäure und Milchsäure auch in nicht beimpften, sterilen Nährböden (Zuckerfleischbrühe und Milch) in wechselnden Mengen nachgewiesen werden können; deshalb haben diese Produkte, nur qualitativ nachgewiesen, differentialdiagnostisch keine oder nur ganz untergeordnete Bedeutung.

Ein mittelgroßes Kaninchen, das unmittelbar nach einer intravenösen Einspritzung von 2 ccm einer Zuckergelatinekultur getötet worden war und dann 16 Stunden lang in der Brutkammer (37° C) gelegen hatte, zeigte folgende Veränderungen:

Bauch und Brust sind mächtig aufgetrieben, die Bulbi hervorgetreten. Im subkutanen Gewebe des ganzen Körpers ist deutliches Knistern nachweisbar. Das subkutane Gewebe ist nur in den abhängigen Partien von blutig gefärbter Flüssigkeit durchsetzt, sonst trocken und zeigt zahlreiche, verschieden große Gasblasen. Solche Gasblasen finden sich auch in der gleichfalls trockenen, gelblichen Muskulatur. In der Bauchhöhle ist etwas trübe Flüssigkeit. Die Darmschlingen erscheinen stark gebläht, das Peritoneum ist gleichmäßig blaß. Die Leber sieht wie gekocht aus, ist gelblich-braun, morsch und von zahlreichen Gasblasen durchsetzt. Auch in den Nieren und in den Lungen, ebenso im Herzmuskel und in den Herzhöhlen sieht man Gasblasen in reichlichster Menge.

Deckglaspräparate vom Saft des subkutanen Gewebes, der Leber und der Muskulatur zeigen in reichlichster Menge Bacillen vom Aussehen der eingepfropften.

Die aëroben Kulturen vom Saft der Leber, der Muskulatur und des subkutanen Gewebes blieben steril, die anaëroben hingegen zeigten in reichlicher Menge und ausschließlich Kolonien unseres Bacillus.

Vergleichen wir den von uns isolierten Bacillus mit den Anaëroben, die bisher als Ursache von Schaumorganen beschrieben worden sind, so muß zunächst zugegeben werden, daß er mit dem zweifellos häufigsten Erreger der menschlichen Schaumorgane, dem *Bac. aërogenes capsulatus*, nicht identifiziert werden kann: Die Beweglichkeit des von uns gezüchteten Bacillus, seine Eigenschaft, in zuckerhaltigen Nährmedien zahlreiche peritriche und leicht nachweisbare Geißeln, mittel- und endständige Sporen und Kolonien mit Ausstrahlern zu bilden, seine Fähigkeit, Milch nur langsam zu koagulieren und seine geringe Pathogenität — trennen ihn zur Genüge vom *Bac. aërogenes capsulatus*.

Seine Beweglichkeit, seine Geißelbildung und Versporungsfähigkeit, dazu die Eigenschaft, Gelatine zu verflüssigen, unterscheiden unseren Bacillus aber auch von dem *Bac. cadaveris butyricus*, den Buday beschrieben hat und dessen Stellung zum *Bac. aërogenes capsulatus* bisher eigentlich unklar geblieben ist. Nach Hitschmann und Lindenthal steht der von Buday beschriebene Bacillus dem von Welch und E. Fraenkel nahe, nach Lehmann und Neumann¹⁾ sind beide wahrscheinlich identisch. Uns aber scheint die Identifizierung der beiden Bacillenarten nicht genügend begründet. Denn die Unfähigkeit des *Bac. cadaveris butyricus*, Gelatine zu verflüssigen, seine Eigenschaft, auffallend lange, haarförmige Ausläufer in den Gelatinekulturen und lange gegliederte, oft gewundene Fäden in den Kulturen überhaupt zu bilden, dazu seine fast mangelnde Pathogenität — sind doch wohl Merkmale, die einer Identifizierung beider Bacillen im Wege stehen, was übrigens Buday selbst schon hervorgehoben hat.

Ueber das Verhältnis unseres Bacillus zu dem von E. v. Hibler aus einem Falle von Schaumorganen gezüchteten endlich möchten wir uns nicht sicher aussprechen. E. v. Hibler sieht seinen Bacillus als artgleich an mit dem von uns als Ursache eines Gasbrandfalles beschriebenen, will diesen aber, im Gegensatze zu uns, vom *Bac. oedematis maligni* trennen. Mit den Bacillen, die der Gruppe des *Oedembacillus* angehören, hat der hier beschriebene zweifellos mehrere Eigenschaften gemein, unterscheidet sich von ihnen aber wieder durch manche wesentliche Merkmale.

1) Lehmann, K. B. und Neumann, R. O., Atlas und Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. Bd. II. 1907.

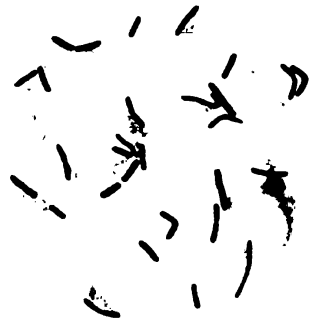


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

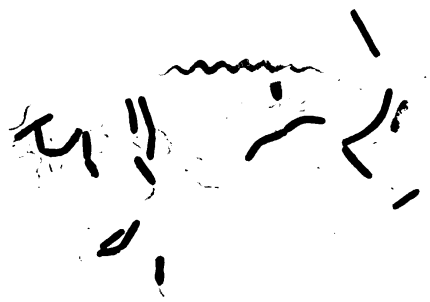


Fig. 5.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

Jedenfalls bestätigt die mitgeteilte Beobachtung, daß für die Aetio-
logie der menschlichen Schaumorgane unter den Anaëroben — aëro-
be Bakterienarten erscheinen nach unserer Meinung als Ursache typischer
Schaumorgane noch nicht unanfechtbar bewiesen — neben dem *Bac.*
aërogenes capsulatus von Welch und Nuttall noch andere
Bacillen in Betracht kommen.

Die Klassifizierung dieser anderen Anaëroben — und das gilt auch
für unseren Fall — bereitet Schwierigkeiten; deshalb unterlassen wir
den Versuch, sie durch eine vergleichende Kritik mit den ihnen nahe-
stehenden, bisher bekannten anaëroben Arten zu identifizieren: er würde
doch zu keinem befriedigenden Resultate führen. Denn wie die Arbeiten
von Schattenfroh und Grassberger¹⁾ über die Buttersäuregärung
beweisen, ist die Abgrenzung einer großen Gruppe pathogener und nicht
pathogener Anaëroben untereinander keine scharfe; und zu dieser Gruppe
anaërober Bakterien gehört der *Bac. aërogenes capsulatus*, *E.*
Fraenkels Bac. phlegmonis emphysematosae, den Schatten-
froh und Grassberger als eine pathogene Abart des in der Natur
weit verbreiteten unbeweglichen *Buttersäurebacillus* ansehen.

Die interessante und wichtige Feststellung Schattenfrohs und
Grassbergers, daß manche dieser Anaëroben einen zweifachen Formen-
kreis (Dimorphismus) aufweisen und uns dadurch teils in ihrem originären,
teils in ihrem denaturierten Zustande unterkommen, verpflichtet uns, alle
Anaëroben dieser Gruppen, die nicht schon bekannten Arten angereicht
werden können, künftig auch auf ihren Dimorphismus zu untersuchen.

Die hier mitgeteilten Untersuchungen waren schon vor mehreren
Jahren abgeschlossen. Seitdem konnten wir eine Reihe neuer Fälle von
Infektionen mit verwandten anaëroben Bacillen beobachten und hatten
so Gelegenheit, die Untersuchungen mit dem beschriebenen Anaërobion,
das wir noch besitzen, aufs neue aufzunehmen. Darüber wollen wir
später berichten.

1) Schattenfroh, A. und Grassberger, R., Ueber Buttersäuregärung. I—IV.
Abhandlung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVII, XLII, XLVIII und LX.)

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Ausstrichpräparat vom Saft der Leber. (Zeiss, Immersion, Komp.-
Okul. 6.)

Fig. 2. Schnittpräparat von der Leber: Drei nebeneinander gelegene Gasblasen
(B). Zahlreiche Bacillen in der einen Gasblase und im Lebergewebe zwischen den
Gasblasen. (Vergrößerung 1:150.)

Fig. 3. Präparat aus einer 48-stündigen Kultur in Traubenzuckeragar mit Fäden,
die zum Teil korkzieherartig gewunden erscheinen. (Vergrößerung wie bei Fig. 1.)

Fig. 4. Präparat aus einer 96-stündigen Kultur in Traubenzuckeragar mit Neutral-
rot: endogene Sporen. (Zeiss, Immersion, Komp.-Okul. 8.)

Fig. 5. Präparat aus einer 24-stündigen Kultur in Traubenzuckeragar (erste Ge-
neration): Bacillen mit peritrichen Geißeln und freier Geißelzopf. (Vergrößerung wie
bei Fig. 1.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zu den Malariaverhältnissen in Budapest und zur Lehre der Frühjahrs malaria.

[Aus der VII. med. Abteilung des St. Istvan-Spitals.
Primararzt: Dr. Hochhalt.]

Von Dr. Emil Kőrmöczy.

Seitdem man die Rolle der *Anopheles* bei der Verbreitung der Malaria erkannt hatte, wurde es immer mehr klar, daß das Studium dieser Krankheit korrekterweise nur nach den einzelnen Gegenden erfolgen kann. Dies ist übrigens leicht verständlich, weil die Art und Weise, wie die Malaria auftritt, und eine ihrer Eigentümlichkeiten in erster Linie von der Lebensweise der *Anopheles* abhängt, die das Klima, Bodenverhältnisse, die Kulturstufe der Bewohner wieder beeinflussen. Seitdem aber auch offenbar wurde, daß die *Anopheles* sich außerordentlich den sie umgebenden Verhältnissen anzupassen vermag, und daß die *Anopheles* einzelner Gegenden eine verschiedene Lebensweise führen kann und gegenüber der Infektion mit verschiedenen Plasmodienarten verschiedenes Verhalten zeigt, hat sich der Wert solcher Untersuchungen noch mehr gesteigert.

Die Malariaverhältnisse von Budapest verfolge ich seit ca. 12 Jahren mit Aufmerksamkeit, und seit 1903 habe ich meine Untersuchung auch auf die in unserer Hauptstadt vorkommenden *Anopheles* und deren Lebensweise ausgedehnt. In allerletzter Zeit hat mich besonders die Frühjahrs malaria interessiert. Ueber die in diesen Untersuchungen gewonnenen Erfahrungen will ich im folgenden referieren.

Ueber Budapests Malariaverhältnisse statistische Daten zu sammeln, ist sehr schwer. Zum Teil sind diese Daten nicht zu besorgen, zum Teil sind sie unzuverlässig. Schließlich habe ich es für das Richtige gehalten, für das Studium der Malaria nur zwei Quellen in Betracht zu ziehen, die statistischen Daten aus dem Jahrbuche des städt. Krankenhauses, welches, im allgemeinen genommen, Orientierung bietet, und die Daten unserer Abteilung, welche wir auch zur Lösung subtilerer Fragen verwenden können.

Die Daten aus dem Jahrbuche des Krankenhauses sind folgende:

Jahr	Anzahl der Malariakranken	Jahr	Anzahl der Malariakranken
1896	159	1902	136
1897	287	1903	82
1898	446	1904	39
1899	234	1905	52
1900	119	1906	45
1901	144		

Die am Krankenmaterial unserer Abteilung gesammelten Daten sind folgende (s. Tabelle p. 407).

Aus diesen Daten ist klar ersichtlich, daß die Zahl der Malariafälle in Budapest in fortwährendem Sinken begriffen ist. Interessant ist die große Zahl der Fälle aus den Jahren 1897 und 1898. In diesen Jahren dürfte die Malariaendemie sich über das ganze Land erstreckt haben, wenigstens weisen darauf auch die Daten von Jancsó¹⁾ hin, der

1) Jancsó, Studien über die Parasiten des Wechselfiebers. 1904. [Ungarisch.]

an die starke Zunahme der Malariafälle in Kolozsvár in diesen Jahren erinnert!

Jahr	Januar	Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	Sept.	Oktober	November	Dezember	Summe
1896	1	1	1	2	5	5	5	8	6	3	1	1	39
1897	2	0	2	5	8	5	5	12	12	3	5	4	63
1898	2	2	6	14	15	14	9	9	12	8	6	1	98
1899	1	2	2	3	2	3	2	2	3	3	—	1	24
1900	1	1	1	2	4	3	1	—	2	2	—	2	19
1901	1	—	1	—	5	3	3	1	3	4	—	—	23
1902	1	1	1	3	4	3	1	2	1	1	—	—	18
1903	—	2	—	1	3	3	—	2	—	—	—	—	11
1904	—	—	—	1	1	1	5	—	—	—	—	—	8
1905	1	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	2
1906	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	2
1907	—	—	—	1	—	—	2	3	3	—	—	—	9
Summe	11	9	14	32	47	41	34	39	42	24	14	9	316

Wann die Malaria ihren endemischen Charakter in Budapest verloren hat, ist schwer zu entscheiden. Dagegen behaupte ich, daß im Jahre 1897 und 1898 die Malaria noch bei uns endemisch war. Sogar an dem seit Jahren auf dem Areal unseres Krankenhauses wohnhaften Anatomiediener und dessen Frau konstatierte ich im Sommer des Jahres 1898 Plasmodium vivax-Infektion. Seit 1903 habe ich mit besonderer Sorgfalt der Quelle der Infektion nachgespürt, und seither bin ich keinem einzigen Fall begegnet, wo ich eine hiesige Infektion hätte annehmen können.

Während meiner Beobachtung sah ich zweimal Plasmodium praecox-Infektion, die beide von der Balkanhalbinsel zu uns gekommen waren. In der Zeit vor 1903 kam hier und da Quartanainfektion vor, aber in sehr geringer Zahl, seither habe ich aber nur Plasmodium vivax-Infektion gesehen, welche sich als Febris intermittens tertiana simplex oder duplex zeigte.

Aus all dem kann man feststellen, daß bei der unser Krankenhaus frequentierenden Bevölkerung wahrscheinlich nur diese Infektion vorkommt, und die Infektion mit dem Plasmodium praecox in unserem Vaterlande wesentlich geringer ist, als man gewöhnlich annimmt.

Die in den letzten Zeiten beobachteten Infektionen waren alle leichtere Erkrankungen ohne Komplikationen, welche durch Chinin leicht und ohne Rezidive heilten. Die Kraft der Malaria ist in dieser Richtung wesentlich geringer, als sie früher war, und wie sie in epidemischen Gegenden noch jetzt beobachtet werden kann.

Seit 1903 habe ich neben der klinischen Beobachtung meiner Fälle auch den Anophelinen nachgeforscht und versucht, ihre Lebensverhältnisse zu beobachten. Im ganzen genommen, bestätigte ich dabei das, was viele schon oft beschrieben haben, weshalb ich mich nur auf die Erwähnung dessen beschränke, was ich vom Gesichtspunkte der lokalen Verhältnisse hervorzuheben für wichtig erachte.

Budapest, die Haupt- und Residenzstadt Ungarns, liegt an beiden Ufern der Donau zwischen 36° 42' geographischer Länge und 47° 30' geographischer Breite, 112,5 m über dem Meeresniveau. Das Klima ist im allgemeinen gemäßigt und launenhaft. Die meteorologischen Verhält-

nisse kann ich im übrigen am besten durch die meteorologischen Aufzeichnungen der Jahre 1901—1905 demonstrieren:

Jahr, Monat	Durchschnittlicher Luftdruck in mm	Temperatur in Celsius- graden				Durchschnittliche relative Feuchtig- keit in Proz.	Durchschnittliche Bewölkung (0—10)	Zahl der Tage mit Nieder- schlägen			Zahl der Tage mit Regenschauer	Menge des Niederschlags				
		Mittel		durch- schnittl.				tatsäch- lich		Ge- samt		mit Schnee	mit Hagel	Zusammen in mm	Das Maximum	
		Maxi- mum	Mini- mum	Maxi- mum	Mini- mum			Maxi- mum	Mini- mum						Höhe	Dauer
1901—1905																
Januar	757,1	-1,3	1,2	-3,8	13,6	-16,9	83	6,6	13	9	0	0	25	8		
Februar	751,8	2,5	5,2	-0,2	18,0	-16,1	80	6,9	13	5	0	0	46	26	25 901	
März	750,7	6,7	10,1	3,2	21,9	-7,4	71	5,9	11	3	0	0	38	25	4 901	
April	749,5	10,5	14,7	6,4	24,2	-0,6	67	5,4	11	1	0	1	41	21	15 902	
Maí	751,1	15,7	20,5	11,1	30,5	3,7	65	5,0	12	0	1	3	70	37	20 902	
Juni	749,9	19,9	25,0	15,3	31,6	9,8	65	5,1	10	0	0	4	55	34	14 905	
Juli	750,8	22,4	27,9	17,2	35,2	11,5	61	3,7	7	0	0	4	46	39	23 901	
August	751,3	21,4	26,5	16,6	35,0	10,5	62	3,6	6	0	0	3	32	26	17 901	
September	753,3	16,6	21,0	12,6	30,5	4,5	72	4,5	11	0	0	3	39	18	26 905	
Oktober	751,9	11,0	13,8	8,0	26,6	-0,5	79	6,3	13	0	0	0	68	23	17 902	
November	753,0	5,0	7,2	2,4	10,8	-8,8	79	6,5	12	2	0	0	52	24	15 901	
Dezember	753,0	1,7	4,0	-0,5	11,9	-18,0	82	7,2	14	4	0	0	34	18	1 903	

Der auf dem rechten Ufer liegende Teil der Hauptstadt ist gebirgig, hügelig und von Wäldern umgeben. Die Ufer der die Stadt zerteilenden Donau sind reguliert, die Ufergegend ist höchstens außerhalb der Stadt sumpfig. Die im Flußlauf befindlichen Inseln (Margitsziget, Csepelsziget, Nagysziget, Kikötösziget) sind dagegen größtenteils nicht reguliert. Diese Inseln, ferner die mit Pflanzen bedeckten vorstädtischen Gebiete sind die ständigen Brutstätten der Stechmücken. Einen größeren Sumpf gibt es übrigens auf dem Stadtgebiete nicht, ebenso sind daselbst wenige Ställe, die vorhandenen sind rein, modern, Stechmücken kommen nur hin und wieder in ihnen vor. Die Ställe der Vororte sind noch hier und da unrein.

Ich machte meine Beobachtungen größtenteils in den auf dem Krankenhausgebiete befindlichen Tierställen, wo die Anophelinae und Culicinae beständig nisteten. Die Eier, Larven und Puppen beobachtete ich in den hinter dem Krankenhause befindlichen kleinen Wassertümpeln und an den Ufern der Margaretheninsel. Zur Beobachtung der im Freien herumfliegenden Imagines hatte ich sehr selten Gelegenheit. Während meiner Nachforschungen wurde es alsbald klar, daß in Budapest überall dort Anophelinae vorhanden sind, wo für ihre Erhaltung geeignete Verhältnisse obwalten, doch habe ich sie nirgends in größerer Zahl gefunden. Auf dem ausgebauten Gebiet der Stadt kann man sie selten vorfinden, aber z. B. im Stalle der Rettungsgesellschaft gelang es mir, hier und da einzelne zu entdecken. Möglicherweise sind sie mit den in den Vororten herumgekommenen Pferden hineingeflogen und haben sich dort verborgen. Wo hingegen in der Nähe der auf dem Gebiete der Stadt befindlichen Ställe ein Rasen oder Wasseransammlung vorhanden ist, kommen sie schon in größerer Anzahl vor. So z. B. im Kaninchenstall des Krankenhauses, im Desinfektionsinstitut und in den Ställen der äußeren Bezirke. Im ganzen genommen, sind die Culicinae viel zahlreicher, und die Anophelinae sind in größerer Anzahl nur in den Ställen und den darüber liegenden Heuböden wahrzunehmen.

Anfangs bestrebte ich mich, die gesammelten Culicinae und Anophelinae genauer zu bestimmen, vorderhand habe ich aber diese Absicht aufgegeben und mich damit begnügt, die Punktierung der Flügel und das Verhältnis der auf dem Kopfe befindlichen Organe zueinander in Betracht zu ziehen. Damit konnte ich entscheiden, ob ich es mit einer Culex- oder Anopheles-Gattung zu tun hatte. Ich konnte schließlich feststellen, daß auf die in Budapest vorkommenden Anophelinae die Beschreibung des *Anopheles claviger* (*maculipennis* Meig.) vollkommen paßt, und zwar nicht nur von den entwickelten Imagines gilt dies, sondern auch von den Larven und Puppen, und eigentlich beziehen sich meine gesamten Beobachtungen auf diese Anophelinae mit gefleckten Flügeln. Den *Anopheles claviger* könnte man höchstens mit dem *Culex annulatus*, der gleichfalls gefleckte Flügel hat, verwechseln. Diese Culex-Art ist auch in Budapest einheimisch. Im Freien und im Stalle habe ich sie zwar nicht gefunden, aber unter den im Herbst im Zimmer sich bergenden Culicinen habe ich oft genug *Culex annulatus* gesehen. Dieser Culex ist jedoch sehr leicht von den Anophelinen zu unterscheiden, weil *Anopheles claviger* etwas kleiner ist, an seinen Beinen keine farbigen Ringe hat und die Beschaffenheit der auf dem Kopfe befindlichen Organe eine andere ist, ebenso auch seine Ruhestellung.

Während meiner Untersuchungen habe ich mich überzeugt, daß unsere Anophelinae gegen Infektion mit Plasmodien nicht immun sind, und es ist mir öfters gelungen, die in den Budapester Scheunen gefangenen *Anopheles* zu infizieren und den Gang der Infektion zu verfolgen. Diese Untersuchungen habe ich immer mit *Plasmodium vivax* angestellt, hege jedoch deshalb keinen Zweifel, daß die Budapester Anophelinae auch für Infektion mit anderen Plasmodien empfänglich seien.

Vom Gesichtspunkte der Erklärung der Frühlingsmalariafälle ist sehr wichtig, zu erforschen, ob die *Anopheles*-Eier und -Larven bei uns überwintern, und wann deren erste Generation erscheint. Es ist ferner notwendig, zu wissen, wie sich die zum Ueberwintern zurückziehenden *Anopheles*-Weibchen verhalten, wann sie im Frühling auschwärmen und ob sie im Frühling Blut saugen.

Im Verlaufe des Winters hat man weder *Anopheles*-, noch Culex-Eier in Ungarn gefunden. Ich fand auch keine! Die neben dem Krankenhause befindlichen *Anopheles*- und Culex-Nester sind so geringfügig und so sehr dem Verderben ausgesetzt, daß dies schon theoretisch unwahrscheinlich erschien, aber ich fand auch in den gewöhnlichen Culex-Nestern unserer Margaretheninsel kein darauf hinweisendes Zeichen, wiewohl wir heuer im Herbst und am Anfang des Winters viel in dieser Richtung mit Herrn Hof- und Badearzt Dr. Czyzewszy, für dessen Unterstützung ich auch hier meinen besten Dank bekunde, geforscht hatten.

Die erste *Anopheles*-Generation erscheint je nach Witterungsänderungen anfangs Mai, etwas früher die Culicinae. In einer Saison erscheinen gewöhnlich 3—4 Generationen, wie dies auch Jancsó und Kertész gefunden haben. Unter Dach sich bergende, stark entwickelte *Anopheles*-Weibchen dagegen waren schon gewöhnlich in den ersten Septembertagen in unseren Schleußen. Anfangs sogen sich die überwinternden *Anopheles*-Weibchen mit Blut voll und nisteten auf den Brettern über den Tieren, später, im vorgeschrittenen Herbst, saugen

sie nicht mehr Blut und verziehen sich in die dunkeln, vor Luftzug geschützten Winkel des Bodens, wo sie nur schwer aufzufinden sind. In der Mitte des Winters und am Anfange des Frühlings konnte ich sie gar nicht auffinden. Die überwinternden *Anophelinae* werden immer träger und träger, magern ab und werden bucklig wie die *Culicinae*. Bei Eintritt der Frühlingswärme erscheinen die verborgenen *Anophelinae* von neuem. Vor dem Eierlegen saugen sie neuerdings und zu wiederholten Malen Blut und schwärmen erst dann aus.

Wenn wir das Gesagte in Betracht ziehen, so können wir feststellen, daß betreffs der Malaria in Budapest solche Verhältnisse obwalten, wie in den meisten Städten der westlichen Staaten. Es gibt eingeschleppte Malariafälle, es gibt für Infektion empfängliche *Anophelinae*, und dennoch existiert keine endemische Malaria. Die Ursache davon besteht in erster Linie darin, daß es wenig *Anophelinae* gibt und die vorhandenen sich lieber in Ställen aufhalten und dort von Tierblut leben. Gering ist auch die Zahl der Malariakranken, und auch diese heilen leicht und rasch, bevor sie noch die *Anopheles* infizieren könnten. Ganz anders sind die Verhältnisse in der heißen Zone oder in einzelnen sumpfigen Gegenden unseres Landes. Hier sind die *Anophelinae* zahlreich, suchen die mangelhaft gekleideten Menschen auf, hausen sogar zusammen mit ihnen in ihren dunklen, schlecht gelüfteten Zimmern. An solchen Stellen hängt das Aufflammen der Endemie nur von der für die *Anophelinae* günstigen Witterung ab. In unserer Stadt jedoch fehlen die Grundbedingungen zur Erneuerung der Malaria, und daher brauchen wir ein Wiederaufflammen der Malariaepidemie nicht zu fürchten. Interessant ist es auch, hervorzuheben, daß die eingeschleppten und zur Beobachtung kommenden Malariafälle alle durch *Plasmodium vivax* verursacht werden. Diese Erfahrung stimmt mit jenen in anderen größeren Städten überein. Die widerstandsfähigste Art des *Plasmodium* ist die *Vivax*-Art, und überall, wo entweder infolge klimatischer oder anderer Verhältnisse die Malaria schwer Wurzel fassen kann oder im Auslöschen begriffen ist, herrscht diese Infektion, bzw. hält sich diese am längsten. Was der eigentliche Grund hiervon ist, wissen wir nicht sicher. In der Tier- und Pflanzenwelt sehen wir ja oft genug ähnliches, und es ist zu dessen Deutung nicht notwendig, daß wir die Einheit der Plasmodienarten und den Uebergang einer Art in die andere annehmen.

Mit der modernen Malaria-Moskitolehre können wir am schwersten folgendes vereinbaren: Das Schwanken der Malariaerkrankungen nach Jahreszeiten und das Auftreten der Frühjahrs malaria.

Unter meinen Beobachtungen befinden sich bezüglich der ersten Frage leider keine direkten Erfahrungen, da doch in den letzten Zeiten, als meine Aufmerksamkeit sich schon intensiver auf diese Dinge richtete, nur eingeschleppte Fälle vorkamen. Soviel jedoch entnehme ich der ungarischen Statistik (Jancsó, Hollaender), daß die Malariaerkrankungen in den endemischen Gegenden auch bei uns jene Kurve zeigen, welche man in Gegenden mit ähnlichen klimatischen Verhältnissen gefunden hat, und daß auch Budapest in den endemischen Jahren (laut den obigen Tabellen) jene eigentümliche Verteilung erkennen läßt.

Alle diese statistischen Daten sind jedoch nicht von besonderem Wert, denn in der Epidemiologie der Malaria ist, wie wir jetzt schon sehr wohl wissen, nicht der Zahlennachweis sämtlicher Malariafälle von Wichtigkeit, sondern der der rezenten Infektionen. Man muß nicht nur

die Rezidive separat nachweisen, sondern soll auch andere Dinge in Betracht ziehen, die ich gleich besprechen will.

Frühjahrsmalariefälle kamen auch schon früher in hübscher Zahl in unser Krankenhaus, doch wende ich ihnen besondere Aufmerksamkeit erst seit 2 Jahren zu. Seit diesen 2 Jahren beobachteten wir im Jahre 1897 zwei Fälle, 1898 drei Fälle, sämtlich Infektionen mit *Plasmodium vivax*.

Folgendes sind die uns interessierenden Details dieser Fälle:

1) D. J., 26 Jahre, Ingenieur, Budapester Einwohner, hatte nie Malaria und seit Jahren keine fieberhafte Krankheit. Im Herbst 1906 hielt er sich anlässlich eines Eisenbahnbaues in Kroatien auf und leitete dort Erdarbeiten. Unter seinen Arbeitern waren mehrere mit Malaria behaftet, er selbst erkrankte jedoch nicht. Der Kranke, welcher den ganzen Herbst und Winter in der Hauptstadt verbrachte, bekam am 20. April 1907 einen typischen Malariaanfall. Nach dem dritten Anfall fand ich im Blute entwickelte *Vivax*-Gameten und -Schizonten. Patient genas auf Chininbehandlung rasch und ist seither gesund.

2) G. J., 18 Jahre, Postillon, wohnt seit Dezember in Budapest. Im Herbst vergangenen Jahres fuhr Patient in Siebenbürgen, wo die Malaria endemisch ist. Am 4. April konnte man an ihm Infektion mit typischem *Plasmodium vivax* konstatieren. An diesem Patienten, der Kutscher war, forschte ich besonders nach frischer Infektion. Budapest ist jedoch vollständig epidemiefrei, weiter war in den Ställen absolut keine Stechmücke zu finden, von den anderen 50 Kutschern, die mit ihm zusammengewohnt hatten, bekam keiner Malaria.

3) L. J., 17 Jahre, Schüler, wohnte immer in Budapest, nur im vergangenen Jahre brachte er 2 Monate (Juli, August) in einem endemischen Ort zu (in der Gemeinde Haraszt an der Donau). Voriges Jahr bemerkte er keine Erkrankung, auch im Winter war er gesund, erst am 9. April erkrankte er. Seine Krankheit erkannte man anfangs nicht, erst nach 1 Woche kam er ins Spital, wo wir *Plasmodium vivax*-Infektion fanden.

4) P. J., 22 Jahre, Kutscher aus Kleinpest, einer Gemeinde neben Budapest, gebürtig und dort erwachsen, kam vor 1 Jahre in die Gemeinde Haraszt (siehe früheren Fall) als Kutscher, von dort kam er im September nach Budapest, wo er sich seither aufhält. Malaria hatte er nie, Febris intermittens tertiana kam am 5. April an ihm zum Ausbruch, bald nachher genas er.

5) F. P., Universitätshörer, aus einer Malariagegend stammend. Voriges Jahr im September hatte er 1 Woche hindurch Malaria, die auf Chininbehandlung verging. Seine gegenwärtige Erkrankung begann am 18. April. Im Blute konnte man *Plasmodium vivax* finden.

Also unter 5 Frühjahrsmalariefällen ein Rezidiv, vier jedoch sind mit größter Wahrscheinlichkeit solche Infektionen aus dem vorhergehenden Jahre, die anfangs keinerlei wahrnehmbare Symptome verursachten, den ganzen Winter latent waren und erst im Frühling manifest wurden.

Man kann bei diesen deshalb eine frische Infektion ausschließen, weil Budapest schon seit Jahren malariefrei ist und in der Umgebung dieser Kranken kein einziger anderer Fall von Malaria war. Malariainfektionen mit so langer Inkubationszeit sind übrigens seit langem bekannt, solche beschrieb z. B. Ferrus, Braune, Fiedler, Vallin, Plehn, das Vorkommen solcher Fälle ist übrigens leicht zu erklären, denn das Sichverbergen der Gameten und das Aufflackern der latenten Krankheit ist eine lang bekannte Eigenheit der Malaria, obzwar eigentlich die durch Erfahrung und Experiment erkundete Inkubationsfrist der Malaria in der Regel viel kürzer ist, wiewohl dies noch immer nicht gegen die latente Malaria (mit langer Inkubationsdauer) beweisen kann, weil man möglicherweise diese latenten Infektionen zu den negativem gerechnet hat. Infolgedessen scheint mir, daß der größte Teil der Frühjahrsmalariefälle entweder Rezidive sind oder latente Infektionen aus dem vorhergehenden Jahre — Neuinfektion kommt im Frühjahr nur

ausnahmsweise vor. Die Neuinfektionen beginnen dann, wenn eine neue Generation der *Anopheles*-Imagines erscheint (bei uns geschieht das anfangs Mai, und so können sich die durch diese erzeugten Infektionen erst Ende Mai oder noch später zeigen), und in größerer Anzahl tritt die Malaria nur dann auf, wenn auch die 2. und 3. Generation der *Anopheles*-Weibchen erscheint und deren Zahl im Verhältnis zur vorhergehenden Generation erheblich größer ist. In den Tropen freilich oder in wärmeren Gegenden können andere Verhältnisse obwalten, meine Hypothesen beziehen sich nur auf unsere Gegenden. Die Möglichkeit einer frischen Frühjahrsinfektion lasse ich nicht fallen, ich glaube nur, daß dies in der Natur nur ausnahmsweise und nicht regelmäßig vorkommt.

Nachdruck verboten.

Das Genus *Anonchotaenia* und *Biuterina*.

II. Das Genus *Biuterina* Fuhrmann.

Von Dr. O. Fuhrmann-Neuchâtel.

Mit 31 Figuren.

Dieses interessante Genus zeigt, wie *Anonchotaenia*, ein sich an den Uterus anlegendes Paruterinorgan, doch sind die anatomischen Verhältnisse der beiden Genera ganz verschieden, so daß nur die Existenz eines Paruterinorganes sie einander nähert. Uebrigens besitzen nicht nur diese beiden Gattungen, sondern auch außerdem noch die Genera *Thysanosoma* Dies., *Stilesia* Raill., *Idiogenes* Krabbe, *Paruterina* Fuhrmann, *Culcitella* Fuhrmann, *Rhabdometra* Cholodk., *Metroliasthes* Ransom und *Nematotaenia* Lühe dasselbe Organ.

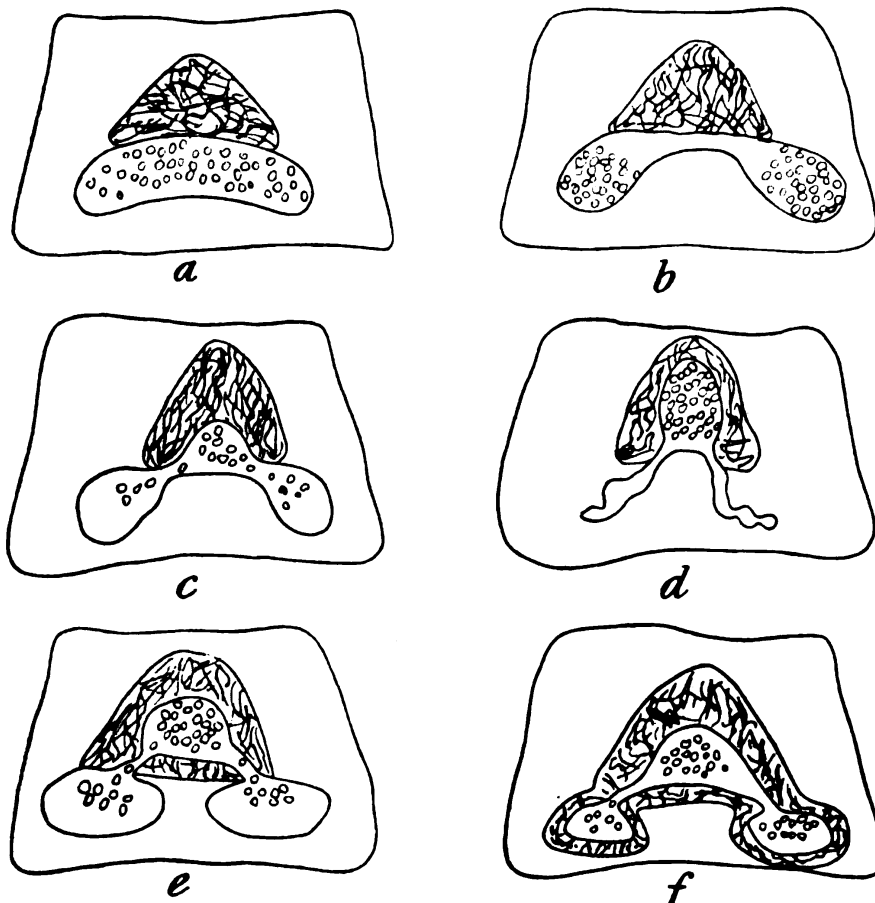
In einer früheren Arbeit habe ich bereits einen Vertreter dieses Genus näher beschrieben. Nachfolgende Diagnose ist die auf Grund der Untersuchung zahlreicher Arten leicht modifizierte Diagnose meiner früheren Arbeit.

Biuterina: Tänien, bewaffnet mit einem doppelten Kranz von dreieckigen Haken, Genitalöffnungen unregelmäßig abwechselnd. Geschlechtsgänge zwischen den beiden Längswassergefäßen durchgehend. Uterus anfangs einfach, sich später mehr oder weniger vollständig in zwei seitliche Uteri trennend, von welchen aus die Eier gemeinsam oder durch zwei scheinbare Kanäle in das große, vor dem Uterus liegende Paruterinorgan eindringen. Dasselbe bildet dann eine große, die eingetretenen Eier umfassende Eikapsel. Eier von zwei Hüllen umgeben.

Uterus und Paruterinorgan verlangen als die charakteristischen Organe des Genus *Biuterina* eine zusammenfassende Betrachtung, welche durch beistehende schematische Zeichnungen illustriert wird (Fig. a, b, c, d, e, f). Vor dem querverlaufenden, in der hinteren Hälfte der Proglottis liegenden, sackförmigen Uterus bildet sich aus dem Parenchymgewebe ein durch dichte faserige oder wabige Struktur auf-

1) Fuhrmann, O., Sur deux nouveaux genres de Cestodes d'oiseaux. (Zool. Anz. Bd. XXV. 1902. p. 357.)

fallendes Paruterinorgan von sehr verschiedener Form. In dem sackförmigen Uterus verteilen sich die Eier rechts und links und sehen wir den Sackuterus sich median zusammenziehen, so daß in gewissen Fällen nur ein ganz enger Kanal die beiden seitlichen fast sphärischen Uterushälften vereinigt (Fig. a, b). Nun kann im einfachsten Falle sich einfach am vorderen Teile des Verbindungsganges, der seitlichen Uterusteile, eine Ausbuchtung bilden, welche in das Paruterinorgan eindringt und in welche dann die Eier sich ergießen, so daß schließlich im Paruterinorgan alle Eier in einer zentralen Höhle vereinigt und die beiden seitlichen Uteri wie zwei leere Säcke hinten anhängen (Fig. c u. d). Der



weitere Verlauf der Entwicklung der reifen Proglottis geht wohl bei dem abgelösten Gliede vor sich, denn an den zahlreichen Strobilen habe ich nie eine weitergehende Entwicklung gesehen. In den abgelösten Gliedern wird sich dann wohl um die zentrale Eimasse das Paruterinorgan verdichten und eine Kapsel um dieselbe bilden.

In gewissen Fällen sehen wir aber, daß das anfangs vorn angelegte Paruterinorgan auch den medianen Verbindungsgang der beiden seitlichen Uterushälften umhüllt, so daß man dann auf Totalpräparaten wie auch auf Schnitten den Eindruck erhält, als ob zwei vollständig getrennte Uteri durch zwei besondere Kanäle ihre Eier in das Paruterinorgan leiten (Fig. e). Daß diese Kanäle aber Teile des Uterus sind, zeigt sich dadurch, daß beide von demselben Epithel ausgekleidet sind, wie der Uterus selbst.

In seltenen Fällen sehen wir, daß das Paruteringsgewebe einfach den ganzen zweiteiligen Uterus vollständig umfaßt und umhüllt (Fig. f); trotzdem aber dringen die Eier aus den seitlichen Uterushälften in eine im Paruterinorgan gelegene Höhle ein, wo sich dann eine Kapsel um sie bildet.

Ich hatte in der obengenannten Arbeit 3 Arten erwähnt, zu welchen bis jetzt keine neue Art hinzugekommen ist.

Als typische Art dieses Genus ist nicht die von mir als solche aufgestellte *Biuterina paradisea* Fuhrmann, sondern die mit ihr synonyme, v. Linstow gefundene, aber ganz ungenügend beschriebene *T. clavulus* v. Linstow zu betrachten (s. unten). Die zweite von mir erwähnte Art ist *B. meropina* Krabbe, die dritte nicht benannte Art, welche aus einem Kolibri stammen sollte, gehört nicht hierher.

Außer den zwei genannten Arten sollen in nachfolgenden Zeilen noch 14 andere von mir aufgefundene Species beschrieben werden.

In der Beschreibung aller dieser Arten kann ich mich sehr kurz fassen, da die Artunterschiede hauptsächlich in der Form der Haken und dem Bau des Paruterinorganes liegen, Organe, welche kaum durch Beschreibung, sondern viel besser und sicherer durch Zeichnung dargestellt werden können.

Biuterina clavula (v. Linstow) 1888.

Fig. 1—3.

Synonym: *Biuterina paradisea* Fuhrmann 1902.

Wirte: *Ptilorhis Alberti* Elliot, *Paradisea raggiana* Sclater, *Manucodia chalybata* Penn.

Geographische Verbreitung derselben: Australien und Neu-Guinea.

Fundort: Cap York und Neu-Guinea; Museum von Genua und British Museum.

Das von v. Linstow¹⁾ beschriebene Material wurde von der Challenger-Expedition am Cap York in *Ptilorhis Alberti* Elliot gesammelt. Die Beschreibung enthält nur einige Angaben über die äußere Form.

Diese Art ist nicht, wie aus nachfolgenden Zeilen hervorgeht, eine *Davainea*-Art, wie Blanchard glaubt, sondern eine *Biuterina*. Die Strobila dieses Cestoden wird ca. 6—7 cm lang und 1,5 mm breit. Die Glieder sind mit Ausnahme der letzten breiter als lang. Wie v. Linstow richtig angibt, ist der Skolex 0,6 mm breit und haben die Saugnäpfe einen Durchmesser von 0,25 mm. Der apikale Saugnapf, den v. Linstow erwähnt, ist nichts anderes als das zurückgezogene Rostellum und haben die Haken die typische dreieckige Form, mit stark verkürztem vorderen und hinteren Hebelast; sie sind also nicht nadel förmig, wie Linstow angibt. Ihre Zahl beträgt 56—60, sie sind in doppelter Krone angeordnet, und messen 0,011—0,012 mm.

Das Rostellum erscheint in zurückgezogenem Zustande saugnapf förmig, weil es nur durch ein einfaches ovales Muskelkissen repräsentiert wird. Ein Muskelsack fehlt vollkommen.

Die Muskulatur der Strobila besteht aus 2 Zonen, einer inneren mit weniger zahlreichen und größeren Bündeln und einer äußeren aus dicht gedrängten zahlreichen kleinen Muskelbündeln bestehenden Lage. Transversal- sowie feinen Dorsoventralmuskeln, sind schwach entwickelt.

1) v. Linstow, O., Report on the Entozoa. [Report of Voyage H. M. S. Challenger.] (Zoology. Vol. XXIII. Taf. LXXI. 1888.)

Uebersaus zahlreich sind die Kalkkörperchen namentlich im vorderen Teil der Glieder. Die Genitalöffnungen sind unregelmäßig abwechselnd und die in die Genitalkloake mündenden Geschlechtsgänge gehen zwischen den beiden Längsgefäßen des Wassergefäßsystems durch.

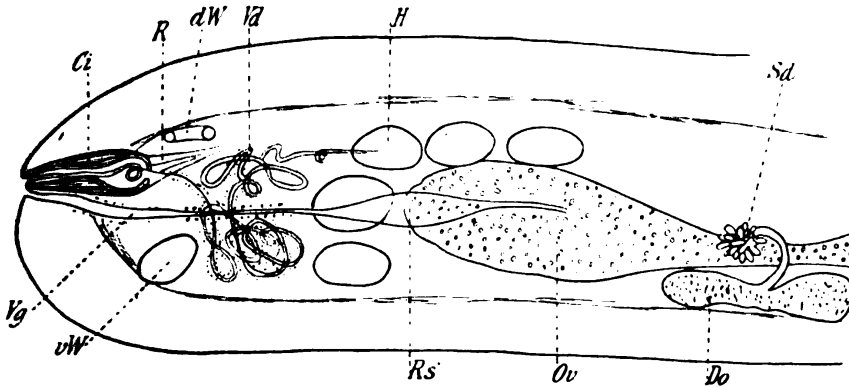


Fig. 1. Querschnitt durch *B. clavula*. *Ci* Cirrusbeutel, *R* Retraktor, *H* Hoden, *Vd* Vas deferens, *Vg* Vagina, *Rs* Receptaculum seminis, *Ov* Ovarium, *Do* Dotterstock, *Sd* Schalendrüse.

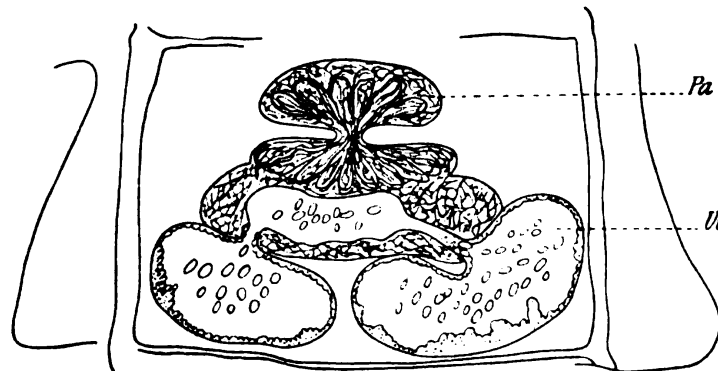


Fig. 2. Flächenschnitt einer reifen Proglottis. *Ut* Uterus, *Pa* Paruterinorgan.

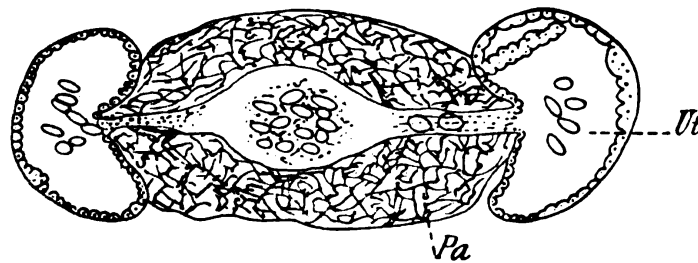


Fig. 3.

Der birnförmige Cirrusbeutel ist namentlich in seinem der Genitalkloake zunächst gelegenen Teil äußerst dickwandig und muskulös, so daß der innere Raum der Penistasche auf zwei Drittel der Länge sehr eng, sich dann erst im letzten inneren Drittel sphärisch erweitert. Der Penis ist kurz und das im Cirrusbeutel gelegene Vas deferens ist nur wenig aufgerollt und zeigt keinerlei Samenblasenbildung. An den Cirrusbeutel heftet sich ein schwacher Retraktor.

Das ausgetretene Vas deferens wird von Drüsenzellen umgeben, es bildet sehr zahlreiche Schlingen, die fast die ganze Höhe des Markparenchyms einnehmen. Der Schlingenknäuel geht nicht weit nach innen. Die Hoden sind da, wo Platz vorhanden, d. h. seitlich und am Vorder- rand, in doppelter Lage angeordnet, über den weiblichen Geschlechtsorganen dagegen nur in einfacher Lage. Ihre Zahl beträgt ca. 32.

Die Vagina verläuft unter und hinter dem Cirrusbeutel, sie ist starkwandig, anfangs erweitert, verengert sie sich beim Durchtritt zwischen den Wassergefäßen, um sich in der Nähe des Ovariums zu einem kleinen spindelförmigen Receptaculum seminis zu erweitern.

Der Keimstock zeigt 2 ungelappte Flügel und liegt vor dem relativ breiten Dotterstock, der ebenfalls zweiflügelig ist. Diese beiden Genitaldrüsen liegen median und am Hinterrand der Proglottis. Zwischen ihnen dorsal ist die Schalendrüse gelegen, während die Anlage des Uterus als kompakte kleine Zellmasse vor dem Ovarium liegt. Die Entwicklung des Uterus ist es, welche speziell unser Interesse verdient. Die Anlage des Uterus bildet sich zu einem transversal verlaufenden Sacke aus, dessen Enden sich erweitern, während der mediane Teil sich verengert, und schließlich fast vollständig schwindet, so daß 2 seitliche Uteri mit ganz enger Verbindung entstehen. Diese Uteri sind von einem deutlichen gefalteten Epithel ausgekleidet.

Diese leichten Falten sind namentlich auf Flächenschnitten durch die Wandung der Uteri deutlich sichtbar. Unterdessen hat sich vor dem jungen Uterus und median gelegen ein vom übrigen Parenchym scharf abgegrenztes Paruterinorgan ausgebildet, das von faseriger und alveolärer Struktur, welche dem ganzen Organ ein ganz typisches Aussehen giebt, das, sowie die Form des Organes, am besten aus Fig. 2 ersichtlich ist. Es gehen von den beiden Uteri je ein Kanal aus, welche von demselben Epithel ausgekleidet, und ebenfalls Längsfalten aufweisen. Sie sind wohl nichts anderes als der mediane verengte Teil des Uterus.

Durch diese Kanäle dringen die Eier in die zentrale Höhle des Paruterinorganes, wo sie sich schließlich ansammeln und worauf das Parenchymorgan eine Kapsel um dieselben bildet. Die Ausbildung dieser Kapsel konnte ich hier nicht verfolgen, da keine genügend reifen, namentlich keine abgelösten Proglottiden, an welchen die Erscheinung wohl am besten zu sehen, vorlagen. Die Eier haben zwei Hüllen; die Onkosphäre besitzt einen Durchmesser von 0,028 mm, die äußere Hülle einen solchen von 0,056 mm.

Im Vorderteil der Proglottis haben sich die Mehrzahl der Parenchymzellen in Kalkkörperchen umgewandelt, die dann im Rinden- und Markparenchym eine dichte Kalkkörperchenzone bilden.

Die sekundäre Umhüllung der gesamten Oncosphären gewährt wohl einen besseren Schutz als ein gewöhnlicher Tänienuterus. Auch werden wohl die Eier alle zusammenbleiben und kommen zusammen in den Darm des Zwischenwirtes und von diesem in den definitiven Wirt, der, so viel ich bis jetzt bei den verschiedenen Arten beobachten konnte, nie nur von einzelnen Individuen bewohnt wird.

Biuterina rectangula n. sp.

Fig. 4.

Wirt: *Coracias garrulus* Linn.

Geographische Verbreitung desselben: Zentral- und Südeuropa, Zentralasien, Afrika und Nordwestindien.

Fragmente dieses Cestoden fanden sich in der helminthologischen Sammlung des Museums von München: Es ist dieser Cestode vielleicht identisch mit der *Taenia Co-raciae* Cat. M. V.

Von demselben Material finden wir als Geschenk von v. Siebold Fragmente im Museum in Berlin, Glas 2144.

Leider fehlt die Bewaffnung des Skolex dieses Cestoden, doch weist die Anatomie der Strobila darauf hin, daß wir es wohl mit einer *Biuterina*-Art zu tun haben.

Die Länge des Wurmes wird ca. 3 cm betragen seine Breite 0,5 mm. Der Skolex hat einen Durchmesser von 0,57 mm, das typische Rostellum einen solchen von 0,08 mm. Die reiferen Glieder sind etwas länger als breit. Charakteristisch ist die Größe des birnförmigen Cirrusbeutels, welcher 0,12 mm lang ist, und so das Längswassergefäß erreicht. Die Genitalkloake ist von radiären Muskeln umgeben. Hoden sind nur ca. 10 vorhanden. Der Uterus wird von hinten nicht vollständig in 2 Teile geteilt. Das Paruterinorgan ist sehr langgestreckt und schmal. Ganz reife Glieder lagen nicht vor.

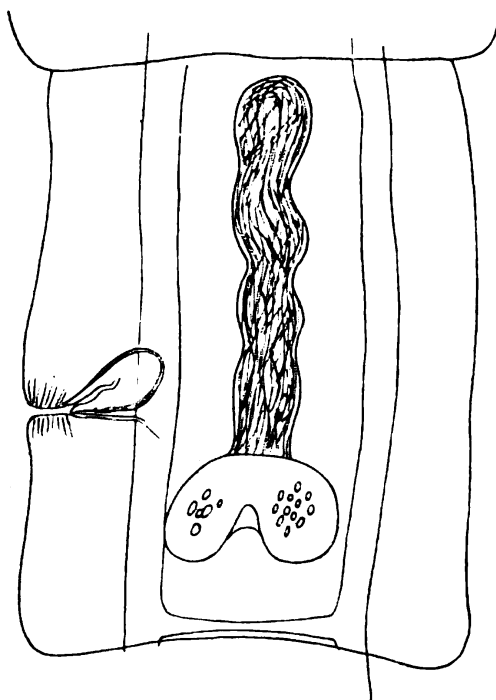


Fig. 4. *B. rectangularis* n. sp.

Biuterina motacilla n. sp.

Fig. 5.

Synonym: *Taenia motacilla cayanae* Rud. (?)

Wirt: *Dacnis cayana* Linn.

Geographische Verbreitung derselben: Südliches Südamerika.

Fundort: Brasilien; Hofmuseum in Wien, Glas 211.

Von dieser Art, welche mit der Rudolphischen Form *T. motacilla cayanae* Rud. wohl identisch ist, habe ich nur ganz junge Exemplare ohne Geschlechtsorgane gesehen. Der Bau und die Bewaffnung des Rostellums aber zeigen deutlich, daß wir es mit einer *Biuterina* zu tun haben. Der Skolex zeigt einen Durchmesser von 0,36 mm, die Saugnapfe einen solchen von 0,128 mm und das Rostellum mißt 0,10 mm.

Letzteres ist bewaffnet mit ca. 32 typischen *Biuterina*-Haken, die 0,014 mm lang sind und welche namentlich am Vorderende ihrer Basis eine starke sphärische Verdickung zeigen.



Fig. 5. *B. motacilla* n. sp.

Biuterina globosa nov. spec.

Fig. 6.

Wirt: *Tityra semifasciata* (Spix).

Geographische Verbreitung desselben: Mexiko, Zentralamerika und nördl. Südamerika.

Fundort: Brasilien; Hofmuseum in Wien, Glas 459.

Fig. 6.
B. glo-
bosa
n. sp.

Auch von dieser Art kann ich nur genauere Angaben über die Bewaffnung des Skolex machen. Die jungen, stark mazerierten Exemplare dieses Cestoden messen 4 cm bei einer Breite von 0,57 mm. Der Skolex hat einen Durchmesser von 0,4 mm, die Saugnäpfe einen solchen von 0,16 mm. Das Rostellum ist sehr klein und trägt ca. 24, 0,014—0,016 mm lange typisch geformte Haken (Fig. 6). Das Paruterinorgan ist noch nicht entwickelt und anatomisch ist nur wenig und nichts Charakteristisches zu sehen, da die Strobila schlecht erhalten.

Biuterina trigonacantha n. sp.

Fig. 7—8.

Wirt: *Synallaxis phryganophila* (Vieill.).

Geographische Verbreitung desselben: Südamerika.

Fundort: Brasilien; Hofmuseum in Wien, Glas 473.

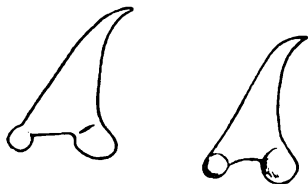


Fig. 7.

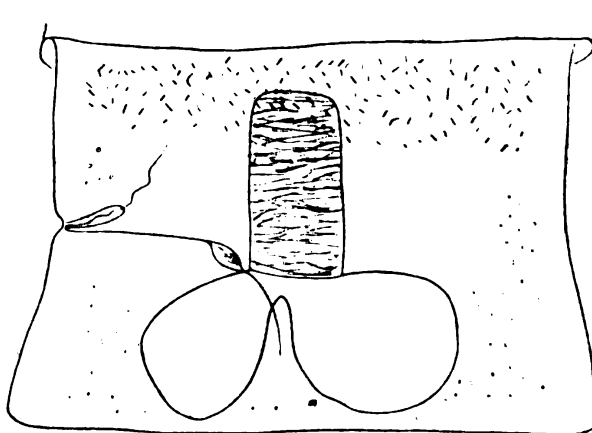
Fig. 7 u. 8. *B. trigona-*
cantha n. sp.

Fig. 8.

Der kleine Cestode mißt nur 2,5 cm bei einer Breite von 1 mm. Der Skolex hat einen Durchmesser von 0,6 mm, die Saugnäpfe messen 0,17 mm und das kleine Rostellum nur 0,11 mm. Dasselbe trägt ca. 60, 0,0198—0,0216 mm lange Haken von typischer Form (Fig. 7). Der Cirrusbeutel ist klein und die Hodenzahl beträgt kaum 10. In den ziemlich reifen Gliedern treffen wir einen zweiteiligen Uterus, auf welchem ein cylindrisches Paruterinorgan sitzt. Das Parenchym ist überaus reichlich erfüllt von Kalkkörperchen, welche zwei ganz verschiedene Formen und auch verschiedenes Verhalten gegenüber dem Hämalaun zeigen. Am Vorderrand der Proglottis finden wir in der ganzen Breite derselben eine große Zahl stäbchenförmiger, 0,03 mm langer, sich nicht färbender Kalkkörperchen, während namentlich seitlich von dem zweiteiligen Uterus ganz kleine, runde, sich blau färbende Kalkkörperchen sich finden, welche hauptsächlich im Markparenchym liegen.

Leider waren keine ganz reifen Glieder vorhanden.

Biuterina triangularia Krabbe.

Fig. 9.

Wirt: *Turdus* spec. *Turdus pilaris* Linn.

Geographische Verbreitung desselben: Palaearktische Region.

Fundort: Europa; Museum für Naturkunde Berlin, Glas 1965; Hofmuseum in Wien, Glas 25.

Diese Art wurde von Krabbe im Material des Berliner Museums gefunden und kurz charakterisiert¹⁾.

Die Länge der vorhandenen nicht reifen Strobila ist ca. 3 cm, die Breite fast 1 mm.

Die beiden Kränze von Haken sind verschieden, die einen messen nach Krabbe 0,055 mm, die kleinen 0,038 bis 0,041 mm. Ich habe dieselben 0,057 und 0,039 mm gefunden. Das Material ist sehr mazeriert, so daß anatomisch nicht viel zu erkennen.

Der Cirrusbeutel ist 0,1 mm lang, das Receptaculum seminis reicht als langgestreckter enger Schlauch bis in die Mitte des Gliedes.

Vorn treffen wir im Parenchym sehr dünne, 0,048 mm stäbchenförmige Kalkkörperchen, hinten sind dieselben klein und sphärisch.

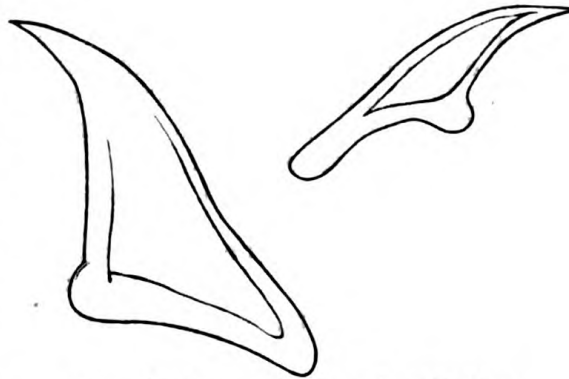
Fig. 9. *B. triangularia* (Krabbe).*Biuterina lobata* nov. spec.

Fig. 10 und 11.

Wirt: *Upupa epops* Linn.

Geographische Verbreitung desselben: Süd-Palaearktische Region.

Fundort: Dresden; Museum für Naturkunde Berlin, Glas 2060.

Von dieser Tänie standen mir nur Fragmente der Strobila, hauptsächlich reife Glieder zur Verfügung, es fehlten Skolex und junge Glieder. Trotzdem zaudere ich nicht, die Form in das Genus

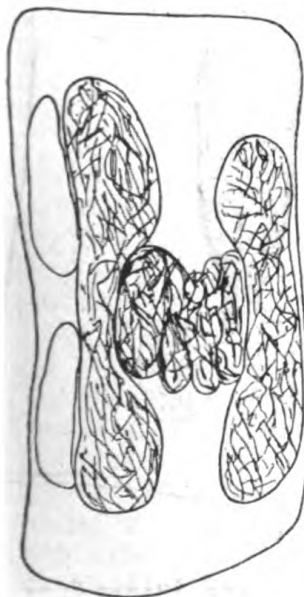


Fig. 10.

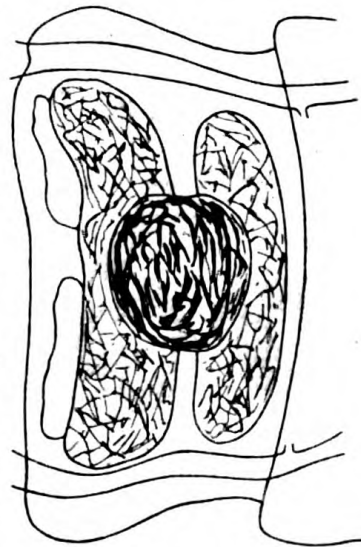


Fig. 11.

Fig. 10 u. 11. *B. lobata* n. sp.

1) Krabbe, H., Bidrag til kundskab om Fuglenes Baendelorme. 1869.

stellen, da die Anatomie des Uterus die für obengenanntes Genus typisch ist. Ich benenne die Art mit dem Namen *B. lobata* wegen des Baues des Paruterinorganes. Es ist möglich, daß diese Art identisch ist mit der von Krabbe¹⁾ beschriebenen *Taenia intricata*, von welcher Krabbe aber nur die Haken genauer schildert. Dieselben sollen in vierfacher Reihe auf dem Rostellum stehen, was allerdings nicht mit der Disposition der Haken von *Biuterina* übereinstimmt, dagegen ist die Form derselben die für die *Biuterina*arten typische.

Der Uterus der reifen Proglottis scheint vollständig in zwei seitliche Uteri getrennt, vor welchen ein mächtiges Paruterinorgan liegt. Dasselbe besteht aus drei Teilen, einem vorderen und einem den Uteri aufliegenden hinteren, die ganze Breite des Markparenchyms einnehmenden Teil, welche miteinander verbunden werden durch einen kurzen, schmalen cylindrischen Teil. Dieser letztere scheint aus dichterem Gewebe zu bestehen (Fig. 11) und die Eier zu enthalten.

Biuterina trapezoides n. sp.

Fig. 12—14.

Wirte: *Molothrus peconis* Sw., ? *Emberiza* spec., *Caprimulgus* spec.?!

Geographische Verbreitung des Ersteren: Nordamerika bis Californien.

Fundort: Brasilien; Hofmuseum in Wien, Glas 450; Museum für Naturkunde, Berlin, Glas 2513 und 2518.

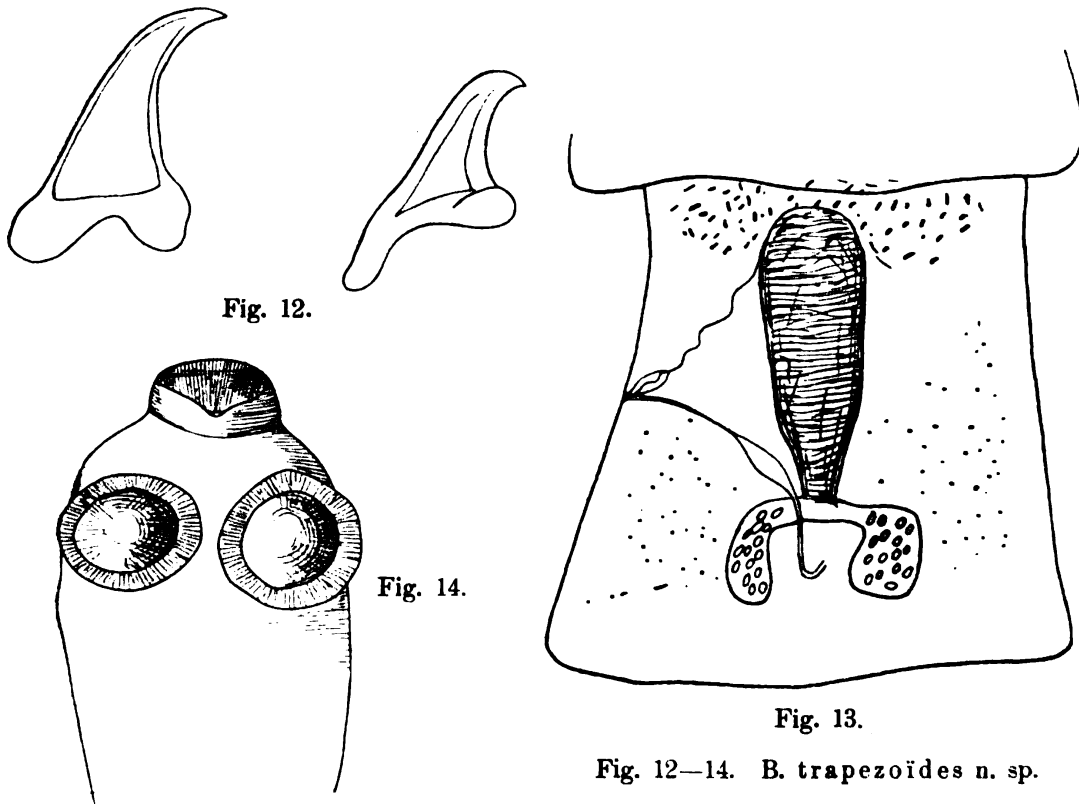


Fig. 12—14. *B. trapezoides* n. sp.

1) Krabbe, H., Nye Bidrag til kundskab om Fuglenes Baendelorme. Vidensk. Selsk. Skr. 6. Raekke. 1882.

Auffallend ist, daß die Art auch in *Caprimulgus* vorzukommen scheint; leider konnten diesbezüglich nur ein Skolex und keine Proglottiden untersucht werden. Die Haken sind aber bei den Exemplaren von *Emberiza* und *Caprimulgus* gleich groß und von sehr ähnlicher Form.

Die Strobila ist ca. 3 mm lang und 0,7 mm breit. Der Skolex hat einen Durchmesser von 0,25–0,32 mm, die Saugnäpfe einen solchen von 0,14 mm und das Rostellum 0,13 mm. Die Haken, ca. 30 an der Zahl, sind in den beiden Kränzen deutlich verschieden, die großen messen 0,041 und die kleinen 0,034 mm.

In den reifen Gliedern sehen wir den am Hinterende der Proglottis gelegenen Uterus in zwei seitliche Teile geteilt; auf der Verbindung derselben sitzt median ein keulenförmiges Paruterinorgan.

Wie bei anderen Arten liegen im Vorderteil der Proglottis stäbchenförmige, 0,04–0,044 mm lange Kalkkörperchen, während dieselben hinten kreisrund und nur 0,008 mm groß sind.

Biuterina distincta n. sp.

Fig. 15 und 16.

Wirt: *Gracula* spec.

Fundort: Brasilien; Hofmuseum in Wien, Glas 451.

Diese große Art mißt 17 cm bei einer Breite von 1,2 mm. Der Skolex hat einen Durchmesser von 0,28 mm, die Saugnäpfe einen solchen von 0,12 mm. Das kleine Rostellum trägt nur ca. 20 Haken, welche in den beiden Kränzen kaum verschieden sind. Die Länge derselben beträgt 0,025 mm.

Die Anatomie dieser Art ist ganz dem Typus entsprechend. Der Cirrusbeutel ist 0,14 mm lang und es liegen am Hinterende 12 Hoden.

In jüngeren Gliedern ist der Uterus ein querer Sack ohne Paruterinorgan, der dann später als mächtiges Gebilde in der Mitte und vor dem Uterus, diesem aufsitzend, entsteht. Derselbe erscheint dann doppelt, und von den großen seitlichen Uterusrücken sieht man zwei Kanäle in das Parenchymorgan eindringen, welche sehr langsam die Eier in eine zentrale Höhlung des Paruterinorgans leiten. Diese Eier zeigen um die 0,03 mm im Durchmesser messende Ooncosphäre eine dicke, anliegende Hülle, um welche nach außen eine weitere dünnere, gefaltete Embryonalhülle sich legt.

Wie bei anderen Arten, wird auch hier der vordere Teil des Paruterinorgans umhüllt von dichtgedrängten stäbchenförmigen Kalkkörperchen von 0,028–0,032 mm Länge. Hinten sind die Kalkkörperchen klein und sphärisch.

Wie bei anderen Arten, wird auch hier der vordere Teil des Paruterinorgans umhüllt von dichtgedrängten stäbchenförmigen Kalkkörperchen von 0,028–0,032 mm Länge. Hinten sind die Kalkkörperchen klein und sphärisch.

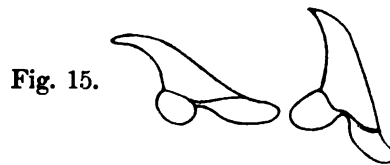


Fig. 15.

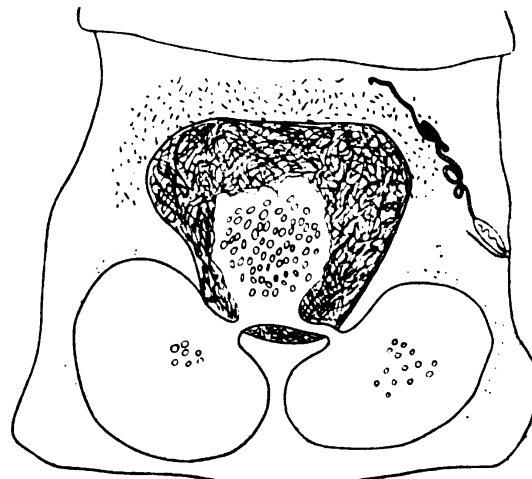


Fig. 16.

Fig. 15 u. 16. *B. distincta* n. sp.

Biuterina cylindrica n. sp.

Fig. 17 und 18.

Wirte: *Tachyphonus cristatus* Sm., *Tachyphonus melaleucus* Spar.

Geographische Verbreitung derselben: Südamerika.

Fundort: Brasilien; Hofmuseum in Wien, Glas 474, 475.

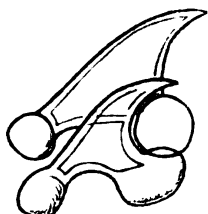
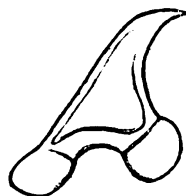


Fig. 17.

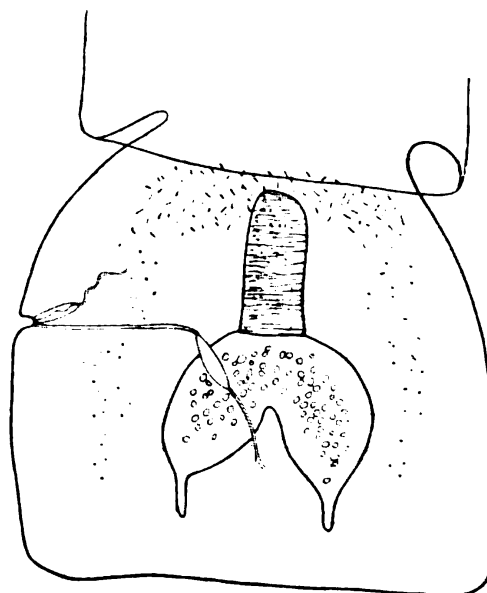


Fig. 18.

Fig. 17 u. 18. *B. cylindrica* n. sp.

Biuterina cylindrica mißt 3—4 cm bei einer Breite von 0,7 mm. Der Durchmesser des Skolex beträgt 0,25 mm, der der Saugnäpfe und des Rostellums 0,1 mm. Die Haken zeigen eine gewisse Aehnlichkeit mit denjenigen von *B. passerina* mihi und *B. meropina* Krabbe. Die Länge derselben beträgt 0,023—0,025 mm. Die Form der Haken der beiden Kränze ist etwas verschieden, ihre Zahl beträgt 52.

Der Cirrusbeutel ist 0,08 mm lang und es finden sich ca. 8 Hoden.

Der Uterus ist deutlich zweiteilig und auf seinem medianen Teil sitzt vorn ein cylindrisches Paruterinorgan. Vorn und seitlich ist das Organ umgeben von Kalkkörperchen, welche aber meist sphärisch sind, nur wenige stäbchenförmige Kalkkörperchen finden sich vorn mit den anderen, die sehr zahlreich, vermengt.

Biuterina meropina (Krabbe).

Diese Art wurde von Krabbe¹⁾ in *Merops superciliosus* Linn., aus Aegypten stammend, gefunden. Sie ist, nach der Form der Haken zu urteilen, sicher eine *Biuterina*, und habe ich in zwei anderen Arten der *Meropes* eine Varietät obiger Species gefunden. Die eigentliche *B. meropina* habe ich nicht untersuchen können.

1) Krabbe loc. cit., 1869.

Nun beschreibt Clerc¹⁾ als *B. meropina* eine Tanie aus *Emberiza citrinella*, welche aber nicht mit dieser Art identisch ist, indem Clerc 60 Haken von 0,022 und 0,025 mm findet, während Krabbe für *T. meropina* 40 Haken von 0,022 und 0,027 mm angibt.

Soweit aus der etwas unvollständigen Zeichnung von Clerc ersichtlich, ist auch die Form der Haken nicht identisch, sondern nur der Habitus, wie bei allen *Biuterina*-arten, derselbe.

Gegen die Richtigkeit der Bestimmung spricht meiner Ansicht nach der Wohnort des Parasiten, denn normalerweise haben *Fringilliden* und *Meropes* verschiedene Tänien. So glaube ich, daß hier eine andere, vielleicht neue Art von *Biuterina* vorliegt.

Biuterina meropina nov. var. *macrancistrota*.

Fig. 19—21.

Wirte: *Merops apiaster* Lin., *Melitophagus albifrons* (Cat. u. Heine).

Geographische Verbreitung derselben: Zentral- und Südeuropa, Zentralasien, Indien und Nord- und Westafrika.

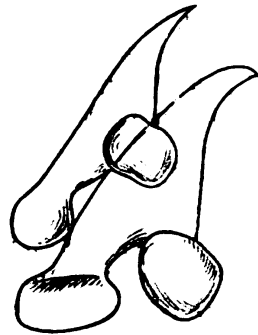


Fig. 19.

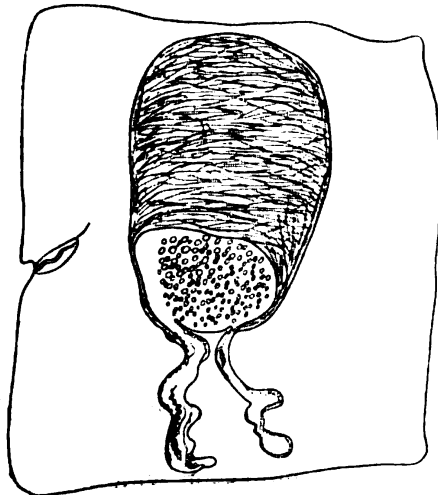


Fig. 20.

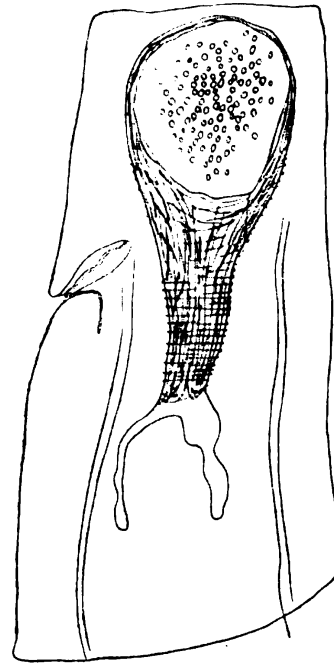


Fig. 21.

Fig. 19—21. *B. meropina* var. *macrancistrota*.

Von den Exemplaren aus *Melitophagus* habe ich leider keinen Skolex untersuchen können, so daß ich nicht sicher bin, ob es sich wirklich um die nachfolgend beschriebene Varietät handelt.

1) Clerc, W., Notes per les cestodes d'oiseaux de l'Oural II. Diese Zeitschrift. Bd. XLII, 1906, pag. 721.

Der Skolex zeigt einen Durchmesser von 0,5 mm, die Saugnäpfe messen 0,24 mm, während das kurze Rostellum 0,19 mm mißt. Die Haken sind von derselben Form und treffen wir ebenfalls, wie bei *B. meropina*, 40 Haken, welche aber bedeutend größer sind als bei der typischen Art. Die kleinen Haken messen 0,036 statt 0,022 mm, und die großen haben eine Länge von 0,045 statt 0,027 mm.

Diese Varietät besitzt, wie die meisten *Biuterina*-Arten, 8 bis 10 Hoden.

In den reifen Gliedern sehen wir, daß in dem anfangs einfachen sackförmigen Uterus die Eier sich bald links und rechts anhäufen, so daß zwei seitliche starke, von Epithelzellen ausgekleidete Anschwellungen entstehen, welche von Eiern erfüllt sind, während der mediane verengte Teil leer ist.

Vor dem Uterus liegt ein mächtiges, fast die ganze Breite des Markparenchyms einnehmendes Paruterinorgan, in welches die Eier von links und rechts eindringen. Dabei bildet sich dann eine einfache große, von Eiern gefüllte Höhle, während hinten die beiden Uterussäcke zusammenfallen, hier und da noch eine vereinzelt Oncosphäre enthaltend. Später, in ganz reifen Gliedern, wird die Eimasse dann, vielleicht von der das Paruterinorgan umhüllenden Muskulatur, nach vorn gedrückt, so daß sich im Vorderteil dieses Organes die Eikapsel bildet, an welcher man nach hinten stielartig die Fortsetzung des Paruterinorganes und weiter hinten die beiden zusammengefallenen Uterussäcke sieht.

Biuterina longiceps (Rud.).

Fig. 22, 23.

Wirt: *Ostinops decumanus* (Pall); *Cassicus affinis* Sw.
Geographische Verbreitung derselben: Südamerika.

Fundort: Brasilien; Hofmuseum in Wien, Glas 185. Museum für Naturkunde in Berlin 1893.

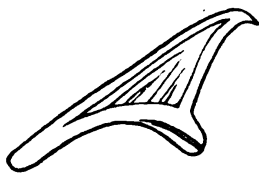


Fig. 22.

Fig. 22 u. 23. *B. longiceps* (Rud.).

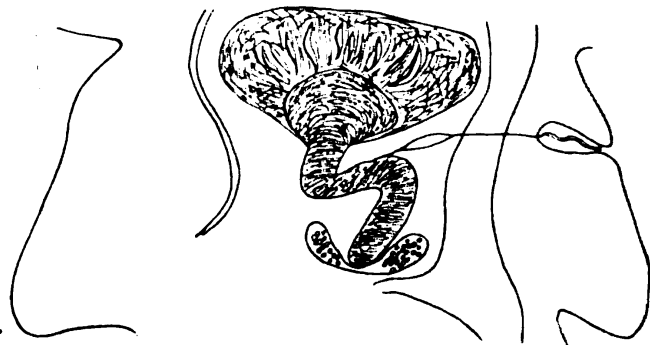


Fig. 23.

Diese schon Rudolphi bekannte Tānie wird 6 cm lang und 0,5 mm breit.

Der Skolex der Typen zeigt einen Durchmesser von 0,4 mm, die Saugnäpfe 0,14 mm und das Rostellum 0,1 mm.

Die Haken sind in der trefflichen Arbeit von Krabbe¹⁾ abgebildet. Sie messen 0,037 und 0,046 mm (nach Krabbe 0,038—0,040 mm. Ihre Zahl beträgt ca. 44.

Der Cirrusbeutel ist birnförmig, 0,068 mm lang und die Zahl der Hoden beträgt ca. 12.

1) Krabbe, loc. cit. 1869.

Besonders typisch ist das Paruterinorgan gebaut. Auf dem kleinen seitlich erweiterten Uterus sitzt median ein Paruterinorgan, an dem sich deutlich 3 Teile von verschiedener Struktur unterscheiden lassen. Zunächst dem Uterus ein auf den uns vorliegenden reifen Proglottiden leicht S-förmig gebogene cylindrische Parenchymmasse, welcher an ihrem vorderen Teil eine hemisphärische Zellmasse aufsitzt. Dieselbe wird umhüllt von einer faserigen Zellmasse, welche vielleicht dem Parenchym und nicht dem Paruterinorgan selbst angehört. In ihr bilden sich vielleicht die Kalkkörperchen, welche sich bei fast allen von mir untersuchten *Biuterina*-Arten dort besonders zahlreich und oft in besonderer Form entwickeln.

Die hemisphärische Zellmasse bildet wohl später die Eikapsel, denn in sie dringen gewiß, was ich leider nicht beobachten konnte, die Eier ein.

In *Cairina moschata* (Linn.) (Material aus dem Hofmuseum in Wien, Glas 535) fand ich eine kleine, 1,3 cm lange, 0,5 mm breite, noch junge Strobila, deren Skolex 20 typische *B. longiceps*-Haken trug. Die Größe dieser Haken war dieselbe wie bei obiger Tänie: 0,0378 bis 0,046 mm. Anatomisch konnte ich keine Feststellungen machen, da die Tänie zu stark mazeriert war. Handelt es sich hier um verschiedene Arten, um eine Vermischung von Materialien, Etiquettenverwechslung, oder kommt *B. longiceps* auch in einer Ente vor?

Biuterina campanulata (Rud.).

Fig. 24—27.

Wirte: *Muscicapa audax* (?)¹⁾, *M. columbina* (?)¹⁾ *Taenioptera velata* (Licht), *Thamnophilus sulfuratus* Temm.

Geographische Verbreitung derselben: Südamerika.

Fundort: Brasilien; Museum für Naturkunde Berlin, Glas 1946, 2554; Hofmuseum in Wien, Glas 461, 33.

Die Typen dieses Cestoden aus *Muscicapa* stammend, zeigen einen Skolex, dessen Durchmesser 0,48 mm beträgt, während das Rostellum einen solchen von 0,12 mm hat. Die 3 cm langen und kaum 0,5 mm breiten Exemplare aus *Taenioptera* haben einen kleineren Skolex, indem derselbe nur 0,3 mm mißt. Die Bewaffnung aber ist dieselbe: 26 Haken von 0,043—0,046 und 0,032—0,036 mm Länge. Krabbe²⁾ gibt für die kleinen Haken 0,029—0,034 mm an, die Zahlen für die großen Haken stimmen mit den unserigen überein.

Jede Proglottis enthält 8—10 Hoden. Der Uterus ist wie überall seitlich stark erweitert und diese Erweiterungen sind durch einen schmalen Kanal miteinander verbunden, der dann vom Paruterinorgan umhüllt wird.

Der Uterus liegt ganz hinten und ihm selbst liegt vorn ein die ganze Breite des Markparenchyms einnehmendes und bis fast an den Vorderrand der Proglottis reichendes Paruterinorgan auf. Im Vorderteil ist dieses Organ von einer sehr großen Zahl sich mit Hämalaun dunkelfärbender Kalkstäbchen umgeben; die seitlichen Kalkkörperchen sind rund. Es ist wohl auch hier dieser vordere Teil des Paruterinorganes, welcher von Kalkkörperchen umgeben, in welchen schließlich die Eier des zweiteiligen Uterus eindringen.

1) Diese beiden Vogelnamen konnte ich im britischen Katalog nicht auffinden.

2) Krabbe, loc. cit. 1869.



Fig. 24.



Fig. 25.

Fig. 26.

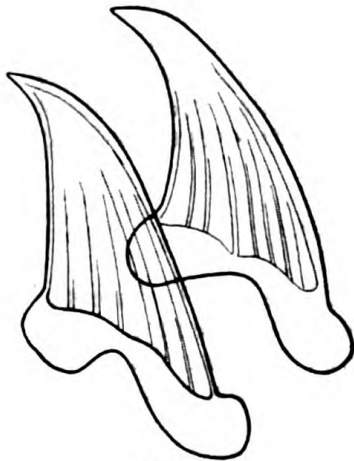
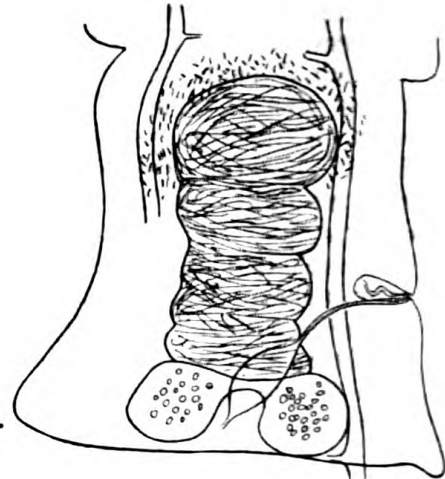


Fig. 27.

Fig. 24—27. *B. campanulata* (Rud.).

In den reifsten Gliedern, die ich gesehen, sieht man die Eier durch zwei von Paruteringsgewebe umgebene Kanäle in eine einfache Höhle des Paruterinorganes eindringen. Diese Höhlung findet sich im hinteren Teil des Paruterinorganes, wenn sie mit Eiern gefüllt, wird sie wohl nach vorn wandern.

Biuterina passerina n. sp.

Fig. 28—31.

Wirt: *Alauda arvensis* L., *Galerita cristata* L.

Geographische Verbreitung derselben: Europa, Nordasien, Nordafrika, Nordindien.

Fundort: Europa; Hofmuseum in Wien, Glas 336 a, 337 a.

Dieser 8 cm lange und 0,6 mm breite Cestode zeigt in der Bewaffnung einige Aehnlichkeit mit *B. meropina*, so daß ich ihn anfangs als solchen bestimmte. Eine genauere Untersuchung ergab aber, daß wir eine besondere Art vor uns haben.

Der Skolex derselben hat einen Durchmesser von 0,3 mm, während die Saugnapfe 0,1 mm und das Rostellum sogar 0,14 mm messen. Leider konnte die Zahl der in beiden Kränzen sehr ähnlichen Haken nicht

festgestellt worden. Ihre Länge beträgt 0,025—0,028 (Fig. 28). Der vordere Basalteil des Hakens, der verkürzte vordere Hebelarm desselben, ist sehr breit.



Fig. 28.



Fig. 29.

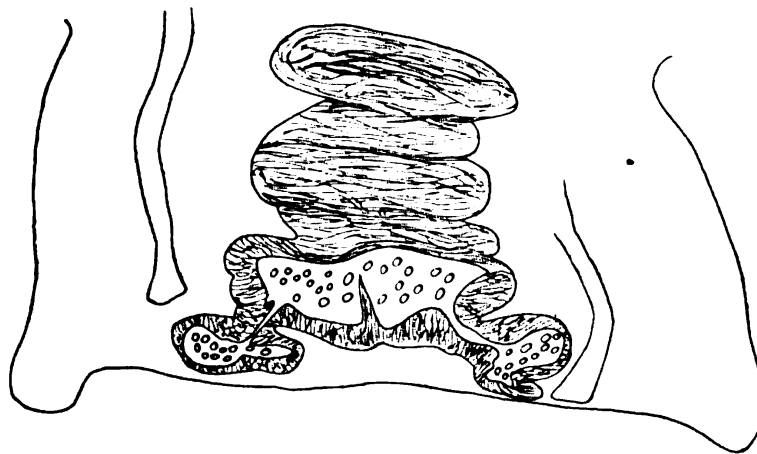
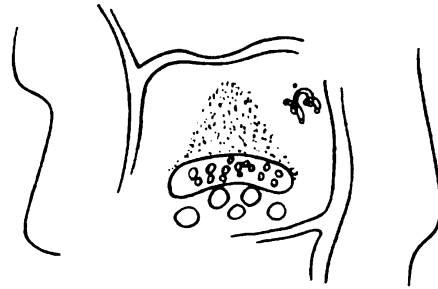


Fig. 30.

Fig. 28—31. *B. passerina* n. sp.

Fig. 29. Flächenschnitt durch eine junge Proglottis.

Fig. 30. Flächenschnitt durch ein reifes Glied.

Fig. 31. Querschnitt durch ein reifes Glied.

Anatomisch ist namentlich der Uterus und das Paruterinorgan interessant. Nebenbei sei bemerkt, daß der Cirrusbeutel 0,08 mm lang ist und daß ca. 10 Hoden vorhanden sind.

Der Uterus zeigt, wie überall, anfangs die Form eines quer verlaufenden Sackes, welchem vorn bereits früh ein kegelförmiges, noch nicht scharf begrenztes Paruterinorgan aufsitzt. Die Zellen dieses Organes unterscheiden sich von den alveolären Parenchymzellen des Markparenchyms durch ihren Plasmareichtum. Seitlich sieht man bereits hier, daß das Paruterinorgan seitlich die Tendenz zeigt, den Uterus zu umfassen.

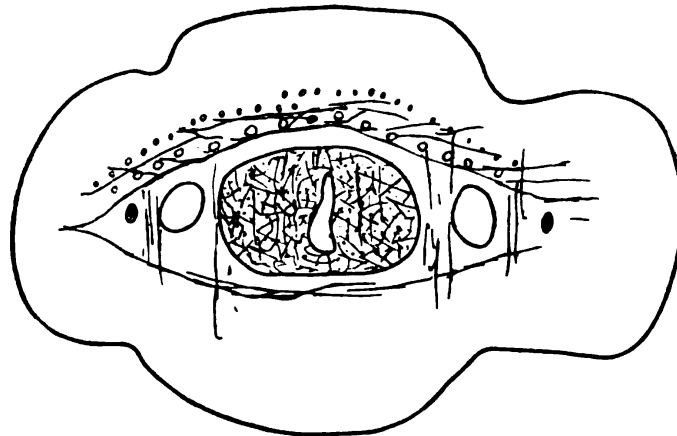


Fig. 31.

In reifen Gliedern sieht man dann, daß das Paruterinorgan sich scharf vom Markparenchym abgetrennt hat und von Fibrillen (dorso-ventrale Muskelfasern?) umhüllt ist; es ist selbst, wie auf Querschnitten deutlich sichtbar, von dorsoventralen Fibrillen durchzogen. Was aber besonders auffallend, ist der Umstand, daß dasselbe den ganzen Uterus — der in reifen Gliedern sich wie bei anderen *Biuterina*-Arten seitlich erweitert und median verengt hatte — umfaßt. Diese Eigentümlichkeit ist am besten aus der beistehenden Zeichnung ersichtlich.

Die Eier werden offenbar später weiter nach vorn in das massige Paruterinorgan gepreßt und durch die Veränderung des Gewebes in eine Kapsel eingeschlossen.

Biuterina planirostris (Krabbe).

Diese von Krabbe¹⁾ beschriebene, aus *Alauda* sp. stammende und in Turkestan von Fedtschenko gesammelte Tänie ist, nach dem Typus der Haken zu schließen, sicher eine *Biuterina*-Art. Die 40 Haken sind 0,049 und 0,027 mm lang.

Nachdruck verboten.

Zur Systematik und Faunistik der Distomen.

I. Die Gattung *Metorchis* Looss, nebst Bemerkungen über die Familie *Opisthorchiidae*.

Von Dr. Max Lühe, Königsberg i. Pr.

Mit 6 Figuren.

Aus Anlaß einer mich augenblicklich beschäftigenden systematischen Bearbeitung eines Teiles der deutschen Trematodenfauna beabsichtige ich eine Reihe von Beiträgen zur Systematik und Faunistik der Distomen zu veröffentlichen, in welchen in zwangloser Folge einzelne Gattungen und Arten der Distomen, zum Teil auf Grund eigener Beobachtungen, zum Teil auf Grund kritischer Würdigung der vorhandenen Literatur, besprochen werden sollen. Ich beginne diese Besprechungen mit der Gattung *Metorchis* Looss, die in ihrem bisherigen Umfang nicht beibehalten werden kann, um dann auch gleich noch einige Bemerkungen über die Familie *Opisthorchiidae* (= Unterfamilie *Opisthorchiinae* Looss) anzuknüpfen.

In seinen „Weiteren Beiträgen zur Kenntnis der Trematodenfauna Aegyptens“, die für die Systematik der Distomen grundlegende Bedeutung gewonnen haben, hat Looss (1899) die von Blanchard aufgestellte Gattung *Opisthorchis* zum Range einer Unterfamilie erhoben und in 3 Gattungen (*Opisthorchis* s. str., *Holometra* und *Metorchis*) zerlegt. Von dem heute in der Distomensystematik geltenden Standpunkt aus können aber diese 3 Gattungen noch nicht als natürlich gelten. Eine derselben ist denn auch in der Tat bereits von Looss selbst inzwischen (1907) noch weiter zerlegt worden (in *Opisthorchis*

1) Krabbe, loc. cit. 1882.

s. str. und Clonorchis). Das gleiche muß mit mindestens demselben Rechte aber auch mit *Metorchis* geschehen.

Bereits Looss selbst hat (1899) darauf aufmerksam gemacht, daß ein Teil seiner *Metorchis*-Arten sich hinsichtlich der Lage des Exkretionsporus von allen anderen Distomen in einer nach dem damaligen Stande unserer Kenntnisse geradezu unerhörten Weise unterscheidet. Kowalewski (1898) hatte nämlich kurz vorher gefunden, daß bei dem von ihm *Opisthorchis crassiuscula* Rud. var. *janus* genannten *Metorchis xanthosomus* (Crepl.), sowie bei *Metorchis compascuus* (Kow.) der Exkretionsporus nicht wie bei anderen Distomen am Hinterende, sondern auf der Ventralfläche liegt. Dieses auffallende Verhalten konnte alsbald von Jacoby (1899) auch für *Metorchis crassiusculus* (Rud.) bestätigt werden, als er auf meine Veranlassung zwecks Nachprüfung der Kowalewskischen Angabe die Mühling'schen Schnittserien durch die genannte Art daraufhin untersuchte, während ich selbst (1899) die gleiche Lage des Exkretionsporus auch für *Metorchis albidus* (Brn.) nachwies. Bei *Metorchis coerules* Brn. habe ich bei einer (freilich nur flüchtigen) Untersuchung der lebenden Tiere hinter den kleinen Hoden auch keinen Exkretionsporus gesehen, und ebensowenig erwähnt oder zeichnet Braun (1902) etwas von einem solchen bei seiner späteren Beschreibung der Art. Ich bezweifle nicht, daß er auch hier ventral von den Hoden liegt.

Auf die genannten Arten, die in ihrem anatomischen Bau völlig miteinander übereinstimmen, ist meiner Ansicht nach die Gattung *Metorchis* zu beschränken. Die Diagnose könnte dann etwa folgendermaßen gefaßt werden:

Untermittelgroße oder kleine Opisthorchiiden mit stark abgeplattetem, verhältnismäßig kurzem, gedrungenem Körper, dessen Breite etwas vor dem abgerundeten Hinterende am größten ist und nach vorn zu allmählich abnimmt. Haut (meist?) bestachelt. Darmschenkel bis ins äußerste Hinterende reichend, die Hoden seitlich und hinten völlig umgreifend. Exkretionsblase kurz, auf der Bauchfläche ventral von den Hoden ausmündend. Diese schräg hintereinander, unregelmäßig rundlich-eckig, meist schwach gelappt. Keimstock rundlich, dicht vor den Hoden. Uterusschlingen dichtgedrängt, den Keimstock meist nicht verdeckend und nie nach hinten zu überragend, wohl aber den Darm seitlich mehr oder weniger überschreitend und sich auch auf einer (meist der linken) Seite noch erheblich vor den Bauchsaugnapf nach vorn vorwölbend. Dotterstocksfollikel dicht gedrängt an den Seiten des Körpers, in ungefähr gleicher Längenausdehnung wie der Uterus. Ductus ejaculatorius lang, aber nicht besonders muskulös.

Sehr nahe verwandt mit der so umschriebenen Gattung ist zweifellos *Distomum truncatum* (Rud.). Immerhin weicht es in mehrfacher Hinsicht von den typischen *Metorchis*-Arten so weit ab, daß es als Vertreter einer besonderen Gattung angesehen werden muß, die ich ***Pseudamphistomum*** nenne und folgendermaßen definiere:

Untermittelgroße Opisthorchiiden mit verhältnismäßig kurzem, gedrungenem, hinten quer abgestutztem Körper, dessen Breite etwas hinter der Körpermitte am größten ist und nach hinten zu weniger abnimmt wie nach dem keilförmig verjüngten Vorderende. Haut bestachelt. Mündung der Exkretionsblase auf der Bauchfläche, aber erst hinter den Hoden und nur wenig vor dem Hinterende, im Grunde einer von einem muskulösen Wulst umgebenen grubigen bis trichterförmigen

Einsenkung der Haut. Darmschenkel bis ins Hinterende reichend und dort etwas nach innen umbiegend, ohne jedoch die Hoden völlig zu umgreifen. Diese rundlich, mehr neben als hintereinander, nicht ganz im äußersten Hinterende. Keimstock rundlich bis nierenförmig, von den Hoden etwas nach vorne abgerückt, und von Uterusschlingen überlagert, meist auch durch solche von den Hoden getrennt. Von diesem Unterschied abgesehen, Uterus und Dotterstöcke wie bei *Metorchis*. Ductus ejaculatorius mit stark entwickelter Pars musculosa.

Die im Vergleich zu den typischen *Metorchis*-Arten abweichende Lage des Exkretionsporus von *Pseudamphistomum truncatum* habe ich bereits bei einer früheren Gelegenheit (Lühe 1899) kurz erwähnt¹⁾. Fig. 1—3 zeigen diese Verhältnisse des näheren. Besonders

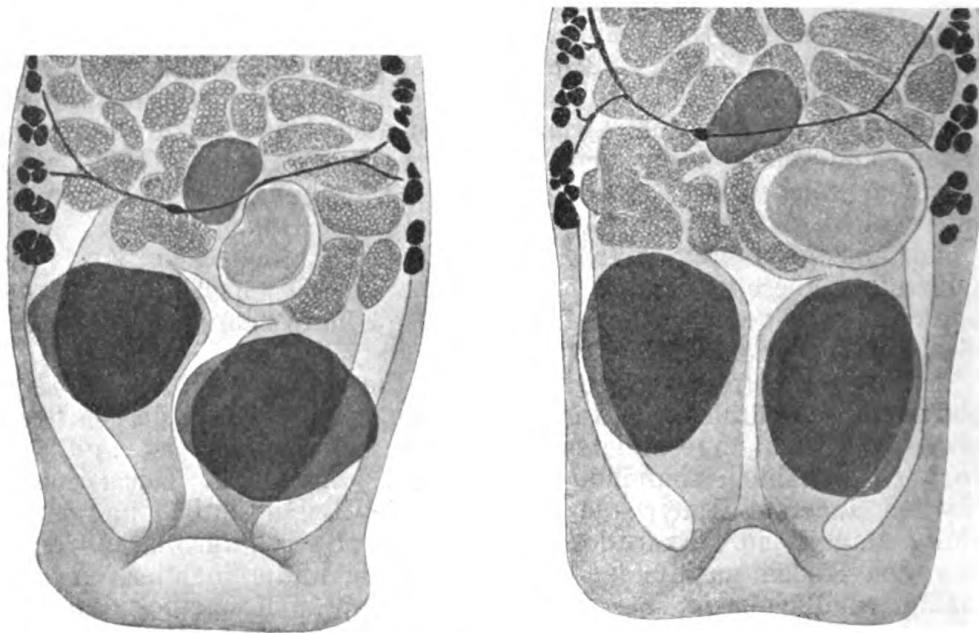


Fig. 1 und 2. Hinterende zweier Exemplare von *Pseudamphistomum truncatum* (Rud.) in verschiedenen Kontraktionszuständen, von der Bauchfläche. Vergr. 60 : 1.

hervorgehoben sei noch, daß die S-förmige Krümmung der Exkretionsblase, die anscheinend überhaupt für die Opisthorchiiden charakteristisch ist, sich auch hier erkennen läßt, wenngleich sie bei starker Streckung des Hinterendes (vergl. Fig. 2) fast ganz ausgeglichen werden kann. Entsprechend ihrer ventralen Ausmündung liegt die Exkretionsblase, soweit sie nicht zwischen den Hoden Platz findet (vergl. Fig. 1), wie bei *Metorchis* ventral von diesen und nicht etwa wie bei *Holometra* und *Clonorchis* dorsal (vergl. auch Fig. 3).

Die Lage des Keimstockes zu den Hoden einer-, dem Bauchsaugnapf andererseits ist je nach den Kontraktionsverhältnissen Schwankungen unterworfen. Nicht selten geht seine Verlagerung nach vorn (im Ver-

1) Zusatz bei der Korrektur: Nachträglich werde ich darauf aufmerksam, daß schon Wagener (Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Eingeweidewürmer. Haarlem 1857. Taf. XXII. Fig. 1) die Lage des Exkretionsporus von *Pseudamphistomum truncatum* (= *Dist. conus* Crepl.) richtig abgebildet hat.

gleich zu den Verhältnissen bei *Metorchis* s. str.) so weit, daß er ähnlich wie bei *Holometra* in der Mitte zwischen Bauchsaugnapf und Hoden liegt. *Pseudamphistomum* verhält sich also in dieser Beziehung zu *Metorchis* ähnlich wie unter den *Acanthocolpinae* Lhe. die Gattung *Deropristis* Odhn. zu *Acanthochasmus* Lss. und *Acanthocolpus* Lhe. (vergl. Lühe 1906).

Von den anderen, aus den oben einander gegenüber gestellten Gattungsdiagnosen ersichtlichen Unterschieden zwischen *Metorchis* und *Pseudamphistomum* verdient noch die Pars musculosa des Ductus ejaculatorius von *Pseudamphistomum truncatum* eine Erörterung. Der von der Samenblase zur männlichen Geschlechtsöffnung führende Gang (Ductus ejaculatorius im weiteren Sinne) zerfällt nämlich in 2 scharf gesonderte Abschnitte, den dünnwan-

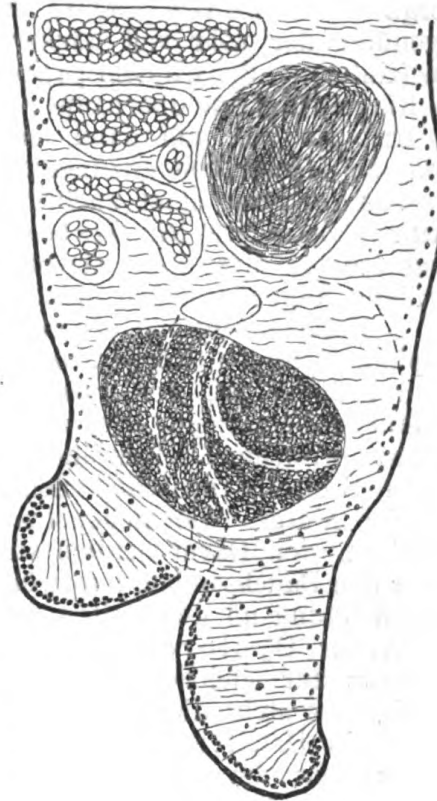


Fig. 3. Medianer Sagittalschnitt durch das Hinterende eines *Pseudamphistomum truncatum* (Rud.). Der Verlauf der Exkretionsblase von dem in dem Medianschnitt getroffenen Schnitt vor dem linken Hoden bis zum Exkretionsporus ist nach den Nachbarschnitten punktiert eingetragen, ebenso der Umriss des rechten Hodens nach demjenigen Schnitt, in welchem der ventral von diesem Hoden verlaufende Teil der Exkretionsblase getroffen ist. Vergr. 112:1.

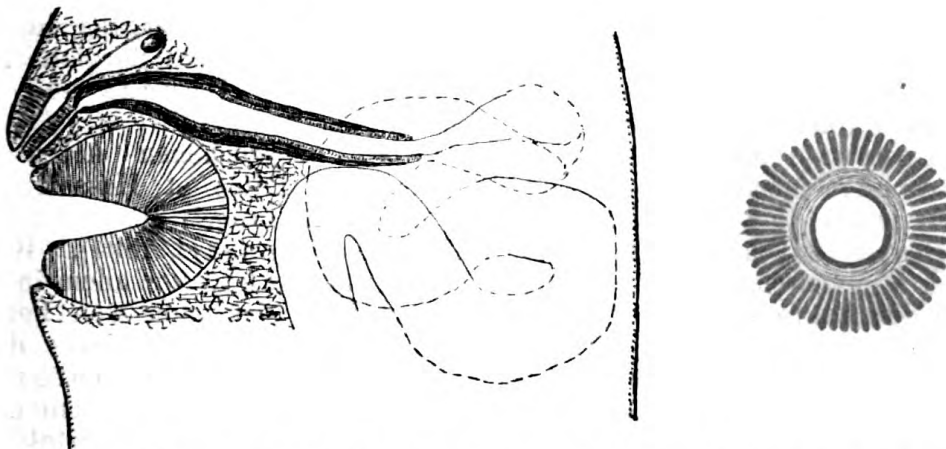


Fig. 4. Teil eines Sagittalschnittes durch *Pseudamphistomum truncatum* (Rud.). Verlauf der Endabschnitte des männlichen Genitalleitungsweges aus mehreren Schnitten kombiniert. Die Wandung der Samenblase ist nur insoweit durch eine ausgezogene Linie wiedergegeben, als ihre Schlingen in demselben Schnitt mit ihrem Endabschnitt getroffen sind, im übrigen ist sie nur durch eine unterbrochene Kontur angedeutet. Vergr. 128:1.

Fig. 5. Optischer Querschnitt durch die Pars musculosa des Ductus ejaculatorius von *Pseudamphistomum truncatum* Rud. (nach einem Totalpräparat). Vergr. 500:1.

digen Ductus ejaculatorius im engeren Sinne und eine wesentlich längere, zwischen ihn und die Samenblase eingeschaltete Pars muscosa, wie sie in ähnlicher Weise von Distomen bisher noch nicht bekannt geworden ist und an die Verhältnisse bei *Paramphistomum* Fischdr. erinnert. Während freilich bei *Paramphistomum* die Ringmuskulatur dominiert (vergl. Fischeoeder 1903), tritt diese bei *Pseudamphistomum* gegenüber der sehr viel stärker entwickelten Längsmuskulatur mehr in den Hintergrund. An dem peripheren Ende der Pars muscosa ist sogar die Ringmuskulatur überhaupt nicht nachweisbar. Erst weiter nach innen zu tritt sie auf, um dann nach dem Samenblasenende zu allmählich etwas an Mächtigkeit zuzunehmen (vergl. hierzu Fig. 4 und 5).

Als Vertreter einer anderen, aus *Metorchis* Lss. auszuscheidenden Gattung betrachte ich *Distomum amphileucum* Lss. (1896). Die Diagnose für diese neue Gattung, die ich *Cyclorchis* nennen will, kann vorläufig folgendermaßen gefaßt werden.

Untermittelgroße bis mittelgroße Opisthorchiiden mit gestrecktem spindelförmigen Körper, dessen Breite ungefähr in der Körpermitte am größten ist, um nach vorn und hinten allmählich abzunehmen. Haut unbestachelt. Darmschenkel das zugespitzte Hinterende nicht ganz erreichend. Exkretionsblase am Hinterende ausmündend und sich S-förmig zwischen den Hoden durchschlängelnd. Diese rund, mehr hinter- wie nebeneinander. Uterusschlingen nicht dicht gedrängt, den Darm seitlich stark überschreitend, sich aber nicht auch vor den Bauchsaugnapf vorwölbend. Dotterstöcke von geringer Längsausdehnung an den Seiten des Mittelkörpers.

Außer *Cyclorchis amphileucus* (Lss.) gehört als *Species inquirenda* zur gleichen Gattung noch *Cyclorchis campula* (Cobb.). Wenigstens steht diese Art, soweit Cobbolds (1876) Abbildung überhaupt ein Urteil zuläßt, von allen Opisthorchiiden *Cyclorchis amphileucus* am nächsten. Ueber die Ausdehnung der Dotterstöcke erfahren wir freilich von Cobbold nichts, aber die Form des ganzen Tieres und des Hinterendes, die Lage von Hoden und Exkretionsporus, sowie der Verlauf des Uterus, auf dessen getreue Wiedergabe in der Abbildung Cobbold seiner Angabe nach ganz besondere Sorgfalt verwandt hat, ist ähnlich wie bei *Cyclorchis amphileucus* und abweichend von allen anderen bisher betrachteten Arten.

Looss (1899) hat außer den bisher besprochenen Arten zu *Metorchis* noch *Distomum complexum* Stiles et Hassall und *Distomum conjunctum* Cobb. nec Lewis et Cunn.¹⁾ gerechnet (vgl. Cobbold 1861 und 1862, sowie Stiles und Hassall 1894). Beide Arten stimmen mit *Cyclorchis* und *Opisthorchis* vor allem in der Lage der Exkretionsblase überein, unterscheiden sich aber von beiden Gattungen durch die in geringerer Längsausdehnung des Tieres dicht zusammengedrängten Uterusschlingen, die bei *Distomum complexum* sich auch ganz wie bei *Metorchis* und *Pseudamphistomum* noch vor den Bauchsaugnapf vorwölben, sowie durch die stärkere Ausbildung der Dotterstöcke, die schon bald hinter der Darmgabelung beginnen; von *Cyclorchis* außerdem noch durch die bis ins abgerundete Hinterende reichenden Darmschenkel und die Lappung der Hoden, die bei *Distomum conjunctum* Cobb. zwar noch wenig ausgeprägt, bei *Distomum complexum* aber sogar noch stärker ist wie bei

1) *Distomum conjunctum* Lewis et Cunn. nec Cobb. gehört als *Opisthorchis noverca* Brn. zu *Opisthorchis* s. str. Vergl. Braun (1907).

Opisthorchis s. str. Ich vermute deshalb, daß auch *Distomum complexum*, dessen Original Exemplare ja im Nationalmuseum in Washington vorhanden und der Nachuntersuchung zugänglich sind, Vertreter einer eigenen Gattung werden wird, der dann vielleicht auch *Distomum conjunctum* Cobb. zuzurechnen wäre.

Was nun die gegenseitigen Beziehungen der vorstehend besprochenen Gattungen betrifft, so ist auf die nahe Verwandtschaft von *Metorchis* und *Pseudamphistomum* ja schon hingewiesen. Dagegen scheint mir *Cyclorchis*, den ich allerdings nicht aus eigener Anschauung kenne, näher verwandt zu sein mit *Opisthorchis* s. str. und *Clonorchis*. Auf Grund der heutigen Ansichten über die Systematik der Distomen bin ich, abweichend von früher geäußerten Auffassungen, geneigt, die hier angedeuteten beiden Gattungsgruppen als Unterfamilien (*Metorchiinae* und *Opisthorchiinae*) und die bisherige Unterfamilie *Opisthorchiinae* Lss. als eine den von Looss (1902) gebildeten Familien gleichwertige Familie *Opisthorchiidae* zu betrachten. Die Diagnose der letzteren bedarf gegenüber derjenigen von Looss (1899) gegebenen einiger Aenderungen und kann etwa folgendermaßen gefaßt werden:

Mittelgroße bis kleine Distomen mit fast stets stark abgeflachtem, durchsichtigem, nach vorn zu meist merklich verjüngtem Körper. Saugnäpfe einander genähert, wenig kräftig. Pharynx und kurzer Oesophagus vorhanden; Darmschenkel lang, aber das Hinterende nicht immer erreichend, unverzweigt. Exkretionsblase Y-förmig, mit verhältnismäßig langem Stamm und sehr kurzen Schenkeln, am Hinterende oder auf der Bauchfläche ausmündend, im ersteren Falle sich zwischen den Hoden S-förmig hindurchwindend oder dorsal von den Hoden gelegen. Genitalöffnung dicht vor dem Bauchsaugnaf; Cirrusbeutel fehlt, die langgestreckte, schlauchförmige und vielfach gewundene Samenblase liegt frei im Parenchym. Hoden dem Hinderende genähert, meist mehr oder weniger schräg hintereinander, rundlich, gelappt oder verästelt; Keimstock vor ihnen, rundlich oder oval, seltener schwach gelappt und niemals verästelt. Laurerscher Kanal vorhanden, ebenso ein stark entwickeltes Receptaculum seminis. Dotterstöcke mäßig entwickelt, ganz oder wenigstens größtenteils außerhalb der Darmschenkel gelegen. Uterusschlingen zahlreich, vor den Hoden und meist auch vor dem Keimstock. Eier zahlreich, klein, hellgelbbraun. In Gallenblase und Gallengängen von Säugetieren, Vögeln und Reptilien; Jugendstadien mit einer einzigen Ausnahme zwar noch unbekannt, aber offenbar vorwiegend in Fischen zu suchen.

Will man innerhalb der so definierten Gruppe den beiden Gattungen *Metorchis* und *Pseudamphistomum* gegenüber, deren gemeinsame Organisationszüge zur Genüge aus den oben gegebenen Gattungsdiagnosen hervorgehen, in der bereits angedeuteten Weise die Gattungen *Opisthorchis*, *Clonorchis* und *Cyclorchis* zu einer Unterfamilie zusammenfassen, so kann dies vorläufig auf Grund folgender gemeinsamer Züge geschehen:

Mittelgroße bis untermittelgroße Opisthorchiiden mit langgestrecktem, stark abgeflachtem und sehr durchsichtigem Körper. Haut meist glatt. Exkretionsblase lang, am Hinterende ausmündend, mit sich S-förmig zwischen den Hoden durchschlängelndem oder dorsal von diesen gelegenen Stamm. Keimstock dicht vor den Hoden. Uteruswindungen sich nicht vor den Bauchsaugnaf vorwölbend und Dotterstöcke nicht

über den Bauchsaugnapf hinaus nach vorn reichend. Ductus ejaculatorius kurz, nicht muskulös.

Außer den bisher erwähnten Formen hat nun aber Looss zu seiner Unterfamilie *Opisthorchiinae* auch noch die Gattung *Holometra* Lss. gerechnet mit der bisher einzigen Art *Holometra exigua* (Mühl.), die zuerst in Ostpreußen entdeckt worden ist und die Looss in Aegypten wiedergefunden zu haben glaubt. Looss selbst macht freilich bereits darauf aufmerksam, daß seine Exemplare größer sind wie die ostpreußischen (ihre Länge beträgt 1,8 mm, während Mühling nur 1,1—1,23 mm gefunden hat, ihrer Breite entsprechend 0,5 mm gegenüber nur

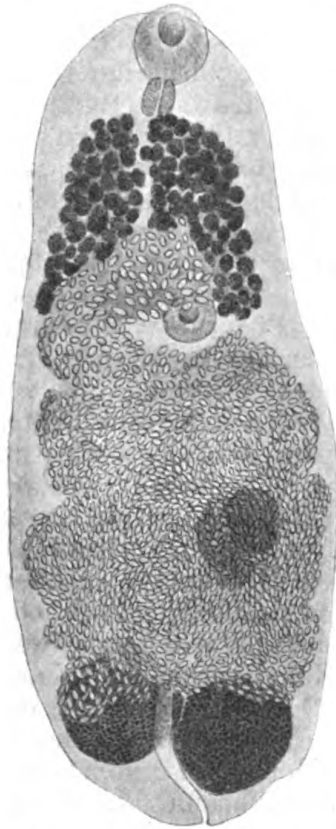


Fig. 6. *Holometra exigua* (Mühl.) von der Rückenfläche (nach einem Originalpräparat von Mühling). Vergr. 100:1.

0,3—0,42 mm). Dabei scheinen bei der ägyptischen Form die Saugnäpfe im Verhältnis noch kleiner zu sein wie bei der ostpreußischen (Mundsaugnapf 0,1 mm gegenüber 0,083 mm, Bauchsaugnapf 0,084 mm gegenüber 0,076 mm), und auch im übrigen stimmt die Beschreibung von Looss (1899) nicht ganz mit der von Mühling (1898) überein. Namentlich scheinen bei der ägyptischen Form die Dotterstöcke etwas schwächer entwickelt zu sein. Während Mühling angegeben hatte, daß der Komplex der Dotterstöcke „vom Darne durchsetzt“ werde, sollen nach Looss die Dotterstöcke nur bei stärker kontrahiertem Vorderende die Darmschenkel nach innen überschreiten und sich dann „nicht ganz bis in die Gegend des Bauchsaugnapfes erstrecken“, diesen selbst aber niemals erreichen. In seiner Abbildung zeichnet Looss auch die Dotterstöcke als völlig vor dem Uterus gelegen. Bei einer Nachprüfung der Mühlingschen Originalpräparate der Art konnte ich mich überzeugen, daß auf diese die Angaben von Looss nicht zutreffen. Jedes der beiden Dotterstocksträubchen setzt sich hier nach hinten zu in einen schlanken Zipfel fort, der nicht nur seitlich von den vordersten Uteruschlingen liegt, sondern anscheinend stets auch noch über den Vorderrand des Bauchsaugnapfes nach hinten zu hinausreicht (vergl. Fig. 6). Ich glaube hiernach, daß wir die

ostpreußischen und die ägyptischen *Holometren* als 2 verschiedene Arten betrachten müssen, und schlage für die von Looss (1899, p. 678f., Taf. XXIV, Fig. 4) beschriebene Art den Namen *Holometra aegyptiaca* n. sp. vor.

Was nun aber die systematische Stellung der Gattung *Holometra* anbetrifft, so hat Looss diese zweifellos mit Recht in seine Unterfamilie *Opisthorchiinae* eingereiht. In einzelnen Organisationszügen scheint sie eine Art von Mittelstellung zwischen den beiden von mir oben angenommenen Unterfamilien einzunehmen. An die Gattungen *Metorchis* und *Pseudamphistomum* erinnert sie außer durch die verhältnismäßig gedrungene Körperform und die Hautbestachelung vor allem durch ihren Uterus, dessen dicht zusammengedrängte Schlingen nicht nur die

Darmschenkel nach außen überschreiten, sondern sich auch noch weit vor den Bauchsaugnapf vorwölben. Die endständige Lage des Exkretionsporus hat sie dagegen mit den Opisthorchiinen mihi gemein, während der S-förmig gewundene Stamm der Exkretionsblase sich zwar zum Teil noch zwischen den Hoden durchschlängelt, hier aber doch nicht mehr wie bei *Opisthorchis* und *Cyclorchis* vollständig Platz hat, vielmehr zum Teil auch dorsal von den Hoden liegt und dadurch bereits etwas an *Clonorchis* mit seiner völlig dorsal gelegenen Samenblase erinnert. In anderer Hinsicht weist aber *Holometra* auch wesentliche Unterschiede von allen anderen hier erwähnten Gattungen auf. Ganz besonders gilt dies für die Lagerung der Dotterstöcke, die bei ihr im Vorderkörper zusammengedrängt, bei allen anderen Opisthorchiiden dagegen an den Seiten des Mittelkörpers liegen. Abweichend ist ferner die geringere Abflachung des Körpers und das dadurch bedingte Fehlen der für die übrigen Opisthorchiiden so sehr charakteristischen großen Durchsichtigkeit des Körpers. *Holometra* kann daher keiner der denbei von mir vorgeschlagenen Unterfamilien eingereiht werden, nimmt vielmehr bis auf weiteres innerhalb der Opisthorchiiden eine mehr isolierte Stellung ein.

Als Vertreter einer eigenen Unterfamilie rechne ich ferner noch zu den Opisthorchiiden das von Looss (1907a) beschriebene eigenartige *Pachytrema calculus*, auf dessen Beziehungen zu *Metorchis* ja bereits Looss selbst hingewiesen hat.

Literatur.

- 1902 Braun, M., Fascioliden der Vögel. (Zool. Jahrb. Abt. f. Syst. Bd. XVI. Heft 1. p. 1—162. Taf. 1—8.)
- 1907 — —, Die tierischen Parasiten des Menschen. 4. Aufl. Würzburg 1908. [Erschienen 1907.]
- 1861 Cobbold, T. Sp., Further observations on Entozoa, with experiments. (Transact. Linn. Soc. London. Vol. XXIII. p. 349—358. Tab. 33.)
- 1862 — —, Parasites from the Zoological Gardens. (Intellectual Observer. Vol. I. p. 347—353. With 1 plate.)
- 1876 — —, Trematode parasites from the Dolphins of the Ganges, *Platanista gangetica* and *Orcella brevirostris*. (Journ. Linn. Soc. London. Zool. Vol. XIII. p. 35—46. Plate X.)
- 1903 Fischöder, F., Die Paramphistomiden der Säugetiere. (Zool. Jahrb. Abt. f. Syst. Bd. XVII. Heft 4. p. 485—660. Taf. 20—31.)
- 1899 Jacoby, S., Beiträge zur Kenntnis einiger Distomen. [Inaug.-Diss.] Königsberg 1899. 8°. 30 p. 2 Taf. Abdr. a. Arch. f. Naturgesch. Jg. 1900. Bd. I.
- 1898 Kowalewski, M., Studya helmintologiczne V. Przyczynek do bliższej znajomości kilku przywr. [Helminthologische Studien V. Beiträge zur Kenntnis einiger Trematoden.] (Rozprawy Wyzd. mat. przyr. T. XXXV. p. 106—164. Tab. I—II; Französ. Résumé in Anzeiger d. Akad. d. Wiss. Krakau. 1898. p. 69—77. Februar.)
- 1892 Looss, A., Recherches sur la faune parasitaire de l'Égypte. (Mém. de l'Institut Egyptien. T. III.) Le Caire 1896. 4°. 252 p. XVI Taf.
- 1899 — —, Weitere Beiträge zur Kenntnis der Trematodenfauna Aegyptens, zugleich Versuch einer natürlichen Gliederung des Genus *Distomum* Retzius. (Zool. Jahrb. Abt. f. Syst. Bd. XII. Heft 5/6. p. 521—784. Taf. 24—32.)
- 1902 — —, Ueber neue und bekannte Trematoden aus Seeschildkröten. Nebst Erörterungen zur Systematik und Nomenklatur. (Ibid. Bd. XVI. Heft 3—6. p. 411—894. Taf. 21—32.)
- 1907 — —, On some parasites in the museum of the school of tropical medicine, Liverpool. (Ann. of trop. med. and parasitol. Vol. I. No. 1. p. 123—154. Taf. VII—IX.)
- 1907a — —, Ueber einige zum Teil neue Distomen der europäischen Fauna. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. Heft 6. p. 604—613.)
- 1899 Lühe, M., Zur Kenntnis einiger Distomen. (Zool. Anz. Bd. XXII. No. 604. p. 524—539.)

- 1901 Lühe, M. Ueber Hemiuriden. (Ibid. Bd. XXIV. No. 647. p. 394—403; No. 650. p. 473—488.)
- 1906 — —, On Trematode parasites from marine fishes of Ceylon. (Report to the Governm. of Ceylon on the pearl oyster fisheries of the gulf of Manaar, publ. by the Royal Soc. Part V. p. 97—108. 2 Taf.)
- 1898 Mühling, P., Die Helminthenfauna der Wirbeltiere Ostpreußens. (Arch. f. Naturgesch. Jg. LXIV. Bd. I. p. 1—118. Taf. I—IV.)
- 1894 Stiles, Ch. W. and Hassall, A., Notes on parasites. 21. A new species of fluke (*Distoma* [*Dicrocoelium*] *complexum*) found in cats in the United States, with biographics and diagnoses of allied forms. (Veterinary magazine. p. 413—437. June.)

Nachdruck verboten.

Alkohol- und Essigsäuretoleranz der Bakterien.

Von Dr. med. C. S. Stokvis,

Assistenten am Hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität zu Amsterdam.

In einer im Jahre 1900 erschienenen Doktorarbeit von weiland Dr. med. M. Hilsum¹⁾ kommt der Autor, angeregt durch Untersuchungen von P. Miquel u. a., nachdem er gesehen hat, daß Wasser aus der Wasserleitung, welches in Kolben aufgehoben worden ist und hierin einige Zeit gestanden hat, nach einigen Tagen eine Vermehrung mit darauffolgender Verminderung der Bakterienzahl gezeigt hat, zu dem Schlusse, daß hier, ebenso wie in Flüssen, etwas vor sich geht, das Aehnlichkeit mit der Selbstreinigung hat. Aus seinen Versuchen wird weiter klar, daß weder an den Einfluß von Licht oder Sedimentation, noch toxischer Stoffe gedacht werden muß. Wasser, welches in Kolben gestanden hatte, und das diese Vermehrung mit darauffolgender Verminderung der Bakterienzahl durchgemacht hatte, wurde durch ein Pasteur-Chamberland-Filter filtriert, und war dann dennoch imstande, wenn es mit einer neuen Bakteriensorte beschickt wurde, diese Vermehrung und Verminderung zu zeigen. Hieraus wurde also ersichtlich, daß keine toxischen Stoffe die Ursache waren, da diese nicht durch eine Chamberland-Kerze zurückgehalten werden. Auch sah Hilsum, daß die Steigerung und der darauffolgende Gleichgewichtszustand, d. h. die Zeit, in der der Bakteriengehalt am höchsten ist, davon abhängt, ob man mit einer Reinkultur gearbeitet hat. „Beschickt man das filtrierte Wasser mit einigen Sorten, dann wird durch den Streit zwischen diesen Sorten die Steigerung weniger schnell vor sich gehen, der Gleichgewichtszustand nicht so hoch sein, und der Kampf untereinander die Ursache sein, daß alle Sorten, ohne daß eine hervorrage, sich vermindern werden. Je mehr Sorten man nach dem Filtrieren ins Wasser bringt, desto weniger schnell wird die Zunahme sein, desto niedriger der Gleichgewichtszustand, und desto schneller wird die Abnahme folgen“²⁾.

In diesem Streit zwischen den verschiedenen Sorten oder zwischen den Individuen derselben Art sucht er eine Erklärung der Abnahme der Bakterienzahl, mit anderen Worten, er gibt für diese Abnahme oder Selbstreinigung eine biologische Erklärung.

Ich glaubte, daß es nicht ohne Interesse sein würde, diese Versuche aufs neue zu machen und zugleich auch dem Einfluß nachzugehen,

1) Ondersoek van een zwembassin in verband met zelfreiniging. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXVII. p. 661.)

2) M. Hilsum, p. 67—68.

den verschiedene Bakterienarten, die nacheinander ins Wasser gebracht werden, aufeinander ausüben. Nebenbei konnte man Versuche anstellen, warum ein Nährboden einer Bakterienart, z. B. eine Bouillonkultur, nach Filtration nicht mehr für eine neue Bakterie geeignet ist. Dies hat doch sicher mit den Versuchen aus den Kolben Aehnlichkeit.

Eine sehr große Stütze findet die biologische Erklärung Hilsums in der Wortmannschen biologischen Gärungstheorie¹⁾.

Die gewöhnliche Theorie der Gärung ist die, daß die Bakterien bei Abwesenheit von Sauerstoff die nötige Energie, die sie sonst durch eine Verbindung mit diesem Sauerstoff bekommen würden, dadurch erhalten, daß sie eine Zersetzung der Nährsubstanz bewirken. Dieses ist die alte Theorie von Pasteur, wobei nur eine Anaërobie möglich ist, bei absoluter Abwesenheit von Sauerstoff, selbst wenn dieser auch nur chemisch gebunden ist.

Wortmann betrachtet nun die Gärung als eine Art Selbstverteidigung der Hefen und Bakterien, die durch diese Gärung Stoffe produzieren, die für andere Hefen und Bakterien giftig sind, oder sie in ihrer Entwicklung hemmen. So sagt er p. 117: „Um sich ihrer Feinde zu erwehren und um ihre Art zu erhalten, verdirbt sie ihren Feinden den Nährboden, indem sie denselben vergiftet. Der bei der Gärung gebildete Alkohol ist für alle Lebewesen ein starkes Gift, und indem die Hefe den Alkohol in ihre Umgebung entläßt, wirkt sie somit giftig auf die in derselben befindlichen Organismen ein,“ und p. 121 „Somit wird auch bei den Essigbakterien das Gärprodukt, die Essigsäure, als Gift im Kampfe gegen die Mitbewerber ums tägliche Brot angewendet, und der ganze Zweck der Essigsäurebildung, d. h. Essigsäuregärung, beruht eben auf der Bildung dieses Giftes. Was für die Hefen der Alkohol, das ist für die Essigbakterien die Essigsäure, und weiter für die Milchsäurebakterien die Milchsäure, für die Buttersäurebakterien die Buttersäure usw. Wir gelangen somit zu der allgemeinen Anschauung, daß die Bedeutung der Gärungsvorgänge für die verschiedenen Gärungsorganismen in der Produktion von Giften, mit Hilfe deren sie die Entwicklung ihrer Konkurrenten hemmen, gegeben ist.“ Alfred Fischer gibt p. 271 eine kleine Uebersicht über die Wirkung von Gärungsprodukten einiger Bakterien auf andere:

	Der Erzeuger erträgt	Andere Organismen werden gehemmt bei
Alkohol	10—16 Proz.	4—10 Proz.
Essigsäure	4—6 „	$\frac{1}{4}$ —1 „

Ich hatte die Absicht, noch einmal die durch Fischer angegebenen Zahlen näher zu prüfen und die Alkohol- und Essigsäuretoleranz der Bakterien zu bestimmen. Es müßte aber geprüft werden, wann die Entwicklungshemmung eintrat, aber nicht wann die Bakterien absterben. Im letzteren Falle würden wir zu einem viel höheren Alkoholgehalt kommen.

J. Sabrazès und A. Marcandier²⁾ fanden, daß Bordeauxwein mit einem Alkoholgehalt von 9 Proz. Typhoidbacillen nach 10 Stunden tötet. Ob jedoch der Alkohol hier an und für sich die Schuld hat, muß ich doch ziemlich stark bezweifeln. Ich selbst habe gewöhnliches leichtes Bier, in Holland Gerste-Lager genannt, das einen Alkoholgehalt von

1) Wortmann, J., Die wissenschaftliche Grundlage der Weinbereitung und Kellerwirtschaft. Berlin (Paul Parey) 1905. Neuntes Kapitel. p. 111—1213; siehe auch Fischer, Alfred, Vorlesungen über Bakterien. p. 270—271.

2) Action du vin sur le bacille d'Eberth. (Annales de l'institut Pasteur. T. XXI. p. 312.)

3 Proz. hat, mit Typhoidbacillen beschickt. Das Bier wurde vorher durch Filtration durch eine Chamberland-Kerze sterilisiert. Nach 14 Tagen waren die Bacillen absolut nicht getötet, wohl aber hatte sich auf dem Boden ein großer Niederschlag gebildet, so daß es das Ansehen hatte, als ob eine sehr große Agglutination stattgefunden hätte. Aber nach Impfung auf Bouillon und Agar-Agar konnte durch die gewöhnlichen Kulturmerkmale, keine Gasbildung, keine Indolbildung, keine Gerinnung der Milch und durch das Wachstum auf Gelatineplatten die Identifizität der Typhoidbacillen nachgewiesen werden, so daß eine weitere Identifikation durch Conradi-Drigalski- oder Endo-Platten oder Agglutination überflüssig war. Waren doch in steriles Bier Typhoidbacillen hineingebracht worden. Also werden bei dem Absterben von Bakterien in alkoholischen Getränken wohl noch andere Einflüsse als der Alkoholgehalt mitreden.

Es gibt natürlich über den antiseptischen Wert von Alkohol eine große Menge von Arbeiten und Angaben in der Literatur, ist doch diese Frage von großem chirurgischen Interesse. Eine sehr gute Uebersicht der Literatur über die Einwirkung von Alkohol auf Bakterien gibt Victor Russ¹⁾.

Aber mit Ausnahme einer Arbeit hatten diese Monographien, wie interessant sie übrigens auch sein mögen, für mich kein Interesse. War doch der Zweck bei den meisten dieser Arbeiten ein ganz anderer, weil die Mehrzahl der Untersuchungen feststellen wollte, wann die Bakterien absterben, während ich nachforschen wollte, wann sie gehemmt würden. Doch will ich einige Arbeiten, die noch etwas Interesse für meine Untersuchungen hatten, referieren.

Emil Ch. Hansen²⁾ hat Versuche angestellt, um den Einfluß des Alkohols auf die Bakterien des nässenden Ekzems zu erproben. Er wendete gegen das nässende Ekzem, woran er selbst litt, Alkohol, der ihm als Hausmittel bekannt war, an. Die Bakterien, mit welchen die Versuche angestellt wurden, befanden sich teils in feuchtem, teils in getrocknetem Zustande. Die Resultate waren, daß die Bakterien im feuchten Zustande kürzere Zeit am Leben blieben, als die im eingetrockneten Zustande befindlichen. Im ersten Falle waren sie nach der 1 Monat dauernden Einwirkung des absoluten Alkohols getötet, im zweiten Falle waren sie nach diesem Zeitraume noch am Leben. Daß Bakterien gegen Antiseptika im feuchten Zustand weniger Widerstandsfähigkeit haben wie im getrockneten, war schon bekannt³⁾.

Auch hatte Alkohol von 50—60 Proz. eine viel schneller abtötende Wirkung gegenüber Bakterien, als absoluter Alkohol. Siehe hierüber auch W. v. Brunn⁴⁾.

Bac. coli, 20 Seidenfäden, welche 3 cm lang waren, wurden durch Hansen 2 Stunden lang in eine junge, kräftige Vegetation in Fleischwasserpepton gelegt und dann in Petri-Schalen gebracht, wo sie einem 3-stündigen Eintrocknen bei 37° C ausgesetzt wurden. Sie wurden dann

1) Zur Frage der Bakterizidie durch Alkohol. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 115.)

2) Ueber die toxische Wirkung des Aethylalkohols auf Bakterien und Hefen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. p. 466.)

3) Sitsen, A., Ueber den Einfluß des Trocknens auf die Widerstandsfähigkeit der Mikroben Desinfektionsmitteln gegenüber. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVI. p. 65.)

4) Brunn, W. v., Alkoholdämpfe als Desinfektionsmittel. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVII. p. 309.)

1 Minute in Alkohol gehalten und danach in sterilem Wasser ab gespült und jeder Faden bei 37° C in Kölbchen mit Fleischwasserpepton gebracht.

Es wurden 2 Versuchsreihen angestellt, eine Serie A, um zu ermitteln, wie viel am Faden eingetrocknete Bakterien durch das bloße Eintrocknen absterben würden, und eine Serie B, um dem Einfluß des Alkohols nachzugehen. Von den 40 Vegetationen der Gruppe A waren nach 14 Tagen nur 2 abgestorben, während von den 40 Vegetationen der Reihe B nach 14 Tagen keine einzige am Leben geblieben war. Bac. Pasteurianum gab ungefähr dasselbe Resultat. Buchholm¹⁾ hat 1875 Versuche angestellt, wobei er in Kochflaschen, die mit Alkohol und Nährflüssigkeit gefüllt war, 3 Tropfen einer bakterienhaltigen Flüssigkeit brachte.

Ohne Alkoholzusatz wurde die Nährflüssigkeit nach 3 $\frac{1}{2}$ Tagen undurchsichtig, bei 0,5, 1,0, 1,5 Proz. begann eine Trübung nach 5 $\frac{1}{2}$ Tagen, die nach 9 $\frac{1}{2}$ Tagen sehr stark wurde. Bei 2 Proz. blieb das Medium dauernd klar. Er kommt zu dem Resumé, der Alkohol ist ein langsam wirkendes Gift. Läßt man ihn längere Zeit mit den zu vergiftenden Bakterien in Berührung, so genügte rund 10-proz. Zusatz zu ihrer Tötung.

Wirgin²⁾ hat neben anderen Versuchen auch numerisch die Entwicklungshemmung des Alkohols bestimmt. Dazu impfte er von je 10 ccm einer 22-stündigen Bouillonkultur mit 1–3 Proz. Alkoholzusatz je 1 Oese in verflüssigten Agar und goß Platten. Die Zählung wurde unmittelbar nach dem Alkoholzusatz und nach 10 und nach 100 Tagen vorgenommen. 5 Proz. gaben nach 10 resp. 100 Tagen absolutes Absterben, 4 und 3 Proz. bewirkten eine Entwicklungshemmung in stärkerem, 2 und 1 Proz. in sehr geringem Maße. Wirgin hat auch gesehen, daß Bakterien in Bier ziemlich lange am Leben bleiben können. Bei Alkoholprozenten oberhalb 10 Proz. konnten noch Hefen gedeihen. Auch sah er, daß sogar ein kleiner Zusatz von Alkohol vorteilhaft für einige Bakterien war.

Ueber den antiseptischen Wert und den Einfluß von Essigsäure auf Bakterien liegen nur sehr wenige Arbeiten vor. Alle diese geben an, daß Essigsäure nur eine sehr schwache Wirkung auf Bakterien auszuüben imstande ist.

Nach Duclaux³⁾ hat die Essigsäure nur ganz geringen antiseptischen Wert. R. Schäffer⁴⁾ hebt auch die sehr schwache Wirkung der Essigsäure hervor. G. F. Nuttall⁵⁾ findet auch nur einen sehr geringen Einfluß der Essigsäure, was aus unterstehendem Versuchsprotokoll deutlich wird:

	Subtilis	Anthrax	Eiterkokken	
Essigsäure	20 Proz.	50 Proz.	1,0 Proz.	0,5 Proz.
	keine Wirkung	keine Wirkung	wohl Wirkung	keine Wirkung

Ich bin in meinen Versuchen zu ganz anderen Resultaten gekommen, und habe gesehen, daß jedenfalls Essigsäure einen sehr starken entwicklungshemmenden Einfluß auf Bakterien hat.

1) Antiseptika und Bakterien. (Archiv für experimentelle Pathologie und Therapie. Bd. IV. 1875; zitiert nach Russ.)

2) Zur Wirkung des Aethylalkohols auf Mikroorganismen. (Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XI. 1902. p. 307.)

3) Traité de Microbiologie. T. I. p. 240.

4) Ueber den antiseptischen Wert der Essigsäure in der Geburtshilfe. (Berliner klin. Wochenschr. 1890. No. 3.)

5) Bemerkungen zu der Arbeit von Walliczeck, Ueber die bakterizide Eigenschaft der Gerbesäure. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XVII. p. 131.)

Wie ich schon oben gesagt habe, kam es nach meiner Meinung darauf an, den entwicklungshemmenden Einfluß des Alkohols und der Essigsäure zu bestimmen, und daher durfte ich mich nicht damit begnügen, zu untersuchen, ob die Nährböden klar bleiben oder nicht, sondern ich mußte numerisch die Zahl der Bakterien nach der Einwirkung von Alkohol bestimmen. Ist es mir doch vorgekommen, daß der Inhalt von Röhrcchen mit Bouillon, welche ganz klar geblieben waren, nach Aussaat in Gelatineplatten zeigte, daß die Bakterien noch am Leben geblieben waren.

Die Versuchsanordnung war die folgende:

Es wurde von einer gewissen Bakterienart (Versuche sind angestellt worden mit *Bac. typhi*, *coli*, *paratyphi B*, *prodigosus* und *Vibrio cholerae*) eine Agar-Agarkultur angelegt. Diese wurde während 24 Stunden in den Brutofen bei 37° C oder bei 24° C, wie bei *Prodigosus*, gestellt. Nach dieser Zeit wurde mit 1 oder 2 Platinösen von dieser Agarkultur in sterilem Wasser eine Emulsion angefertigt. Nun wurde aus dieser Emulsion mit einer geeichten Oese, die einen Inhalt von 1,8 mg hatte, eine Oese in ein Röhrcchen mit 9 ccm Bouillon gebracht, gut gemischt und dann hieraus mit der geeichten Oese eine Platte gegossen. Man konnte also bestimmen, wie viel Bakterien die Emulsion pro 1 ccm hatte.

Jetzt wurden 4 oder 5 Röhrcchen je mit 9 ccm Bouillon mittels einer sterilen Pipette mit absolutem Alkohol von 99 Proz. beschickt, und zwar so, daß jedem Röhrcchen ein bestimmtes Alkoholprozent entsprach. Fügt man z. B. einem Röhrcchen mit 9 ccm Bouillon 1 ccm Alkohol von 99 Proz. zu, so wurde der Alkohol 10-fach verdünnt, und das Röhrcchen hatte also einen Gehalt von ca. 10 Proz. Alkohol. Nun wurden in jedes Röhrcchen 1 ccm der Emulsion gebracht. Die Röhrcchen wurden in den Thermostaten gestellt und nach 24 Stunden wieder herausgenommen. Von dem Inhalt wurde eine geeichte Platinöse von 1,8 mg genommen, diese in einem zweiten Röhrcchen mit 9 ccm Wasser oder Bouillon verdünnt und hieraus wurde mit 1,8 mg eine Platte gegossen und wiederum die Bakterienzahl pro 1 ccm bestimmt. Jedesmal wurde natürlich auch ein Kontrollröhrcchen ohne Alkoholzusatz mit hineingestellt. Diese Versuche wurden während 2 oder 3 Tagen je nach 24 Stunden wiederholt.

Bei diesen Versuchen trat noch eine Erscheinung ein, die vielleicht wert ist, mitgeteilt zu werden. Aus Vorsicht wurde erst der absolute Alkohol auf seine Sterilität geprüft. Dies geschah dadurch, daß man ein Quantum Alkohol mit einer sterilen Pipette in ein Röhrcchen mit Bouillon brachte und dies in den Brutofen bei 37° C stellte. Es entwickelte sich nun in diesem Röhrcchen eine Bakterie, die durch ihre Kulturmerkmale und ihren mikroskopischen Aspekt als *Bacterium Megatherium* bestimmt wurde. Eine Emulsion von einer 24 Stunden alten Agar-Agarkultur dieser Bakterie wurde in Alkohol gebracht, und war nach einem 14-tägigen Verweilen hierin noch am Leben. Der absolute Alkohol, der zu den Versuchen verwendet wurde, mußte also sterilisiert werden. Dies geschah durch eine *Pasteur-Chamberland*-Kerze. Die so sterilisierte Flüssigkeit erwies sich als absolut steril. Noch eine zweite Frage sei erwähnt. Wenn man zu Flüssigkeit in einem Röhrcchen Alkohol zusetzt, dieses danach in den Brutofen stellt und hierin eine gewisse Zeit bei 37° C stehen ließ, so war allerdings die Möglichkeit gegeben, daß nach einiger Zeit der Alkohol verdunstet war, und daß also ein Wachstum der Bakterien in dieser Flüssigkeit nichts mehr mit der Widerstandsfähigkeit dem

Alkohol gegenüber zu tun hatte, sondern daß der Alkohol allmählich verschwunden wäre. Um dies zu ermitteln, wurde der folgende Kontrollversuch gemacht: Ein Kölbchen wurde mit 100 ccm Wasser gefüllt und zu diesem Wasser wurden 10 ccm absoluter Alkohol zugesetzt und nachher mit einem Wattebausch verschlossen. Nun wurde das Kölbchen in den Brutofen bei 37° C gestellt und nach einigen Tagen der Alkoholgehalt bestimmt. Diese Bestimmung geschah auf folgende Weise: Der Inhalt wurde bis auf ein Drittel überdestilliert, das Destillat mit Wasser auf 100 ccm wieder nachgefüllt und nun mittels einer Mohrschen Wage das spezifische Gewicht bestimmt und dann in einer alkoholometrischen Tabelle nachgesehen, wie viel Alkoholgehalt dem gefundenen spezifischen Gewicht entsprach. Der Verlust an Alkohol war immer nur sehr unbedeutend. Hierunter folgt nun eine Uebersicht über die Versuche:

I¹⁾. *Bac. coli communis*. Bakterienzahl pro 1 ccm ∞

	1 Proz.	2 Proz.	3 Proz.	4 Proz.
Nach 1 Tage	100 000 000	37 651 500	37 651 500	37 000 000
" 2 Tagen	95 000 000	37 651 500	37 651 500	37 000 000

II. *Bac. coli communis*. Bakterienzahl pro 1 ccm 41 700 000.

	4 Proz.	6 Proz.	8 Proz.	10 Proz.
Nach 1 Tage	50 000 000	83 00 000	—	3 000
" 2 Tagen	40 000 000	35 00 000	—	10 000

Es tritt also nach einem Tage bei einem Gehalt von 6 Proz. Alkohol eine Entwicklungshemmung auf. Es ist sogar die Frage, ob nicht schon bei 4 Proz. eine Hemmung auftritt, da wohl Vermehrung vorkommt, die jedoch bei einer gewöhnlichen Kultur viel größer sein müßte.

III. *Bac. coli communis*. Bakterienzahl pro 1 ccm 58 050 000.

	4 Proz.	6 Proz.	8 Proz.
Nach 1 Tage	50 000 000	10 000 000	2 500 000
" 2 Tagen	70 000 000	14 000 000	14 000 000
" 3 "	95 000 000	5 000 000	547 900

Bei 4 Proz. tritt am ersten Tage eine Verminderung ein, die von einer Vermehrung gefolgt wird. Deutliche Entwicklungshemmung tritt erst bei 6 Proz. ein. 8 Proz. geben auch erst eine Verminderung, dann eine Vermehrung, der wieder eine Verminderung folgt, so wie dies bei Selbstreinigung vorkommt. Jedoch ist die Vermehrung im Gegensatze zu der bei 4 Proz. eine so geringe, daß wir sicher von einer Entwicklungshemmung reden können. Der Alkoholgehalt der Entwicklungshemmung für *Coli communis* liegt zwischen 4 und 6 Proz., also bei ± 5° Proz.

IV. *Bac. typhi*. Bakterienzahl pro 1 ccm 91 000 000.

	8 Proz.	10 Proz.	12 Proz.
Nach 1 Tage	28 000 000	14 000 000	3 525 000
" 2 Tagen	11 000 000	11 000 000	1 700 000
" 3 "	14 000 000	2 400 000	1 800 000
" 4 "	4 800 000	< 2 400 000	560 000

Bei 8 Proz. tritt also eine deutliche Entwicklungshemmung ein. Aus einem anderen Versuch war ersichtlich geworden, daß dies bei 6 Proz. noch nicht der Fall war. Der Prozentgehalt von Alkohol, der auf *Bac. typhi* entwicklungshemmend einwirkt, liegt also bei 8 Proz.

Auch sehen wir wiederum bei 8 Proz. eine kleine Vermehrung am 4. Tage, der jedoch eine große Verminderung folgt. 10 und 12 Proz. gaben, mit Ausnahme vom dritten Tage bei 12 Proz., welche Vermehrung

1) Die angegebenen Zahlen entsprechen 1 ccm.

allerdings so gering ist, daß sie nichts bedeutet, diese Vermehrung nicht. Doch ist auch bei 8 Proz. die Verminderung am 1. Tage so stark, daß man ruhig von Entwicklungshemmung reden darf.

Bac. typhi ist also etwas resistenter dem Alkohol gegenüber als *coli*.

V. *Vibrio cholerae*. Bakterienzahl pro 1 ccm 102 000 000.

	1 Proz.	2 Proz.	3 Proz.	4 Proz.
Nach 1 Tage	69 500 000	25 000 000	14 000 000	42 000 000
" 2 Tagen	69 500 000	verflüssigt	verflüssigt	verflüssigt

Dieser Versuch beweist nicht viel, da die Verminderung bei 1 Proz. am 1. Tage schon verdächtig ist.

VI. *Vibrio cholerae*. Bakterienzahl pro 1 ccm 100 000 000.

	Kontrolle	3 Proz.	5 Proz.	6 Proz.
Nach 1 Tage	112 500 000	verflüssigt	verflüssigt	2 750 000
" 2 Tagen	verflüssigt	19 500 000	1 400 000	< 1 400 000

Der Alkoholgehalt, der entwicklungshemmend auf *Vibrio cholerae* wirkt, liegt also bei 3 Proz. Bei 3 Proz. war keine Produktion von Cholerarot mehr.

VII. *Bac. prodigiosus*. Hier wurden Agarplatten angefertigt, die bei 24° C gehalten wurden. Bakterienzahl pro 1 ccm 625 000 000.

	Kontrolle	1 Proz.	2 Proz.	3 Proz.	4 Proz.
Nach 1 Tage	10 062 Mill.	113 000 000	2 902 500 000	1 451 000 000	10 000 000
" 3 Tagen	39 000 000	699 000 000	25 000 000	500 000 000	—

VIII. *Bac. prodigiosus*. Bakterienzahl pro 1 ccm 364 000 000.

	Kontrolle	4 Proz.	6 Proz.	8 Proz.
Nach 1 Tage	180 000 000	50 000 000	33 500 000	25 000 000
" 3 Tagen	228 000 000	226 000 000	36 500 000	11 500 000

Hier liegt also der Gehalt zwischen 4 und 6 Proz. ± 5 Proz. Aus den Versuchen bei 1 und 2 Proz. sehen wir, wie auch Wirgin schon gemeldet hat, daß sogar ein kleiner Alkoholgehalt vorteilhaft auf das Wachstum einwirkt.

IX. *Bac. paratyphi* B (Agarplatte). Bakterienzahl pro 1 ccm 42 000 000

	Kontrolle	4 Proz.	6 Proz.	8 Proz.
Nach 1 Tage	44 500 000	28 000 000	11 500 000	11 500 000
" 2 Tagen	50 000 000	28 000 000	6 000 000	17 000 000

Hier ist also der Gehalt, der Entwicklungshemmung gibt, ± 4 Proz. Bei den Versuchen mit Essigsäure wurde ausgegangen von Acetum glaciale, dessen Gehalt an Essigsäure durch Titrieren bestimmt war. Gefunden war, daß diesem Eisessig ein Gehalt von 90 Proz. Essigsäure entsprach. Auf dieselbe Weise, wie bei dem Alkohol, wurden die Verdünnungen angefertigt. Setzte man z. B. zu einem Röhrchen mit 9 ccm Bouillon 1 ccm Eisessig zu, so wurde dieses zehnfach verdünnt, und da der ursprüngliche Gehalt Essigsäure 90 Proz. war, so entsprach diesem Röhrchen ein Percentage von 9 Proz. Jetzt wurde wieder in gleicher Weise, wie mit den Bouillonröhrchen verfahren. Die Röhrchen wurden mit einer Emulsion von der zu untersuchenden Bakterie beschickt, und dann in den Brutofen gestellt, mit der Absicht, am folgenden Tage Gelatineplatten zu gießen. Es zeigte sich aber hierbei eine Schwierigkeit, die eine ganz andere Versuchsanordnung notwendig machte.

Wenn man nach 24 Stunden die Röhrchen betrachtete, so sah man, daß der Inhalt eines jeden Röhrchens, mit Ausnahme natürlich der Kontrollröhrchen, agglutiniert war, und daß die Bakterien in großen Klumpen zusammengeballt auf dem Boden lagen. Dies war durch die Wirkung der Essigsäure verursacht.

E. Malvoz¹⁾ hat eben nachgewiesen, daß verdünnte Essigsäure an und für sich schon in einer Bouillonkultur Agglutination zum Vorschein bringt. Jetzt wurden die Verdünnungen statt in Bouillon gleich in Gelatineröhrchen angefertigt und sogleich Platten gegossen. Jedes Röhrchen enthielt 9 ccm Gelatine, und die Versuchsanordnung war im übrigen dieselbe wie vorher. Es versteht sich ja von selbst, daß nur die Entwicklungshemmung nach 1 Tage nachgegangen werden konnte.

X. *Bac. coli communis*. — bedeutet keine Entwicklung.

	Kontrolle	1/2 Proz.	1 Proz.	2 Proz.	3 Proz.
Nach 1 Tage	160 000 000	—	—	—	—

XI. *Bac. coli communis*.

	Kontrolle	1/2 Proz.	1 Proz.	2 Proz.	3 Proz.
Nach 1 Tage	∞	—	—	—	—

XII. *Bac. typhi*.

	Kontrolle	1/2 Proz.	1 Proz.	2 Proz.	3 Proz.
Nach 1 Tage	145 000 000	—	—	—	—

XIII. *Bac. typhi*.

	Kontrolle	1/2 Proz.	1 Proz.	2 Proz.	3 Proz.
Nach 1 Tage	∞	—	—	—	—

XIV. *Bac. paratyphi B*.

	Kontrolle	1/2 Proz.	1 Proz.	2 Proz.	3 Proz.
Nach 1 Tage	∞	—	—	—	—

Hierbei zeigte sich eine Eigentümlichkeit, wofür ich keine Erklärung habe finden können. Gelatineplatten mit mehr als $\frac{1}{2}$ C₂H₄O₂ waren immer bei 22° C nach 1 Tage flüssig geworden und wurden bei niedrigerer Temperatur wieder hart, es war also der Schmelzpunkt erniedrigt. Durch Kontrollplatte ohne Essigsäure und ohne Bakterien habe ich mich davon überzeugt, daß nur Essigsäure die Ursache sein konnte. Eine Erklärung habe ich aber dafür nicht finden können. Mehr Alkaleszenz erniedrigt wohl den Schmelzpunkt der Gelatine, aber über eine Verminderung des Schmelzpunktes durch vermehrten Säuregehalt, sei es dann eine spezifische Wirkung der Essigsäure, gibt es nirgendwo in der Literatur, soweit sie mir zugänglich war, eine Angabe.

Es wurden jetzt Agar-Agarplatten angefertigt.

XV. *Bac. prodigiosus* (Agar-Agarplatten).

	Kontrolle	1/2 Proz.	1 Proz.	2 Proz.
Nach 1 Tage	∞	—	—	—

XVI. *Vibrio cholerae* (Agar-Agarplatten).

	Kontrolle	1/2 Proz.	1 Proz.	2 Proz.
Nach 1 Tage	15 000 000	—	—	—

XVII. *Bac. coli communis* (Agar-Agarplatten).

	Kontrolle	1/4 Proz.	1/3 Proz.	1/2 Proz.
Nach 1 Tage	10 000 000	—	—	—

XVIII. *Bac. coli communis* (Agar-Agarplatten). Bakterienzahl pro 1 ccm 250 000.

	1/4 Proz.	1/3 Proz.	1/2 Proz.
Nach 1 Tage	—	—	—

XIX. *Bac. typhi* (Agar-Agarplatten).

	Kontrolle	1/4 Proz.	1/3 Proz.	1/2 Proz.
Nach 1 Tage	40 000 000	—	—	—

XX. *Bac. typhi* (Agar-Agarplatten). Bakteriengehalt pro 1 ccm 105 000

	1/4 Proz.	1/3 Proz.	1/2 Proz.
Nach 1 Tage	—	—	—

1) Sur la présence d'agglutinines spécifiques dans les cultures microbiennes. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XIII. p. 630.)

Jetzt wurden Versuche angestellt mit einem *Bacterium aceti*, das aus Bier kultiviert war. Platten wurden gegossen mit Bieragar-Agar. Dies mußte aber aufgegeben werden, da durch die strikte Aërobiose der Essigsäurebakterien im Innern der Platte kein Wachstum auftrat und man daher kein deutliches Bild von der Zahl der Bakterien bekommen hätte. Jetzt wurde auf schrägem Agar, der einem bestimmten Essigsäuregehalt entsprach, mit einer Oese ein Strich von ungefähr gleicher Dicke gemacht, und nun nachgesehen, ob Wachstum eingetreten war:

XXI. *Bac. aceti* (Schrägagar-Agar). + bedeutet Wachstum, — kein Wachstum.

	Kontrolle	2 $\frac{1}{4}$ Proz.	4 $\frac{1}{2}$ Proz.	7 Proz.
Nach 1 Tage	+			
„ 2 Tagen	+			

Bei allen ein sehr geringes Wachstum

XXII. *Bac. aceti* (Schrägagar-Agar).

	Kontrolle	1 Proz.	2 Proz.	2 $\frac{1}{4}$ Proz.
Nach 1 Tage	+	+		
„ 2 Tagen	+	+		geringes Wachstum

Der Gehalt an Essigsäure, der nicht entwicklungshemmend auf die Essigsäurebakterien einwirkt, beträgt also 1 Proz. Weiter gibt sogar noch ein Gehalt von 2 bis 7 Proz. keine Abtötung, aber sicher eine Entwicklungshemmung.

Sind diese Zahlen auch für den Erreger der Essigsäuregärung niedrig, so sind sie doch im Vergleich zu der absoluten Intoleranz anderer Bakterien Essigsäure gegenüber hoch zu nennen. Wie wir gesehen haben, gibt auch A. Fischer nur einen sehr geringen Prozentgehalt an, bei dem sie noch Essigsäure ertragen. Er findet größere Zahlen für die Essigsäurebakterie als ich, aber ich habe wahrscheinlich mit einer sehr schwachen Essigsäurebakterie gearbeitet.

Hier war also wohl an eine biologische Gärungstheorie zu denken.

Bei dem Alkohol ist dies nicht dasselbe. Obwohl keine Versuche mit Alkoholbildnern gemacht worden sind, wird doch aus der Literatur klar, daß Hefen einen Alkoholgehalt von mehr als 10 Proz. ertragen, und der höchste Gehalt, den ich für Bakterien gefunden habe, betrug bei *Bac. typhi* 8 Proz. Ist dieser Gehalt auch niedriger, als die angegebenen Zahlen für Hefen, so ist er doch noch ziemlich hoch. Es wird doch bei anfangenden alkoholischen Gärungen, z. B. bei leichten Weinarten, nie dieser Alkoholgehalt erreicht, so daß es hier nach meiner Ansicht nicht ganz stimmt mit der Wortmannschen Theorie, wenigstens für die Bakterien, mit denen ich Versuche angestellt habe.

Am Schluß erlaube ich mir, meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. Dr. R. H. Saltet, meinen aufrichtigen Dank zu sagen für sein Interesse an dieser Arbeit.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss von Chininlösungen auf die Phagocytose.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenhygiene in Hamburg
(Leiter: Med.-Rat Prof. Dr. Nocht).]

Von **Th. Grünspan.**

Hamburger und Hekma (Biochem. Zeitschr. Bd. IX. 1908. p. 515—518) gelangten zu dem Resultat, daß die Phagocyten für Chinin sehr

empfindlich sind. Schon eine 0,001-proz. Chininlösung vermag sie nach $1\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung zu schädigen, doch ist dieser Einfluß durch Zurückbringen der Phagocyten in reine Kochsalzlösung wieder rückgängig zu machen. Nach 17-stündiger Einwirkung derselben Chininlösung ist dies nur teilweise zu erreichen. Noch größer ist die Schädigung der Phagocyten, welche der Einwirkung einer 0,005-proz. Chininlösung ausgesetzt waren.

Die Verfasser ziehen aus ihren in-vitro-Versuchen den Schluß, daß die Verabreichung der üblichen Chininmenge von 1 g für erwachsene Menschen, deren Blutmenge ungefähr 5000 ccm beträgt, einer Chininlösung von etwa 0,02 Proz. entsprechen würde, wenn auch in Erwägung gezogen wird, daß die Gewebeflüssigkeit einen Teil des Chinins aufnimmt, so wird noch immer eine ungefähr 0,01-proz. Chininlösung vorhanden sein; eine Konzentration, die, wie aus ihren Versuchen hervorgeht, eine Schädigung des phagocytären Vermögens herbeizuführen imstande ist.

Ferner haben die Versuche von Thomas M. Wilson (Americ. Journ. Physiol. Vol. XIX. 1907. p. 445—60, Chicago Hall. Physiol. Lab. der Univ. Ref. im Chem. Centralbl. Bd. I. 1908 No. 1.) den Nachweis erbracht, daß Chininsulfat in vitro in höheren Konzentrationen einen hemmenden Einfluß auf die Phagocytose ausübt, in Verdünnungen von 1:15 000 bis 1:100 000 jedoch einen scheinbar fördernden.

Meine Versuche, von denen jetzt berichtet werden soll, hatten den Zweck, die Einwirkung des Chinins auf das phagocytäre Vermögen der Leukocyten zu untersuchen. In dem Plane dieser Versuche, welche im Februar dieses Jahres in Angriff genommen wurden, war es gelegen,

- 1) den Einfluß verschieden starker Chininlösungen auf die Phagocytose der Leukocyten zu ermitteln;
- 2) festzustellen, ob Chininlösungen die Phagocytose von Bakterien fördern;
- 3) die Zeitintervalle zu bestimmen, innerhalb welcher die einzelnen Chininlösungen wirkten.

Den an das Thema gestellten Anforderungen entsprechend, wurden die Versuche in vivo ausgeführt. Als Versuchstiere wurden Ratten benutzt. Die mit Aleuronat-Bouillon vorgespitzten Tiere erhielten $\frac{1}{2}$ —1 ccm einer Aufschwemmung von Eiweiß-Karmin in physiologischer Kochsalzlösung und $\frac{1}{2}$ —1 ccm salzsaures Chinin in Verdünnungen von 1:1 L (0,1-proz.), 1:10 L (0,001-proz. und 1:50 L (0,002-proz.) intraperitoneal eingespritzt.

Nach bestimmter Einwirkungsdauer des Chinins und Karmins wurden Pfeiffersche Versuche gemacht, Ausstriche angefertigt, mit Methylenblau gefärbt, die Leukocyten gezählt und der Prozentgehalt berechnet, in welchem die Leukocyten das Karmin aufgenommen hatten. Bevor ich von den Ergebnissen dieser Versuche berichte, will ich in Kürze auf einige Versuche eingehen, die von dem Standpunkt aus angestellt wurden, daß bei der Phagocytose der Leukocyten Aenderungen der Oberflächenspannung wirksam wären, physikalische Vorgänge, die von Rhumbler¹⁾ für die lebende Zellsubstanz im allgemeinen und für die Verdauung und Bewegung der Amöben im besonderen angenommen wurden und die in neuerer Zeit vielfach zur Erklärung von Vorgängen im Innern kolloidaler Lösungen mitherangezogen werden.

1) Rhumbler, L. Archiv für Entwicklungsmechanik. 1907 und Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. I. 1902.

Es wurden zwei Reihen von Versuchen angesetzt. In einem Falle erhielten die Tiere eine Aufschwemmung von reinem Karmin in physiologischer Kochsalzlösung (1 ccm) intraperitoneal eingespritzt, im anderen erhielten sie 1 ccm Eiweiß-Karmin, welches in der Weise hergestellt wurde, daß reines Karmin mit frischem Hühnereiweiß im Thermostaten bei 37° C getrocknet und dann zu Pulver gerieben wurde. Das Karmin wurde mit Eiweiß vermengt, weil zu erwarten war, daß eine Zuführung von Eiweiß eine Erhöhung der Phagocytose herbeiführen werde.

Im Pfeifferschen Versuch konnten oft abgerundete oder mit ihren spitzen Pseudopodien verankerte Leukocyten beobachtet werden. Zuweilen nahmen auch Mikrophagen Karmin auf. Peritonealflüssigkeit, die nach 4 Stunden entnommen wurde, zeigte die Makrophagen von Karmin oft ganz erfüllt. Zahlreiche Leukocyten hatten an ihrem Rande eine Anzahl von Blutkörperchen festgehalten. Viele Blutkörperchen waren dem Protoplasma der Leukocyten eingelagert oder lagen in „Vakuolen“, welche auch oft leer waren. Mit Neutralrot färben sie sich nicht charakteristisch und stehen offenbar auch mit der intracellulären Verdauung in keinem Zusammenhange. Karminkörner, Blutkörperchen oder Bakterien, die sie beherbergen können, sind als zufällige Befunde anzusehen.

Die Untersuchung der Ausstriche zeigte, daß nach Einwirkung von Eiweiß-Karmin die Phagocytose nicht energischer auftrat, als bei Verabreichung von reinem Karmin. Dieses Resultat berechtigt zu der Annahme, daß das dem Serum nahe verwandte Eiweiß kein Mittel zur Anregung der Phagocytose ist.

Nun soll von den Ergebnissen der eingangs angedeuteten Chinin-Karmin-Versuche berichtet werden, die in folgenden Tabellen zusammengestellt sind.

Tabelle I enthält die Ergebnisse zweier Versuchsreihen. Diese sollten den Einfluß 0,1-proz. und 0,002-proz. Chininlösungen und ihrer Einwirkungsdauer auf die Phagocytose im Tierkörper ermitteln.

Tabelle I.

Die Tiere erhielten Eiweiß-Karmin und Chininlösungen intraperitoneal eingespritzt	Anzahl der untersuchten Leukocyten	Anzahl der Leukocyten, welche Karmin aufgenommen hatten	Prozentzahl der Leukocyten, welche Karmin aufgenommen hatten	
1. { Ratte A. 1 ccm Eiweiß-Karmin + 1 ccm Chininl. 0,1-proz.	157	25	15,9 Proz.	Pfeifferscher Versuch nach 1/2 Stunde
Ratte B. 1 ccm Eiweiß-Karmin + 1 ccm Chininl. 0,002-proz.	321	66	22,55 „	
2. { Ratte A. 1 ccm Eiweiß-Karmin + 1 ccm Chinin 0,01-proz.	327	71	21,7 „	Pfeifferscher Versuch nach 5 Stunden
Ratte B. 1 ccm Eiweiß-Karmin + 1 ccm Chinin 0,002-proz.	139	33	23,7 „	
3. { Ratte A. 1 ccm Eiweiß-Karmin + 1 ccm Chinin 0,1-proz.	646	142	21,98 „	Pfeifferscher Versuch nach 17 Stunden
Ratte B. 1 ccm Eiweiß-Karmin + 1 ccm Chinin 0,002-proz.	501	142	29,14 „	
4. { Ratte A. 1 ccm Eiweiß-Karmin + 1 ccm Chinin 0,1-proz.	1264	162	12,81 „	Pfeifferscher Versuch nach 24 Stunden
Ratte B. 1 ccm Eiweiß-Karmin + 1 ccm Chinin 0,002-proz.	832	182	21,85 „	

Aus Tabelle I ist zu ersehen: 1) daß eine 0,002-proz. Chininlösung eine relative Erhöhung der Phagocytose herbeiführen kann

(vergl. d. Tab. „Ratte B“ No. 1, 2, 3, 4), bei 0,1-proz. Chininlösung ist dieselbe bedeutend geringer (Tab. I. „Ratte A“ No. 1, 2, 3, 4). Dies stimmt mit den Angaben von Hamburger und Hekma insofern überein, als auch diese, bei Anwendung 0,1-proz. Chininlösung, allerdings unter anderen Versuchsbedingungen, eine Abnahme der Phagocytose konstatierten.

Aus den angeführten Versuchen läßt sich kaum ein Schluß ziehen, welchen Einfluß die Einwirkungsdauer der beiden Chininlösungen auf die Phagocytose hatte. Vergleicht man No. 1 und 2 „Ratte A“ dieser Tabelle, so ist nach längerer (5-stündiger) Einwirkung von 0,1-proz. Chinin eine Zunahme der Phagocytose zu bemerken, nach 17 Stunden bleibt diese nahezu auf derselben Höhe („Ratte A“ No. 3), während nach 24-stündiger Einwirkungsdauer des Chinins eine bedeutende Abnahme der Phagocytose zu bemerken ist („Ratte A“ No. 4).

Um den Einfluß 0,002-proz. Chinins und den der Einwirkungsdauer festzustellen, wurden zwei Versuchsreihen angesetzt. In einem Falle erhielten die Versuchstiere Eiweiß-Karmin und Chinin, im anderen Eiweiß-Karmin allein. Tabelle II enthält die Ergebnisse dieser Versuche.

Tabelle II.

Die Tiere erhielten Eiweiß-Karmin oder Eiweiß-Karmin und Chinin intraperitoneal angespritzt	Prozentgehalt der Leukozyten, welche Karmin aufgenommen hatten	
1. { Ratte A. $\frac{1}{2}$ ccm Eiweiß-Karmin Ratte B. $\frac{1}{2}$ ccm Eiweiß-Karmin + $\frac{1}{2}$ ccm Chinin 0,002-proz.	18,2 Proz. 39,43 „	Pfeifferscher Versuch nach $\frac{3}{4}$ Stunden
2. { Ratte A. $\frac{1}{2}$ ccm Eiweiß-Karmin Ratte B. $\frac{1}{2}$ ccm Eiweiß-Karmin + $\frac{1}{2}$ ccm Chinin 0,002-proz.	25,03 „ 19,03 „	Pfeifferscher Versuch nach 18 Stunden
3. { Ratte A. $\frac{1}{2}$ ccm Eiweiß-Karmin Ratte B. $\frac{1}{2}$ ccm Eiweiß-Karmin + $\frac{1}{2}$ ccm Chinin 0,002-proz.	9,41 „ 13,31 „	Pfeifferscher Versuch nach 23 Stunden

Diese Tabelle zeigt: 1) daß die Injektion einer 0,002-proz. Chininlösung die Phagocytose zu erhöhen vermag (s. Tab. „Ratte B“ No. 1 und 3); 2) daß die längere Einwirkung der Chininlösung die Phagocytose schädigt (vergl. d. Tab. „Ratte B“ No. 1, 2 und 3). Auch dieser Befund stimmt mit der Angabe von Hamburger und Hekma überein, die nach 17-stündiger Einwirkung von Chininlösungen (schon bei 0,001 Proz.) eine bedeutende Abnahme der Phagocyten bemerkten.

II.

Die Versuche, von denen jetzt berichtet werden soll, sollten ermitteln, ob Chininlösungen die Phagocytose von Bakterien günstig zu beeinflussen imstande sind, und ob dies für gewisse Zeiträume bestimmbar ist, um dieses Verhalten eventuell praktisch verwerten zu können.

Es wurde daher keine Rücksicht darauf genommen, ob die Bakterienphagocytose von einem spezifischen Antikörper hervorgerufen wird (Neufeld) oder ob die Mikroorganismen, welche von den Phagocyten aufgenommen werden, mit „Opsonin“ beladen sind in dem Sinne von Wright, und ob „Chemotropine“ unter dem Einflusse des Opsonins von den Bakterien abgesondert werden (Centanni).

Auch diese Versuche wurden in vivo ausgeführt. Die Ratten erhielten 1 ccm einer Aufschwemmung von *Staphylococcus aureus*

(Reinkultur in 0,9-proz. NaCl-Lösung) intraperitoneal eingespritzt. Nach verschiedenen Zeitintervallen wurden Pfeiffersche Versuche gemacht, Ausstriche angefertigt, diese nach Giemsa oder mit Methylgrün-Pyronin nach Pappenheim-Unna gefärbt und der Prozentsatz berechnet, in welchem die Leukocyten die Bakterien aufgenommen hatten, wenn 0,1, 0,01 bzw. 0,002-proz. Chininlösung injiziert wurde.

Durch die Arbeiten von Wright, Neufeld u. a. ist bekannt, daß Staphylokokken bei Gegenwart von Serum von den Leukocyten aufgenommen werden, doch schien es von Interesse, das Verhalten von Staphylokokken und Leukocyten zueinander bei intraperitonealer Injektion und eventuellem Chininzusatz zu beobachten.

In den Pfeifferschen Versuchen konnte nur eine sehr geringe Menge phagocytierter Staphylokokken beobachtet werden, so daß von einer Zählung derselben abgesehen wurde. Aus demselben Grunde können auch nicht Schlüsse über den Einfluß der Chininlösungen gezogen werden. — In einigen Versuchen konnte allerdings nach Injektion von Chinin eine bedeutendere Phagocytose konstatiert werden, als bei den mit Staphylokokken geimpften Tieren. Ferner schien die Phagocytose nach längerer Einwirkungsdauer der Chininlösungen abzunehmen.

Versuche, welche den Einfluß von Chininlösungen auf die Phagocytose von Staphylokokken und anderen Bakterien bei Gegenwart von Serum ermitteln sollen, werden fortgesetzt.

Es war ferner von Interesse, festzustellen, ob die von den Leukocyten aufgenommenen Staphylokokken als abgetötet anzusehen sind und ob eine allmähliche Auflösung derselben innerhalb der Leukocyten zu konstatieren ist.

Die Angaben in der Literatur bezüglich des weiteren Schicksals des intracellulär eingeschlossenen *Staphylococcus aureus* neigen sich zum Teil der Ansicht zu, daß derselbe einer langsamen Auflösung unterliegt, während Andere (Gruber und Futaki) annehmen, daß er in Phagocyten weiterlebt und dort bessere Nahrung als im Serum findet. Zu diesem Zwecke wurden an lebenden Präparaten färberische Versuche gemacht, um, wie erwähnt, nachzuweisen, ob die intracellulären Staphylokokken auch abgetötet werden.

Zum Nachweise wurde Neutralrot (1-proz., wässrig) und das von Růžička¹⁾ eingeführte Farbgemisch, Neutralrot 5 Proz., Methylenblau 0,05 Proz. in Aqu. dest., ferner wurden diese Farbstoffe in 1-proz. Chininlösung gelöst benutzt, wie sie von Winkler²⁾ zuerst angewendet wurden. Bei diesen Versuchen wurden Peritonealexsudatleukocyten untersucht, welche den Versuchstieren nach Zeitabständen von $\frac{1}{2}$ —24 Stunden entnommen wurden. Diese Versuchstiere waren mit Staphylokokken oder Staphylokokken und einer Chininlösung geimpft.

Mit Neutralrot kam in jedem Falle eine wirkliche intravitale Färbung zustande. Blieb ein Tropfen der Peritonealflüssigkeit auf einem mit Neutralrot beschickten Objektträger einige Zeit im Thermostaten, so konnte man das allmähliche Eindringen des Farbstoffes genau beobachten. Leukocytenplasma, Granula und Kerne färbten sich gelb- und kirschrot bis braunrot, die Staphylokokken blieben zum Teil ungefärbt, erst als die Kerne der Leukocyten tiefrot gefärbt waren, erschienen einige Staphylokokken blaßrot.

1) Růžička, Zur Theorie der vitalen Färbung. (Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. XXII. 1905. p. 91.) — Ueber tinktorielle Differenzen zwischen lebendem und abgestorbenem Protoplasma. (Pflügers Archiv. Bd. VII. 1905. p. 497.)

2) Winkler, F., Dermat. Centralbl. Jahrg. XI. 1907.

Die Farbgemische fanden in der Weise Anwendung, daß Peritonealflüssigkeit von chininfreien Versuchstieren auf mit Neutralrot-Methylenblau-Chinin beschickten Objektträgern untersucht wurde, während Exsudatproben von mit Chinin behandelten Tieren der Einwirkung von Neutralrot-Methylenblau in Aqu. dest. in analoger Weise ausgesetzt wurden.

In beiden Versuchsreihen konnte ein Einfluß, den der kürzer oder länger dauernde Aufenthalt im Tierkörper auf Leukocyten und Bakterien gehabt hätte, nicht festgestellt werden.

Wurde ein Tropfen Peritonealflüssigkeit Tieren entnommen, die von einer oder mehreren (bis 24) Stunden mit Staphylokokken intraperitoneal geimpft waren, und dieser Tropfen der Einwirkung von Neutralrot-Methylenblau in Aqu. dest. überlassen, so trat Neutralrotfärbung auf.

Nach 24-stündiger Aufbewahrung eines — vor Verdunstung geschützten — Präparates im Thermostaten sieht man unter den blaugefärbten Leukocyten blaugefärbte extra- und intracelluläre Staphylokokken immer noch rotgefärbte.

Ueberläßt man jedoch einen derartigen Exsudattropfen unter sonst gleichen Versuchsbedingungen dem Einflusse von Methylenblau-Neutralrot-Chinin, so tritt sogleich die Methylenblaufärbung auf.

Aus diesen Versuchen ist leicht zu ersehen, daß das Chinin in dieser Konzentration (1-proz.) das rasche Absterben der Leukocyten und Staphylokokken herbeiführte.

Läßt man 1 Tropfen Leibeshöhlenflüssigkeit von Tieren, die vier Stunden vorher mit 0,1-proz. Chinin und Staphylokokken injiziert wurden, auf einem mit Methylenblau-Neutralrot beschickten Objektträger drei Stunden lang bei 37° im Thermostaten, so färben sich die Leukocyten, ihre Granula und Kerne rot bis rotbraun, die intracellulären Staphylokokken erscheinen grau, ungefärbt, die extracellulären schwach rötlich.

Nach 48-stündiger Aufbewahrung im Thermostaten sieht man in demselben Präparate unter den blaugefärbten Leukocyten noch immer zahlreiche rötliche, welche ungefärbte oder tiefrote Staphylokokken einschließen, und extracelluläre rotgefärbte Staphylokokken in Bewegung.

Ebensolche färberische Resultate erhielt man, wenn die Leukocyten nach 6-stündigem Verweilen im Tierkörper der Einwirkung des Farbgemisches $\frac{1}{2}$ — 24 Stunden im Thermostaten überlassen wurden.

Wurden denselben Versuchstieren Exsudatleukocyten 24 Stunden nach der Injektion der Staphylokokken und des Chinins entnommen und eine Stunde lang bei 37° C dem Einflusse des erwähnten Farbgemisches ausgesetzt, so waren Leukocyten schwach rot oder rot gefärbt, die Granula gelb- bis braunrot und in dauernder Bewegung.

Die Staphylokokken waren ungefärbt und erschienen grau. Bei 6-stündigem Verweilen im Thermostaten erschienen die Staphylokokken blaßrot, nach 24- und mehrstündiger Aufbewahrung nahmen sie eine dunkle, violettblaue Mischfarbe an. Durch Farbenreaktionen konnte in diesen Versuchen ein Einfluß des Alkaloids (Chinin) nicht nachgewiesen werden.

Zusammenfassung.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1) Schwache Chininlösungen (schon 0,002-proz.) scheinen auch in vivo keinen nachteiligen Einfluß auf die Phagocytose zu haben (Tab. II, „Ratte A“, No. 1 u. 3).

2) Eine 0,002-proz. Chininlösung führt eine relative Erhöhung der Phagocytose herbei (Tab. I, „Ratte B“, No. 1, 2, 3, 4), während eine 0,1-proz. Chininlösung die Phagocytose bedeutend schädigt (Tab. I, „Ratte A“, No. 1, 2, 3, 4).

3) Der Einfluß des Chinins auf die Phagocytose von Bakterien ist aus den angestellten Versuchen nicht einwandfrei erwiesen. Weitere Versuche werden nach dieser Richtung fortgesetzt.

4) Eiereiweiß führt keine Erhöhung der Phagocytose herbei.

5) Die Farbenreaktionen deuten darauf hin, daß die intracellulären Staphylokokken als lebend aufzufassen sind.

Nach dem Abschlusse dieser Versuche erschien in No. 34 der Münch. med. Wochenschr. die Arbeit von H. Bechhold, Phagocytosestudien.

Verf. prüfte den Einfluß einiger einfacher chemischer Eingriffe auf die Phagocytose, insbesondere durch solche Substanzen, welche auch normalerweise im Organismus vorkommen. Ferner sollte der Beweis geliefert werden, inwiefern die allgemeinen, kolloidalen Eigenschaften des Serums bei der Phagocytose eine Rolle spielen, ob sich das Serum durch andere Kolloide ersetzen läßt.

Verf. gelangte unter anderem zu dem Resultat, daß Staphylokokken in serumfreier Aufschwemmung nicht phagocytirt werden.

Auch wurde beobachtet, daß Eiereiweiß keine Phagocytose bewirke.

Herrn v. Prowazek erlaube ich mir, für die Anregung zur Ausführung dieser Versuche und für die freundliche Unterstützung während derselben an dieser Stelle meinen ergebenen Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Beziehungen des Antitoxingehaltes des Diphtherieserums zu seinem Heilwert.

[Aus dem Kgl. Institute für experimentelle Therapie zu Frankfurt a./M. (Direktor: Geh. Ober-Medizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

I. Mitteilung.

Von Stabsarzt Dr. **W. Berghaus**, Mitglied des Institutes.

In dem unter gleichlautender Ueberschrift erschienenen Aufsatz nehmen Kraus und Schwoner¹⁾ eine Frage auf, die bereits mehrfach Gegenstand wissenschaftlicher Diskussion gewesen ist. Es handelt sich im wesentlichen um zwei Punkte:

1) Der eine betrifft das Verhalten des Diphtherieserums, dessen Antitoxingehalt durch Injektion der zuvor im Reagensglase neutralisierten Gemische von Diphtheriegift und Diphtherieserum ermittelt wird, bei der Injektion nach vorangegangener Vergiftung (Heilversuch).

2) Der zweite Punkt betrifft die Frage, ob verschiedene Diphtheriesera bei gleichzeitiger und vorangegangener Giftinjektion eine Proportionalität aufweisen, d. h. ob die Wirkung des Diphtherieserums im Heilversuch dem Antitoxingehalt proportional ist oder nicht.

1) Diese Zeitschr. Bd. XLVII. p. 124 ff.

ad 1) Was den ersten Punkt anlangt, so ist die Frage nach der Wirkung des Diphtherieserums im Heilversuch bereits im Jahre 1898 in dem hiesigen Institute durch Dönitz¹⁾ zum Gegenstand eingehender Analyse gemacht worden. Es hat sich damals ergeben, daß die zur Neutralisation des Giftes notwendige Serummengemenge mit der Zeit, welche man zwischen der Vergiftung und der Anwendung des Serums vergehen läßt, erheblich wächst, und daß es nach einer gewissen relativ kurzen Zeit ($\frac{1}{2}$ —1 Stunde nach einer starken Vergiftung) überhaupt nicht mehr gelingt, auch mit enormen Serummengen die Tiere zu retten. Bei der Vergiftung mit geringen Giftdosen gelang es noch nach einigen Stunden eine Heilwirkung zu erzielen, wenn die Serumdosis hoch genug gewählt war. Damit war erwiesen, daß das Diphtherieheilserum auch unter den der menschlichen Pathologie entsprechenden Verhältnissen im Tierversuch seine Wirkung entfaltet, daß jedoch gewisse Grenzen für den therapeutischen Effekt bestehen, aus denen sich zwei wichtige Konsequenzen für die ärztliche Praxis ergaben, nämlich:

- 1) möglichst rasche Anwendung des Serums;
- 2) die Injektion einer möglichst großen Zahl von Immunitätseinheiten.

Gleichzeitig wurde schon damals von Dönitz hervorgehoben, daß es für derartige Heilversuche im Interesse einer exakten Versuchsanordnung unerlässlich ist, Gift und Gegengift intravenös einzuverleiben. Bei der subkutanen Injektion sind nämlich durch die verschiedene Schnelligkeit der Resorption einerseits, durch die besondere individuell schwankende Verwandtschaft des subkutanen Gewebes zum Diphtheriegift andererseits störende Faktoren eingeschaltet, die einen zahlenmäßigen Vergleich erschweren, wenn nicht überhaupt unmöglich machen.

ad 2) Was nun den zweiten Punkt anlangt, so geht der von Kraus und Schwoner in der vorliegenden Arbeit gezogene Schluß dahin, daß der nach dem von Ehrlich begründeten Verfahren ermittelte Gehalt des Diphtherieheilserums an Immunitätseinheiten nicht immer einen richtigen Maßstab für die therapeutische Wirkung der Sera abgibt. Es handelt sich hier um eine Ansicht, die bereits im Jahre 1900 durch Roux²⁾ in Paris ausgesprochen worden ist. Indessen konnte Marx³⁾ im hiesigen Institute auf Grund umfangreicher experimenteller Nachuntersuchungen eine derartige Kongruenz zwischen dem Gehalt an Immunitätseinheiten und dem schützenden und heilenden Wert der Diphtherieheilsera erweisen, so daß sich auch weiterhin die Berechtigung ergab, die Wertbestimmung des Diphtherieserums durch die einfache und, wie allgemein anerkannt worden ist, äußerst exakte Bestimmung des Gehaltes an Immunitätseinheiten vorzunehmen. Spätere Untersuchungen von Cruveilhier⁴⁾, auf Veranlassung von Roux ausgeführt, gaben zwar wiederum zu den bereits von Roux gezogenen Schlüssen Anlaß, jedoch haben neuere Untersuchungen von Steinhardt und Banshof⁵⁾ aus dem Laboratorium von Park in New York

1) Dönitz, W., Ueber die Grenzen der Wirksamkeit des Diphtherieheilserums. (Arch. internat. de Pharmacodynamie. T. V. 1899.)

2) Roux, Mesure de l'activité des sérums. (X. Congrès internat. à Paris. 1900.)

3) Marx, Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen dem Gehalt an Immunitätseinheiten und dem schützenden und heilenden Wert der Diphtherieheilsera. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVIII. 1901.)

4) Cruveilhier, De la valeur thérapeutique de l'antitoxine dans les sérums antidiphthériques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1905.)

5) Steinhardt, E. u. Banshof, E. J., Is the present method of standardizing antidiphtheria serum according to antitoxin units therapeutically accurate? (Proc. soc. exper. biol. med. Vol. V. 1907.)

auch die Angaben Cruveilhiers nicht bestätigen können. Die Schlußfolgerungen von Steinhardt und Banshof sind folgende:

„In Anbetracht der erhaltenen Resultate ist es sicher, daß beim Meerschweinchen die therapeutische Wirkung der Diphtherieheilsera vom Antitoxingehalt abhängig ist. Für die Annahme, daß die Verhältnisse beim Menschen anders liegen, ist keine Berechtigung vorhanden. Dementsprechend enthält das Diphtherieserum außer dem Antitoxin keine für die therapeutische Wirkung bedeutungsvollen Substanzen. Die gegenwärtige Methode der Wertbestimmung des Diphtherieserums bemißt in exakter Weise den therapeutischen Wert.“

Ebenso gelangt Belfanti¹⁾, der Direktor des serotherapeutischen Institutes in Mailand, in einer soeben erschienenen Arbeit zu der Schlußfolgerung:

„Die Methode Ehrlichs ist die einzige, welche uns eine sichere Wertbestimmung und einen gegenseitigen Vergleich der antitoxischen Sera ermöglicht.“

Es decken sich also die in dem hiesigen Institute erhobenen Befunde vollständig mit den Feststellungen von zwei verschiedenen Laboratorien, welche gerade in bezug auf die Gewinnung und Wertbemessung der Heilsera über eine so eminente Erfahrung verfügen.

Es mußte daher überraschen, als Kraus im Sommer vorigen Jahres mitteilte, daß er nach seinen Erfahrungen die Bestimmung des Antitoxingehaltes nicht als einen ausreichenden Maßstab für den therapeutischen Wert hielte und beabsichtige, darüber auf dem XIV. internationalen Kongreß für Hygiene und Demographie in Berlin zu berichten. Dank dem lebenswürdigen Entgegenkommen des Herrn Prof. Kraus war es möglich, das bereits gedruckte Referat einzusehen und auch einige der von ihm benutzten Diphtherieheilsera einer Nachprüfung im hiesigen Institute zu unterziehen. Dabei stellte sich bereits bei der Bestimmung des Gehaltes an Antitoxineinheiten eine solche Divergenz der von Kraus und im hiesigen Institute ermittelten Werte heraus, daß sich Kraus veranlaßt sah, das beabsichtigte Referat nicht zu halten.

Tabelle I.

Serum	Gehalt an Antitoxin- einheiten nach		Menge der im Heilversuch injizierten Antitoxineinheiten		Ergebnis (Todesstag)
	Kraus	der Prüfung im Frankfurt. Institute	nach Kraus	tatsächliche Menge	
Landvogt	150	150	225	225	+ 4
			450	450	+ 20
Landsturm	180	600	90	300	+ 5
			180	600	lebt
			270	900	"
Leander	200	400	300	600	+ 19
			400	800	+ 11
Lift	200	300	200	300	+ 6
			300	450	lebt
Laertes	400	350	400	350	+ 15
			800	700	lebt

1) Belfanti, Ueber antitoxisches und antimikrobisches (bivalentes) Diphtherieserum. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLVII. 1908.)

Um ein Bild über die Abweichungen in den Resultaten der Wertbemessung zu geben, sind in Tabelle I die an den 5 übersandten Diphtherieseris gefundenen Zahlen zusammengestellt. Die Ergebnisse betreffen die von Kraus ausgeführten Heilversuche an Kaninchen.

Als Beleg für die im hiesigen Institute ausgeführten Wertbemessungen mögen die folgenden Protokolle dienen.

Tabelle II.
Wertbemessung der von Kraus übersandten Sera.

Serum Landvogt nach Kraus 150-fach		Landsturm nach Kraus 180-fach		Leander nach Kraus 200-fach		Lift nach Kraus 200-fach		Laertes nach Kraus 400-fach	
Prüfung auf	Ergebnis	Prüfung auf	Ergebnis	Prüfung auf	Ergebnis	Prüfung auf	Ergebnis	Prüfung auf	Ergebnis
150	lebt ¹⁾	180	glatt	200	glatt	200	glatt	350	+ 5 ¹⁾
200	+ 3	200	"	230	"	250	"	380	+ 3
230	+ 2	230	"	250	"	280	lebt	400	+ 3
		260	"	330	"	300	" ¹⁾	450	+ 2
		300	"	350	lebt	350	+ 3	500	+ 2 ^{1/2}
		350	"	400	" ¹⁾				
		380	"	450	+ 3				
		400	"						
		430	"						
		460	"						
		500	"						
		550	"						
		600	lebt ¹⁾						
		620	+ 2						
		650	+ 3						

Eine Uebersicht obiger Tabellen zeigt, daß die verwendeten Sera von Kraus fast alle in hohem Maße ungenau auf ihren Antitoxingehalt geprüft waren, und zwar übertraf besonders bei dem Serum „Landsturm“ der wirkliche Antitoxingehalt den von Kraus angenommenen um mehr als das 3-fache. Gerade dieses Serum mußte aber für Kraus das wichtigste Beweisglied für seine Auffassung sein, daß Sera von geringem Antitoxingehalt im Heilversuche besser wirken können, als hochwertige Sera. Die Nachprüfung hat aber gerade gezeigt, daß dieses Serum ein besonders hochwertiges ist und die Heilwirkung ist nach der Umrechnung auf die wirklichen Werte durchaus nicht stärker, als man es nach dem Antitoxingehalt erwarten durfte. Dieser Einblick in einen wesentlichen Teil der damals von Kraus angestellten Versuche mußte in hohem Maße Bedenken erregen. Denn naturgemäß muß für die Entscheidung der Frage, ob Antitoxingehalt und Heilwirkung voneinander abhängig sind, eine exakte Bestimmung des Antitoxingehaltes als Vorbedingung unerläßlich sein.

Stellt man nun aus der Tabelle I die von Kraus erzielten Heilresultate zusammen, und zwar nach der Anzahl der tatsächlich injizierten Antitoxineinheiten, so ergibt sich, wie ein Blick auf die Tabelle III zeigt, eine glänzende Bestätigung der Anschauung Ehrlichs, daß mit dem steigenden Antitoxingehalt auch die Heilwirkung zunimmt; mit der Ansicht von Kraus ist sie unvereinbar.

1) Hart an der Grenze.

Tabelle III.
Heilerfolge nach Kraus unter Zugrundelegung des tatsächlichen
Antitoxingehaltes.

Bezeichnung des Serums	Anzahl injizierter Antitoxineinheiten	Erfolg
1) Landvogt	225	† 4
2) Landsturm	300	† 5
3) Lift	300	† 6
4) Laertes	350	† 15
5) Landvogt	450	† 20
6) Lift	450	lebt
7) Landsturm	600	"
8) Laertes	700	"
9) Landsturm	900	"

Anmerkung: Serum Leander ist nicht aufgeführt, da es in dem druckfertigen Referat und auch in dem vorliegenden Aufsatz fehlt.

Es muß daher sehr befremden, daß in der vorliegenden Arbeit von Kraus und Schwoner die gleiche Tabelle als Hauptargument für den ersten Teil dient, die bereits im vergangenen Jahre im beabsichtigten Referat vorlag. Nur einige Angaben über den Antitoxingehalt der Sera sind verändert, und zwar für solche Sera, die in meinen Händen sich befunden haben. Die nunmehrigen Angaben zeigen aber auch teilweise nicht unerhebliche Abweichungen von den von mir ermittelten Werten. Es ist nun ja möglich, daß sich der Antitoxingehalt der Sera verändert, dann ist aber die klar ersichtliche Tatsache nicht zu verstehen, daß Kraus und Schwoner diesen neu ermittelten Werten dennoch Heilversuche gegenüberstellen, welche sich auf Sera zurzeit eines ganz anderen Antitoxingehaltes beziehen. Unter diesen Umständen ist eine wissenschaftliche Beurteilung der von Kraus und Schwoner mitgeteilten ersten Tabellen nicht möglich. Nur so viel scheint hervorzugehen, daß diese Versuchsergebnisse zu keinerlei Schlußfolgerungen berechtigen.

Als ein weiterer wesentlicher Fehler kommt das äußerst verschiedene individuelle Verhalten der Kaninchen hinzu. Es ist dies ein Umstand, der auf Grund der jahrelangen Erfahrungen dem Institute schon längst bekannt war, der aber auch andererseits von Fachgenossen bestätigt worden ist. Es wurde daher im vorigen Jahre Herr Prof. Kraus, der damals seine Versuche noch für voll beweisend hielt, auf diese unkontrollierbaren Fehlerquellen von Herrn Geheimrat Ehrlich persönlich und ausdrücklich aufmerksam gemacht. Obwohl ein Hinweis hierauf in der Arbeit von Kraus und Schwoner fehlt, haben die Autoren nunmehr doch selbst auf p. 129 folgenden Passus aufgenommen: „Es zeigte sich häufig, daß bei einer gleichen Serumdosis ein Tier am Leben blieb, ein anderes ging zugrunde. Auch dieser Fall trat manchmal ein, daß Kaninchen im Heilversuch auf eine höhere Serumdosis zugrunde gingen, wogegen sie auf eine niedrigere am Leben blieben. Viel konstantere Resultate ließen sich gewinnen, wenn kleinere Giftmengen benutzt wurden. Aber selbst in diesen Versuchen zeigte es sich manchmal, daß z. B. 0,3 ccm Serum nicht gewirkt haben, wohl aber 0,1 ccm. Es scheint, daß die Stärke der Giftbindung bei gleicher Giftdosis und nach gleicher Zeit bei Kaninchen eine ganz verschiedene individuelle

sein dürfte, so daß gleiche Serumdosen desselben Serums einmal heilen, das andere Mal es nicht imstande sind.“

Mit diesen eigenen Angaben der Autoren ist bereits der Stab über ihre Versuche am Kaninchen gebrochen; sie zeigen ja selbst, daß die individuelle Verschiedenheit ihrer Versuchstiere eine so große war, daß Fehlerquellen bis zu 300 Proz. entstanden sind. Nach alledem sind die Kaninchenversuche von Kraus und Schwoner als vollkommen belanglos anzusehen, und das tun die Autoren auch wohl selbst, wenn Kraus in einer in No. 28 der Wien. klin. Wochenschr. erschienenen Arbeit diesen Teil der Beweisführung überhaupt nicht mehr berührt.

Nichtsdestoweniger ist auch s. Z. bereits eine Nachprüfung dieser Versuche vorgenommen worden und zwar sowohl mit den von Kraus übersandten Seris, als auch mit verschiedenen anderen, deren Antitoxingehalt genau ausgewertet war. Und auch hier zeigte sich durchweg eine strenge Gesetzmäßigkeit in der Heilwirkung, mochte nun die Immunitätseinheit von einem nieder- (z. B. 150-fachen) oder einem hochwertigen (z. B. 920-fachen) Serum genommen sein; Vorbedingung für einen gleichmäßigen Heilverlauf war jedoch, daß die Versuche innerhalb einer kurzen Zeitspanne an einem völlig gleichmäßigen Tiermaterial ausgeführt wurden. Es traten dahingegen sofort Verschiedenheiten in der Heilwirkung auf, und zwar bei ein- und demselben Serum, nicht etwa im Verhalten der einzelnen Sera zueinander, wenn die Versuche in einer anderen Jahreszeit wiederholt wurden.

Tabelle IV.

Heilversuche bei Kaninchen im Sommer bzw. Herbst.

Gift Juli 0,1 intravenös, Serum 10 I.E. desgleichen; Gift und Serum werden in je 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung injiziert. Einfach tödliche Dosis des Giftes ca. 0,005 ccm; Gewicht der Tiere ca. 1700 g.

Zeitraum zwischen Gift- und Serum-injektion	I. Standardserum 2544-fach		II. Landsturm 600-fach		III. Landvogt 150-fach	IV. Laertes 350-fach		V. Leander 400-fach
	Datum	27. 8. 07	9. 9. 07	27. 8. 07	10. 9. 07	31. 8. 08	31. 8. 07	11. 9. 08
Sofort	davon		davon		davon	davon		davon
7 Minuten					„	Pneumonie		„
15		+ 12		+ 11	+ 10	+ 5	+ 7	
20	+ 13	+ 1	+ 6 1/2	+ 5	+ 6	+ 6	+ 8	+ 7
30	+ 13	+ 6	+ 4	+ 9	+ 4	+ 4	+ 5	+ 4
40	+ 2	+ 5	+ 3	+ 6	+ 11	+ 5	+ 4	+ 7
50	+ 2	+ 3 1/2						
60	+ 2 1/2	+ 2 1/2						

Datum	VI. Lift 300-fach	VII. Ser. M. fort 920-fach	VIII. Ser. M. faible 150-fach	IX. Ser. R. I. Sendung 100-fach	X. Ser. H. II. Sendung 140-fach
	21. 9. 07	6. 6. 07	6. 6. 07	29. 6. 07	4. 7. 08
7 Minuten	davon				
15					
20	+ 5	+ 24	+ 8		
30		+ 5	+ 8	+ 6	+ 5
40		+ 3	+ 3	+ 4	+ 4

Tabelle V.
Heilversuche bei Kaninchen im Winter.

Gift Juli 0,1 intravenös, Serum 10 I.E. desgleichen; Gift und Serum werden je in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung injiziert. Einfach tödliche Dosis des Giftes ca. 0,005 ccm; Gewicht der Tiere ca. 1700 g.

Zeitraum zwischen Gift- und Serum-injektion	Standardserum 2544-fach	Ser. M. fort 920-fach	Ser. M. faible 150-fach
Datum	6. 11. 07	4. 2. 08	1. 2. 08
Sofort	davon		
7 Minuten	"	davon	davon
15 "	"	"	"
20 "	† 9	"	"
30 "	davon	"	"
40 "	"	† 3	† 2

Wie ein Blick auf die vorstehenden Tabellen zeigt, ist die Widerstandsfähigkeit der Kaninchen in den Wintermonaten erheblich größer als im Sommer oder Herbst. Dieselben Sera — Standardserum, Serum M. fort und Serum M. faible (I, VII und VIII der vorstehenden Tabelle) — welche in den Sommerversuchen die Tiere 15 bzw. 20 Minuten nach der Applikation des Giftes nicht mehr zu retten vermochten, heilten dieselben im Winter bei genau derselben Versuchsanordnung noch 40 bzw. 30 Minuten nach der Vergiftung.

Kraus und Schwoner haben, veranlaßt durch die von ihnen selbst bemerkten Unzuträglichkeiten, ihre weiteren Versuche, die ihnen nunmehr als Hauptargument dienen, an Meerschweinchen ausgeführt, indem sie Gift und Serum subkutan injizierten. Damit haben sie einen Weg eingeschlagen, den schon Dönitz für die Frage der therapeutischen Wirkung der Sera als ungeeignet erkannte. Bei der subkutanen Injektion sind nämlich die bereits bei der intravenösen Injektion in Erscheinung tretenden individuellen Variationen erheblich vermehrt, da als neue Variante die individuell sehr verschiedenartige Schnelligkeit der Resorption und der Giftbindung durch das subkutane Gewebe störend interferiert.

So kommt es, daß Kraus und Schwoner bei der $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Vergiftung vorgenommenen Seruminjektion, zu einer Zeit also, zu der das Gift noch nicht wesentlich resorbiert war, Resultate erhielten, bei denen therapeutischer Effekt und Antitoxingehalt im ganzen übereinstimmten. Je längere Zeit man aber zwischen Gift- und Seruminjektion verstreichen läßt, um so größer müssen bei der subkutanen Injektion die durch individuelle Variabilität bedingten Fehlerquellen werden. Es ist daher ohne weiteres verständlich, daß die Autoren unter diesen Umständen die verschiedensten Resultate bei ihren Heilversuchen erhielten. Daß die in vorliegender Arbeit mitgeteilten Protokolle gerade eine Divergenz zwischen therapeutischer Wirkung und dem Antitoxingehalt aufweisen, kann der Ausdruck von Zufälligkeiten sein. Bei der großen Verschiedenheit der einzelnen Versuchstiere müßte gefordert werden, daß jeder Versuch mindestens an einer größeren Reihe von Tieren ausgeführt wird, und zwar mit wesensgleichem Resultat. Nur an einem derart umfangreichen Material wäre es erlaubt, eine Gesetzmäßigkeit abzuleiten, während die von Kraus und Schwoner mitgeteilten Protokolle durch aus nicht irgendwie beweiskräftigen Eindruck machen. Es kommt hinzu, daß nach unseren bereits oben mitgeteilten Erfahrungen in bezug auf die Richtigkeit der angegebenen Werte des

Antitoxingehaltes ernstliche Bedenken bestehen müssen. Gerade für derartige Untersuchungen ist es aber eine Notwendigkeit, den Antitoxingehalt der zu verwendenden Sera ganz genau zu ermitteln.

Wenn nun auch die Untersuchungen von Kraus und Schwoner keinen Anspruch auf Beweiskraft machen können und zu den Befunden einer Reihe äußerst zuverlässiger Autoren in striktem Gegensatze stehen, so schien es doch angezeigt zu sein, auch hier durch eine Nachprüfung eine weitere Aufklärung des Sachverhaltes herbeizuführen.

Für die Nachprüfung wäre es offenbar am zweckmäßigsten gewesen, wenn dieselben Sera, die von Kraus und Schwoner für die Meerschweinchenversuche benutzt worden waren, auch dem hiesigen Institut zugänglich gewesen wären. Leider waren sie jedoch, wie Herr Prof. Kraus mitteilte, nicht mehr vorhanden. Wir wandten uns deshalb behufs Ueberlassung geeigneter Sera an verschiedene Fabriken.

Es sind insgesamt 15 Sera, die zu dieser Nachprüfung herangezogen wurden, sie entstammten den verschiedensten Fabriken und Instituten des In- und Auslandes, ihr Antitoxingehalt wurde genau ausgewertet, das schwächste Serum enthielt nur 50 IE. pro Kubikzentimeter, während das höchstwertige in 1 g Trockensubstanz deren 5925 aufwies; zwischen diesen Werten sind die mannigfaltigsten Abstufungen; unter den Seris befinden sich sowohl solche, welche nur von einem Tiere stammen, als auch Gemische von Seris verschiedener Tiere.

Es scheint nicht unangebracht zu sein, die Protokolle, die der Wertbemessung der einzelnen Sera zugrunde liegen, hier anzuführen (siehe folgende Tabelle); nicht aufgenommen ist die jeder genaueren Titration vorausgehende orientierende Einstellung. Ferner fanden keine Aufnahme die Einstellungsprotokolle des Standardserums; es möge der Hinweis genügen, daß zu seiner exakten Bewertung ca. 100 Tiere verwendet worden sind. Daß nur eine regelrechte Titration einen Aufschluß über den wirklichen Gehalt an Immunitätseinheiten zu geben vermag, liegt klar auf der Hand. Zu welch außerordentlichen Fehlschlüssen aber jede Abweichung von dieser Methode führen kann, zeigen die von Kraus angegebenen Resultate, soweit sie (vergl. Tabelle II) unserer Nachprüfung zugänglich waren.

Als Gift wurde zu sämtlichen Versuchen das Testgift des Institutes (Gift Juli 1904) verwendet.

Die Prüfungskonstanten dieses Giftes, die fortlaufend kontrolliert werden, sind: $L_0 = 0,26$, $L_+ = 0,365$, die Dos. let. minima bei subkutaner Injektion bei Meerschweinchen ca. 0,009 ccm; außerdem betrug die Dosis letalis minima bei intracardialer Injektion bei Meerschweinchen ca. 0,005 ccm.

0,007	Toxin intracardial	Meerschweinchen	= † 2
0,006	" "	" "	= † 3
0,005	" "	" "	= † 5
0,004	" "	" "	= † 9

ferner bei Kaninchen bei intravenöser Injektion ebenfalls ca. 0,005 ccm.

0,006	Toxin intravenös	Kaninchen	† 3
0,005	" "	" "	† 4
0,004	" "	" "	† 11
0,003	" "	" "	lebt

Wie schon des näheren begründet wurde, schien es unerlässlich, wollte man zu einem allgemeingültigen Resultat kommen, die Versuche auf einer möglichst breiten Basis anzustellen, dadurch wurde auch jedem Einwand, der hätte gemacht werden können, falls nur Sera einer Fabrikationsstätte verwendet worden wären, von vornherein vorgebeugt.

Wertbestimmung der bei den Heilversuchen verwendeten Sera.

I.		II.		III.		IV.		V.		VI.		VII.	
Serum H. 950	Serum Martin	Serum M. I	Serum H. 1085	Serum E.	Serum R. Pferd 9	Serum R. I. Sendung	Serum H. 950	Serum P.—D.	Serum R. II. Sendung	Serum M. II	Serum E. Pferd 74	Serum Sch. No. 228	Serum R. IV. Sendung
Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach
Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage
500 lebt	850 lebt	100 lebt	525 lebt	250 lebt	260 lebt	75 lebt	500 lebt	Serum M. 206	175 lebt	500 lebt	300 lebt	150 lebt	325 lebt
525 "	875 "	175 "	550 "	300 "	300 "	95 "	550 "	Serum M. 206	190 "	575 "	325 "	165 "	375 "
550 "	800 "	190 "	575 "	325 "	325 "	100 "	590 "	Serum M. 206	200 "	350 "	350 "	180 "	420 "
575 + 4	920 + 4	200 + 3	600 + 3	400 + 2	350 + 2	120 + 2	600 + 3	Serum M. 206	175 + 3	600 + 2	400 + 2	200 + 3	420 + 2
Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach
Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage
2200 lebt	2300 lebt	125 lebt	40 lebt	100 lebt	250 lebt	150 lebt	2200 lebt	Serum M. 206	140 lebt	50 lebt	325 lebt	165 lebt	375 lebt
300 + 4	2400 + 3 1/2	160 + 3	60 + 2	200 + 2	375 + 2	180 + 3	2400 + 3 1/2	Serum M. 206	175 + 3	80 + 2	420 + 2	200 + 3	420 + 2
390 + 4	2500 + 3	175 + 3 1/2	80 + 2	215 + 2	420 + 2	200 + 3	2500 + 3	Serum M. 206	140 + 4	80 + 2	420 + 2	200 + 3	420 + 2
Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach	Prüfung auf 7-fach
Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage	Erfolg am 4. Tage

Was nun die Methode anlangt, so konnten wir uns aus den früher bereits dargelegten Gründen für die von Kraus und Schwoner angewandte (getrennte subkutane Einverleibung von Gift und Serum) nicht entschließen. Es schien absolut geboten, die in ihr liegende Fehlerquelle, die individuell verschiedene Resorptionsfähigkeit des Subkutangewebes, völlig auszuschalten, und wurde daher die direkte Einverleibung des Giftes in die Blutbahn durch intrakardiale Injektion gewählt, ein Verfahren, das bereits Morgenroth¹⁾ bei seinen Untersuchungen über die Bindung des Diphtherietoxins und Antitoxins als durchaus zuverlässig erkannt hatte. Auch die zur Heilung bestimmte Serumdosis wurde nicht den Resorptionsverschiedenheiten des Subkutangewebes überlassen, sondern für sie die intraperitoneale Injektion benutzt. Auch diese Methode hatte sich im hiesigen Institut bei den von Marx angestellten Versuchen bewährt und gleichmäßige Resultate geliefert.

Zu den Versuchen wurde die fast dreifach tödliche Giftdosis (0,014 ccm) den Tieren eingespritzt, genau eine Stunde später erfolgte die Injektion der Serumdosen intraperitoneal.

Eine Uebersicht über diese Versuche geben nachstehende Tabellen.

Diese Tabellen, von denen die erste den Status bis zum 14. Tage, die zweite den endgültigen Verlauf der Versuche wiedergibt, zeigen mit aller Evidenz, daß der Heileffekt eines Serums dem Gehalt an Immunitätseinheiten direkt proportional ist, mag nun die Einheit herrühren von einem niedrig- oder hochwertigen Serum. Von einem geringeren Heilwert der hochwertigen Sera, wie es Kraus behauptet, kann erst recht nicht die Rede sein, im Gegenteil, einige wenige Sera mit geringem Antitoxingehalt zeigen eine unverkennbar geringere Wirksamkeit (No. VIII, XI, XII, XV), die insbesondere bei den mit 7 Immunitätseinheiten behandelten Tieren in der verkürzten Lebensdauer deutlich erkennbar ist. Diese Resultate könnten also auf eine geringe Avidität der niedrigwertigen Sera hindeuten und würden also gerade das Gegenteil von dem beweisen, was Kraus behauptet. Dieser Schluß ist jedoch nicht angängig. Das abweichende Verhalten findet seine Erklärung, wenn man die Sera ihrer Herkunft nach näher betrachtet. Sie alle, ohne jede Ausnahme, sind Sera, welche mitten in der Immunisierungsperiode von den Tieren entnommen und frisch vom Pferd uns zu diesen Untersuchungen überlassen worden waren. Ihre geringere Heilwirkung kann auf völlig äußerlichen Umständen beruhen, indem höhere Mengen des injizierten Serumeiweißes — bei dem 50-fachen Serum z. B. ist zur Injektion einer Immunitätseinheit das 10- und mehrfache an Serum erforderlich, als bei den hochwertigen Seris — eine entsprechende Verzögerung der Resorption bedingen können. Auch ist es eine Erfahrungstatsache, daß die physikalisch-chemischen Eigenschaften der frischen Sera wesentlich von denen abgelagerter differieren, so daß auch dadurch schon eine Verlangsamung der Resorption hervorgerufen werden kann. Für diese Annahme spricht auch die hohe therapeutische Wirkung des Standardserums, d. i. eines Serums, das durch wiederholte Umfällungen und Eindampfungen besonders präpariert ist.

Somit bestätigen diese Meerschweinchenversuche in vollem Umfange die bei den Kaninchenversuchen gefundenen Resultate. Wie die früheren diesbezüglichen Untersuchungen des Institu-

1) Morgenroth, Untersuchungen über die Bindung von Diphtherietoxin und Antitoxin, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Konstitution des Diphtheriegiftes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVIII. 1904.)

Tabelle VI.

Meerschweinchenheilversuche, Status am 14. Tage.

Gift Juli 0,014 intracardial; nach 1 Stunde Serum intraperitoneal. Einfach tödliche Giftdosis 0,005 († 5); Gift enthalten in 1 ccm, Serum je 2 I.E. in 1 ccm, Gift 0,014 = † 40 Stunden.

Injizierte Anzahl IE.	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.
	Serum H. 950 575-fach	Serum Martin 920-fach	Serum M.I. 175-fach	Serum H. 1085 590-fach	Serum E. 325-fach	Standardserum 1 g trocken 5925-fach	Serum R. Pferd 9 350-fach	Serum R. I. Sendg. 100-fach
5	† 5	† 5	† 4	† 5	† 8	lebt	lebt	† 4
6	lebt	lebt	lebt † 8	lebt	lebt	"	"	† 8
7	"	"	lebt	"	"	"	"	lebt † 10

Injizierte Anzahl IE.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	XV.
	Serum M. 206 390-fach	Serum P.-D. 2400-fach	Serum R. II. Sendg. 140-fach	Serum M. II. 50-fach	Serum E. Pferd 74 200-fach	Serum Sch. N 228 325-fach	Serum R. IV. Sendg. 165-fach
5	† 5	† 4	† 4	† 4	† 3	† 4	
6	lebt	lebt	† 9	lebt	† 5	lebt	† 5
7	"	"	† 8	† 7	† 9	† 14	† 12

Tabelle VII.

Meerschweinchenheilversuche, endgültiger Verlauf.

Gift Juli 0,014 intracardial; nach 1 Stunde Serum intraperitoneal. Einfach tödliche Giftdosis ca. 0,005 († 5); Gift enthalten in 1 ccm, Serum je 2 I.E. in 1 ccm, Gift 0,014 = † 40 Stunden.

Injizierte Anzahl IE.	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
	Serum H. 950 575-fach	Serum Martin 920-fach	Serum M.I. 175-fach	Serum H. 1085 590-fach	Serum E. 325-fach	Standardserum 1 g trocken 5925-fach	Serum R. Pferd 9 350-fach
5	† 5	† 5	† 4	† 5	† 8	L† 29	† 4
6	L† 39	L† 24	L† 24	L† 27	L† 29	L† 32	† 8
7	L† 43	L† 25	L† 43	L† 20	L† 20	L† 20	L† 28

Injizierte Anzahl IE.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.
	Serum R. I. Sendg. 100-fach	Serum M. 206 390-fach	Serum P.-D. 2400-fach	Serum R. II. Sendg. 140-fach	Serum M. II. 50-fach	Serum E. Pferd 74 200-fach	Serum Sch. N. 228 325-fach
5	† 4	† 5	† 4	† 4	† 4	† 3	† 4
6	† 6	L† 24	† 26	† 9	† 4	L† 17	L† 36
7	† 10	L† 35	L† 31	† 8	† 7	† 9	L† 39

Anmerkung: L† bedeutet Tod nach Lähmung.

tes, die Nachprüfungen von E. Steinhardt und Banzhof einerseits, Belfanti andererseits beweisen sie mit absoluter Bestimmtheit die Kongruenz des therapeutischen Effektes mit dem Gehalt an Immunitätseinheiten; die Angaben von Kraus über die geringere Avidität der höherwertigen Sera konnten dagegen nicht bestätigt werden.

*Nachdruck verboten.***Ueber den Bau der Opsonine.****II. Mitteilung: Paratyphusopsonine.**

[Aus dem Hygienischen Institute der Universität Straßburg i. E.
(Direktor: Prof. Dr. Forster)
und dem Royal Victoria Hospital Laboratorium Edinburgh
(Direktor: Dr. R. W. Philip).]

Von
Dr. W. Fornet
Oberarzt F.-A.-R. 42, früher kommandiert zur bakteriolog. Anstalt Straßburg.

und
A. E. Porter,
wissenschaftliche Assistentin am Hospital.

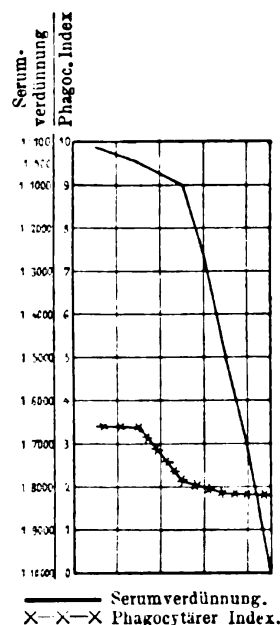
Mit 1 Kurve.

In einer früheren Mitteilung „Ueber den Bau der Opsonine“ haben wir schon kurz über Untersuchungen berichtet, welche das Studium des Baues der die Phagocytose von Tuberkelbacillen befördernden Serumbestandteile zum Gegenstand hatten. Bevor wir jedoch auf den weiteren Verlauf dieser Arbeiten und auf ihr Verhältnis zu anderen Veröffentlichungen über dieses Thema näher eingehen, möchten wir zunächst in Kürze unsere Versuche betreffend den Bau von Paratyphusopsoninen besprechen.

Alle Autoren, welche wie Dean, Muir und Martin, Levaditi und Inmann, Levaditi und Koessler, Cowie und Chapin, Caulwell, Neufeld und Hüne und neuerdings Meyer dem Komplement eine wichtige Rolle für das Zustandekommen der Phagocytose zuschreiben oder gar für bestimmte Fälle Opsonin und Komplement identifizieren, kommen zu diesem Schlusse, weil nach ihren Beobachtungen alle Eingriffe, welche das Komplement unwirksam machen, auch den phagocytosebefördernden Einfluß des Serums herabsetzen oder vernichten.

Es handelt sich also um einen Analogieschluß, welcher hinfällig wird, sobald es gelingt, wenn auch nur in einer Versuchsanordnung, einen Unterschied zwischen dem Verhalten von Komplement und Opsonin darzutun.

Diejenigen Forscher, welche wie Dean, Levaditi und Inmann, Haentjens, Cowie und Chapin, Caulwell und Meyer, das Opsonin als Kombination von Ambozeptor und Komplement ansehen, suchen ihre Ansicht zumeist durch „Reaktivierungsversuche“ zu stützen. Geht man aber näher auf die bisher veröffentlichten Protokolle ein, so sieht man bald, daß von einer wirklichen Reaktivierung gar nicht die Rede ist, d. h. der für das frische Normalserum gefundene Index wird durch die Kombination erhitztes Serum + verdünntes Normalserum nur ganz ausnahmsweise erreicht. Aus der Tatsache allein, daß der Index für diese Kombination größer ist als die Summe der beiden Faktoren, erhitztes Serum und verdünntes Normalserum, darf man noch nicht auf eine Reaktivierung schließen, da Serumkonzentration und opsonischer Index nicht proportional ansteigen, wie



auch aus der beispielsweise aus unseren Protokollen herausgegriffenen Kurve hervorgeht.

Bei unserer Arbeit über Tuberkuloseopsonine haben wir in nach Hunderten zählenden Versuchen uns bemüht, Reaktivierung des durch Hitze inaktivierten Serums zu erzielen. Wir beobachteten fast regelmäßig nicht nur keine Reaktivierung, sondern meist ausgesprochenen Antagonismus. Unsere Resultate waren tatsächlich die gleichen, wie sie Bearn und Cramer, Pollak und Schwarz beim Zusammenwirken von frischen und erhitzten Fermentlösungen beschrieben haben.

Es lag aber immerhin noch die Möglichkeit vor, daß sich die auf die verschiedenen Bacillen wirksamen Opsonine auch in ihrer Empfindlichkeit gegen Einwirkung höherer Temperaturen verschieden verhielten, und daß das von uns für das Tuberkelbacillenopsonin beobachtete Verhalten eine Ausnahme darstellte. Wir hielten es daher für notwendig, unsere Reaktivierungsexperimente zunächst auch mit anderen als mit Tuberkelbacillen anzustellen. Wir nahmen davon Abstand, Cowies und Chapins Versuche mit Staphylokokken zu wiederholen, da es bei der Häufigkeit von Staphylokokkeninfektion schwer, wenn nicht unmöglich erschien, sicher normales menschliches Serum für dieses Bakterium zu erhalten. Wir benutzten daher, in Nachahmung von Neufeld und Meyer, Paratyphusbacillen.

Allerdings konnten wir uns nicht dazu entschließen, auch deren Versuchsanordnung zu adoptieren. Beide Autoren gebrauchen noch die vor dem Bekanntwerden der Leishmann-Wrightschen Publikationen allgemein gebrauchte Technik und begeben sich dadurch des Vorteils eines genau quantitativen Arbeitens. Mischt man, wie Meyer u. a. dies tun, Bakterien, Leukocyten und Serum in kleinen Zentrifugengläschen, gießt man nach 1 Stunde die überstehende Flüssigkeit ab und macht mit der Platinöse Ausstriche, so muß man sich zunächst vergegenwärtigen, daß, wie dies unter anderem auch aus den Untersuchungen von Löhlein hervorgeht, innerhalb 1 Stunde die feineren Unterschiede schon vollkommen verwischt sind und ferner, daß man gar keinen Anhaltspunkt dafür hat, ob man nicht besonders stark oder besonders schwach phagocytierende Leukocyten mit der Flüssigkeit ausgegossen oder mit dem übrigbleibenden Bodensatz zurückgelassen hat. Neben den genauen quantitativen Verhältnissen ist es ja ein besonderer Vorteil der Wrightschen Methode, daß alle überhaupt verwendeten Leukocyten zur Zählung mitherrangezogen werden können. Die betreffenden Autoren sind sich dieses Nachteils auch bewußt und verzichten auf eine zahlenmäßige Darstellung ihrer Resultate; es ist einleuchtend, daß dadurch eine objektive Beurteilung zum mindesten sehr erschwert wird.

Wir haben Wrights quantitative Methode benutzt, bei welcher Leukocyten, Bakterien und Serum genau abgemessen, sorgfältig gemischt, eine ganz bestimmte Zeit (15 Minuten) bei 37° belassen und dann so ausgestrichen werden, daß die Leukocyten keine „Klumpen“ bilden, sondern jeder einzelne wohlausgebreitet daliegt. Es kamen ausschließlich menschliche Blutleukocyten zur Verwendung. Für jedes Präparat wurden in ein Kapillarröhrchen 4 Teile gebracht, nämlich Leukocyten, Bakterien, Serum und je nach dem Versuch ein zweites Serum oder Kochsalzlösung; bei den Kontrollen wurden 1 Teil Leukocyten, 1 Teil Bakterien und 2 Teile Kochsalzlösung miteinander gemischt. Die Ausstriche wurden über Osmiumsäure (2-proz.) fixiert und 15 Minuten lang mit Giemsa-Lösung gefärbt, wobei man eine ausgezeichnete Kontrastfärbung erzielt.

Von den untersuchten 3 Paratyphusstämmen war uns No. I gütigst

von Herrn Prof. Ritchie-Edinburgh überlassen, No. II und III stammte aus dem Hygienischen Institute der Universität Straßburg.

Stamm I.

Einfluß der Zeit.

Es war zunächst festzustellen, wie lange die Gemische am besten bei 37° belassen werden, um eine deutliche Phagocytose und möglichst geringe Bakteriolyse zu erzielen. Es zeigte sich, daß dieser Paratyphusstamm nur wenig von frischem normalen Menschenserum beeinflusst wird, in der Tat kaum merklich mehr, als von physiologischer (0,85-proz.) Kochsalzlösung, wenn nicht sehr dichte Bakterienaufschwemmungen hergestellt wurden. Eine derartige Emulsion, welche, in gleicher Dichte von Tuberkelbacillen hergestellt, Durchschnittswerte von 30–40 Bacillen pro Leukocyt ergeben würde, erzielte bei diesem Paratyphusstamm nur einen Index von 3–4. In jedem Versuche wurden 5 Kapillarröhrchen mit genau dem gleichen Inhalt, je 1 Teil Leukocyten, Bacillen, menschliches Serum und Kochsalzlösung, gefüllt und verschieden lange Zeit im Brutschrank belassen.

Tabelle 1.

Zeit des Aufenthalts im Brutschrank	Bakterienzahl pro Leukocyt				
	Versuch I	Versuch II	Versuch III	Versuch IV	Versuch V
1/4 Stunde	1,44	3,1	2,6	2,5	2,7
1/2 " "	0,75	—	1,1	—	1,4
3/4 " "	0,9	0,26	0,2	0,7	0,2
1 " "	0,3	0,26	0,3	0,12	0,36
1 1/2 " "	0,2	0,26	0,1	0,0	0,1

Bei 1/4-stündiger Bebrütung war noch eine reichliche Menge Bakterien zwischen den Blutkörperchen zu sehen, während sie nach 1 1/2 Stunden fast ganz verschwunden waren.

Es durfte danach also nicht länger als 1/4 Stunde bebrütet werden.

Einfluß der Verdünnung.

Das frische menschliche Serum wurde zur Verminderung der Spontanphagocytose mit 1,2-proz. Kochsalzlösung verdünnt. Da in jeder Kapillare

Tabelle 2.

Versuch	Frisches normales menschliches Serum								1,2-proz. Kochsalz- lösung 2 Teile
	Unver- dünnt	Verdünnt							
		1/4	1/10	1/20	1/50	1/100	1/500	1/1000	
I	3,1	.	.	0,86	0,85	0,6	0,93	0,4	0,47
II	2,6	.	.	0,47	0,53	0,4	0,5	0,2	0,08
III	2,5	.	0,6	0,6	0,55	0,4	0,4	0,3	0,2
IV	2,7	.	0,8	0,36	0,5	0,33	0,53	0,26	0,1
V	3,3	2,1	0,3
VI	1,8	0,33	0,3
VII	5,8	0,7	—
VIII	4,0	1,3	0,5
IX	2,8	0,83	0,2
X	1,83	1,06	0,4
XI	1,63	.	0,56	0,16
Frisches normales Meerschweinchenserum									
XII	1,5	0,83	0,4
Frisches normales Kaninchenserum									
XIII	1,5	0,53	0,4

4 Teile miteinander gemischt wurden, ist die Serumverdünnung tatsächlich 4mal so groß als angegeben (s. Tabelle 2).

Schon bei einer Verdünnung des Serums auf $\frac{1}{4}$ nimmt die Zahl der aufgenommenen Bakterien sehr bedeutend ab. Wenn also Reaktivierung überhaupt möglich ist, so müßte sie in die Erscheinung treten, wenn man zu erhitztem Serum 4-fach verdünntes Serum hinzufügt.

Einfluß der Erhitzung.

Das Serum wurde jedesmal $\frac{1}{2}$ Stunde lang der erhöhten Temperatur ausgesetzt. Wiederum wurden in jede Kapillare 1 Teil Serum (erhitzt oder frisch), 1 Teil Leukocyten, 1 Teil Bakterien und 1 Teil 1,2-proz. Kochsalzlösung gebracht; die Kontrollen enthielten 2 Teile Kochsalzlösung.

Tabelle 3.

Versuch	Normales menschliches Serum				1,2-proz. Kochsalzlösung	
	Frisch	Erhitzung auf 56°		Erhitzung auf 60°		
		Index	Prozentzahl der Nullen	Index	Prozentzahl der Nullen	
I	1,63	0,66	50	1,0	43	0,16
II	1,9	1,05	45	0,66	50	0,16
III	3,1	0,8	36	0,52	40	0,47
IV	2,6	.	.	0,2	80	0,08
V	2,5	0,6	63	.	.	0,1
VI	2,7	0,4	70	.	.	0,13
VII	5,8	0,6	60	.	.	0,13
VIII	4,0	1,2	53	.	.	—
IX	3,3	1,4	43	.	.	0,5
X	2,8	1,1	43	.	.	0,3
XI	1,8	0,6	60	.	.	0,2
	—	0,56	70	0,26	76	0,2
	.	0,7	53	.	.	0,2
	.	0,16	86	0,4	60	0,2
	.	0,23	83	0,25	83	0,2
	.	0,23	80	.	.	0,2
	.	0,3	80	0,06	90	0,2
	.	0,1	90	0,2	90	0,2
	.	0,2	86	0,13	90	0,2
	.	0,86	70	0,2	83	0,2
XII	0,85	0,75	65	.	.	0,17
	.	0,28	72	.	.	0,17
	.	0,86	60	.	.	0,17
	.	0,2	80	.	.	0,17
XIII	1,83	0,46	66	.	.	0,4
XIV	2,0	0,4	60	.	.	0,47
Normales Meerschweinchenserum						
XV	1,5	.	.	0,7	60	0,4
XVI	1,8	.	.	0,43	73	0,47
	.	.	.	0,4	66	0,47
Normales Kaninchenserum						
XVII	1,5	0,8	63	0,84	60	0,4
XVIII	.	0,7	60	0,2	86	0,47

In diesem Versuche gelangten 20 verschiedene menschliche Sera zur Prüfung. Die Resultate zeigen, daß nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Erhitzung des Serums auf 56°, ja sogar auf 60° noch ein beträchtlicher Anteil des phagocytosebefördernden Einflusses des Serums erhalten bleibt. Die Temperaturen, bei denen das für Paratyphusbacillen wirksame Opsonin zerstört wird, stimmen also nicht mit den Temperaturen überein, bei

welchen das Komplement unwirksam wird. Das gleiche haben wir früher für Tuberkelbacillenopsonine feststellen können, wenn auch nicht in so ausgesprochenem Maße.

Der nach Erhitzen des Serums erhaltene Index ist nicht auf Spontanphagocytose zurückzuführen, da er über demjenigen der Kochsalzkontrolle liegt, obwohl die Verdünnung des Serums mit derselben Kochsalzlösung hergestellt ist; gegen Spontanphagocytose spricht auch die gleichmäßige prozentuale Verteilung derjenigen Leukocyten, welche keine Bakterien aufgenommen haben. Die einzelnen Sera zeigen in ihrem Widerstand gegen Erhitzung nicht unbedeutliche Unterschiede.

Reaktivierungsversuche.

Frisches normales menschliches Serum wurde verdünnt oder unverdünnt mit inaktiviertem Serum zusammengebracht und der phagocytäre Index dieses Gemisches mit denen der einzelnen Komponenten verglichen. In jeder Kapillare wurden wiederum jedesmal 4 gleiche Teile miteinander gemischt, indem je nach Bedarf 1 oder 2 Teile durch 1,2-proz. Kochsalzlösung ersetzt wurden (s. Tabelle 4, 5, 6).

Es kam also in keinem einzigen Fall zu einer Reaktivierung; selbst in denjenigen Versuchen, wo als „Komplement“ unverdünntes frisches Serum zu inaktiviertem Serum hinzugefügt wurde, blieb der phagocytäre

Tabelle 4.

No.	Verdünnung des frischen Serums	Verdünntes frisches Serum + 1,2-proz. NaCl	Unverdünntes erhitztes (56°) Serum + 1,2-proz. NaCl	Unverdünntes erhitztes (60°) Serum + 1,2-proz. NaCl	Unverdünntes erhitztes (56°) Serum + verdünntes frisches Serum	Unverdünntes erhitztes (60°) Serum + verdünntes frisches Serum
I	1/4	0,83	1,1	.	1,8	.
II	1/4	2,1	1,4	.	1,2	.
III	1/10	0,6	0,6	.	0,3	.
IV	1/20	0,36	0,4	.	0,36	.
V	1/20	0,47	.	0,2	.	0,16
		0,47	.	—	.	0,26
VI	1/20	0,86	0,52	.	0,56	.
VII	1/20	0,56	0,66	0,8	.	0,4
		0,56	1,05	.	0,5	.
		0,56	.	1,0	0,6	.
		0,56	.	0,66	.	0,7
VIII	1/4	0,33	0,6	.	0,23	.
		0,33	0,56	.	0,43	.
		0,33	0,7	.	0,5	.
		0,33	0,16	.	0,15	.
		0,33	0,23	.	0,26	.
		0,33	0,23	.	0,5	.
		0,33	0,3	.	0,25	.
		0,33	0,2	.	0,0	.
		0,33	0,1	.	0,2	.
		0,33	0,86	.	0,93	.
		0,33	.	0,26	.	0,4
		0,33	.	0,4	.	0,13
		0,33	.	0,25	.	0,5
		0,33	.	0,06	.	0,5
		0,33	.	0,2	.	0,16
		0,33	.	0,13	.	0,1
		0,33	.	0,2	.	0,13
IX	1/4	1,06	0,46	.	0,73	.
		.	0,4	.	0,5	.
		.	1,4	.	0,2	.

Tabelle 5.

No.	Unverdünntes frisches Serum + 1,2-proz. NaCl	Unverdünntes erhitztes (56°) Serum + 1,2-proz. NaCl	Unverdünntes erhitztes (60°) Serum + 1,2-proz. NaCl	Unverdünntes erhitztes (56°) + unverdünntes frisches Serum	Unverdünntes erhitztes (60°) + unverdünntes frisches Serum
I	0,85	0,75	.	0,88	.
	0,85	0,28	.	0,16	.
II	0,85	0,2	.	0,2	.
	1,63	0,66	.	0,67	.
	1,63	1,05	.	0,5	.
III	1,63	.	1,0	.	0,5
	1,63	.	0,66	.	0,5
	2,5	0,6	.	0,83	.
	2,5	—	.	1,0	.
IV	2,7	0,4	.	1,25	.
V	3,1	0,8	.	0,4	.
	3,1	.	0,52	.	0,4
VI	1,83	1,4	.	0,9	.
	1,83	0,4	.	0,7	.
	1,83	0,46	.	0,5	.

Tabelle 6.

No.	Verdünnung des frischen Serums	Verdünntes frisches menschliches Serum + 1,2-proz. NaCl	Normales Kaninchenserum erhitzt 56° + 1,2-proz. NaCl	Normales Kaninchenserum erhitzt 60° + 1,2-proz. NaCl	Erhitztes Serum + verdünntes frisches Serum
X	1/4	1,06	0,8	.	0,9
		1,06	.	0,84	0,76
XI	1/4	1,06	.	Normales Meer-schweinchenserum erhitzt 60° + 1,2-proz. NaCl	.
		.	.	0,7	0,9
XII XIII	1/4	Verdünntes frisches Meer-schweinchenserum + 1,2-proz. NaCl	Normales menschliches Serum erhitzt 56° + NaCl	.	0,7
		0,83	.	.	1,15
		0,7	0,4	.	0,33
		0,7	.	0,43	0,4
XIV XV	1/4	0,7	Normales Kaninchenserum erhitzt 56° + 1,2-proz. NaCl	Normales Kaninchenserum erhitzt 60° + 1,2-proz. NaCl	0,4
		0,7	0,7	.	0,2
XV	1/4	0,83	0,8	.	0,8
		.	.	.	0,3
					0,1
					0,8

Index immer niedriger, als nach Addition der phagocytären Indices der einzelnen Komponenten rechnerisch erwartet werden durfte. Auf den sich daraus ergebenden Antagonismus zwischen frischem und erhitztem Serum haben wir schon in einer früheren Publikation hingewiesen, die Analogie mit dem Verhalten frischer und erhitzter Fermentlösungen

wurde eingangs hervorgehoben; die Bedeutung und theoretische Wichtigkeit dieses Phänomens werden wir demnächst in unserer III. Mitteilung über Tuberkelbacillenopsonine eingehend erörtern.

Absorptionsversuche.

Wenn es auch nicht gelingt, dem bei erhöhter Temperatur (56° oder 60°) inaktivierten Serum durch Hinzufügen von frischem verdünnten oder unverdünnten Serum seine phagocytosebefördernde Eigenschaft wiederzugeben, so war doch denkbar, daß die Komplement- oder Ambozeptor- oder Ambozeptor + Komplementnatur des Opsonins bei Absorptionsversuchen in die Erscheinung treten würde.

Um dies zu prüfen, wurde aus gut gewachsenen 24-stündigen Agarkulturen mit Kochsalzlösung (1:1000) eine dicke Bakteriemenulsion hergestellt und diese in 4 gleiche Teile geteilt:

Portion I wurde mit der gleichen Menge frischen menschlichen Serums versetzt und 15 Minuten bei 37° gehalten.

Portion II erhielt dieselbe Menge inaktivierten (1/2 Stunde bei 56°) menschlichen Serums und blieb, da hier Bakteriolyse nicht in Betracht kam, 1/2 Stunde bei 37°.

Portion III wurde zunächst in einer Mischung von Eis und K₂SO₄ auf -1° abgekühlt, dann mit der gleichen Menge frischen, aber ebenfalls so gekühlten menschlichen Serums versetzt und während 1/2 Stunde bei -1° gehalten.

Portion IV diente als Kontrolle und wurde mit dem gleichen Volumen Kochsalzlösung (0,85-proz.) versetzt.

Um Serum und Bakterien nach dieser gegenseitigen „Vorbehandlung“ wieder voneinander trennen zu können, wurde jede einzelne der 4 Portionen nochmals mit Kochsalzlösung (1:1000) auf das doppelte Volumen aufgefüllt, so daß das in ihnen enthaltene Serum tatsächlich auf das 4-fache verdünnt war. Dann wurde 20 Minuten lang scharf zentrifugiert und die gewonnenen 3 Serumverdünnungen zum Versuche benutzt. — Für Portion III sei noch bemerkt, daß die zweite Verdünnung ebenfalls mit auf -1° abgekühlter Salzlösung und das Zentrifugieren gleichfalls in der Kältemischung erfolgte.

Spielt das Komplement wirklich bei der phagocytosebefördernden Wirkung des Normalserums gegenüber Paratyphusbacillen eine ausschlaggebende Rolle, so dürfte der Index für die Serumportion III nicht erheblich hinter demjenigen des ebenfalls auf das 4-fache verdünnten unbehandelten Normalserums zurückbleiben.

Tabelle 7.

Versuch No.	Normales Serum	Serum bei -1° mit Bakterien vorbehandelt	Serum bei 37° mit Bakterien vorbehandelt	1,2-proz. Kochsalzlösung
I	0,7	0,63	—	0,13
II	1,3	1,4	—	0,5
III	1,0	1,1	—	0,2
IV	2,1	—	0,53	0,3
V	0,83	—	0,42	0,2

In der Tat hat das Serum durch Vorbehandlung mit Bakterien bei -1° nichts an seiner phagocytosebefördernden Eigenschaft eingebüßt; eine Tatsache, welche gegen die von Neufeld und Hüne, Cowie und Chapin u. a. vertretene Anschauung spricht, daß Ambozeptoren einen wesentlichen Bestandteil des Normalopsonins bilden. Hier könnte

der Einwand erhoben werden, daß nicht genügend Bakterien zur Absorption verwendet wurden, daß dieser Einwurf aber nicht zutrifft, beweist das Verhalten des bei 37° mit derselben Bakterienmenge vorbehandelten Serums, dessen Index nur wenig höher als der der reinen Kochsalzlösung liegt. Dagegen bleibt nach den obigen Resultaten noch die Möglichkeit bestehen, daß das Normalopsonin dem Komplement gleichzusetzen ist, eine Ansicht, die unter anderen von Muir und Martin und Levaditi vertreten wird. Das dies aber, trotz des gleichen Verhaltens in diesem Punkte, tatsächlich nicht der Fall ist, haben die weiter oben wiedergegebenen Verdünnungs- und Erhitzungsversuche gezeigt und geht auch aus den später zu erwähnenden Dialyseversuchen hervor.

Wenn sich auch aus dem bisher Gesagten schon die Unmöglichkeit ergibt, daß das Normalopsonin aus Ambozeptor + Komplement besteht, so seien doch noch die Versuche mit den in der oben geschilderten Weise vorbehandelten Bakterien wiedergegeben.

Tabelle 8.

		Versuch				
		I	II	III	IV	V
Bakterien unbehandelt						
a	+ 2 Teile Kochsalzlösung	0,13	0,5	0,2	0,3	0,2
b	+ 1 Teil frisches Serum + 1 Teil Kochsalzlösung	0,7	1,3	1,0	2,1	0,83
Bakterien bei 37° mit frischem Serum vorbehandelt						
c	+ 2 Teile Kochsalzlösung	0,6	0,9	—	0,69	0,4
d	+ 1 Teil frisches Serum + 1 Teil Kochsalzlösung	0,93	1,7	1,5	0,53	0,8
e	+ 1 Teil Serum, das bei 0° mit Bakterien absorbiert war, + 1 Teil Kochsalzlösung	0,6	1,7	1,4	0,7	0,83
Bakterien bei 37° mit inaktiviertem Serum vorbehandelt						
f	+ 2 Teile Kochsalzlösung	0,1	0,6	0,25	0,6	0,22
g	+ 1 Teil frisches Serum + 1 Teil Kochsalzlösung	0,75	0,9	0,8	0,6	0,63
h	+ 1 Teil Serum, das bei 0° mit Bakterien absorbiert war, + 1 Teil Kochsalzlösung	0,1	0,9	0,75	0,6	0,36
Bakterien bei -1° mit frischem Serum vorbehandelt						
i	+ 2 Teile Kochsalzlösung	0,2	0,2	0,2	—	—
k	+ 1 Teil frisches Serum + 1 Teil Kochsalzlösung	0,6	1,0	0,96	—	—
l	+ 1 Teil Serum, das bei 0° mit Bakterien absorbiert war, + 1 Teil Kochsalzlösung	0,63	1,25	1,13	—	—

Geht man von der durch Ehrlich und Morgenroth gefundenen Tatsache, daß bei 0° nur der Ambozeptor, nicht aber das Komplement gebunden wird, aus und zieht man in Betracht, daß durch 1/2-stündige Erhitzung auf 56° das Serumkomplement unwirksam gemacht wird, so war in den Anordnungen h und l die Möglichkeit eines Zusammentretens der vorher getrennten Ambozeptoren und Komplemente gegeben; es hätten also die für die Anordnung b gefundenen Werte weit überschritten werden müssen, wenn sich das Normalopsonin wirklich aus Ambozeptor + Komplement zusammensetzte. Tatsächlich wurde aber selbst der für das 4-fach verdünnte frische Normalserum gefundene Index mit einer einzigen Ausnahme nie erreicht, obwohl z. B. in dem Versuch I der Index für 1 Teil verdünntes Serum + 1 Teil Kochsalzlösung 5,8 betrug. Die Richtigkeit dieser Betrachtungen wird auch durch die überaus wichtigen letzthin von Neufeld und Haendel neu gefundenen Tatsachen nicht beeinträchtigt, da es sich bei der von den

genannten Autoren beschriebenen Bindung des Komplements bei 0° um sehr hochwertige Immunsere und nicht, wie in unserem Falle, um Normalserum handelt.

Eine Fehlerquelle läßt sich allerdings bei derartigen Absorptionsversuchen nie ganz ausschalten; nachdem die Bakterien in verschiedener Weise vorbehandelt worden sind, handelt es sich darum, Bakterienemulsionen von gleicher Dichte herzustellen. Es sind hierfür verschiedene Methoden vorgeschlagen worden, jedoch hat sich uns, wie auch Wright und seinen Mitarbeitern, die Prüfung mit dem unbewaffneten Auge als die zuverlässigste erwiesen. Bei einiger Uebung gelingt es leicht, durch Vergleichung der Durchsichtigkeit unter äußerlich gleichen Bedingungen Bakterienemulsionen herzustellen, deren Dichte nicht mehr als etwa 100 Keime pro 1 ccm differiert; ein Unterschied, welcher bei der absolut hohen Keimzahl der Emulsion und bei der minimalen Größe der pro Präparat verwendeten Menge nicht in Betracht kommt.

Einfluß der Dialyse.

Da diese Versuche schon vor dem Erscheinen der Arbeiten von Ferrata, Brand und Hecker abgeschlossen waren, ist es uns leider nicht möglich gewesen, der gewiß sehr interessanten Frage nachzugehen, ob das Normalopsonin gleich dem Komplement durch Dialyse gegen destilliertes Wasser in zwei an sich unwirksame Bestandteile zerlegt werden kann, welche durch Besatzung wieder zum wirksamen Komplement (oder Opsonin?) zusammentreten.

Wir brachten 0,1—0,25 von dem zu untersuchenden Serum in Schilf- oder Kollodiumsäckchen, welche vorher mit 0,85-proz. Kochsalzlösung durchfeuchtet waren, und dialysierten gegen geringe Mengen (0,2—0,3 ccm) 0,85-proz. Kochsalzlösung; um eine Verdunstung zu verhindern, wurden die an den Kollodium- oder Schilfsäckchen angebrachten Glasröhrchen mit Gummistopfen verschlossen. Von Zeit zu Zeit wurden Serumproben entnommen und deren phagocytärer Index mit demjenigen desselben Serums verglichen, welches, ohne der Dialyse unterworfen zu sein, den gleichen äußeren Bedingungen ausgesetzt war.

1) Dialysiertes Serum (Dialyse 1½, Stunde) + 1,2-proz. Kochsalzlösung	= 0,13
Kontrollserum + 1,2- " "	= 0,93
2) Dialysiertes Serum (Dialyse 6¼, Stunde) + 1,2- " "	= 0,1
Kontrollserum + 1,2- " "	= 5,8
3) Dialysiertes Serum (Dialyse 5 Stunden) + 1,2- " "	= 0,2
Kontrollserum + 1,2- " "	= 4,0

Weder durch Hinzufügen von verdünntem frischen, noch von unverdünntem inaktivierten, noch schließlich von Serum, welches durch Absorption mit Bakterien bei —1° seiner Ambozeptoren beraubt war, gelang es, das durch Dialyse opsonisch unwirksam gewordene Serum zu reaktivieren. Dagegen zeigte es sich, daß das Serum, dessen phagocytärer Index infolge der Dialyse dem Index der Kochsalzlösung (in diesem Falle 0,1) gleich oder fast gleich geworden war, trotzdem in seiner bakteriolytischen Fähigkeit dem Kontrollserum mit reinem verhältnismäßig hohen phagocytären Index fast vollkommen gleich geblieben war. Innerhalb 1 Stunde bei 37° lösten beide Sera trotz ihres so verschiedenen Vermögens, die Phagocytose zu begünstigen, dieselbe Bakterienmenge fast vollkommen auf.

Auf die beachtenswerte Erscheinung, welche wir regelmäßig beobachten konnten, daß nämlich mit der Dauer der Dialyse fortschreitend die außerhalb des Kollodium- oder Schilfsackes befindliche Kochsalz-

lösung mehr und mehr die Fähigkeit gewinnt, die phagocytosebefördernde Eigenschaft von frischem Normalserum zu paralysieren, soll an anderer Stelle näher eingegangen werden.

Stamm II (B. paratyphi B., Laboratorium).

Einfluß der Zeit.

Gleiche Teile Bakterien, Leukocyten, frisches menschliches Serum und 1,2-proz. Kochsalzlösung wurden in der üblichen Weise in Kapillarröhrchen miteinander gemischt und verschieden lange Zeit bei 37° belassen:

Tabelle 9.

No.	Zeitdauer der Bebrütung	Bakterienzahl pro Leukocyt
1	$\frac{1}{4}$ Stunde	16,7
2	$\frac{1}{2}$ "	16,3
3	$\frac{3}{4}$ "	15,0
4	1 "	16,0
5	$1\frac{1}{2}$ "	13,3

Wenn auch der phagocytäre Index bei längerer Inkubation nicht erhöht wird, so ist doch nach $1\frac{1}{2}$ Stunden keine ausgesprochene Bakteriolyse vorhanden, wie sie bei Stamm I so deutlich zutage trat; hier war keine Verminderung der außerhalb der Zellen liegenden Bakterien bemerkbar. Es war daher möglich, die Zeitdauer der Bebrütung zu verlängern, ein Vorteil, von welchem wir bei den Absorptions- und Reaktivierungsversuchen Gebrauch gemacht haben, wenn wir uns auch in der Mehrzahl der Versuche auf die gewöhnliche Zeit von 15 Minuten beschränkten.

Einfluß der Verdünnung.

Frisches menschliches Serum, nach Bedarf verdünnt mit 1,2-proz. Kochsalzlösung. Jede Kapillare enthielt 4 gleiche Teile: Bakterien, Leukocyten, 1,2-proz. Kochsalzlösung und verdünntes oder unverdünntes Serum; in den Kontrollen wurde der Serumteil durch Kochsalzlösung ersetzt. Bebrütung $\frac{1}{4}$ Stunde. Gezählt 100 Leukocyten.

Tabelle 10.

No.	Frisches menschliches Serum										2 Teile Kochsalzlösung
	Unverdünnt	Verdünnt									
		$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{10000}$	
I	10,95	3,4	2,33	1,83	1,16	1,46	1,2	1,02	0,8		0,45
II	18,0	6,0	3,35	2,7	2,25	1,4	1,0	1,2	0,88		0,6
III	12,1	4,53	3,03	2,8	2,6	2,06	1,75	1,43	0,96	0,7	0,63
IV	1,73	0,4	0,06
V	0,85	0,26	0,03
VI	2,1	0,5	0,1
VII	1,4	0,26	0,03
VIII	16,7	2,58	0,96
IX	2,03	0,5	0,0
X	1,5	0,2	0,0

Dieser Paratyphusstamm unterscheidet sich von Stamm I nicht nur dadurch, daß bei unverdünntem frischen Serum ein bedeutend höherer phagocytärer Index erreicht wird (selbstverständlich unter Berücksichtigung der Dichte der Bakterienemulsion); das Serum läßt sich auch viel weiter verdünnen, ehe der Index auf den der Kontrollkochsalzlösung

herabsinkt. Immerhin tritt eine ausgesprochene Abnahme des phagocytosebefördernden Vermögens bei Verdünnung des Serums auf $\frac{1}{4}$ ein, so daß eine etwaige Reaktivierung sehr deutlich zum Ausdruck kommen müßte.

Einfluß der Hitze.

Das Serum wurde jedesmal $\frac{1}{2}$ Stunde lang der konstanten erhöhten Temperatur ausgesetzt. Wiederum kam auf 1 Teil Serum, frisch oder erhitzt, je 1 Teil Bakterienemulsion, Leukocyten und 1,2-proz. Kochsalzlösung; die Kontrollen erhielten 2 Teile Kochsalzlösung.

Tabelle 11.

No.	Menschliches Serum				1,2-proz. Kochsalzlösung	
	Frisch	Erhitzt 30' auf 56°		Erhitzt 30' auf 60°		
		Index	Prozentzahl der Nullen	Index	Prozentzahl der Nullen	
I	16,7	2,6	20	2,4	16	0,96
	—	4,1	6	1,46	30	0,96
	—	1,66	33	1,6	30	0,96
II	—	1,7	40	1,2	40	0,96
	2,1	0,46	63	0,16	83	0,1
	—	1,0	36	0,45	65	0,1
	—	0,6	70	.	.	0,1
III	—	0,26	80	.	.	0,1
	0,85	0,43	56	.	.	0,03
	—	0,5	54	.	.	0,03
IV	1,73	0,33	76	.	.	0,03
	—	0,36	66	.	.	0,03
V	1,4	0,26	76	.	.	0,03
VI	2,03	0,4	75	.	.	0,0
VII	1,5	0,3	80	.	.	0,0

Diese Versuche zeigen wiederum, daß die phagocytosebefördernde Eigenschaft des Normalserums, ungleich der Komplementwirkung, durch einhalbstündiges Erhitzen auf 56° nicht ganz vernichtet wird, ja daß sogar der Index des $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60° erwärmten Serums noch ausgesprochen höher liegt, als derjenige der zur Kontrolle herangezogenen Kochsalzlösung. Ueber die gleichmäßige Beteiligung der einzelnen Leukocyten an der Phagocytose geben die beigefügten Prozentzahlen Aufschluß.

Reaktivierungsversuche.

Es wurde zunächst versucht, bei 56° oder 60° inaktiviertes Serum durch Hinzufügen von vierfach verdünntem frischem Serum zu reaktivieren, als Kontrollen dienen die für das erhitzte Serum + Kochsalzlösung und für das verdünnte Serum + Kochsalzlösung getrennt festgestellten Werte (s. Tabelle 12).

Unter diesen ganzen Versuchen findet sich nur ein Beispiel (*), wo der für das erhitzte + frische verdünnte Serum festgestellte Wert höher ist, als die Summe der für die beiden Komponenten gefundenen Werte; die Differenz ist jedoch nicht sehr groß. In allen anderen Fällen konnte nicht nur keine Erhöhung, sondern eine ausgesprochene Erniedrigung des phagocytären Index beim Zusammentreffen des frischen mit dem erhitzten Serum konstatiert werden. Wenn, wie wir nach früheren Versuchen annehmen müssen, dieses Sinken des phagocytosebefördernden Einflusses der Ausdruck eines Antagonismus zwischen verdünntem frischem und, unverdünntem erhitztem Serum ist, so müßte dieser Antagonismus noch deutlicher zum Ausdruck kommen, wenn an die Stelle des verdünnten, unverdünntes frisches Serum tritt. Andererseits wäre aber auch bei dieser Kombination noch mehr, als in den eben mitge-

Tabelle 12.

No.	Menschliches Serum			
	Frisch, 4-fach verdünnt + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Erhitzt 30' auf 56° + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Erhitzt 30' auf 60° + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Frisches, 4-fach verdünntes + erhitztes (55° oder 60°) Serum
I	2,58	2,6	—	1,86
	2,58	4,1	—	5,83
	2,58	1,66	—	2,43
	2,58	1,7	—	2,6
	2,58	—	2,4	1,36
	2,58	—	1,46	2,53
	2,58	—	1,6	1,83
II	2,58	—	1,2	1,9
	0,5	0,46	—	0,45
	0,5	1,0	—	1,0
	0,5	0,6	—	0,5
	0,5	0,26	—	0,35
	0,5	—	0,16	0,03
	0,5	—	0,45	0,63
III	0,5	—	—	0,03
	0,26	0,43	—	0,26
IV	0,26	0,5	—	0,46
	0,4	0,33	—	0,6
V	0,4	0,36	—	0,3
	0,2	0,33	—	0,4
VI	0,26	0,26	—	0,7 (*)
VII	0,5	0,4	—	0,36

teilten Versuchen die Möglichkeit einer Reaktivierung des erhitzten Serums gegeben, wenn eine solche überhaupt statthaben kann.

Tabelle 13.

No.	Menschliches Serum			
	Frisch, unverdünnt, + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Erhitzt 30' auf 56° + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Erhitzt auf 60° + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Unverdünntes frisches + erhitztes (56° oder 60°) Serum
I	2,1	—	0,16	0,3
	2,1	—	0,45	1,13
	2,1	—	—	0,95
II	0,85	0,43	—	0,5
	0,85	0,5	—	0,53
III	1,73	0,33	—	0,84
	1,73	0,36	—	0,46
IV	1,4	0,26	—	0,7
V	2,03	0,4	—	1,0
VI	1,5	0,33	—	0,4

Tabelle 14.

No.	Menschliches Serum		
	Frisch, 4-fach verdünnt vorher bei 0° mit Bakterien vorbehandelt + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Erhitzt 30' auf 56° + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Erhitztes + 4-fach verdünntes vorbehandeltes Serum
I	0,4	0,26	0,5
II	0,45	0,4	0,43
III	0,4	0,33	0,45
IV	0,93	0,76	0,96
V	0,5	0,53	0,56

Also trotz der günstigen Bedingungen keine Reaktivierung des erhitzten Serums durch frisches Serum, sondern ein ausgesprochener Antagonismus zwischen beiden Seris.

Die Reaktivierung gelingt auch dann nicht, wenn man hierzu ein durch Absorption mit Paratyphusbacillen bei -1° im Verhältnis zu seinem Ambozeptorgehalt sehr komplementreich gemachtes frisches Serum benutzt (s. Tabelle 14).

Absorptionsversuche.

Von 24-stündigen Agarkulturen wurden mit 1‰ Kochsalzlösung eine dichte Emulsion hergestellt und diese in 4 gleiche Teile geteilt. Ein Teil wurde dann mit der gleichen Menge frischen Serums bei 37° , ein zweiter mit inaktiviertem ($\frac{1}{2}$ Std. 56°) Serum ebenfalls bei 37° digeriert; ein dritter Teil der Emulsion wurde zunächst auf -1° abgekühlt, dann mit derselben Menge gleichfalls gekühltem frischen Serum versetzt; die beiden ersten Mischungen blieben 30 Minuten bei 37° , die 3. bei -1° . Der Rest der Emulsion erhielt die entsprechende Menge 1‰ Kochsalzlösung. Nach Ablauf einer halben Stunde wurden alle 4 Bakterienemulsionen noch einmal mit dem gleichen Volumen 1‰ Kochsalzlösung verdünnt, so daß das in den 3 ersten Portionen enthaltene Serum jetzt im ganzen 4-fach verdünnt war; bei Portion 3 kam hierzu naturgemäß gekühlte Kochsalzlösung zur Verwendung. In allen 4 Gläschen bewirkte dann 20 Minuten langes, scharfes Zentrifugieren eine gute Trennung zwischen Bakterien und Flüssigkeit; das gekühlte Serum hatte nach dem Zentrifugieren in keinem Fall $+6^{\circ}$ überschritten.

Bakterien und Serumverdünnungen wurden nun in folgender Anordnung geprüft.

Tabelle 15.

No.	Unbehandelte Bakterien + 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung	Bei 0° mit frischem Serum behandelte Bakterien + 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung	Bei 37° mit frischem Serum behandelte Bakterien + 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung	Bei 37° mit erhitztem Serum behandelte Bakterien + 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung	Unbehandelte Bakterien + 4-fach verdünntes frisches Serum + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Bei 0° mit frischem Serum behandelte Bakterien + 4-fach verdünntes frisches Serum + 1 Teil 1,2-proz. Kochsalzlösung	Bei 37° mit frischem Serum behandelte Bakterien + 4-fach verdünntes frisches Serum + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Bei 37° mit erhitztem Serum behandelte Bakterien + 4-fach verdünntes frisches Serum + 1,2-proz. Kochsalzlösung
	a	b	c	d	e	f	g	h
I	0,03	0,03	0,4	0,12	0,26	0,06	0,3	0,13
II	0,0	0,03	0,83	0,1	0,5	0,5	1,0	0,4
III	0,0	0,06	0,46	0,1	0,2	0,13	0,73	0,2
IV	0,1	0,08	0,9	0,2	0,85	0,76	0,96	0,9
V	0,03	0,08	0,68	0,13	0,46	0,43	0,83	0,2

Die bei 0° mit frischem Serum vorbehandelten Bakterien wurden also von den Leukocyten nicht leichter aufgenommen, als die unbehandelten Bakterien; der Umstand, daß sie Gelegenheit gehabt hatten, die im frischen Serum etwa vorhandenen Ambozeptoren aufzunehmen, blieb auch dann ohne Einfluß auf die Phagocytose, wenn Komplement in Gestalt von 4-fach verdünntem frischem Serum hinzugefügt wurde, wie ein Vergleich der Reihen e und f zeigt.

Auch diejenigen Bakterien, welche sich bei 37° in Gegenwart von inaktiviertem Serum mit Ambozeptoren beladen hatten, gaben auf Zusatz von komplementhaltigem Serum keine höheren Werte als unbehandelte Bakterien (Reihe c und h).

Daß aber die nach der Inaktivierung des Normalserums noch übrig bleibende phagocytosebefördernde Komponente bei 37° von den Bakterien gebunden wird, zeigt Reihe d, verglichen mit Reihe a.

Die für die Absorption bei 37° bewilligte Zeit von 30' ist ausreichend, wie aus dem großen Unterschied zwischen Reihe a und c hervorgeht.

Alles dies sind Tatsachen, welche gegen die Ambozeptor- und Komplementnatur des normalen Opsonins sprechen.

Der Ausfall der obigen Versuche ändert sich auch nicht, wenn zur Reaktivierung verhältnismäßig sehr komplementreiches Serum verwendet wird, welches durch Vorbehandlung des Serums mit Bakterien bei -1° dargestellt ist.

Tabelle 16.

No.	Unbehandelte Bakterien + 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung a	Bakterien mit frischem Serum bei 0° vorbehandelt + 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung b	Bakterien mit frischem Serum bei 37° vorbehandelt + 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung c	Bakterien mit inaktivem Serum bei 37° vorbehandelt + 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung d	Unbehandelte Bakterien + 4-fach verdünntes vorbehandeltes Serum + 1 Teil 1,2-proz. Kochsalzlösung e	Bakterien mit frischem Serum bei 0° vorbehandelt + 1 Teil 4-fach verdünntem Serum + 1 Teil 1,2-proz. Kochsalzlösung f	Bakterien mit frischem Serum bei 37° vorbehandelt + 1 Teil vorbehandeltes Serum + 1 Teil 1,2-proz. Kochsalzlösung g	Bakterien mit inaktivem Serum bei 37° vorbehandelt + 1 Teil vorbehandeltes Serum + 1 Teil 1,2-proz. Kochsalzlösung h
I	0,03	0,03	0,4	0,12	0,4	0,36	0,4	0,06
II	0,0	0,03	0,83	0,1	0,45	0,46	0,95	0,4
III	0,0	0,06	0,46	0,1	0,4	0,3	0,7	0,3
IV	0,1	0,08	0,9	0,2	0,93	0,76	1,13	0,43
V	0,03	0,08	0,68	0,13	0,5	0,5	0,63	0,26

Auch hier wieder kein Anzeichen von Reaktivierung, obwohl sowohl in Reihe f wie in Reihe h Ambozeptoren und Komplemente zusammentreffen. — Die für das bei 0° mit Bakterien vorbehandelte und im Verlauf des Versuches auf $\frac{1}{4}$ verdünnte Serum gefundenen Werte kommen denen für das frische ebenfalls 4-fach verdünnte Serum nahezu gleich, wie aus den Zahlen I 0,26—0,4, II 0,5—0,45, III 0,2—0,4, IV 0,85—0,75, V 0,46—0,5 hervorgeht.

Stamm III (Hirian).

Einfluß der Zeit.

Dieser Paratyphusstamm wird viel leichter phagocytirt, als Stamm I und etwas leichter als Stamm II; dementsprechend wurden verhältnismäßig dünne Bakterienemulsionen verwendet. Bakterien + Leukocyten + menschliches Serum + 1,2-proz. Kochsalzlösung.

Tabelle 17.

No.	Zeitdauer der Bebrütung (37°)	Zahl der pro Leukocyt aufgenommenen Bakterien		
		I	II	III
1	$\frac{1}{4}$ Std.	8,7	2,8	3,5
2	$\frac{1}{2}$ "	8,43	3,0	6,0
3	$\frac{3}{4}$ "	8,8	2,4	6,1
4	1 "	8,0	0,65	6,8
5	$1\frac{1}{2}$ "	5,4	0,43	7,45

Die Resultate widersprechen sich untereinander ziemlich, was darin seine Erklärung findet, daß das für die Versuche I, II und III verwendete Serum von drei verschiedenen Personen entnommen war. In No. II war ein Verschwinden der außerhalb der Zellen liegenden Bakterien unverkennbar. Jedenfalls konnte auch dieser Paratyphusstamm $\frac{1}{2}$ Stunde lang mit frischem Serum in Kontakt gelassen werden, ohne daß eine Beeinträchtigung der Resultate durch Bakteriolyse zu befürchten war.

Einfluß der Verdünnung.

Frisches menschliches Serum wurde mit 1,2-proz. Kochsalzlösung verdünnt. Jede Kapillare enthielt 4 gleiche Teile: Leukocyten, Bakterienemulsion, Serum und 1,2-proz. Kochsalzlösung; in den Kontrollen ersetzte ein zweiter Teil Kochsalzlösung das Serum. Inkubation 15 Minuten.

Tabelle 18.

No.	Frisches, menschliches Serum									1,2-proz. Kochsalzlösung
	Unverdünnt	verdünnt								
		$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{10000}$	
I	14,0	5,75	3,65	3,5	3,4	3,4	2,1	1,85	1,83	1,4
II	20,46	4,3	3,6	3,36	2,4	2,23	2,26	1,8	1,2	1,13
III	7,8	4,1	3,82	3,4	3,5	2,6	2,06	1,36	1,4	1,0
IV	8,7	2,1	0,66
V	2,7	0,53	0,33
VI	2,8	0,8	0,3
VII	1,0	0,2	0,06
VIII	1,0	0,2	0,0
IX	3,5	0,53	0,23

Dieser Stamm unterliegt dem phagocytosebefördernden Einfluß des Normalserums ebenso wie Stamm II noch in höherer Verdünnung als Stamm I. Wie bei Stamm I und II besteht auch hier zwischen den Werten des unverdünnten und des 4-fach verdünnten Serums ein sehr deutlicher Unterschied, so daß eine Reaktivierung gut zutage treten könnte.

Tabelle 19.

No.	Unverdünntes normales menschliches Serum						1,2-proz. Kochsalzlösung
	Frisch	Erhitzt 30' auf 56°		Erhitzt 30' auf 60°			
		Index	Prozentzahl der Nullen	Index	Prozentzahl der Nullen		
I	8,7	1,6	20	.	.	0,66	
	—	3,25	3	.	.	0,66	
	—	1,76	26	.	.	0,66	
	—	1,74	30	.	.	0,66	
	—	2,5	25	.	.	0,66	
II	2,7	1,4	30	.	.	0,33	
	—	0,76	53	.	.	0,33	
	—	0,53	53	.	.	0,33	
	—	1,0	30	.	.	0,33	
	—	0,66	40	.	.	0,33	
III	2,8	1,0	60	0,35	75	0,3	
	—	0,4	75	.	.	0,3	
	—	1,06	32	0,53	56	0,3	
	—	1,03	50	.	.	0,3	
	—	0,8	50	.	.	0,3	
IV	—	0,5	60	.	.	0,3	
	1,0	0,4	73	.	.	0,6	
	—	0,63	55	.	.	0,23	
	—	—	—	.	.	—	
	V	3,5	0,63	55	.	.	0,23

Einfluß der Erhitzung.

Die Erhitzung erfolgte 30 Minuten lang bei konstanter Temperatur (56° oder 60°); wieder wurde ein Teil Serum mit je einem gleichen Teil Bakterien, Leukocyten und 1,2-proz. Kochsalzlösung gemischt, während die Kontrollen ohne Serum 2 Teile Kochsalzlösung erhielten. Bei diesem Versuch gelangten 9 verschiedene menschliche Sera zur Verwendung (s. Tabelle 19).

Auch die diesem Paratyphusstamm gegenüber wirksamen Bestandteile des normalen Serums werden durch einhalbstündiges Erhitzen bei 56°, ja auch bei 60°, nicht vollständig unwirksam gemacht.

Reaktivierungsversuche.

Unverdünntes erhitztes und verdünntes unerhitztes Serum wirkten auf dieselbe Bacillenemulsion ein; als Maßstab für die Beurteilung, ob eine Reaktivierung stattgefunden hatte oder nicht, gelten die für die beiden Serumarten getrennt gefundenen Werte, wobei das zweite Serum durch Kochsalzlösung ersetzt war.

Tabelle 20.

No.	Normales menschliches Serum			
	frisch, 4-fach verdünnt + 1,2-proz. Kochsalzlösung	erhitzt 30' auf 50° + 1,2-proz. Kochsalzlösung	erhitzt 30' auf 60° + 1,2-proz. Kochsalzlösung	frisches verdünntes + erhitztes unverdünntes Serum
I	2,1	1,6	.	1,65
	2,1	3,25	.	4,8
	2,1	1,76	.	2,55
	2,1	1,74	.	2,2
	2,1	2,5	.	2,74
II	0,56	1,4	.	1,93
	0,56	0,76	.	1,12
	0,56	0,53	.	0,63
	0,56	1,0	.	1,13
	0,56	0,66	.	0,52
III	0,8	1,0	.	1,26
	0,8	0,4	.	0,8
	0,8	1,06	.	1,16
	0,8	1,03	.	1,05
	0,8	0,8	.	0,6
	0,8	0,5	.	0,83
	0,8	.	0,53	0,5
	0,8	.	0,35	0,33
IV	0,2	0,4	.	0,45
V	0,53	0,63	.	0,7

Auch hier ist wiederum keine Reaktivierung zu bemerken, nicht einmal eine einfache Summierung der phagocytosebefördernden Kräfte des frischen und des erhitzten Serums findet statt; im Gegenteil tritt auch in diesem Fall der schon mehrfach erwähnte Antagonismus zwischen aktivem und inaktivem Serum zutage.

Verwendet man dagegen zwei Teile vierfach verdünnten Normalserums an Stelle von 1 Teil vierfach verdünnten Serums + 1 Teil Kochsalzlösung, so erhält man nicht nur eine Verdoppelung des Wertes, sondern eher einen höheren Index, z. B. wird aus 0,56 1,3 und aus 0,2 0,5; dieser Tatsache müßte bei der Beurteilung von „Reaktivierungs“-Versuchen naturgemäß Rechnung getragen werden.

Die anstatt der erwarteten Reaktivierung von uns beim Zusammenreffen von inaktiviertem und frischem Serum beobachtete und bisher

als „Antagonismus“ bezeichnete Erscheinung konnte nach dem bisher Mitgeteilten auch der Ausdruck einer einfachen Verlangsamung des Ablaufs der Phagocytose sein.

Wir wiederholten daher den eben angeführten Versuch, ließen aber Serum, Leukocyten, Bakterien und Kochsalzlösung nicht 15 Minuten, sondern 1 Stunde bei 37° aufeinander einwirken, bevor die Ausstrichpräparate angefertigt wurden.

Tabelle 21.

No.	Menschliches Serum		
	Frisch, 4-fach verdünnt + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Inaktiviert (30' bei 56°) + 1,2-proz. Kochsalzlösung	Frisches, 4-fach verdünntes + inaktiviertes (30' bei 56°) Serum
I	0,7	0,5	0,7
	0,7	0,15	0,32
II	1,06	1,3	1,5
	1,06	1,4	1,2

Der beschriebene Antagonismus zwischen frischem und inaktiviertem Serum gleicht sich also bei längerem Kontakt (1 Stunde) der Sera nicht nur nicht aus, sondern tritt dadurch nur noch deutlicher hervor.

Um festzustellen, ob dieser phagocytosehemmende Einfluß des inaktivierten Serums sich gegen die Leukocyten, oder die Bakterien oder aber direkt gegen die „Oponine“ des frischen Normalserums richtet, erschien es interessant, zu erfahren, ob eine vorherige Mischung der beiden Sera den Antagonismus befördert oder herabsetzt. Diese Versuche führten zu keinem eindeutigen Ergebnis.

Tabelle 22.

No.	4-fach verdünntes frisches Serum + inaktiviertes Serum + Leukocyten + Bakterien 15' bei 37°	4-fach verdünntes Serum + inaktiviertes Serum
		15' bei 37° + Leukocyten + Bakterien 15' bei 37°
I	0,47	0,47
II	0,33	0,43
III	0,5	0,4

Wenn auch diese Versuche keinen Schluß auf den Angriffspunkt des inaktivierten Serums bei seiner phagocytoseherabsetzenden Wirkung zulassen, so weist doch die Tatsache, daß der für das inaktivierte Serum ermittelte Index regelmäßig höher ist, als der der Kochsalzlösung, darauf hin, daß die Leukocyten und Bakterien dabei nicht beteiligt sind. Von vornherein wäre es ja denkbar gewesen, daß die Oponine des Normalserums nach Art der Agglutinoide verändert werden und so die Bakterien dem Einfluß des neu hinzugefügten frischen Serums entziehen; daß dies aber tatsächlich nicht der Fall ist, geht aus der an allen drei Paratyphusstämmen gemachten Beobachtung hervor, daß bei 37° mit inaktiviertem Serum vorbehandelte Bakterien der Phagocytose in ausgesprochenem Maße zugänglich gemacht werden.

Es bleibt also schließlich nur noch die Möglichkeit offen, daß das inaktivierte Serum unmittelbar auf das frische Serum einwirkt und seinen phagocytosebefördernden Einfluß herabsetzt. Eine Stütze findet diese

Anschauung in dem soeben geschilderten Versuch, wo der vorhergehende 15 Minuten lange Kontakt der beiden Sera den „Antagonismus“ besonders deutlich in die Erscheinung treten läßt. Der beobachtete Antagonismus ist also als eine antiopsonische, d. h. gegen die Normalopsonine des frischen Serums gerichtete, Wirkung des inaktivierten Serums anzusprechen. Da nun, wie wir gezeigt haben, das inaktivierte Serum aber auch Opsonine enthält, so bliebe noch das Verhältnis der in einem inaktivierten Serum enthaltenen Opsonine und Antiopsonine zueinander zu erörtern. Die Besprechung dieser Frage würde jedoch zu weit von unserem eigentlichen Thema ablenken, und soll daher erst später erfolgen.

Absorptionsversuche.

Schließlich wurden auch mit diesem Stamm Absorptionsversuche, und zwar in derselben Weise wie bei den Stämmen I und II, ausgeführt.

Tabelle 23.

No.	Bakterien	Serum	Kochsalzlösung	Versuch			
				I	II	III	IV
1	Unbehandelte Bakterien	.	+ 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung	0,06	0,0	0,0	0,12
2	dgl.	+ 4-fach verdünntes frisches Normalserum	+ 1 Teil 1,2-proz. Kochsalzlösung	0,2	0,2	0,2	0,52
3	dgl.	+ 4-fach verdünntes frisches, bei 0° mit Bakterien vorbehandeltes Serum	dgl.	0,3	0,33	0,26	0,6
4	Bakterien bei 37° mit frischem Serum vorbehandelt	.	+ 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung	0,4	0,16	0,16	0,66
5	dgl.	+ 4-fach verdünntes frisches Normalserum.	+ 1 Teil 1,2-proz. Kochsalzlösung	0,45	0,36	0,36	0,75
6	dgl.	+ 4-fach verdünntes frisches, bei 0° mit Bakterien vorbehandeltes Serum	dgl.	0,3	0,4	0,22	1,03
7	Bakterien bei 0° mit frischem Serum vorbehandelt	.	+ 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung	0,13	0,02	0,02	0,1
8	dgl.	+ 4-fach verdünntes frisches Normalserum	+ 1 Teil 1,2-proz. Kochsalzlösung	0,2	0,16	0,16	0,5
9	dgl.	+ 4-fach verdünntes frisches, bei 0° mit Bakterien vorbehandeltes Serum	dgl.	0,2	0,3	0,3	0,56
10	Bakterien 37° mit inaktiviertem Serum vorbehandelt	.	+ 2 Teile 1,2-proz. Kochsalzlösung	0,1	0,06	0,06	0,13
11	dgl.	+ 4-fach verdünntes frisches Normalserum	+ 1 Teil 1,2-proz. Kochsalzlösung	0,3	0,06	0,06	0,43
12	dgl.	+ 4-fach verdünntes frisches, bei 0° mit Bakterien vorbehandeltes Serum	dgl.	0,36	0,26	0,06	0,56

Auch hier wieder das gleiche Ergebnis wie bei den früheren Versuchen: bei 0° wird kein Opsonin gebunden (No. 3 und 7–9); bei 37° wohl das des frischen Serums (No. 4), nicht aber das des inaktivierten Serums (No. 10). Auch bei dieser Versuchsreihe ist keine Reaktivierung im Sinne eines Zusammentretens von Ambozeptor und Komplement zu verzeichnen (No. 11 verglichen mit No. 2 und No. 8 mit No. 2).

Schlusfolgerungen.

Zwischen dem bakteriologischen und phagocytosebefördernden Vermögen des normalen Serums bestehen keine direkten Beziehungen.

Das Normalopsonin ist mit dem bakteriolytischen Komplement nicht identisch, da es noch bei Serumverdünnungen wirkt, bei denen das Komplement unwirksam ist, da es einer Temperatur widersteht, welche das Komplement vernichtet und schließlich weil es durch Dialyse vom Komplement getrennt werden kann.

Das Normalopsonin ist nicht komplex, d. h. ∞ Ambozeptor + Komplement, gebaut, da eine Reaktivierung auf keine Weise gelingt.

Das Normalopsonin wird bei 0° nicht von den Bakterien verankert, wenn man nur dafür Sorge trägt, daß alle Bakterien noch bei niedriger Temperatur wieder aus dem Serum entfernt werden.

Frisches und inaktiviertes Serum verhalten sich in ihrer Wirkung auf das Zustandekommen der Phagocytose antagonistisch. Dieser Antagonismus ist auf ein im erhitzten Serum vorhandenes Antiopsonin zu beziehen.

Im Normalserum sind wenigstens zwei die Phagocytose begünstigende Bestandteile, Normalopsonin A und Normalopsonin B enthalten.

Das Normalopsonin A ist nicht hitzebeständig und verbindet sich mit dem Antiopsonin des inaktivierten Serums.

Das Normalopsonin B ist hitzebeständig und geht mit dem Antiopsonin des inaktivierten Serums keine Verbindung ein.

Die Tatsache, daß die Menge des Antiopsonins in gleichmäßig inaktivierten Seris sehr verschieden ist, und daß der Antiopsoningehalt des inaktivierten Serums in keinem festen Verhältnis zum Opsoningehalt desselben frischen Serums steht, spricht an und für sich noch nicht gegen die Annahme, daß das Antiopsonin aus dem Normalopsonin A entsteht, da der gleiche Opsoningehalt zweier frischer Sera sich aus verschieden großen Faktoren von Normalopsonin A + Normalopsonin B zusammensetzen kann.

Diese Schlusfolgerungen beziehen sich vorläufig nur auf Paratyphus-Opsonine. Ueber Tuberkuloseopsonine, bei denen entsprechende Tatsachen gefunden wurden, soll in Anschluß an unsere erste Mitteilung später ausführlich berichtet werden.

Edinburgh und Saarbrücken im August 1908.

Literatur.

- Fornet und Porter, Ueber den Bau der Opsonine. (Verhandl. d. Ges. Deutscher Naturf. u. Aerzte. Dresden 1907.)
 Dean, An experimental inquiry into the nature of the substance in serum which influences phagocytosis. (Proc. Roy. Soc. Ser. B. Vol. XXVI. 1905.)
 Muis and Martin, Brit. Med. Journ. 1906. 22. December
 Levaditi et Jumann, Contribution à l'étude des opsonines. (Soc. d. Biol. T. XLII. 1907.)
 — et Koessler, Contribution à l'étude des opsonines normales. Ibid. p. 685.
 Cowie and Chapin, On the reactivation of heated normal human opsonic serum with fresh diluted serum. (Journ. of Med. Res. 1907. No. 100.)

- Neufeld und Hüne, Untersuchungen über die bakterizide Immunität und Phagocytose. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. XXV. Heft 1.)
 Meyer, K., Ueber die phagocytosebefördernden Substanzen des Blutserums. (Berliner klin. Wochenschr. 1908. No. 20.)
 Haentjens, Ueber das Ausbleiben der Phagocytose bei Komplementbindung. (Münch. med. Wochenschr. 1907.)
 Bearn and Cramer, On zymoids. (Biochem. Journ. Vol. II. No. 4.)
 Pollack, Beitr. z. chem. Phys. u. Path. Bd. V. 1904.
 Schwarz, *ibid.* Bd. VI. 1905.
 Löhlein, Sur la phagocytose „in vitro“ de microbes pathogènes. (Ann. d. l'Inst. Past. 1905 und 1906.)

Nachdruck verboten.

Sur la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum des malades atteints de lèpre.

[Travail du laboratoire de Médecine expérimentale de la Faculté de Médecine de Bucarest (Prof. Dr. Cantacuzène).]

Note préliminaire.

Par **A. Slatinéanu** et **D. Daniélopolu**.

Pour la première fois, Eitner¹⁾, en 1906, faisant des recherches sur la présence de fixateur dans le sang d'un malade atteint de lèpre, trouva que le sérum de ce malade était capable de fixer complètement l'alexine en présence d'un extrait lépreux, comme antigène.

Ultérieurement, dans un autre cas de lèpre, le même auteur obtient des résultats identiques, en employant cette fois-ci, au lieu de l'antigène lépreux, un extrait de cœur de cobaye normal, et conclut de ses recherches que le sérum lépreux se comporte, au point de vue de la fixation de l'alexine, de la même manière qu'un sérum syphilitique.

Ces résultats ont été confirmés plus tard par Wechselsmann et Meyer²⁾. Le sérum lépreux examiné par ces auteurs avait la propriété de fixer complètement l'alexine, en présence tant de l'extrait de foie de nouveau-né syphilitique, que de l'extrait alcoolique de cœur de cobaye normal ou d'une émulsion de lécithine, tout comme un sérum syphilitique par conséquent. Enfin la précipitation de la lécithine obtenue avec le sérum du malade fournissait un point commun de plus entre le sérum lépreux et le sérum syphilitique.

Quoique ces auteurs assurent dans leur article que le malade n'avait jamais eu d'accidents syphilitiques, on pouvait supposer que la propriété qu'avait le sérum du malade de fixer l'alexine en présence des antigènes employés, était due à une infection syphilitique latente qui aurait passé inaperçue.

La question ne pouvait donc être résolue que sur un grand nombre de cas.

Ayant à notre disposition 26 cas de lèpre (de l'hospice de lépreux de Tikilesti-Dobrogea), nous avons fait avec leur sérum des recherches sur la fixation de l'alexine.

Nous avons employé comme antigène l'extrait lépreux, l'extrait alcoolique de foie syphilitique et la lécithine. De plus, ayant en vue la

1) Wien. med. Wochenschr. 1906. No. 51.

2) Dtsche med. Wochenschr. 1908. No. 31.

parenté entre le bacille lépreux et le bacille de la tuberculose, nous avons essayé la même réaction en employant la tuberculine précipitée comme antigène.

Nous avons recherché enfin dans tous ces cas la propriété précipitante du sérum lépreux sur l'émulsion de lécithine.

Les autres recherches étant encore incomplètes, nous exposerons dans cette première note les résultats obtenus par la méthode de la fixation du complément, en employant l'extrait lépreux aqueux et sec comme antigène, nous réservant d'exposer dans de notes ultérieures la série de recherches concernant cette même réaction en présence de l'extrait syphilitique, de la tuberculine et de l'émulsion de lécithine, ainsi que la réaction de précipitation de cette dernière substance par le sérum de nos malades.

Tous les malades sur lesquels nous avons fait nos recherches étaient des lépreux très avancés. Quoique l'aspect clinique ne laissait aucun doute sur la nature des lésions, nous avons contrôlé un certain nombre de cas par la recherche du bacille de Hansen, que nous avons toujours trouvé en très grand nombre dans les lésions cutanées.

En résumé, la grande majorité des sérums examinés nous a donné un résultat nettement positif, c'est à dire, qu'en présence de l'extrait lépreux, le sérum des malades a été capable d'empêcher complètement l'hémolyse en fixant l'alexine du mélange.

De 26 sérums éprouvés, nous avons obtenu une fixation complète de l'alexine dans 20 cas, et une fixation plus légère, mais assez prononcée pour pouvoir être considérée comme réaction positive dans 4 cas.

Chez les deux derniers malades enfin, la fixation de l'alexine a été très faible.

En faisant le pourcentage, 95 % des sérums nous ont donné des résultats positifs.

Comme terme de comparaison nous nous sommes servis de 10 sérums humains normaux, dont aucun n'a empêché l'hémolyse en présence de l'antigène lépreux.

L'antigène que nous avons employé dans nos recherches a été préparé avec des lépromes extirpés aseptiquement et contrôlés ensuite par la recherche du bacille lépreux.

Les lépromes ont été finement broyés; la pulpe obtenue a été mélangée à de l'eau physiologique (0,85 %) contenant 0,5 % d'acide phénique. Le mélange a été agité pendant 24 heures dans un agitateur électrique et centrifugé ensuite jusqu'à complète transparence.

Avant de commencer la réaction proprement-dite, nous avons éprouvé l'extrait obtenu de cette manière, au point de vue de son pouvoir fixateur

No.	Antigène c. c.	Alexine c. c.		Sérum hémolytique c. c.	Sang de chien (Dil.: 5 %) c. c.	Résultats
1	1	0,1	Une heure à 37°	0,01	1	Hémolyse très légère
2	0,8	"		"	"	" légère
3	0,6	"		"	"	" moyenne
4	0,4	"		"	"	" complète
5	0,3	"		"	"	" "
6	0,2	"		"	"	" "
7	0,1	"		"	"	" "
8	0,05	"		"	"	" "

Erste Abt. Orig. Bd. XLVIII.

Heft 4.

31

No.		Antigène	Sérum du malade chauffé à 56°	Alexine de cobaye ¹ / ₁₀	Eau phy- siologique (0,85%)	Sérum hémolytique 1%	Hématies de chien Dil.: 5%	Résultats (hémolyse)
		c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	
1	L. P.	0,2	0,3	1	1,5	1	1	nulle
2	"	"	0,2	"	1,6	"	"	"
3	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
4	G. A.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
5	"	"	0,2	"	1,6	"	"	"
6	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
7	G. P.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
8	"	"	0,2	"	1,6	"	"	"
9	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
10	V. P.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
11	"	"	0,2	"	1,6	"	"	légère
12	"	"	0,1	"	1,7	"	"	moyenne
13	J. N.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
14	"	"	0,2	"	1,6	"	"	légère
15	"	"	0,1	"	1,7	"	"	moyenne
16	E. L.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
17	"	"	0,2	"	1,6	"	"	légère
18	"	"	0,1	"	1,7	"	"	moyenne
19	P. B.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
20	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
21	S. P.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
22	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
23	J. P.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
24	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
25	O. A.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
26	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
27	A. S.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
28	"	"	0,1	"	1,7	"	"	moyenne
29	T. J.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
30	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
31	J. C.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
32	"	"	0,1	"	1,7	"	"	moyenne
33	E. J.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
34	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
35	P. L.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
36	"	"	0,1	"	1,7	"	"	moyenne
37	P. M.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
38	"	"	0,1	"	1,7	"	"	moyenne
39	A. P.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
40	N. P.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
41	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
42	T. B.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
43	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
44	G. V.	"	0,3	"	1,5	"	"	nulle
45	"	"	0,1	"	1,7	"	"	légère
46	R. V.	"	0,3	"	1,5	"	"	très légère
47	"	"	0,2	"	1,6	"	"	légère
48	"	"	0,1	"	1,7	"	"	moyenne

No.	Antigène	Sérum du malade chauffé à 56°	Alexine de cobaye $\frac{1}{10}$	Eau physiologique (0,85%)	Sérum hémolytique 1%	Hématies de chien Dil.: 5%	Résultats (hémolyse)
	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	
49	G.T.	0,2	0,3	1	1,5	1	très légère
50	"	"	0,2	"	1,6	"	légère
51	"	"	0,1	"	1,7	"	moyenne
52	S.M.	"	0,3	"	1,5	"	très légère
53	"	"	0,1	"	1,7	"	moyenne
54	M.J.	"	0,3	"	1,5	"	très légère
55	"	"	0,1	"	1,7	"	moyenne
56	J.S.	"	0,3	"	1,5	"	forte
57	"	"	0,1	"	1,7	"	complète
58	J.B.	"	0,3	"	1,5	"	forte
59	"	"	0,1	"	1,7	"	complète
60	Sérum normal No. 1	"	0,3	"	1,5	"	Hémolyse complète dans tous les tubes, ainsi que dans les mélanges faits avec 9 autres sérums humains normaux
61	"	"	0,2	"	1,6	"	
62	"	"	0,1	"	1,7	"	

d'alexine, pour établir ainsi la quantité maxima d'extrait qui, employée sans sérum spécifique, permettait l'hémolyse complète.

Dans ce but nous avons fait les mélanges suivants (voir tabl. p. 481).

Nous avons employé la moitié de la quantité maxima d'extrait, en présence de laquelle le sang a été complètement hémolysé, c'est à dire 0,2 c. c.

La plupart des sérums ont été éprouvés de nouveau avec un autre extrait lépreux obtenu de la manière suivante: de petits fragments de lépreme, desséchés dans le vide, ont été pulvérisés dans un mortier et mélangés à de l'eau physiologique dans la proportion de 1 à 30 c. c. Le mélange tenu pendant 10 heures à la glacière, a été longuement centrifugé ensuite.

Nous nous sommes servis, comme alexine, de sérum de cobaye normal.

Le sérum hémolytique employé a été fourni par une chèvre qui avait reçu des injections répétées de sang de chien.

Nous donnons plus bas le tableau contenant les résultats obtenus avec les sérums lépreux et les sérums normaux comme témoins (voir tabl. p. 482 et 483).

Conclusions:

Dans 95 % des cas, nous avons trouvé dans le sérum des malades atteints de lèpre des anticorps fixateurs d'alexine.

L'intensité de cette propriété du sérum chez les divers malades a varié dans des proportions limitées.

Bucarest, 1/14 septembre 1908.

Nachdruck verboten.

Ueber Anaphylaxie beim Kaninchen unter besonderer Berücksichtigung des „Arthusschen Phänomens“.

[Aus der Abteilung für Pathologie und Bakteriologie an der medizinischen Fakultät der Universität St. Louis.]

Von **R. L. Thompson** und **J. W. Marchildon**.

Wenn Kaninchen mit Einspritzungen von Pferdeserum in angemessenen Zwischenräumen behandelt werden, oder wenn sie mehrere kleine Dosen von Serum 2 oder 3 Tage lang erhalten, so wird die Subcutis des Tieres so empfindlich gemacht, daß auf eine weitere Dosis von Serum eine deutliche lokale Reaktion erfolgt, deren weitere Stadien in einem typischen Falle in Oedem, Röte (von rosa bis tief dunkelrot), trockene schwarze Nekrose und Ulceration mit sehr langsamer Erholung auslaufen.

Diese Reaktion wurde zuerst von Arthus¹⁾ 1903 bemerkt, und wird als das „Arthussche Phänomen“ bezeichnet.

Es ist von Arthus und Breton, sowie von Nicolle²⁾ und ferner von Lewis bei Meerschweinchen³⁾ näher untersucht worden.

Daß diese Reaktion nur eine Abänderung des wohlbekanntes „Theobald Smithschen Phänomens“ ist, wurde von Gay und Southard, Otto, Lewis und anderen Forschern auf diesem Gebiet hervorgehoben. Es wird angenommen, daß das subkutane Gewebe beim Kaninchen die Kraft hat, eine genügende Menge des toxischen Elements des Serums festzuhalten, so daß die lokale Reaktion über die allgemeine Reaktion die Oberhand gewinnt.

Die bei der Ausführung dieser Reaktion zutage tretenden Erscheinungen schienen weiterer Forschung wert, und die von Gay und Southard⁴⁾ in ihrer „Untersuchung der Serumanaphylaxie bei Meerschweinchen“ gebotene Anregung hat zu vorliegender Untersuchung Anlaß gegeben.

Als Vorbereitung zu unserer Untersuchung mit Pferdeserum wurde eine Anzahl von indifferenten Substanzen unter die Haut am Rücken von Kaninchen eingespritzt, um festzustellen, ob das „Arthussche Phänomen“ auch durch andere Stoffe als durch Serum hervorgerufen werden kann. Diese Stoffe verursachten indessen keine lokale Reaktion, wenn wiederholte Einspritzungen in Zwischenräumen erfolgten. Von den von uns verwandten Substanzen erwähnen wir die folgenden: Physiologische Kochsalzlösung, Bouillon, Milch, Harnstoff, Pankreatin und Glyzerin. Es wurden von diesen Stoffen Mengen gegeben, welche im Falle von Serum genügt hätten, eine Reaktion zu erzeugen, und es wurden im ganzen 7 Einspritzungen in Zwischenräumen von je 6 Tagen gemacht. Mit Ausnahme einer geringen Erhärtung an der Einspritzungsstelle hatte diese Behandlung keine Folgeerscheinungen. Die letzten Einspritzungen verursachten keine Veränderung, die sich in irgendeiner Weise von den durch die ersten Einspritzungen erzeugten unterschieden hätten.

1) Arthus, Compt. rend. de la Soc. de biol. 1903. No. 22.

2) Nicolle, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XXI. 1907. No. 2.

3) Lewis, Journ. of exper. Med. Vol. X. 1908. No. 1.

4) Gay and Southard, Journ. of med. Research. Vol. XVI. 1907. No. 2.

Tabelle 1.
Indifferente Substanzen.

Kaninchen No.	Eingespritzte Substanz	Eingespritzte Menge	Zwischenraum zwischen den Einspritzungen	Anzahl der Einspritzungen	Hautreaktion
2 A	Physiol. Kochsalzlösung	5 ccm	6 Tage	7	keine
1 A	Physiol. Kochsalzlösung	10 "	6 "	7	"
3 A	Bouillon	5 "	6 "	7	"
4 A	Bouillon	10 "	6 "	7	"
14	Sterilisierte Milch	6 "	6 "	7	"
3	12-proz. wässrige Lösung von Harnstoff	6 "	6 "	7	"
9	Pankreatin	6 "	6 "	7	"
2	Glyzerin	6 "	6 "	7	"

Einspritzung mit Alkohol.

Bei unserem Versuch mit verschiedenen Substanzen bemerkten wir, daß eine Läsion, ähnlich derjenigen, welche bei mit Pferdeserum empfindlich gemachten Kaninchen durch eine spätere Einspritzung mit Pferdeserum erzeugt wird, bei Normalkaninchen mittels einer einzigen anreizenden Injektion von Alkohol hervorgebracht werden konnte. Es wurde eine Anzahl von Kaninchen mit Alkohol behandelt. Diese Tiere verhielten sich folgendermaßen: Eine subkutane Einspritzung von 95 proz. Alkohol erzeugt eine Hautverletzung, die der als „Arthussche Erscheinung“ bekannten Veränderung nach Seruminjektionen sehr ähnlich sieht. Eine einzige Einspritzung von 6 ccm kann diese Nekrose erzeugen. Eine stärkere Dosis ergibt fast ausnahmslos die krankhafte Veränderung nach einer einzigen Einspritzung. Die Einspritzung von absolutem Alkohol erzeugt keine größere Nekrosefläche als diejenige von geringerer Stärke (bis zu 80 Proz. hinunter). Eine Wiederholung der Einspritzung von Alkohol in die nekrotische Fläche oder die umgebenden Gewebe führt immer ein weiteres Umsichgreifen der Nekrose herbei. Dadurch unterscheidet sich Alkohol von der Wirkung des Pferdeserums. Wie an anderer Stelle bemerkt, kann die krankhafte Stelle durch weitere Einspritzung von Pferdeserum nicht vergrößert werden, wenn eine typische Veränderung einmal damit hervorgebracht ist. Dies zeigt den Unterschied zwischen der traumatischen Läsion infolge von Alkohol und derjenigen, welche die Folge von Ueberempfindlichmachung ist und nach ihrer Erscheinung keiner Veränderung unterliegt, sehr klar. Zusatz von Pferdeserum zu Alkohol oder die Einspritzung von alkoholischem Extrakt von Fäkalien ändert die Reaktion in keiner Weise. Man sollte dies eigentlich erwarten, denn diese traumatische Läsion erscheint schneller und breitet sich in der Regel stärker aus, als die durch das Serum hervorgerufenen Veränderungen.

Die Initialveränderung infolge von subkutaner Einspritzung von Alkohol zeigt sich in Röte und Verdickung der Haut und des subkutanen Gewebes. Bei Einspritzungen von geringen Mengen können diese Folgen durch Massage beseitigt werden. Oft wiederholte Einspritzungen von

kleinen oder großen Mengen erzeugen trockenen Brand der Haut und des subkutanen Gewebes. Die Veränderung kann von geringem Umfang sein, wenn kleine Mengen von Alkohol eingeführt werden, oder der Vorgang kann sich bis zu den Flanken und den Lenden des Tieres hinunter erstrecken bei Einspritzung von größeren Mengen von Alkohol. Die nekrotische Fläche ist von einer scharf gezeichneten hyperämischen Grenzlinie umgeben, welche sie von der normalen Haut trennt. Eine spätere Einspritzung von Alkohol in diese Fläche verursacht Ausstoßung der Nekrose, so daß ein großes, reines Geschwür verbleibt. Die Wunde heilt langsam nach Wochen. Das Geschwür wird mit der Zeit kleiner und ist scharf abgegrenzt. Es hat reine Ränder, die sich klar von der sich über dem Geschwür bildenden schwarzen nekrotischen Kruste abheben. Bei Entfernung der Kruste zeigt sich in den frühen Stadien der Heilung ein ziemlich normales Zellengewebe mit Granulationen. Die Kaninchen magern schnell ab und weisen eine bedeutend erhöhte Empfindlichkeit gegen Ansteckung durch Bakterien auf.

Tabelle 2.
Einspritzungen von Alkohol.

Kaninchen No.	Eingespritzte Substanz	Anzahl der Einspritzungen	Eingespritzte Menge	Wirkung	Wirkung späterer Einspritzungen	Gesamtanzahl von Einspritzungen
1	95-proz. Alkohol	2	6 ccm	Nekrose	Nekrosefläche vergrößert	6
10	Absoluter Alkohol	3	6 „	„	Nekrosefläche nach jeder Einspritzung vergrößert	5
25	80-proz. Alkohol	1	8 „	„	Nekrosefläche vergrößert	2
7	Alkoholischer Extrakt von Fäkalien	2	6 „	„	Nekrosefläche vergrößert	6
8	Pferdeserum und 95-proz. Alkohol zu gleichen Teilen	3	6 „	„	Nekrosefläche vergrößert	4

Einspritzung mit Ascites-, Pleura- oder Hydrocelenflüssigkeit.

a) Allgemeine Reaktion.

Wir waren in der Lage, Kaninchen mit Ascites-, Hydrocelen- oder Pleuraflüssigkeit empfindlich zu machen, so daß eine spätere Injektion eine Reaktion hervorbrachte. Die Reaktion kann entweder allgemein oder lokal sein, und sie besitzt eine recht hohe Spezifität. Ein mit einer dieser Flüssigkeiten empfindlich gemachtes Tier reagiert auf eine zweite Injektion nur der gleichen Flüssigkeit. So folgte z. B. bei den Kaninchen No. 4 und 6, welche mit Ascitesflüssigkeit empfindlich gemacht waren, eine allgemeine Reaktion, und sie gingen auf eine weitere Einspritzung von Ascitesflüssigkeit ein, während Hydrocelenflüssigkeit keine Reaktion ergab. Die allgemeine Reaktion kann stark ausgesprochen sein und kann zum Tode führen, wenn die Injektion beim Tier in die Bauchhöhle erfolgt. Die Ergebnisse der Sektion solcher Kaninchen

Tabelle 3.

Einspritzungen mit Flüssigkeiten aus dem menschlichen Körper.

Kaninchen No.	Empfindlich gemacht mit	Zweite Einspritzung	Gehalt der zweiten Einspritzung	Wirkung
4	Ascitesflüssigkeit	14 Tage	15 ccm Ascitesflüssigkeit intraperitoneal	Allgemeine Reaktion in 12 Std., Tod, Sektion, Bluterguß im Magen
5	Ascitesflüssigkeit	14 „	15 ccm Hydrocelenflüssigkeit intraperitoneal	Keine Reaktion
5	Ascitesflüssigkeit	15 „	17 ccm Ascitesflüssigkeit intraperitoneal	Tod in 20 Min., Blutergußfläche in der hint. Wandung des Magens. 3 Blutergüsse im Ileum
70	Normalkaninchen (Kontrolle)		15 ccm Ascitesflüssigkeit intraperitoneal	Keine Reaktion
2	Hydrocelenflüssigkeit	14 „	30 ccm Pleuraflüssigkeit intraperitoneal	Geringe allgemeine Reaktion. Schnelle Erholung, Gewichtsverlust
3	Hydrocelenflüssigkeit	14 „	30 ccm Pleuraflüssigkeit intraperitoneal	Keine Reaktion
3	Hydrocelenflüssigkeit	15 „	45 ccm Hydrocelenflüssigkeit intraperitoneal	Geringe allgemeine Reaktion. Erholung in 2 Tagen. Allmähliche Abmagerung während 1 Monats. Erholung
22	Normalkaninchen (Kontrolle)		45 ccm Hydrocelenflüssigkeit intraperitoneal	Keine Reaktion
6	Ascitesflüssigkeit	14 „	25 ccm Pleuraflüssigkeit intraperitoneal	Keine Reaktion
6	Ascitesflüssigkeit	15 „	30 ccm Ascitesflüssigkeit subkutan, an der Rückenhaul	Keine allgemeine Reaktion, etwas Oedem und Verdickung der Haut; verschwand in 4 Tagen. Haut blieb normal. Es erfolgte keine Abmagerung
81	Empfindlich gemacht durch wiederh. kleine Einspritzungen von Pleuraflüssigkeit in das Peritoneum 3 Tg. lang	14 „	12 ccm Pleuraflüssigkeit subkutan an der Rückenhaul	Oedem an beiden Lenden 5×5 cm groß; verschwand in 5 Tagen
14	Wie bei No. 81	14 „	15 ccm Pleuraflüssigkeit subkutan an der Rückenhaul	Geringes Oedem $2 \times 2\frac{1}{2}$ „ auf der linken Flanke, verschwand in 5 Tagen
21	Wie bei No. 81	14 „	10 ccm Pleuraflüssigkeit subkutan an der Rückenhaul	Etwas Oedem an beiden Lenden und den dazu gehörigen Teilen 3×4 cm. Kein Anzeichen von Entzündung. Verschwand in 4 Tagen

waren deutlich hervortretende Blutungen in den Wandungen des Magens und des Ileums und — in einem Falle — des Jejunums. Wenn Kaninchen infolge der allgemeinen Reaktion nicht eingehen, so verlieren sie an Gewicht und magern ab, erholen sich aber schnell. Die Abmagerung dieser Kaninchen ist nicht so stark, und die Erholung erfolgt schneller als bei Kaninchen, welche auf Pferdeserum reagiert haben.

Spätere Injektionen bei solchen Kaninchen verhindern ihre Heilung und verursachen andauernden Verlust an Gewicht. Eine zweite Reaktion außer dieser kann bei Kaninchen, welche einmal auf diese Flüssigkeit reagiert haben, nicht hervorgebracht werden.

Tabelle 4a.

Allgemeine Reaktion bei mit Pferdeserum empfindlich gemachten Kaninchen.

Kaninchen No.	Empfindlich gemacht mit	Zwischenraum	Zweite Einspritzung	Ein-spritzungs-stelle	Reaktion	Spätere Ein-spritzungen	Wirkung
7 A	$\frac{1}{20}$ ccm Pferdeserum	12 Tage	6 ccm	Subkutan am Rücken	Keine	3 von je 6 ccm	Keine
8 A	$\frac{1}{2}$ ccm Pferdeserum	9 „	10 „	Subkutan am Rücken	Sehr schwache Symptome	2 von je 6 ccm	Keine
19 A	3 ccm Pferdeserum	14 „	20 „	Intra-peritoneal	Starke Symptome. Erholung am 2. Tage	1 von 10 ccm	Gewichtsverlust
27 A	4 ccm Pferdeserum	15 „	30 „	Intra-peritoneal	Tod nach 12 Std. Blutergüsse im Magen und in den Gedärmen		

b) Lokale Reaktion.

Bei mit Ascites- oder Pleuraflüssigkeit sensibilisierten Kaninchen tritt eine lokale Reaktion ein, wenn eine genügende Menge der Flüssigkeit in den Rücken nach einem angemessenen Zwischenraum subkutan eingespritzt wird. Die auftretende lokale Reaktion ist der Pferdeserumreaktion ähnlich, hat aber eine äußerst milde Form. Brand oder Nekrose wurde nicht hervorgerufen, wohl aber Oedem und Verdickung der Haut und des subkutanen Gewebes. Auf eine Einspritzung von 15 ccm oder mehr von einer dieser Flüssigkeiten bei einem richtig empfindlich gemachten Tier tritt eine etwas späte Reaktion ein. Die Reaktion beginnt am 2. oder 3. Tage nach der Einspritzung. Sie erscheint in dem abhängigen Teile einer oder beider Lenden als Oedem, ist nie mehr als 5 cm breit und verschwindet den 2. oder 3. Tag nach ihrem Auftreten.

Wenn dieses vorübergehende Oedem verschwunden ist, stellt sich keine weitere Läsion ein, selbst auf weitere Einspritzungen, das Tier magert nur ab. Werden die Einspritzungen suspendiert, so gewinnt das Kaninchen sein Normalgewicht schnell wieder. Es war uns nicht möglich, eine lokale Reaktion hervorzubringen durch subkutane Rückeneinspritzungen von 6 ccm in Zwischenräumen. Bei so behandelten Kaninchen tritt kein Oedem ein, und die Haut bleibt vollkommen normal.

Tabelle 4b.
Lokale Reaktion auf Pferdeserum bei empfindlich gemachten Kaninchen.

Kaninchen No.	Eingespritzte Menge Serum	Einspritzstelle	Zwischenraum zwischen den Einspritzungen	Anzahl der Einspritzungen	Wirkung	Spätere Einspritzungen	Wirkung
7	$\frac{1}{10}$ ccm	Subkutan am Rücken	12 Stunden	64	Keine	4 Monate nach der letzten Einspritzung 20 ccm Serum subkutan am Rücken	Keine
8	1 „	do.	Täglich (24 Stunden)	42	„	2 Monate später 25 ccm subkutan am Rücken	„
9	5 „	do.	6 Tage	7	„		
10	5 „	do.	5 „	8	„		
30	6 „	do.	6 „	6	Lokales Oedem Verdickung der Haut	5 Tage	Verschwand. Haut normal
36	6 „	do.	6 „	7	Lokales Oedem	7 „	Verschwand. Haut normal
37	1. Einspritzung 20 ccm Serum subkutan am Rücken. Dann 6 ccm jeden 6. Tag			10	Keine		
38	Die ersten beiden Einspritzungen 20 ccm Serum subkutan am Rücken. Dann 6 ccm jeden 6. Tag			6	„		
39	Die ersten 3 Einspritzungen 5 ccm Serum subkutan an der Rücken- haut jeden 6. Tag			Zwischenräume von 4 Wochen		20 ccm Serum subkutan an der Rücken- haut	Lokales Oedem
91	1 ccm Serum zweimal täglich 3 Tage lang, intraperitoneal			Zwischenräume von 14 Tagen		6 ccm Serum subkutan am Rücken	Nekrose
3B	1 ccm Serum zweimal täglich 3 Tage lang, intraperitoneal			Zwischenräume von 14 Tagen		15 ccm Serum subkutan am Rücken	Lokales Oedem

Lokale Reaktion auf Serum.

Wir haben sowohl eine allgemeine wie auch eine lokale Anaphylaxie bei Kaninchen durch die Verwendung von Pferdeserum hervorgebracht. Mit der subkutanen Einspritzung konnten wir bei den empfindlich gemachten Kaninchen nur eine leichte allgemeine Reaktion erzielen. Eine starke Reaktion wird aber leicht erzielt durch intraperitoneale Einspritzung des Serums. Stellte sich als Endergebnis der allgemeinen Reaktion der

Tod ein, so fanden wir hämorrhagische Veränderungen vor, wie sie von Gay und Southard bei Meerschweinchen beschrieben sind.

Die unter dem Namen „Arthussches Phänomen“ bekannte lokale Reaktion haben wir bei einer Anzahl von Kaninchen hervorgebracht. Als interessante Vorkommnisse bei dieser Reaktion wollen wir die folgenden hervorheben: Die häufigen Gaben von kleinen Mengen von Pferdeserum erzeugen bei subkutaner Einspritzung keine lokale Reaktion. Dagegen wird Immunität gegen die Wirkung dieser Einspritzung durch eine solche Behandlung erlangt. Spätere Einspritzungen, selbst von großen Mengen von Serum, nach Zwischenräumen von 3—4 Monaten, bleiben bei dem so behandelten Tiere ohne lokale Wirkung.

Subkutane Einspritzungen von 6 ccm Pferdeserum in Zwischenräumen von je 6 Tagen erzeugen nach 6—7 Gaben ein Oedem, welches in 3—4 Tagen verschwindet und die Haut und das subkutane Gewebe angreift. Weitere Einspritzungen von Serum in Zwischenräumen vergrößern die Veränderung nicht. Mit anderen Worten: Wir sind nicht imstande gewesen, Brand und Nekrose durch Einspritzungen in Zwischenräumen, wie von Nicolle beschrieben, hervorzubringen.

Ist die erste oder zweite Einspritzung stark (20—25 ccm Pferdeserum) und folgen darauf Injektionen von 6 ccm jeden sechsten Tag, so kann keine Veränderung hervorgebracht werden, selbst wenn schließlich stärkere Dosen zur Verwendung kommen. Andererseits haben wir durch geeignete Sensibilisierung und spätere starke Einspritzungen die „Arthusschen Veränderungen“ hervorbringen können. Die Gabe von kleinen Dosen 2 oder 3 Tage lang oder eine einzige Einspritzung von 6 ccm genügt zur Sensibilisierung. Nach 3 oder 4 Wochen oder auch länger bringt die Einspritzung einer einzigen Dosis von 12—20 ccm Serum dann die lokale Veränderung hervor. Unsere besten Ergebnisse erzielten wir durch Injektion von kleinen Serummengen, 1—5 ccm, in die Bauchfellhöhle, und zwar zwei- bis dreimal täglich während der Dauer von 2—3 Tagen. Nach einem Zwischenraum von 2—3 Wochen erzeugte eine einzige subkutane Einspritzung von 15—20 ccm Serum am Hinterücken eine intensive lokale Reaktion, welche entweder in der Form von Oedem oder von Nekrose auftrat.

Wenn die Reaktion in Form eines Oedems auftritt, so beginnt sie langsamer als wenn Nekrose erfolgt. Bis nach 12 Stunden tritt keine Veränderung ein, aber 2 Tage später erscheint eine gallertartige Masse, welche die Haut und das subkutane Gewebe angreift und daran haftet. Die Verletzung kann an den beiden Lenden liegen, während normale Haut die ödematösen Massen trennt. Sie kann die Größe eines Hühner-eies erreichen und irrtümlicherweise für einen Absceß gehalten werden. Seine stärkste Größe erreicht das Oedem am vierten Tage. Es kann durch Veränderung der Lage des Kaninchens nicht aus seiner Lage gebracht werden. Nach 10 Tagen bis 2 Wochen verschwindet es allmählich und die Haut scheint normal geblieben zu sein.

Wenn die normale Reaktion in Form von Nekrose auftritt, so erfolgt der Anfang früher, und die Entwicklung vollzieht sich schneller. Nach 12 Stunden erscheint eine Verdickung und Erhärtung der Haut von rosafarbenem Aussehen; am zweiten Tage bildet sich daraus eine runde erhöhte Fläche von 5—10 ccm Durchmesser und purpurroter Farbe. Die Röte wird immer intensiver, und am 3. oder 4. Tage ergibt sich eine schwarze, nekrotische Fläche mit einer deutlichen, schmalen Kruste. Diese Verletzungen sind für das Kaninchen ohne Bedeutung,

und auch eine Gewichtsabnahme tritt erst nach mehreren Tagen ein. Eine weitere Einspritzung von Pferdeserum vergrößert die Nekrosefläche nicht, nachdem sie sich einmal gebildet hat.

Passive Uebertragung (a).

Wir haben die allgemeine Ueberempfindlichkeitsreaktion bei jungen Kaninchen bemerkt, welche von einem mit Pferdeserum empfindlich gemachten Muttertier stammen. Diese Reaktion entstand nicht in dem betreffenden Falle bei späterer Injektion mit altem antitetanischen Serum. Es wurde auch keine Hautveränderung durch intraperitoneale Einspritzung von Pferdeserum oder altem Serum hervorgebracht. Ein junges Kaninchen, von einem auf Pferdeserum empfindlich gemachten Muttertier stammend, erhielt Ascitesflüssigkeit subkutan unter die Rückenhaut. Darauf folgte Nekrose mit Bildung eines Geschwürs von 6 cm Durchmesser mit reinen Rändern und Fläche. Das Geschwür heilte allmählich ab, und der Rücken war nach 40 Tagen wieder normal. Nach der Heilung brachte eine Einspritzung von Pleuraflüssigkeit und normalem Pferdeserum unter die Rückenhaut keine krankhafte Veränderung hervor. Wiederholte Einspritzungen erzeugten keine allgemeine Reaktion, mit Ausnahme einer allmählichen Abmagerung.

Tabelle 5.
Passive Uebertragung (a).

Kaninchen No.	Alter	Mutter	Einspritzung	Reaktion	Wirkung
19	62 Tage	Auf Pferdeserum empfindlich gemacht	20 ccm Pferdeserum intraperitoneal	Intensive allgemeine Reaktion. Keine Hautreaktion	Abmagerung und spätere vollständige Erholung in 5 Wochen
15	62 „	do.	15 ccm altes antitetanisches Serum von 1903, intraperitoneal	Keine Reaktion	Normal
18	62 „	do.	15 ccm ascitische Flüssigkeit, subkutan an der Haut des Rückens	Große Schorfbildung mit darauf folgendem scharf abgegrenztem Geschwür von 5 cm	In 40 Tagen geheilt, bei späterer Einspritzung von pleuritischer Flüssigkeit keine Reaktion

Passive Uebertragung (b).

Kaninchen No.	Empfindlich gemacht durch	Zwischenraum	Zweite Einspritzung	Wirkung
1 C	15 ccm Kaninchen-serum von zwei mit typischem Arthus behafteten Kaninchen, intraperitoneal	1 Stunde	8 ccm Pferdeserum, subkutan an der Haut des Rückens	12 Stunden später leichtes Oedem und Rötung der Haut, verschwand am 2. Tage
2 C	10 ccm Kaninchen-serum von zwei mit typischem Arthus behafteten Kaninchen, intraperitoneal	1 „	10 ccm Pferdeserum, subkutan an der Haut des Rückens	Keine lokale Reaktion. Nach 3 Tagen 10 ccm Pferdeserum, subkutan. Keine Hautreaktion nach dieser zweiten Einspritzung

Obiges beweist die Möglichkeit der Uebertragung einer lokalen sowohl wie einer allgemeinen Reaktion vom Muttertier auf die Nachkommenschaft bei Kaninchen.

Passive Uebertragung (b).

Wir haben versucht, das „Arthussche Phänomen“ durch Uebertragung des Serums mehrerer, mit dieser Reaktion behafteter Kaninchen auf ein Normalkaninchen hervorzubringen, aber es gelang uns nicht, eine krankhafte Veränderung zu erzeugen (s. Tabelle 5b).

Einspritzung von altem Serum.

Wir haben einigen Kaninchen Einspritzungen von altem (1902) Antitoxin für Diphtherie und antitetanischem Serum in Zwischenräumen subkutan am Rücken verabreicht. Bei einem Tier entwickelte sich eine dauernde Paralyse am dritten Tage nach der Einspritzung; nach einer Woche wurde das Kaninchen getötet und untersucht, aber es ließen sich keine mikroskopischen Veränderungen feststellen.

Das zweite Kaninchen entwickelte nach der fünften in Zwischenräumen gegebenen Einspritzung eine starke hämorrhagische Läsion von 5 cm Durchmesser, kreisförmig und etwas erhöht. Diese Veränderung hob sich scharf von der darum liegenden normalen Haut ab; sie ist während der letzten 2½ Monate mit beständigem langsamen Bluterguß offen geblieben. Unter der Oberfläche zeigt das Gewebe eine starke Erhärtung mit Bildung von dickem Bindegewebe. Die Läsion ist seit ihrer Entwicklung nur wenig kleiner geworden. Das Tier hat bedeutend an Gewicht verloren. Weitere Tiere sind mit diesem alten Antitoxin und antitetanischem Serum wegen Mangels an Material nicht behandelt worden. Das Serum befand sich versiegelt in Glasröhren; es sah sehr trübe aus, enthielt einen Niederschlag und war 5—6 Jahre alt.

Tabelle 6.

Krankhafte Veränderungen infolge Einspritzung von altem Antitoxin und antitetanischem Serum.

Kaninchen No.	Einspritzung in Zwischenräumen	Einspritzungsmenge	Anzahl der Einspritzungen	Stelle	Wirkung
11	Altes Antistreptokokkenserum und Antitoxin für Diphtherie	10, ccm jeden 6. Tag	5	Subkutan am Rücken	Langsamer Bluterguß 5 cm Fläche, monatelang anhaltend
13	Altes Antitoxin für Diphtherie	6 ccm jeden 6. Tag	4	Subkutan am Rücken	Paraplegie am 3. Tage. Tier getötet, keine Blutergüsse bei Sektion vorgefunden

Fehlschläge und Infektionen.

Es gibt eine gewisse Anzahl von Kaninchen, welche auf Pferdeserum weder allgemein, noch lokal reagieren. Diese Anzahl verringerte sich gegen Ende der Arbeit bedeutend durch bessere Kenntnis der Reaktion und bessere technische Ausführung.

Eine Anzahl von Allgemeininfektionen kamen bei Kaninchen vor, und diese Tiere wurden natürlich von unserer Serie ausgeschlossen, obgleich Oberflächenabscesse, wenn geöffnet, mit dem Löffel ausgeräumt und mit

Jodlösung ausgespült, schnell heilen. Durch sorgfältige Asepsis kann die Anzahl von Lokalinfektionen, die bei dieser Arbeit auftreten können, auf ein Minimum verringert werden.

Wenn sich lokale Läsionen einstellen, so können sie infiziert werden, und Blutvergiftung kann folgen. Wir hatten zwei Abgänge mit Tod durch Infektion. In einem Fall entwickelte sich „Nasenkrankheit“; das Tier wurde sofort entfernt, und die Käfige wurden desinfiziert.

Histopathologie.

Die Epidermis des Kaninchens eignet sich nicht zur Trennung in alle verschiedenen Schichten, wie sie beim Menschen möglich ist. Der Uebergang vom Stratum germinativum zum Stratum corneum ist ein ziemlich plötzlicher. Nur eine einzige Zellschicht liegt perpendikulär zum subepithelialen Gewebe und darüber trennt nur eine einzige unregelmäßig gelegene Schicht von Faserzellen oder vielleicht zwei Schichten diese untere Schicht von den flachen Zellen, welche direkt das Stratum corneum bilden. Diese letztere Schicht ist im hinteren Rücken des Kaninchens, wo wir unsere Behandlung gewöhnlich ausführten, gut entwickelt.

Eine frühzeitige Veränderung in der Epidermis eines Kaninchens, welches in der beschriebenen Weise auf Serum reagiert, wird nicht bemerkt. Während des ödematösen Stadiums bleibt die Epidermis sozusagen normal, obgleich die darunterliegenden Bindegewebsserien weit voneinander durch Flüssigkeit getrennt werden. Selbst nachdem die Blutung in der Cutis begonnen hat, kann die Epidermis unverändert vorgefunden werden. Bei einigen Sektionen zeigte sich, daß das unverändert gebliebene Epithelium als Dammbogen gegen die freie Blutmasse diente, welche direkt an den Zellen anliegt. Wenn die Blutzellen aber durchbrechen und die Nekroseherdflächen sich tiefer in die Gewebe hinein ausbreiten, so verlieren die Kerne der epithelialen Zellen ihren scharfen Umriß und färben sich weniger tief als in normalem Zustande. Das Protoplasma der Zellen verdichtet sich zu Strängen, welche das Eindringen darunterliegenden Blutes zwischen den Kernen und dem strangförmigen Protoplasma der degenerierten epithelialen Zellen gestatten; kurz darauf erfolgt eine Vermischung zu einer undefinierbaren nekrotischen Masse, bei welcher ein Unterschied zwischen Epidermis, Dermis und Exsudat nicht mehr gemacht werden kann.

Oedem.

Die ersten histologischen Veränderungen, welche man bemerkt, erfolgen im tiefen subkutanen und darunterliegenden Muskelgewebe. Die Bindegewebsfasern sind weit voneinander getrennt und die Zwischenräume mit Fibrinfäden und körnigem Niederschlag gefüllt, wobei man hier und da einen einzelnen Leukocyten oder ein rotes Blutkörperchen bemerkt.

Die Muskelfasern sind blaß und ihre Streifung undeutlich. Es findet sich im Anfangsstadium neugebildetes Bindegewebe und man bemerkt bald eine bedeutende Zunahme der Anzahl von polymorphnukleären Leukocyten. Eine Trennung der Bindegewebsfasern der Cutis folgt den Veränderungen in dem tieferen Gewebe. Die Lymphgefäße erweitern sich bald stark und die Blutgefäße treten hervor.

Hämorrhagie.

Die ins Auge tretende Veränderung, welche als Ergebnis der Serumreaktion zu betrachten ist, zeigt sich zuerst in der Form einer Blutung

im Corium. Bei den frühzeitigen Sektionen sieht man Massen von freien roten Blutkörperchen direkt unter der Epidermis und auch auf kleinen bescheidenen Flächen rund um die Haarfollikel, sowie im subkutanen Gewebe unter der Cutis. In manchen Fällen läßt sich klar eine Auflösung der Kontinuität der Wandungen der kleinen Gefäße bemerken mit einem Erguß von roten Blutkörperchen in das umgebende Gewebe. Nur selten sieht man ein unversehrtes Gefäß.

Spätere Schnitte zeigen ein intensiveres Fortschreiten des Prozesses. Die Coriumpapillen sind überfüllt mit roten Blutzellen, unter denen man homogene Fragmente von angeschwollenen Bindegewebsfasern und zerrissene Zellkerne bemerkt. Bald wird das Blut lackfarbig und es erfolgt ein allgemeines Absterben der Gewebe. Während dieser Zeit sieht man deutlich Nekroseherdflächen im subkutanen Gewebe, deren Vorhandensein man sich schwer erklären kann. Die Flächen verlieren sich bald im nekrotisierenden Gewebe. Ein Abtrocknen der Oberfläche, wodurch ein schwarzer nekrotischer Oberflächenschorf entsteht, vollendet das akute Fortschreiten der Läsion. Eine sekundäre Invasion von Bakterien, die gewöhnlich eintritt, aber mit der Serumreaktion nichts zu schaffen hat, darf vielleicht als die Heilung erschwerend gelten.

Die Wiederherstellung erfolgt durch Granulation und wird offenbar durch die Neigung der neugebildeten Gefäße zur Wiederholung der ursprünglichen Läsion verzögert. Das zeigt sich am deutlichsten in der stark hämorrhagischen Veränderung beim Kaninchen No. 11, welches eine Einspritzung von sehr altem Serum erhielt. Schnitte vom Rücken dieses Tieres, die je 1 und 2 Monate nach Eintreten der Veränderung gemacht wurden, zeigen dichtes Bindegewebe, welches normal aussieht bis zu der Stelle, wo der oberste Teil der Läsion erreicht wird. Hier, unter der Kruste, welche einen Teil der Läsion bedeckt, unter dem neugebildeten Epithelium, am Rande und auf der freien Oberfläche sieht man zahlreiche hämorrhagische Stellen. Die Blutungen im neugebildeten Bindegewebe sind denen des Coriums bei Läsionen im Anfangsstadium sehr ähnlich und scheinen von beständigem Abfluß von Blut aus den neugebildeten Blutgefäßen herzuführen.

Veränderung auf Alkoholinjektion.

Ogleich bei oberflächlicher Betrachtung den durch Serumläsion hervorgerufenen Veränderungen sehr ähnlich, bildet die Alkoholläsion in ihrem histologischen Aussehen einen starken Gegensatz zur ersteren.

Bei mit Alkohol behandelten Kaninchen gibt es kein irgendwie bemerkenswertes vorheriges Oedem. Die Veränderung beginnt als eine sich vom Einspritzungspunkte aus verbreitende Nekrose. Frühzeitige Schnitte der Haut, wenn die erste makroskopische Farbendifferenzierung erscheint, zeigen Kongestion von Blutgefäßen, Erweiterungen der lymphatischen Gewebe und trübe Schwellung der Zellgewebefäden. Das Gewebe verliert bald seine Fähigkeit zur starken Färbung, es erscheinen Fragmente von Kernen, und polymorphnukleäre Leukocyten dringen in die nekrotische Fläche ein. Solange sich die ursprüngliche Struktur erhält, sieht man die Gefäße voll von zerstörten roten Blutkörperchen. Es findet keine Hämorrhagie statt, während in dieser Periode Blutung das charakteristische Merkmal bei den Kaninchen ist, die auf Serum reagieren.

Zusammenfassung.

Das als „Arthussches Phänomen“ bekannte lokale Auftreten der Serum-Anaphylaxie beim Kaninchen beruht auf der in der Cutis und

Subcutis stattfindenden Lokalisierung einer Gewebeläsion des Kapillarendotheliums, welche zu Blutergüssen führt. Diese lokalen Blutungen können mit den Gewebeläsionen im Magen, Blinddarm, in den Lungen, im Herzen und in anderen Organen verglichen werden, wie sie von Gay und Southard bei Meerschweinchen beobachtet worden sind, welche im toxischen Stadium der Serumeinspritzung eingehten.

Die äußerst lange sich hinziehende Abheilung der Nekrose bei Kaninchen, welche lokal auf Serum reagiert haben, ist augenscheinlich dem andauernden Mangel an Widerstandsfähigkeit des neugebildeten Epitheliums zuzuschreiben, wodurch wiederholte Oberflächenblutung eintritt.

Wenn die Sensibilisierung des Kaninchens modifiziert wird, so daß eine allgemeine Reaktion anstatt der lokalen eintritt und das Tier eingeht, so sind die Veränderungen denjenigen gleich, welche Gay und Southard beim Meerschweinchen beschreiben, und die Haut wird nicht angegriffen.

Starke vorherige Injektionen von Serum oder lange andauernde Einspritzungen von kleinen Serummengen immunisieren das Kaninchen, so daß spätere Gaben keine lokale Läsion erzeugen.

Wenn das typische Arthussche Phänomen einmal hervorgebracht ist, so vergrößert spätere Einspritzung von Serum in die veränderte Stelle oder in der Nähe derselben die Ausdehnung der Läsion nicht.

Aus obigem geht hervor, daß Pferdeserum dem subkutanen Gewebe gegenüber keineswegs ein Reizmittel ist. Es findet auch nach Einspritzung von normaler Kochsalzlösung, Bouillon, Milch, Harnstoff, Pankreatin oder Glycerin keine lokale Reaktion statt.

Es ist uns nicht möglich gewesen, die „Arthussche Erscheinung“ durch Injektion von Pferdeserum in Zwischenräumen, wie von Nicolle beschrieben, oder durch passive Uebertragung hervorzubringen. Unsere typischsten Läsionen traten ein auf Einspritzung von 15 oder 20 ccm Pferdeserum, subkutan, bei Kaninchen, welche 2—3 Wochen vorher 0,5 ccm Serum zwei- oder dreimal täglich 2—3 Tage lang erhalten hatten.

Die subkutane Injektion von 95-proz. Alkohol erzeugt beim Kaninchen eine lokale Veränderung, welche anscheinend der Arthusschen Läsion sehr ähnlich aussieht, histologisch aber ganz verschieden ist.

Bei der Läsion nach Alkohol tritt keine Blutung ein; diese Veränderung steht also in schroffem Gegensatz zu der hämorrhagischen Veränderung bei den mit Serum behandelten Tieren.

Die Behandlung von Kaninchen mit gewissen Flüssigkeiten aus dem menschlichen Körper, wie Ascites-, Hydrocelen-, Pleuraflüssigkeit, kann zur Empfindlichmachung dienen, und diese ist anscheinend stark spezifisch. Von 2 mit Ascitesflüssigkeit empfindlich gemachten Kaninchen wurde das eine durch spätere Injektion von Ascitesflüssigkeit getötet, wogegen Einspritzung von Hydrocelenflüssigkeit beim anderen Kaninchen keine Reaktion hervorbrachte. Starke subkutane Injektionen dieser Flüssigkeiten bei richtig sensibilisierten Kaninchen erzeugen eine milde Abart des „Arthusschen Phänomens“. Unsere Arbeit mit diesen Flüssigkeiten gibt soweit eigentlich nur zu Vermutungen Anlaß und wir hoffen, dieses Studium später wieder aufzunehmen.

Unsere beschränkten Untersuchungen mit altem Diphtherieantitoxin und antitetanischem Serum scheinen zu zeigen, daß das Alter die Toxizität dieser Sera erhöht.

Nachdruck verboten.

Die Kenopräzipitinreaktion und ihre Beziehung zur Kenotoxinforschung.

Von Privatdoz. Dr. **Wolfgang Weichardt**, Erlangen.

Gelegentlich einer Mitteilung über die von mir gefundene „Diffusionsbeschleunigung bei Antigen-Antikörperbindung“ in der Berl. med. Gesellschaft am 29. April h. a. habe ich beiläufig mit erwähnen können, daß es mir gelungen sei, aus Eiweiß bei chemisch-physikalischer Behandlung durch Mittel, welche zum Teil auch dem Organismus zu Gebote stehen, neben einem Toxin und dessen Antikörper zugleich auch zwei in Form einer Fällungsreaktion aufeinander wirkende Stoffe zu erhalten, die kenopräzipitable Substanz und das Kenopräzipitin. Ich machte ausdrücklich darauf aufmerksam, daß die Reaktion zwischen diesen beiden Substanzen verschieden sei von der gewöhnlichen, allgemein bekannten Präzipitation und daß sie eintritt, wenn die konstitutive Struktur des Eiweißes verändert worden ist. Ferner wies ich noch darauf hin, daß nach meinen bisherigen Beobachtungen die kenopräzipitable Substanz zumeist als Begleiter des Kenotoxins aufzutreten scheine, daß sie aber ebensowenig identisch sei mit dem Kenotoxin, wie das Kenopräzipitin mit dessen Antikörper. Weiteres über die Natur der neuen Präzipitinreaktion auszusagen, vermied ich absichtlich; denn auf einem so neuen Gebiete berechtigt ja nur vorsichtiges Sammeln und Verwerten zahlreicher Erfahrungen zu Schlüssen.

Inzwischen sind Untersuchungen über diese Reaktion bekannt geworden, denen zufolge die Kenopräzipitinreaktion eine rein anorganische, eine Calciumphosphatfällung sein soll; denn es wären auch mit Gipswasser und mit Calciumionen reichlich enthaltenden Präzipitinspräparaten Fällungen beobachtet worden unter Bedingungen, bei denen Kenopräzipitinreaktion einzutreten pflegt.

Doch fehlen quantitative Untersuchungen der beiden Arten von Niederschlägen vor der Hand noch. Eine derartige bestimmte Behauptung ist also ganz unzulässig.

Richtig ist wohl, daß beim Zusammenbringen von Kalksalzlösungen mit organischem Material reichlich Niederschläge fallen, Niederschläge, deren genaue Zusammensetzung aber ohne die sorgfältigste quantitative Untersuchung nicht ohne weiteres zu erkennen ist.

Eine Nachprüfung der Frage, ob es sich auch bei dem von mir als Kenopräzipitinreaktion bezeichneten Symptomenkomplex wirklich nur um eine reine anorganische Calciumphosphatfällung handele, schien mir deshalb ganz dringend nötig. Um nun diese Frage zu entscheiden, wurde der einfachste und so naheliegende Weg gewählt, die Präzipitation anzustellen einerseits mit Kenopräzipitinpräparaten, denen Ammoniumoxalat vorsichtig im Ueberschuß zugesetzt worden war, andererseits mit kenopräzipitabler Substanz, die vor dem Versuche mit Chlorcalciumlösung behandelt wurde.

1. Versuch.

Ausgeführt mit Kenopräzipitin, welches als Nebenprodukt bei der Herstellung vom Antikenotoxin gewonnen worden war. Die Vorschrift hierzu ist folgende: 10 Minuten langes Kochen von mit der 10-fachen Menge Wassers und ebensoviel 3-proz. Wasserstoffsperoxyds angerührten

Aleuronat (ca. 5 kg) unter Zufügen des gleichen Quantums 33-proz. NaOH, Absättigen der abgekühlten Masse mit HCl, Dialysieren gegen destilliertes Wasser, Abdunsten des letzteren im Vakuum und Extrahieren des Dialysatsalzes mit wasserfreiem Aceton. Das Aceton wird abdestilliert und der braune Rückstand in 5 Teilen mit HCl angesäuerten Wassers aufgenommen.

1 ccm dieser bräunlichen, klar filtrierten Lösung, mit 0,1 Glycerins vermischt, stellte ein hochwertiges, ganz vorzüglich wirksames Kenopräzipitin dar.

Es möge hierbei kurz erwähnt werden, daß ein mit wenig Ausgangsmaterial, namentlich auch mit dem relativ wenig Eiweiß enthaltendem Serum gewonnenes Präparat nur Spuren des seltenen, sehr schwer erhältlichen Kenopräzipitins enthalten kann. Wird ein solches Präparat noch unvorsichtig verdünnt, so ist es von vornherein schon ganz ungeeignet für eine spezifische Kenopräzipitinreaktion.

Die Wirksamkeit unseres, wie oben beschrieben gewonnenen, hochwertigen Kenopräzipitins wurde nun zunächst an der kenopräzipitablen Substanz-Test geprüft.

Diese Testflüssigkeit wird so dargestellt: 25 g Albumen ovi siccum werden mit 225 ccm Aqua dest. eine Nacht quellen gelassen, 25 ccm 33-proz. Natronlauge und 225 ccm 3-proz. Wasserstoffsperoxyds zugemischt, und die Mischung 3 Tage lang bei 37° und dann weiter im Dunkeln, im Eisschrank, hingestellt.

Zum Versuch wurden 10 ccm der goldgelben Lösung so lange mit Salzsäure versetzt, bis mit Lackmus soeben deutlicher Säureüberschuß nachweisbar war. Nun wurde klar filtriert und so viel Natronlauge zugefügt, daß die Alkaleszenz der Flüssigkeit einer $\frac{1}{1000}$ n NaOH-Lösung entsprach.

Wurde der zuvor 100-fach verdünnten präzipitablen Substanz-Test in Hauserscher Kapillare unser hochwertiges, vor dem Versuch auf $\frac{1}{1000}$ n NaOH entsprechende Alkaleszenz gebrachtes Kenopräzipitin zugefügt, so trat noch deutliche Ringbildung auf.

1 ccm unseres hochwertigen, oben, Abs. 1 beschriebenen, schwach alkalisierten Kenopräzipitins wurde nun mit der 10-fachen Menge destillierten Wassers verdünnt und tropfenweise eine 1-proz. Lösung von Ammoniumoxalat vorsichtig so lange zugemischt, bis in abfiltrierten Proben ein geringer, aber deutlicher Ueberschuß desselben mittels Calciumchloridlösung nachgewiesen werden konnte.

Die so von Calciumionen befreite Kenopräzipitinlösung wurde nach 12-stündigem Absitzen filtriert und durch Abdunsten auf das ursprüngliche Volumen gebracht. Ihr Aussehen war unverändert, sie trübte sich weder mit destillierten Wasser, noch mit $\frac{1}{1000}$ n NaOH-Lösung. Jedoch trat Präzipitinringbildung ein, wenn kenopräzipitabile Substanz-Test mit ihr in Kapillaren zusammengebracht wurde. Die Trübung fand auch dann noch statt, wenn die Testlösung vorher bis auf das 100-fache verdünnt worden war. Kontrollen ergaben, daß diese Trübung nicht auf den geringen Gehalt an Ammoniumoxalat zu beziehen war.

Somit tritt die Kenopräzipitinreaktion auch dann noch auf, wenn das verwendete hochwertige Kenopräzipitinpräparat durch Ammoniumoxalat von Calcium befreit worden ist.

Ein gleicher Versuch wurde mit demselben mit Ammoniumoxalat behandelten Kenopräzipitin und mit alkalisiertem, filtriertem Ermüdungs-

harn angestellt. Letzterer war am Abend, nach anhaltender körperlicher Anstrengung gesammelt worden. Es trat auch hier wieder ein positives Resultat ein. Noch nach 50-facher Verdünnung des Urines war deutlich Kenopräzipitinreaktion nachzuweisen.

Ein Versuch mit gesättigtem Gipswasser, das mit etwas Glyzerin versetzt worden war, gegen denselben Ermüdungsurin verlief ganz anders:

Zunächst war der Niederschlag in der Hauserschen Kapillare bei unverdünntem Urin überaus reichlich, jedoch schon durch sein Aussehen recht wohl vom echten Kenopräzipitinring zu unterscheiden; namentlich aber nach Verdünnen des Urins zeigte sich ein ganz anderes Verhalten der beiden Komponenten zueinander. Schon nach 5-facher Verdünnung fehlte nämlich die Calciumphosphattrübung vollkommen, während ja unser Kenopräzipitin mit dem 50-fach verdünnten Ermüdungsurine noch deutliche Ringbildung erkennen ließ.

2. Versuch.

Zur kenopräzipitablen Substanz-Test, welche mit HCl angesäuert, filtriert und wieder alkalisiert worden war, wurde vorsichtig eine 1-proz. Lösung von Calciumchlorid so lange zugemischt, bis abfiltrierte Proben mit Ammoniumoxalat deutlich die Anwesenheit von Ca erkennen ließen. Nach 12-stündigem Absitzen wurde die Testlösung klar filtriert und, nachdem im Filtrat nochmals geringer Ca- Ueberschuß nachgewiesen worden, mit unserem mit Ammoniumoxalat nicht behandelten Kenopräzipitin geprüft. Wie zu erwarten, trat in den Kapillaren schnell und reichlich Ringbildung auf.

Kontrollen derselben Testlösung gegen Gipswasser blieben klar.

Der positive Ausfall bei diesen Versuchen, die ich später stets mit gleichem Erfolge ausgeführt habe, beweist also, daß der von mir mit dem Namen Kenopräzipitinreaktion bezeichnete Symptomenkomplex eine rein anorganische Calciumphosphatfällung nicht sein kann.

3. Versuch.

In 2 ccm destillierten Wassers blies ein Ermüdeter $\frac{1}{2}$ Stunde lang durch Watte filtrierte Expirationsluft, vorwiegend Residualluft, ein. Sodann wurde die kleine Menge so gewonnener Flüssigkeit sorgfältig filtriert und auf den einer $\frac{1}{1000}$ n NaOH-Lösung entsprechenden Alkalizenzgrad gebracht.

In Hauserschen Kapillaren mit unserem gewöhnlichen hochwertigen sowohl, als auch mit dem durch Ammoniumoxalat von Calcium befreiten, schwach alkalischen Kenopräzipitin zusammengebracht, entwickelten sich sehr deutliche spezifische Kenopräzipitinringe, während die Kontrollen, wie in obigen Versuchen, klar blieben.

Gerade diese Versuche mit Atemwasser scheinen mir unbedingt beweisend dafür, daß die Kenopräzipitinreaktion keinesfalls mit rein anorganischen Calciumphosphatfällungen identifiziert werden darf.

Wie jeder Präzipitationsvorgang, ist natürlich auch die Kenopräzipitation einer chemischen Erklärung zugänglich.

Immerhin scheint es mir, faßt man den heutigen Stand der Eiweißchemie ins Auge, als wäre man diesem Ziele noch nicht allzu nahe.

Uebrigens stehen ja die kenopräzipitabile Substanz und das Kenopräzipitin an Wichtigkeit weit zurück gegenüber dem Kenotoxin und

dessen spezifischem Antikörper, und man darf ihre Bedeutung als Kriterium für das Vorhandensein des Kenotoxins nicht überschätzen.

Das Fehlen der Kenopräzipitinreaktion bedingt durchaus noch nicht die Abwesenheit von Kenotoxin oder von dessen Antikörper.

Die umgekehrte Meinung wäre eine ebenso verfehlte, wie z. B. der Schluß, aus dem Fehlen von Agglutination das Nichtvorhandensein anderer Schutzstoffe beweisen zu wollen.

Der Beweis für das Vorhandensein des Kenotoxins kann vielmehr nur durch seine Beeinflussung mittels des spezifischen Antikörpers sicher erbracht werden.

Ich habe auf die genaueste Beschreibung dieser Art des Kenotoxin-nachweises in allen meinen Arbeiten das größte Gewicht gelegt, weil hierin sozusagen das *Punctum saliens* der modernen Kenotoxinforschung besteht. War es doch durch die Auffindung des spezifischen Antikörpers überhaupt erst möglich geworden, in die früheren verworrenen Begriffe über angeblich ermüdungserregende Substanzen Licht zu bringen. Hiernach erst gelang es, das im biologischen Sinne reine Kenotoxin ausreichend zu charakterisieren und eine ganze Reihe von Substanzen, obgleich an deren chemische Definierung nicht zu denken war, als für die Ermüdung nicht in Frage kommend, auszuschalten.

Die reine Ermüdung hervorrufenden Substanzen sollten wirklich gegenwärtig nicht mehr zusammengeworfen werden mit den im Sinne der Kenotoxinforschung nichtssagenden Begriffen, wie Peptonen usf.

Was ferner neuere Versuche anlangt, deren Plan sich auf die angebliche kolloidale Natur, also auf Nichtdialysierbarkeit der kenopräzipitablen Substanz gründet, so haben meine Veröffentlichungen zu dieser Voraussetzung Veranlassung nicht gegeben.

Ein vorsichtiger Untersucher wird ja überhaupt über die Frage der Dialysierbarkeit derartiger Stoffe ein definitives Urteil zu fällen sich gar nicht unterfangen, bevor nicht die chemische Konstitution der betreffenden Substanz festgestellt ist.

Soweit allerdings Erfahrungen mit dem aus nativem Eiweiß hergestellten Kenotoxin vorliegen, so scheint dasselbe fast nicht dialysabel zu sein; ob freilich auch das Reinprodukt in chemischem Sinne, ist vor der Hand noch nicht zu entscheiden. Ich selbst möchte chemisch rein hergestelltem Kenotoxin allzu hohe Molekularität nicht zusprechen.

Zur Beurteilung dieser Frage sei hier ein neuerdings von mir erhobener Befund kurz gestreift: Es gelingt, mit Einhaltung meiner Methodik aus relativ einfachen Aminosäuren Kenotoxin zu gewinnen, das mittels des Antikörpers als sehr rein beurteilt werden muß. Die weitere chemische Bearbeitung dieses Gebietes der Kenotoxinforschung behalte ich mir jedoch vor.

Schl u ß s ä t z e.

1) Der von mir als Kenopräzipitinreaktion bezeichnete Symptomenkomplex ist nicht eine anorganische Calciumphosphatfällung; denn dieser Symptomenkomplex, die spezifische Kenopräzipitinreaktion, kann auch erzielt werden mit Kenopräzipitinpräparaten, denen vorher Ammoniumoxalat im Ueberschuß zugesetzt wurde, sowie auch mit Lösung kenopräzipitabler Substanz, die vor dem Versuch mit genügenden Mengen von Kalksalzen vermischt worden ist.

2) Aus dem Fehlen der Kenopräzipitinreaktion auf das Fehlen des Kenotoxins ganz sicher zu schließen, ist unrichtig; denn

3) Kenopräzipitable Substanz ist nur ein häufiger Begleiter, nicht ein Bestandteil des Kenotoxins.

4) Für den sicheren Nachweis des Kenotoxins dient vielmehr das biologische Experiment: Injektionsversuche mit zum Teil unvorbehandelten, zum Teil mit Antikenotoxin passiv immunisierten Tieren.

Literatur.

Weichardt, W., Serologische Studien auf dem Gebiete der experimentellen Therapie. Stuttgart (Ferdinand Enke) 1906. — Centralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. des Stoffwechsels. 1907. No. 17. — Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. Heft 4. p. 312. — Folia haematologica. Jahrg. IV. Supplement 1. 1907. — Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 28. — Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 39. — Arch. f. Hygiene. Bd. LXV. p. 252. — Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 3. p. 141. — Sitzungsber. d. ärztl. Bezirksvereins Erlangen. — Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LIX. p. 337. — Berl. klin. Wochenschr. 1908. No. 20.) — Hauser, C., Ueber einige Erfahrungen bei Anwendung der serodiagnostischen Methode für gerichtliche Blutuntersuchungen. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 7.) — Gellhorn, W., Ueber den Nachweis eines absättigbaren Toxins im Harn und Stuhl von Säuglingen. (Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 16.) — Pfeiffer, H. u. Pregl, F., Ueber das Wesen und die Bedeutung von W. Weichardts „Kenopräzipitin“. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LXI.) — Weichardt, W., Jahresbericht über die Ergebnisse der Immunitätsforschung. Stuttgart (Ferdinand Enke) 1906, 1907 u. 1908. — Heim, L., Lehrbuch der Bakteriologie etc. Stuttgart (Ferdinand Enke) 1906.

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten der Bordetschen Reaktion bei Variola.

(Kölner Akademie für praktische Medizin.)

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Stadt Köln.
Direktor: Dr. Czaplewski.]

Von Dr. med. Beintker,
I. Assistenten am Laboratorium.

Nachdem die Bordetsche Reaktion zur Diagnose verschiedener Infektionskrankheiten mit Erfolg benutzt worden ist, lag es nahe, zu prüfen, ob sich dieselbe auch für Pocken und Vaccine verwerten ließe. Besonders wichtig war die Frage, ob sich mit der Bordetschen Reaktion Pockenantikörper nachweisen ließen, und ob sich weiter auch die Kuhpockenlymphe wie ein Antigen gegenüber diesem Pockenantikörper verhalten würde.

Ich benutzte daher gerne die Gelegenheit, diesen Fragen experimentell näher zu treten, als ich durch die in Köln im Juni 1908 vorgekommenen Pockenfälle in der glücklichen Lage war, Pockenstoff für diese Untersuchungen zu erhalten.

Von der Sektion eines Falles von Variola erhielt ich einen Teil der Milz, den ich nach den Vorschriften von Wassermann, Neisser, Bruck und Schucht (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LV. 1906. p. 451) mit Phenolkoehsalzlösung extrahierte. Von den zelligen Bestandteilen befreite ich den Extrakt durch Filtration und verwandte einen Teil sofort zu Versuchszwecken, während ich den Rest im Vakuum eindampfte.

Zunächst wurde das Verhalten des Extraktes gegen Lymph e einer Prüfung unterzogen. Mit Ausnahme eines Versuches, der mit großen

Dosen des Extraktes vielleicht positiv war, ergaben sämtliche ein negatives Resultat, auch die in gleicher Weise angestellten Versuche mit hohen Dosen.

Versuch 1.

No.	Lymphhe ¹⁾	Extrakt	Kompl.	Resultat
1	0,1	0,1 Pocken	0,1	vollständige Hämolyse
2	0,05	0,1 „	0,1	„ „
3	0,1	0,05 „	0,1	„ „
4	0,1	—	0,1	„ „
5	—	0,1 Pocken	0,1	„ „
6	0,1	0,1 Normal	0,1	„ „

Versuch 2.

No.	Lymphhe ²⁾	Extrakt	Kompl.	Resultat
1	0,1	0,5 Pocken	0,1	vollständige Hämolyse
2	0,05	0,5 „	0,1	„ „
3	0,1	—	0,1	„ „
4	—	0,5 Pocken	0,1	„ „
5	0,1	0,5 Normal	0,1	„ „
6	—	—	0,1	„ „

1) Lymphhe Kalb 75.

2) Lymphhe Kalb 83.

Dies Ergebnis sprach dafür, daß der Extrakt in seinem Verhalten gegen Lymphhe die Eigenschaften eines Antikörpers nicht zeigte.

Gleichzeitig wurde ein Kaninchen (935) mit intraperitonealen Einspritzungen von diesem Extrakt (5 ccm) behandelt. Das Tier reagierte mit Gewichtsabfall. Nachdem das ursprüngliche Gewicht erreicht war, was nach ca. 6—8 Tagen erfolgte, wurde nochmals eine Injektion (3 ccm) gemacht. Nach Abklingen der Reaktion wurde Serum entnommen und seine Wirksamkeit zuerst gegen den Milzextrakt, sodann gegen Lymphhe geprüft. Beide Versuche fielen positiv aus (s. Versuch 3—7).

Wenn auch bei dem Versuche mit Milzextrakt das positive Ergebnis kein Beweis für das Vorhandensein eines spezifischen Antikörpers im Serum ist, so erhellt dagegen aus den Versuchen 4—7, die mit dem Kaninchenserum gegen Lymphhe angestellt wurden, klar, daß es sich um spezifische Antistoffe handelt. Es war also offenbar in dem Serum ein Antikörper gegen das in der Lymphhe enthaltene Antigen vorhanden. Die bei den Versuchen verwandten Lymphhen zeigen insofern Unter-

Versuch 3.

No.	Serum ¹⁾	Extrakt ²⁾	Kompl.	Resultat
1	0,1 K	0,5 P	0,1	vollständige Hemmung
2	0,1 K	0,2 P	0,1	„ „
3	0,1 K	0,1 P	0,1	„ „
4	0,05 K	0,1 P	0,1	Spur Hämolyse
5	—	0,5 P	0,1	vollständige Hämolyse
6	0,1 K	0,5 N	0,1	„ „
7	0,1 N	0,5 P	0,1	„ „
8	0,1 N	0,1 P	0,1	„ „

1) K = Serum von geimpften Kaninchen.

N = „ „ normalem „

2) P = Pockenmilzextrakt.

N = normaler Extrakt.

Versuch 4.

No.	Lymphhe 83	Serum ¹⁾	Kompl.	Resultat
1	0,1	0,1 K	0,1	vollständige Hemmung
2	0,1	0,05 K	0,1	" "
3	0,1	0,02 K	0,1	Spur "Hämolyse"
4	0,05	0,1 K	0,1	" "
5	0,1	0,1 N	0,1	vollständige Hämolyse
6	0,1	—	0,1	" "
7	—	0,1 K	0,1	" "
8	0,1 ²⁾	0,1 K	0,1	" "

Versuch 5.

No.	Lymphhe 95	Serum ¹⁾	Kompl.	Resultat
1	0,1	0,1 K	0,1	vollständige Hemmung
2	0,1	0,05 K	0,1	" "
3	0,1	0,02 K	0,1	" "
4	0,05	0,1 K	0,1	" "
5	0,1	0,1 N	0,1	vollständige Hämolyse
6	0,1	—	0,1	" "
7	—	0,1 K	0,1	" "
8	0,1 ²⁾	0,1 K	0,1	" "

1) Wie bei Versuch 3.

2) Serum von normalem Kalb, zur Hälfte mit Glycerin versetzt.

Versuch 6.

No.	Lymphhe 83 ¹⁾	Serum ²⁾	Kompl.	Resultat
1	0,1	0,1 K	0,1	vollständige Hemmung
2	0,05	0,1 K	0,1	Spur Hämolyse
3	0,02	0,1 K	0,1	" "
4	0,01	0,1 K	0,1	vollständige Hämolyse
5	0,1	0,1 N	0,1	" "
6	0,1	—	0,1	" "
7	—	0,1 K	0,1	" "
8	0,1 ³⁾	0,1 K	0,1	" "

Versuch 7.

No.	Lymphhe 95 ¹⁾	Serum ²⁾	Kompl.	Resultat
1	0,1	0,1 K	0,1	vollständige Hemmung
2	0,05	0,1 K	0,1	" "
3	0,02	0,1 K	0,1	Spur "Hämolyse"
4	0,01	0,1 K	0,1	fast völlige Hämolyse
5	0,1	0,1 N	0,1	vollständige Hämolyse
6	0,1	—	0,1	" "
7	—	0,1 K	0,1	" "
8	—	—	0,1	" "

1) Versuch 6 und 7 sind mit filtrierter Lymphhe angestellt.

2) Bezeichnungen wie bei Versuch 4.

3) Normales Kalbsserum, wie bei Versuch 4.

schiede, als die bindende Kraft der Lymphhe von Kalb No. 95 größer ist als die von Kalb No. 83. Eine zufällige Verschiedenheit bei der Anstellung des Versuches ist ausgeschlossen, da beide Versuche an einem Tage mit den gleichen Ingredienzen und unter denselben Bedingungen fast zu gleicher Zeit angestellt wurden. Nun hat sich aber die Lymphhe No. 83 auch bei Impfungen schwächer gezeigt, sie ist sogar, da nur ca.

80 Proz. der Impfungen angingen, aus dem Verkehr zurückgezogen worden. Bei weiterer Behandlung des Kaninchens mit Milzextrakt zeigte das Serum desselben später auch gegen diese Lymphe ein erhöhtes Bindungsvermögen. Keinen Unterschied in der Wirkung machte es dagegen, ob die Lymphe durch Asbestfilter (nach Heim) filtriert wurde.

Leider ging das Kaninchen plötzlich an Schnupfen ein. Das bei der Sektion gewonnene Serum zeigte keine Wirksamkeit mehr.

Ein zweites Kaninchen (936) wurde mit Lymphe (zuerst 400 Portionen = ca. 2 ccm, dann 200 Portionen = 1 ccm) intraperitoneal behandelt und dann das Bindungsvermögen seines Serums gegen Milzextrakt geprüft. Auch diese Versuche hatten ein positives Ergebnis.

Versuch 8.

No.	Extrakt	Serum ¹⁾	Kompl.	Resultat
1	0,1 Pocken	0,1 LS	0,1	vollständige Hemmung
2	0,1 „	0,05 LS	0,1	vollständige Hämolyse
3	0,1 „	—	0,1	„ „
4	0,1 „	0,1 NS	0,1	„ „
5	0,1 Normal	0,1 LS	0,1	„ „
6	—	0,1 LS	0,1	„ „

1) LS = Lymphkaninchenserum.
NS = Normalkaninchenserum.

Beim Impfkalb (Abnahme des Impfstoffes nach 3 Tagen) scheint sich die Erkrankung vorerst nur auf die Haut zu erstrecken, wenigstens waren in dem aus dem Blute eines Kalbes gewonnenen Serum Antikörper nicht nachweisbar, wie folgender Versuch zeigt:

Versuch 9.

No.	Kalbsserum ¹⁾	Extrakt	Kompl.	Resultat
1	0,1 IS	0,1 Pocken	0,1	vollständige Hämolyse
2	0,05 IS	0,1 „	0,1	„ „
3	0,1 NS	0,1 „	0,1	„ „
4	0,1 IS	—	0,1	„ „
5	—	0,1 Pocken	0,1	„ „
6	0,1 IS	0,1 Normal	0,1	„ „

1) IS = Serum von geimpftem Kalb.
NS = „ „ normalem „

Weiter wurde untersucht, ob die Lymphe in ihrer Eigenschaft als Antigen durch ein Erhitzen auf 56° verändert würde, und ob die wirksamen Substanzen in dem klaren Serum oder in den Trübungen enthalten wären. Die Versuchsreihe, die über dieses Verhalten Klarheit geben sollte, ist nach einem Verfahren angelegt worden, das dem von Carnwath (Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. XXVII. p. 403) entspricht. Es wurden nämlich die zur Reaktion nötigen Mengen mittels Kapillarpipetten in kleinen, ca. 6 cm langen, 1—1,5 mm im Lichten haltenden Röhrchen durch mehrfaches Aufsaugen und Ausblasen gemischt. Natürlich sind hierbei nicht, wie in den vorher aufgeführten Versuchen, die angegebenen Mengen Bruchteile von Kubikcentimetern, sondern entsprechen Volumteilen des untersuchten Materials, bezogen auf ein bestimmtes Volumen Flüssigkeit als Einheit. Dies beträgt ca. den 5. Teil des Inhalts eines solchen Röhrchens = 0,035—0,04 Flüssigkeit, wie durch Wägung festgestellt wurde.

Zu gleicher Zeit und in gleicher Weise wurden vier Lymphen untersucht, und es bedeuten im folgenden Versuchsprotokoll:

A = Lymphe von Kalb 104	1 = unerhitzt, unfiltriert
B = " " " 95	2 = " " filtriert
C = " " " 108	3 = auf 56° erhitzt, unfiltriert
D = " " " 115	4 = " 56° " filtriert

Also bezeichnet in dem folgenden Versuche z. B. A1 = Lymphe 104 unerhitzt, unfiltriert; C4 = Lymphe 108 auf 56° erhitzt und filtriert. Der Versuch hatte folgendes Ergebnis:

Versuch 10.
Versuch.

No.	Lymphe	Pocken-Kaninchenserum	Komplement	Resultat
1	0,1 A1	0,1	0,1	vollständige Hemmung
2	0,1 A2	0,1	0,1	
3	0,1 A3	0,1	0,1	
4	0,1 A4	0,1	0,1	
5	0,1 B1	0,1	0,1	" "
6	0,1 B2	0,1	0,1	
7	0,1 B3	0,1	0,1	
8	0,1 B4	0,1	0,1	
9	0,1 C1	0,1	0,1	" "
10	0,1 C2	0,1	0,1	
11	0,1 C3	0,1	0,1	
12	0,1 C4	0,1	0,1	
13	0,1 D1	0,1	0,1	" "
14	0,1 D2	0,1	0,1	
15	0,1 D3	0,1	0,1	
16	0,1 D4	0,1	0,1	
17	0,1 ¹⁾	0,1	0,1	vollständige Hämolyse

Kontrolle.

No.	Normale Lymphe	Normales Kaninchenserum	Komplement	Resultat
18	0,1 A1	0,1	0,1	vollständige Hämolyse
19	0,1 A2	0,1	0,1	
20	0,1 A3	0,1	0,1	
21	0,1 A4	0,1	0,1	
22	0,1 B1	0,1	0,1	" "
23	0,1 B2	0,1	0,1	
24	0,1 B3	0,1	0,1	
25	0,1 B4	0,1	0,1	
26	0,1 C1	0,1	0,1	" "
27	0,1 C2	0,1	0,1	
28	0,1 C3	0,1	0,1	
29	0,1 C4	0,1	0,1	
30	0,1 D1	0,1	0,1	" "
31	0,1 D2	0,1	0,1	
32	0,1 D3	0,1	0,1	
33	0,1 D4	0,1	0,1	
34	—	—	0,1	" "

1) Normales Kalbsserum, zur Hälfte mit Glycerin versetzt.

Die Funktion der Lymphe als Antigen ist also nicht mit den in ihr suspendierten Trübungen verknüpft, sondern sie wird, wie es scheint, durch einen Bestandteil des Serums hervorgebracht. Dieser Bestandteil kann eine Erhitzung auf 56° vertragen.

Soweit waren meine Untersuchungen fast gediehen, als in Duisburg einige Fälle von Variola auftraten. Mit Serum von dreien dieser Fälle, das mir der Leiter der Pockenstation, Herr Dr. Dahm, auf meine Bitte hin in liebenswürdigster Weise übersandte, wurden die beschriebenen analoge Versuche angestellt. Die Sera habe ich in den folgenden Versuchen der Kürze halber mit PS1 (B), PS2 (W), PS3 (K) bezeichnet. Da mir nur geringe Mengen des Serums zur Verfügung standen, war ich genötigt, die oben skizzierte Technik anzuwenden. Zuerst stellte ich einen Versuch mit dem in der entsprechenden Menge destillierten Wassers gelösten eingetrockneten Pockenmilzextrakt an, der jedoch negativ ausfiel, wahrscheinlich eine Folge des Umstandes, daß sich der eingetrocknete Extrakt nicht gelöst hatte.

Versuch 11.

No.	Extrakt ¹⁾	Serum	Kompl.	Resultat
1	0,1 PE	0,1 PS1	0,1	vollständige Hämolyse
2	0,1 PE	0,1 PS2	0,1	" "
3	0,1 PE	0,1 PS3	0,1	" "
4	0,1 NE	0,1 PS1	0,1	" "
5	0,1 NE	0,1 PS2	0,1	" "
6	0,1 NE	0,1 PS3	0,1	" "

Versuch 12.

No.	Extrakt ¹⁾	Serum	Kompl.	Resultat
1	0,1 PE	0,1 PS1	0,1	komplette Hämolyse
2	0,1 PE	0,05 PS1	0,1	" "
3	0,05 PE	0,1 PS1	0,1	" "
4	0,1 NE	0,1 PS1	0,1	" "
5	0,1 PE	0,1 NS ²⁾	0,1	" "
6	—	0,1 PS1	0,1	" "
7	—	—	0,1	" "

1) PE = Pocken-Milzextrakt. NE = Normal-Milzextrakt.

2) Normal-Menschenserum.

Die Wiederholung des Versuches mit einem anderen Teil des Extraktes, der sich ein wenig besser löste, hatten ein angedeutetes, die Wiederholung mit dem in zugeschmolzener Röhre aufbewahrten Original-extrakt ein sicher positives Resultat.

Versuch 13.

Versuch.

No.	Extrakt ¹⁾	Serum	Kompl.	Resultat
1	0,1 PE _{tr}	0,1 PS2	0,1	völlige Hemmung
2	0,1 PE _{tr}	0,1 PS3	0,1	teilweise Hemmung
3	0,1 PE _f	0,1 PS3	0,1	völlige Hemmung

Kontrolle.

No.	Extrakt ¹⁾	Serum	Kompl.	Resultat
1	0,1 NE	0,1 PS3	0,1	völlige Hämolyse
2	0,1 NE	0,1 PS2	0,1	" "
3	0,1 PE _f	—	0,1	" "

1) PE_{tr} = Pockenextrakt, der eingedampft und dann wieder gelöst wurde. PE_f = Originalpockenextrakt.

Nun mußte noch das Verhalten des Serums der Kranken gegen Lymphe geprüft werden, wobei sich folgendes Resultat ergab:

Versuch 14.
Versuch.

No.	Serum	Lymphe	Kompl.	Resultat
1	0,1 PS1	0,1 L104	0,1	vollständige Hemmung
2	0,1 PS2	0,1 L104	0,1	" "
3	0,1 PS3	0,1 L104	0,1	" "
4	—	0,1 L104	0,1	vollständige Hämolyse

Kontrolle.

No.	Serum	Lymphe	Kompl.	Resultat
1	0,1 NMS ¹⁾	0,1 L104	0,1	vollständige Hämolyse
2	0,1 PS1	—	0,1	" "
3	0,1 PS2	—	0,1	" "
4	0,1 PS3	—	0,1	" "

1) Normales Menschenserum.

Versuch 15.
Versuch.

No.	Lymphe 104	Serum	Kompl.	Resultat
1	0,1	0,1 PS1	0,1	vollständige Hemmung
2	0,05	0,1 PS1	0,1	Spur Hämolyse
3	0,02	0,1 PS1	0,1	deutliche Hämolyse
4	0,1	0,1 PS1	0,1	vollständige Hämolyse
5	0,1	0,05 PS1	0,1	vollständige Hemmung
6	0,1	0,02 PS1	0,1	deutliche Hämolyse
7	0,1	0,01 PS1	0,1	fast vollständ. Hämolyse

Kontrolle.

No.	Lymphe 104	Serum	Kompl.	Resultat
1	0,1	0,1 Norm.-S	0,1	vollständige Hämolyse
2	0,1	—	0,1	" "
3	—	0,1 PS1	0,1	" "
4	0,1 NKS ¹⁾	0,1 PS1	0,1	" "
5	—	—	0,1	" "

1) Normales Kalbsserum, zur Hälfte mit Glycerin versetzt.

Ein analog dem Versuch 10 angestellter Versuch (mit aktiver, inaktiver, unfiltrierter und filtrierter Lymphe) ergab mit Serum PS3 ebenfalls das Resultat, daß die erwähnte Vorbehandlung der Lymphe auf das Phänomen der Komplementbindung keinen Einfluß hat (s. Versuch 16).

Ich habe also, um die Ergebnisse meiner Versuche in kurzen Worten zusammenzufassen, gefunden, daß die Kuhpockenlymphe sich wie ein Antigen verhält, und zwar sowohl gegen das Serum eines mit Pockenorganextrakt immunisierten Kaninchens, als auch gegen menschliches Serum nach Infektion mit Variola. Da die Kontrollen mit Normalserum stets negativ waren, wäre zu versuchen, ob die Methode der Komplementbindung nicht auch als differentialdiagnostisches Mittel bei pockenverdächtigen Fällen (z. B. bei Windpocken eines Erwachsenen etc.) angewandt werden könnte, zumal da die Lymphe weit leichter als Organextrakt zu beschaffen ist.

Versuch 16.
Versuch.

No.	Lympher ¹⁾	Pockenserum No. 3	Komple- ment	Resultat
1	0,1 A1	0,1	0,1	vollständige Hemmung
2	0,1 A2	0,1	0,1	
3	0,1 A3	0,1	0,1	
4	0,1 A4	0,1	0,1	
5	0,1 B1	0,1	0,1	" "
6	0,1 B2	0,1	0,1	
7	0,1 B3	0,1	0,1	
8	0,1 B4	0,1	0,1	
9	0,1 C1	0,1	0,1	" "
10	0,1 C2	0,1	0,1	
11	0,1 C3	0,1	0,1	
12	0,1 C4	0,1	0,1	
13	0,1 D1	0,1	0,1	" "
14	0,1 D2	0,1	0,1	
15	0,1 D3	0,1	0,1	
16	0,1 D4	0,1	0,1	
17	0,1 Normal-Kalbs- serum	0,1	0,1	vollständige Hämolyse

Kontrolle.

No.	Lympher ¹⁾	Normales Menschenserum	Komple- ment	Resultat
18	0,1 A1	0,1	0,1	vollständige Hämolyse
19	0,1 A2	0,1	0,1	
20	0,1 A3	0,1	0,1	
21	0,1 A4	0,1	0,1	
22	0,1 B1	0,1	0,1	" "
23	0,1 B2	0,1	0,1	
24	0,1 B3	0,1	0,1	
25	0,1 B4	0,1	0,1	
26	0,1 C1	0,1	0,1	" "
27	0,1 C2	0,1	0,1	
28	0,1 C3	0,1	0,1	
29	0,1 C4	0,1	0,1	
30	0,1 D1	0,1	0,1	" "
31	0,1 D2	0,1	0,1	
32	0,1 D3	0,1	0,1	
33	0,1 D4	0,1	0,1	
34	—	—	0,1	" "

1) Bezeichnung cf. Versuch 10.

Zum Schluß gestatte ich mir, den Herren, die mir bei der Abfassung meiner Arbeit behilflich waren, meinen besten Dank auszusprechen; zu besonderem Danke verpflichten mich die Herren: Prof. Dr. Jores (Pathol. Institut der Akademie), dem ich das Pockenmaterial verdanke, Kreisarzt Dr. Meder, Leiter der Impfanstalt Köln, der mir die nötige Lymphe in liberalster Weise zur Verfügung stellte, Dr. Dahm (Duisburg) für die liebenswürdige Uebersendung des Serums, und Direktor Dr. Czaplowski für die Ueberlassung der Einrichtungen des Laboratoriums und sein Interesse an dieser Arbeit.

Köln, 30. September 1908.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit des Komplementbindungsphänomen für die Typhusdiagnose.

[Aus dem hygienischen Institut der Königl. Universität in Königsberg i. Pr.
(Direktor Prof. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **Marie Baskin** in St. Petersburg.

Nachdem Gengou (1) und Gay (2) und — unabhängig von ihnen — Moreschi (3) im Pfeifferschen Institut den Beweis erbracht hatten, daß man mit Hilfe des Komplementbindungsverfahrens in dem Serum von Tieren, die mit fremdem Eiweiß vorbehandelt worden waren, Ambozeptoren gegen dieses Eiweiß nachweisen könnte, versuchten es Wassermann und Bruck (4), dieses Phänomen auch für klinisch-diagnostische Zwecke auszunützen, wobei sie zu dem Schlusse kamen, daß dasselbe zum Nachweis sowohl kleinster Mengen bakterieller Antistoffe, als auch geringer Mengen gelöster Bakteriensubstanz wohl geeignet sei, und in einer kurz darauf folgenden Mitteilung spricht sogar Leuchs, der unter Wassermanns Leitung arbeitete (5), dem Komplementablenkungsphänomen mehr Empfindlichkeit zu, als den sonst in der Serodiagnostik zum Nachweis bakterieller Antistoffe gebräuchlichen Verfahren (Agglutinationsprobe, Pfeifferscher Versuch).

Seit diesen ersten Veröffentlichungen Wassermanns und seiner Schüler hat die Zahl der Arbeiten, die sich mit der praktischen Verwendbarkeit der Komplementbindungsreaktion beschäftigten, bereits eine ansehnliche Größe erreicht. Die Ergebnisse dieser, verschiedene Infektionskrankheiten, darunter besonders auch den Abdominaltyphus, umfassenden Forschungen sind aber nichts weniger als eindeutig zu beurteilen. Zwar behaupten Leuchs und Schöne (6) in einer neuesten Mitteilung, daß die von Wassermann und seiner Schule vertretene Ansicht über die Zuverlässigkeit der Methode von allen Forschern mehr oder weniger aufrecht gehalten wird, tatsächlich aber sind die diesbezüglichen Befunde Wassermanns wenig bestätigt.

So kam Moreschi (7), der anfangs mit Vollbakterien, später aber auch mit Bakterienextrakten arbeitete, auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schlusse, daß das von Wassermann und Bruck zur bakteriologischen Diagnostik empfohlene Verfahren der Komplementbindung weder zur Titrierung spezifischer Immunsere, noch zum Nachweis kleiner Bakterienmengen so zuverlässig sei, daß seine praktische Verwertung heute empfohlen werden könnte. Leuchs und Schöne erklären zwar die Mißerfolge von Moreschi dadurch, daß er sich weder bezüglich des hämolytischen Systems, noch hinsichtlich der Herstellung der Bacillenextrakte an die Wassermannschen Vorschriften gehalten hat. Demgegenüber mag jedoch hervorgehoben werden, daß auch Händel (8), der mit genau nach Wassermann hergestellten Extrakten arbeitete, zu einem für die Wassermannsche Auffassung ebenso ungünstigen Urteil kam. Auch Posner (9), der die Verwendbarkeit der Komplementablenkungsmethode bei Typhus am Krankenbette prüfte, hält sich für nicht berechtigt, dieses Verfahren zu empfehlen, wegen dessen Umständlichkeit, wie er meint, aber anscheinend auch, weil es ihn vielfach im Stiche ließ.

Alle diese widersprechenden Angaben machten es wünschenswert, den Ursachen der so ungleichen Ergebnisse und Beurteilung derselben nachzuforschen und zu ermitteln, wie weit die Mißerfolge wirklich mit technischen, die Versuchsmethodik betreffenden Fehlern in Zusammenhang ständen und ob nicht vielmehr andere wichtige Faktoren maßgebend oder wenigstens von Bedeutung wären.

Von der Vermutung ausgehend, daß die verschiedenen Forscher es nicht alle mit denselben Typhusrassen zu tun hatten (was sich später nach einer genauen Sichtung der diesbezüglichen Literatur als richtig erwies), und daß vielleicht darin der Grund der so ungleichen Ergebnisse zu suchen wäre, habe ich eine Reihe von Versuchen mit verschiedenen Typhusstämmen unternommen und ausgeführt, wobei ich bezüglich der Technik teils genau an den Vorschriften von Wassermann-Leuchs festhielt, teils aber, nämlich hinsichtlich des Antigens, mich, aus unten näher erörterten Gründen, auch eigener Methoden bediente.

Es wurden insgesamt 8 Immunsera geprüft, welche von Kaninchen stammten, die mit den Typhusstämmen „Gießen“ (Kaninchen No. 4 und 12), „Wassermann“ (Kaninchen No. 6 und 9), „Sprung“ (Kaninchen No. 11), „Moreschi“ (Kaninchen No. 14) und Paratyphusbacillen vorbehandelt waren (Kaninchen No. 5). Die Immunisierung erfolgte durch Einführen von lebenden resp. abgetöteten 24-stündigen Agarkulturen ($\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{5}$ Oese in 0,8-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt), in die Blutbahn oder Bauchhöhle.

Als Antigen dienten zum Teil Organ- (Leber- und Milz-) Extrakte von künstlich infizierten Meerschweinchen, für die Mehrzahl der Versuche aber Bacillenextrakte.

Letztere stellte ich mir nach zwei verschiedenen Methoden her, und zwar aus allen mir zur Verfügung überlassenen Stämmen. Eine Anzahl Kollischer Schalen wurde mit dem zu prüfenden Stamm beimpft und der nach 24-stündiger Bebrütung bei 37° gewachsene Kulturrasen mit je 5 ccm destillierten Wassers abgeschwemmt, sämtliche Aufschwemmungen alsdann in einen Kolben zusammengewaschen und die Mischung nach tüchtigem Durchschütteln in zwei verschiedene Kölbchen verteilt. Das eine derselben wurde genau nach der Vorschrift von Leuchs und Schöne 24 Stunden lang bei 60° ruhen gelassen und weitere 48 Stunden im Schüttelapparat bei Zimmertemperatur behandelt. Das zweite Kölbchen aber wurde 3 Stunden lang bei 85—90° gehalten und dann weitere 48 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt. Sämtliche Immunsera wurden ein jedes, nach gehöriger Inaktivierung, auf alle nach den verschiedenen Methoden hergestellten Extrakte geprüft.

Als hämolytisches System dienten eine 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung und Serum von einem mit Hammelerythrocyten nach der üblichen Methode vorbehandelten Kaninchen, wobei ich bei den meisten Versuchen die doppelte Dosis des unteren Grenzwertes des Ambozeptors brauchte. Als Komplement diente Meerschweinchenserum, welches ich jedesmal auf seine komplettierende Wirkung titrierte, und dann stets die fünffache Dosis des Grenzwertes brauchte. Jedesmal wurde das auf seine komplementbindende Wirkung zu prüfende Serum auch auf dessen Agglutinationswert und in späteren Versuchen auch auf den bakteriolytischen Wert untersucht.

Sämtliche Versuche wurden je 2—3 mal in genau derselben Anordnung wiederholt.

Es wurden im ganzen 68 Versuche ausgeführt, welche folgende Ergebnisse lieferten:

1) Die mittels Stamm „Wassermann“ gewonnenen Sera (No. 6 und 9) gaben stets sehr ausgesprochene Komplementablenkung, und zwar schon vom 9.—10. Tage an, wie es aus folgenden Tabellen ersichtlich ist.

Tabelle I.

Serum „Wassermann“ No. 6 (21. Juli und 27. Juli zu je $\frac{1}{10}$ und $\frac{1}{5}$ Oese lebender 24-stündiger Agarkultur Wassermann in die Blutbahn injiziert): Agglutinationstiter des am 31. Juli und 4. Aug. entnommenen Serums = 1:1000.

Serum „Wassermann“ 6	0,05	} Extrakt Wassermann I ¹⁾	0,02	0	
	0,04		Komplement	0,1	0
	0,03		Ambozeptor	0,002	0
	0,02				0
	0,01				0+
	0,009				0++
	0,008				
	0,006				
	0,005				

Tabelle II.

Serum „Wassermann“ 9 (den 4. Aug. und 10. Aug. zu je $\frac{1}{10}$ Oese abgetöteter (bei 60°) 24-stündiger Agarkultur Wassermann einem Kaninchen in die Blutbahn injiziert). Serum am 17. Aug. entnommen. Agglutinationstiter mit Stamm „Wassermann“ = 1:400, mit Stamm Sprung = 1:800, mit Stamm Gießen = 1:2000.

Serum „Wassermann“ 9	0,05	} Extrakt Wassermann I	0,02	0	
	0,04		Komplement	0,08	0+
	0,03		Ambozeptor	0,002	0+
	0,02				0++
	0,01				
	0,008				

2) Die Wassermann-Sera gaben konstant deutliche Komplementablenkung mit allen Stämmen, vorausgesetzt, daß die entsprechenden Bacillenextrakte überhaupt einen komplementbindenden Wert besaßen.

Tabelle III.

Serum „Wassermann“ 6	0,05	} Extrakt Sprung I	0,02	0	
	0,04		Komplement	0,1	0
	0,03		Ambozeptor	0,002	0
	0,02				0+
	0,01				

Tabelle IV.

Serum „Wassermann“ 6	0,05	} Extrakt Gießen II	0,02	0	
	0,04		Komplement	0,08	0
	0,03		Ambozeptor	0,002	0+
	0,02				0+
	0,01				

In Kontrollröhrchen mit 0,2 Serum ohne Extrakt und 0,1 Extrakt ohne Serum komplette Lösung.

Tabelle V.

Serum Wassermann 9	0,05	} Extrakt Gießen II	0,02	0	
	0,04		Komplement	0,01	0
	0,03		Ambozeptor	0,002	0
	0,02				0+
	0,01				

1) Die mit I bezeichneten Extrakte sind nach Wassermann-Leuchs, die mit II bezeichneten nach meiner Methode (3 Stunden bei 85—90° erhitzt) hergestellt.

0 = komplette Hemmung, 0+ = große Kuppe, 0++ = kleine Kuppe, +++ = komplett gelöst.

3) Die mit den Stämmen „Sprung“ und „Gießen“ gewonnenen Immunsera äußerten einen weit geringeren komplementbindenden Wert, und zwar konnte derselbe erst sehr spät, erst vom 18. Tage an verzeichnet werden.

Tabelle VI.

Serum „Gießen“ 12 (am 4. Aug. $\frac{1}{10}$ Oese lebender 24-stündiger Agarkultur „Gießen“ einem Kaninchen in die Ohrvene injiziert). Agglutinationstiter des am 11. Aug. entnommenen Serums = 1:500.

Serum „Gießen“ 12	0,05	} Extrakt Gießen I 0,02 Komplement 0,1 Ambozeptor 0,002	+++
	0,04		+++
	0,03		+++
	0,02		+++
	0,01		+++
	0,009		+++
	0,008		+++
0,006	+++		

Tabelle VII.

Serum Gießen 12	0,05	} Extrakt Gießen I 0,02 Komplement 0,1 Ambozeptor 0,002	+++
	0,04		+++
	0,03		+++
	0,02		+++
	0,01		+++
	0,005		+++

Tabelle VIII.

Serum Gießen 12	0,05	} Extrakt Gießen II 0,02 Komplement 0,1 Ambozeptor 0,002	+++
	0,04		+++
	0,03		+++
	0,02		+++
	0,01		+++
	0,005		+++

Tabelle IX.

Serum Gießen 12	0,05	} Extrakt Wasserm. I 0,02 Komplement 0,1 Ambozeptor 0,002	+++
	0,04		+++
	0,03		+++
	0,02		+++
	0,01		+++
	0,005		+++

Tabelle X.

Serum Gießen 12	0,05	} Extrakt Sprung 0,04 Komplement 0,1 Ambozeptor 0,002	+++
	0,04		+++
	0,03		+++
	0,02		+++
	0,01		+++

Tabelle XI.

Serum Sprung 11 (am 4. Aug. $\frac{1}{10}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur „Sprung“ einem Kaninchen in die Ohrvene injiziert). Agglutinationstiter des am 11. Aug. entnommenen Serums = 1:400, bakteriolytischer Titer = 1:2000.

Serum Sprung 11	0,05	} Extrakt Sprung 0,02 Komplement 0,1 Ambozeptor 0,002	+++
	0,04		+++
	0,03		+++
	0,02		+++
	0,01		+++

Tabelle XII.

Serum Sprung 11	0,05	} Extrakt Gießen II 0,02 -0,04 Komplement 0,1 Ambozeptor 0,002	+++
	0,04		+++
	0,03		+++
	0,02		+++
	0,01		+++

4) Ein Gießen-Serum erwies sich als gar nicht komplementablenkend, obwohl es einen Agglutinationstiter von 1:8000 aufwies.

Tabelle XIII.

Serum „Gießen“ 4 (den 10. Juli und 14. Juli je $\frac{1}{10}$ und $\frac{1}{6}$ Oese abgetöteter 24-stündiger Agarkultur „Gießen“ einem Kaninchen in die Blutbahn injiziert). Serum am 30. Juli entnommen, Agglutinationstiter 1:8000 (mit Stamm Gießen).

Serum „Gießen“ 4	0,1	} Extrakt Gießen I	0,02	+++
	0,08		0,02	+++
	0,06		—0,04	+++
	0,04		0,1	+++
	0,02		0,002	+++
	0,01			+++

Nur solche Dosen Serum wirkten positiv, welche schon an und für sich partielle Hemmung aufwiesen.

5) Vom 18. Tage an äußerten auch die Sprung- und Gießen-Sera komplementbindende Eigenschaft, aber weit geringere als die Wassermann-Sera.

Tabelle XIV.

Serum „Sprung“ II (am 21. Aug. entnommen)	0,1	} Extrakt Gießen II	0,04	0
	0,08		0,04	0
	0,06		0,08	0
	0,04		0,002	0+
	0,02			0++
	0,01			+++

Im Kontrollversuch gaben 0,2 Serum sowie 0,08 Extrakt an und für sich keine Hemmung.

Tabelle XV.

Serum Gießen 12 (am 21. Aug. entnommen)	0,1	} Extrakt Gießen II	0,02	0
	0,08		0,08	0
	0,06		0,002	0+
	0,04			0+
	0,02			0+

Tabelle XVI.

Serum Wassermann 9	0,05	} Extrakt Gießen II	0,02	0
	0,04		0,08	0
	0,03		0,002	0
	0,02			0
	0,01			0+

6) Die komplementbindenden Gießen-Sera reagierten ausgesprochen positiv nur mit Gießen-Extrakt II (Tabelle XV), weniger stark mit Extrakt Sprung, und gaben auch in größeren Dosen gar keine Ablenkung mit den Wassermann-Extrakten.

Tabelle XVII.

Serum „Gießen“ 12	0,1	} Extrakt Sprung	0,03	0
	0,08		0,1	0+
	0,06		0,002	0++
	0,04			0++
	0,02			0++

Tabelle XVIII.

Serum Gießen 12	0,1	} Extrakt Wassermann I	0,02—0,04	+++
	0,08		0,08	+++
	0,06		0,002	+++
	0,04			+++
	0,02			+++
	0,01			+++

Tabelle XIX.

Serum Gießen 12	0,1	} Extrakt Wassermann II	0,02—0,04	+++	
	0,08		+++		
	0,06		} Komplement	0,08	+++
	0,04			+++	
	0,02			0,002	+++

7) Ebenso gab Serum Sprung mit Wassermann-Extrakt eine kaum zu beachtende Ablenkung.

Tabelle XX.

Serum „Sprung“ 11 (am 21. Aug. entnommen)	0,1	} Extrakt Wassermann II	0,04	0+	
	0,08		0,08	0++	
	0,06		} Komplement	0,08	0++
	0,04			0,002	0++
	0,02			+++	

8) Die nach Wassermann-Leuchs hergestellten Gießen-Extrakte geben, auch in größeren Dosen, keine Ablenkung, weder mit Gießen-Sera, noch mit den stark bindenden Wassermann-Sera.

Tabelle XXI.

Extrakt Gießen I	0,05	} Serum Wassermann	0,04	+++	
	0,04		—0,05	+++	
	0,03		} Komplement	0,08	+++
	0,02			0,002	+++
	0,01			+++	
	0,008		+++		

Tabelle XXII.

Extrakt Gießen I	0,1	} Serum Gießen 12	0,04	+++	
	0,08		0,08	+++	
	0,06		} Komplement	0,002	+++
	0,04			+++	
	0,02			+++	

0,4 Extrakt hemmte die Hämolyse schon an und für sich ohne Zusatz von Immunserum.

9) Dagegen erwiesen sich die nach meiner Methode II hergestellten Extrakte Gießen ausgesprochen komplementablenkend, und zwar reagierten sie stärker mit Sprung- und Wassermann-Sera als mit art-eigenem Serum.

Tabelle XXIII.

Extrakt Gießen II	0,05	} Serum Wassermann 9	0,03	0	
	0,04		0,08	0	
	0,03		} Komplement	0,002	0
	0,02			0+	
	0,01			0	

Tabelle XXIV.

Extrakt Gießen II	0,05	} Serum Gießen 12	0,04	0	
	0,04		0,1	0+	
	0,03		} Komplement	0,002	0++
	0,02			0++	
	0,01			+++	
	0,005		+++		

Tabelle XXV.

Extrakt Gießen II	0,05	} Serum Wassermann 6	0,03	0	
	0,04		0,1	+0	
	0,03		} Komplement	0,002	+0
	0,02			+0	
	0,01			+++	

Tabelle XXVI.

Serum Sprung 11	0,1	}	Extrakt Gießen II	0,02	0
	0,08			0,04	0
	0,06			-0,04	0
	0,04			0,1	0
	0,02			0,002	0
	0,01				0+

10) Auch bei dem stark ablenkenden Wassermann-Stamm wies das nach Methode II hergestellte Extrakt einen höheren komplementbindenden Wert auf, wie es folgende vergleichende Versuche veranschaulichen.

Tabelle XXVII.

Extrakt Wassermann I	0,05	}	Serum Wassermann 9	0,04	0
	0,04			0,08	0
	0,03			0,08	0
	0,02			0,002	0+
	0,01				0+
	0,008				0++

Tabelle XXVIII.

Extrakt Wassermann II	0,05	}	0
	0,04		0
	0,03		0
	0,02		0
	0,01		0+
	0,008		0+

11) Die nach Methode II hergestellten Extrakte ließen sich nicht ganz klar zentrifugieren, weshalb ich sie zum Teil durch eine Chamberland-Kerze filtrierte und das Filtrat mit 0,5 Proz. Phenol versetzte. Durch die Filtration wird der komplementbindende Wert der Extrakte nicht merkbar beeinträchtigt, die Filtrate sind aber wenig haltbar, werden mit der Zeit wieder trübe und ganz unwirksam.

Tabelle XXIX.

Gießen-Filtrat II (am 11. Aug.)	0,05	}	Serum Wassermann 6	0,03	0
	0,04			0,1	0+
	0,03			0,002	0+
	0,02				0+
	0,01				0++
					0++

Tabelle XXX.

Gießen-Filtrat II (am 19. Aug.)	0,05	}	Serum Wassermann 9	0,03	+++
	0,04			-0,05	+++
	0,03			0,08	+++
	0,02			0,002	+++
	0,01				+++
					+++

12) Das mittels Stamm „Moreschi“ gewonnene Immunsrum lenkte deutlich positiv nur mit eigenartigem Extrakt, und gab mit andersartigem Extrakt nur partielle Hemmung.

Tabelle XXXI.

Serum Moreschi ($\frac{1}{10}$ Oese abgetöteter 24-stündiger Agarkultur Moreschi einem Kaninchen am 15. Aug. in die Ohrvene injiziert). Serum den 23. Aug. entnommen. Agglutinationstiter 1:800.

Serum Moreschi	0,1	}	Extrakt Wassermann II	0,04	+0
	0,08			0,1	+0
	0,06			0,004	0++
	0,04				0++
	0,02				0++
					0++

Tabelle XXXII.

Serum Moreschi	0,1	}	Extrakt Moreschi	0,04	0
	0,08			0,1	0+
	0,06			0,004	0+
	0,04				0++
	0,02				0++
					0++

13) Das Paratyphusserum gab partielle Hemmung mit Paratyphusbacillenextrakt und reagierte negativ mit Typhusbacillenextrakt.

Tabelle XXXIII.

Paratyphusserum	0,05	} Paratyphusextrakt	0,03	0+	
	0,04		Komplement	0,1	0+
	0,03		} Ambozeptor	0,002	0++
	0,02				0++

14) Paratyphusextrakt reagierte negativ mit sämtlichen Typhusimmunsera.

Tabelle XXXIV.

Serum Wassermann 6	0,05	} Paratyphusextrakt	0,04	+++	
	0,04		Komplement	0,1	+++
	0,03		} Ambozeptor	0,002	+++
	0,02				+++
	0,01				+++

Tabelle XXXV.

Serum Wassermann 9	0,05	} Paratyphusextrakt	0,04	+++	
	0,04		Komplement	0,1	+++
	0,03		} Ambozeptor	0,002	+++
	0,02				+++
	0,01				+++

Tabelle XXXVI.

Serum „Sprung“	0,05	} Paratyphusextrakt	0,04	+++	
	0,04		-0,06	+++	
	0,03		} Komplement	0,1	+++
	0,02				+++
	0,01				Ambozeptor

Uebrigens wurden nur nach Wassermann-Leuchs hergestellte Extrakte geprüft.

Außer Bacillenextrakten wurden auch Organextrakte von mittels virulenter Typhuskulturen getöteter Meerschweinchen geprüft.

Einem Meerschweinchen wurde $\frac{1}{10}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur (Stamm „Wassermann“) in die Bauchhöhle injiziert. Das Tier ging nach 36 Stunden zugrunde. Auf den mit Leber- und Milzsaft beimpften Endo-Platten wuchsen unzählbare Typhuskolonien in Reinkultur. Beide Organe wurden mit je 4 ccm 70° Alkohol per 1,0 g Organ in einem Mörser tüchtig verrieben, alsdann 24 Stunden bei Zimmertemperatur ruhig gelassen und weitere 48 Stunden im Schüttelapparat mit Glasperlen geschüttelt. Vor Gebrauch wurde jedesmal ein Teil der Mischung zentrifugiert und die klare Flüssigkeit auf deren komplementbindenden Wert geprüft. Wie aus nachfolgenden Tabellen ersichtlich ist, wirkten nur große Dosen hemmend, und zwar reagierte das Milzextrakt etwas stärker als das Leberextrakt.

Tabelle XXXVII.

Leberextrakt	0,3	} Serum Wassermann 6	0,03	0	
	0,2		Komplement	0,1	+0
	0,1		} Ambozeptor	0,002	+ + 0
	0,08				+ + +
	0,06				+ + +

Tabelle XXXVIII.

Milzextrakt	0,3	} Serum Wassermann	0,03	0	
	0,2		Komplement	0,1	0
	0,1		} Ambozeptor	0,002	0+
	0,008				0++
	0,006				0++

33*

Fassen wir nun unsere Versuchsprotokolle kurz zusammen, so ergibt sich, daß die Art des die Immunität herbeiführenden Typhusstammes auf das Zustandekommen und die quantitative Wertigkeit der Komplementbindungsreaktion einen nicht zu verkennenden Einfluß ausübt. Während die mittels Stamm Wassermann gewonnenen Sera eine ausgeprägt hemmende Wirkung mit allen Typhusstämmen, und zwar noch in sehr starken Verdünnungen äußerten (Tabellen I, II, III, IV und V), reagierten die Immunsera „Gießen“ und „Moreschi“ deutlich ablenkend nur mit artemgenem Extrakt (Tabellen XV, XVII, XVIII und XIX, sowie XXXI und XXXII).

Andererseits spielt auch die Art des als Antigen dienenden Stammes eine wesentliche Rolle, was, nebenbei bemerkt, für den bakteriolytischen Wert bestimmter Stämme bereits von Friedberger und den Agglutinationswert von Zupnick (10) festgestellt ist. Beachtenswert und vom praktischen Gesichtspunkte aus wichtig ist es dabei, daß nicht jeder Stamm, welcher das am stärksten hemmende Serum liefert, auch das beste für alle Immunsera brauchbare Antigen darstellt. Ein aus Stamm „Wassermann“ hergestelltes Extrakt reagierte z. B. gar nicht mit dem Gießen-Sera (Tabellen XVIII und XIX) und sehr schwach mit Moreschi-Serum (Tabelle XXXI), obwohl derselbe Stamm stets das am stärksten hemmende Serum lieferte.

In einer vor ganz kurzem veröffentlichten Arbeit betont Posner nachdrücklich die angeblich von ihm beobachtete Uebereinstimmung im Verlaufe und der quantitativen Fähigkeit der Agglutinations- und Komplementbindungsreaktionen. Eine bestimmte Schlußfolgerung im Sinne der Identität der Agglutinine und der komplementbindenden Stoffe zieht Verfasser einstweilen daraus noch nicht, hält aber eine solche für höchstwahrscheinlich. Meine eigenen Versuche stehen aber mit dieser Auffassung in Widerspruch. Es ist eben gerade mit Rücksicht auf diesen letzteren Punkt bemerkenswert, daß die am ausgeprägtesten ablenkenden Wassermann-Sera einen verhältnismäßig niederen Agglutinationstiter aufwiesen (1 : 1000), während ein sehr schwach ablenkendes Gießen-Serum noch in Verdünnungen von 1 : 8000 deutliche Agglutination hervorrief. Ebenso äußerte das Sprung-Serum mit Agglutinationstiter 1 : 400 einen stärker hemmenden Wert als das Moreschi-Serum mit Agglutinationstiter 1 : 800.

Soweit man es also unseren Versuchen entnehmen kann, werden wir in der Annahme nicht fehlgehen, daß die Agglutinine mit den komplementablenkenden Stoffen zweifelsohne nicht identisch sind.

Noch weniger ließ sich eine Uebereinstimmung im Verlaufe der Bakteriolyse und Komplementbindung der Sera nachweisen. So wies das sehr schwach ablenkende Gießen-Serum einen sehr hohen bakteriolytischen Titer (1 : 15 000) auf, und gerade gegenüber demselben äußerst virulenten Wassermann-Stamm, dessen Extrakte eben mit diesem Immunsorum gar keine Ablenkung gaben (Tabellen XVIII und XIX).

Der von Wassermann und Leuchs vertretenen Ansicht über die Wichtigkeit der Darstellungsmethode des Antigens können wir bestimmt beipflichten. Jedoch genügt das von ihnen empfohlene Verfahren durchaus nicht für alle Fälle. Anscheinend geben nicht alle Stämme die betreffenden reaktionsfähigen Stoffe gleich leicht ab und es sind zum Extrahieren derselben mehr eingreifende Behandlungsweisen erforderlich. So ist es mir gelungen, aus dem Gießen-Stamm ein wirksames Extrakt mittels Einwirkung höherer Temperaturen (85—90°) herzustellen (Tabellen XV und XVI).

Obwohl die Ergebnisse unserer Versuche mit denen von Moreschi nicht ganz übereinstimmen, insofern wir in einer Anzahl Versuchsreihen positive Resultate erzielen konnten, müssen wir, wenn auch auf andere Tatsachen gestützt, ihm doch beistimmen, wenn er das Urteil fällt, daß das Komplementablenkungsverfahren weder zur Titrierung spezifischer Immunsera, noch zum Nachweis kleiner Bakterienmengen genügend zuverlässig wäre.

Es liegt nämlich auf der Hand, daß es einstweilen verfrüht wäre, für praktische Zwecke ein Verfahren zu empfehlen, bei dem es so viel auf mannigfaltige, äußerst verwickelte und zurzeit noch in manchen Richtungen nicht näher ergründete Einflüsse ankommt. Trotzdem liegt es mir fern, den etwaigen zukünftigen Wert der Reaktion, vielleicht auf einem anderen Gebiete, irgendwie herabzusetzen. Bilden doch für mich die oben mitgeteilten experimentellen Untersuchungen nur eine Beihilfe in dem Bestreben, ein in seinem Wesen nach unklares Phänomen zu erhellen. Ich behalte mir übrigens noch vor, meine rein experimentellen Untersuchungen durch klinische Forschungen, nämlich unter Berücksichtigung des von mir festgestellten Einflusses der Typhusrassen, zu vervollständigen.

Ich halte es für eine angenehme Pflicht, am Schlusse meiner Arbeit Herrn Geheimrat Prof. R. Pfeiffer für die fördernde Teilnahme, die er derselben entgegenbrachte, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) Gengou, Annales de l'Inst. Pasteur. T. XVI. 1902. — 2) Gay, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIX. 1905. Heft 5. — 3) Moreschi, Berliner klin. Wochenschr. 1905. No. 37. — 4) Wassermann, A. und Bruck, C., Med. Klinik. 1905. No. 55. — 5) Leuchs, Berliner klin. Wochenschr. 1907. No. 3 u. 4. — 6) Leuchs u. Schöne, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LX. 1908. Heft 1. — 7) Moreschi, Berliner klin. Wochenschr. 1906. No. 38. — 8) Händel, Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 49. — 9) Posner, Münch. med. Wochenschr. 1907 und Berl. klin. Wochenschr. 1908. No. 37. — 10) Zupnick, Zeitschr. f. Hyg. 1906.

Nachdruck verboten

Ueber den Wert von Typhusbacillen-Mischbouillon zur Serodiagnose des Typhus.

[Aus dem Untersuchungsamt des Hygienischen Instituts Freiburg i. Br.]

Von Dr. Geisse, Volontärassistent.

Nachdem Falta und Nöggerath¹⁾ zuerst die gleichzeitige Verwendung mehrerer Typhusstämme in Form einer Typhusbacillen-Mischbouillonkultur statt eines einzigen Typhusstammes zur Widal-Reaktion empfohlen hatten, veröffentlichte Hilgermann, Koblenz im Klin. Jahrbuch Bd. XVIII. 1908 seine Untersuchungen mit Typhusbacillennischbouillon. Er erzielte damit erheblich günstigere Resultate, als bei Verwendung von Bouillonkulturen, die nur mit einem Typhusstamme beimpft waren. Hilgermanns Resultate sind folgende:

1) Von 62 Blutseris wurden 7 bei der gewöhnlichen Widal-Untersuchung völlig negative Typhen, durch Verwendung von Typhusmischbouillon als positive diagnostiziert und bei 4 weiteren, welche bei der

1) Deutsches Archiv f. klin. Med. Bd. LXXXIII. 1905.

gewöhnlichen Widal-Reaktion nur bis 1:30 positiven Ausfall ergaben, konnte bei Anwendung von Mischbouillon die Diagnose Typhus durch höheren Agglutinationstiter gesichert werden.

2) Da es sich bei 9 von obigen 11 Fällen um Untersuchungen in den ersten Krankheitstagen (2.—8. Tag) handelte, so war in diesen 9 Fällen mit Hilfe der Typhusmischbouillon eine Frühdiagnose des Typhus ermöglicht worden.

Bei der außerordentlichen Wichtigkeit nicht nur der sicheren, sondern auch der möglichst frühzeitigen Diagnose des Typhus erschien uns diese Veröffentlichung für alle bakteriologischen Untersuchungsämter praktisch so bedeutungsvoll, daß wir sofort in eine Nachprüfung eintraten. Die Mischbouillon stellten wir zunächst auf dieselbe Weise, wie Hilgermann her. Es standen uns 4 Stämme A, B, H und K in Reinkultur zur Verfügung. Dieselben wurden auf Glycerinschrägagar frisch überimpft und nach 24-stündigem Verweilen bei 37° je eine Oese voll in 100 ccm steriler Bouillon verrieben. Die infizierte Bouillon wurde 24 Stunden lang bei 37° bebrütet und dann durch Zusatz von 1 ccm Formalin abgetötet. Die so präparierte Typhustestbouillon wurde nach Prüfung auf Keimgehalt und Freisein von lebenden Bacillen und störenden Niederschlägen bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Im Verlaufe unserer Untersuchungen, welche sich über 10 Wochen erstreckte, wurde die Mischbouillon einmal erneuert.

Die Untersuchungsmethode war die bei uns übliche mikroskopische, welcher wir vor der makroskopischen den Vorzug geben, da sie nach unserer Erfahrung ein rascheres und besseres Resultat ergibt und eine genauere Bestimmung der Endreaktion gestattet. Untersucht wurde mit Objektiv 3, Okular 1 und zur Kontrolle mit Objektiv 5.

Wir untersuchten während der oben angegebenen Zeit alle Blutproben, welche dem hiesigen bakteriologischen Untersuchungsamt als typhusverdächtig eingesandt wurden, mit der Mischbouillon sowohl wie mit einem gut agglutinablen Stamme K, der auch in der Mischbouillon enthalten war. Die Widal-Reaktion wurde jeweils in Verdünnungen von 1:50 und 1:100 angesetzt und nur dann als positiv bezeichnet, wenn beide bei 60-facher Vergrößerung deutlich agglutiniert wurden.

Wir untersuchten 50 Fälle. Hiervon waren 39 positiv und 11 negativ. Bei allen Fällen, in denen die Mischbouillon ein positives Resultat ergab, wurde Stamm K allein bei 50- wie 100-facher Vergrößerung ebenfalls agglutiniert, und nur in einem Falle konnte bei der Mischbouillon ein etwas rascheres Eintreten der Agglutination konstatiert werden, während in mehreren anderen Fällen die Reaktion mit Stamm K allein eine intensivere war. Höhere Konzentration des Serums, etwa 1:30, haben wir bei unseren Untersuchungen nicht herangezogen, weil dieselben für die Unterstützung der Typhusdiagnose praktisch keinen Wert haben. Wir haben demnach unter 39 positiven Widal-Reaktionen nicht einen einzigen Fall, der eine Ueberlegenheit der Typhusmischbouillon beweist, gegenüber 11 von 62 Fällen bei Hilgermann.

Wie lassen sich nun diese so verschiedenen Resultate erklären? Die Annahme, daß uns der Zufall einen Streich gespielt, ist sehr unwahrscheinlich. Dafür ist die Zahl der Fälle zu groß. Daß die von uns benutzten Stämme besonders „artverwandt“, d. i. mit ganz denselben Agglutinogenen ausgestattet gewesen wären, war ebenso unwahrscheinlich, da sie von Typhen aus verschiedenen Orten und Zeiten herrührten. Wir mußten deshalb zunächst annehmen, daß in der von uns geübten

und für überlegen erachteten mikroskopischen Methode die Erklärung für die Verschiedenheit der Resultate zu suchen war. Hilgermann untersuchte makroskopisch nach Pröscher-Neisser.

In Tabelle 2, Fall 24, ist Hilgermann wohl ein Beobachtungsfehler unterlaufen, indem dort keiner der Stämme, die in der Mischbouillon enthalten sind, einen höheren Titer als 1:30 zeigte, während die Mischbouillon in Verdünnung 1:200 agglutiniert wurde. Demnach müßte die Mischbouillon in diesem Falle eine absolute Erhöhung des Agglutinationstiters bedingen. Ein solches Verhalten ist wohl zum mindesten unwahrscheinlich. Im Gegensatz zu diesem Befund wird in derselben Tabelle (Fall 3, 6 und 48) je einer der Stämme doppelt so hoch agglutiniert als die Mischbouillon. Letztere 3 Fälle unter 11, also etwa 27 Proz., deuten darauf hin, daß einzelne Stämme durch Mischung mit anderen in ihrer Agglutinabilität herabgesetzt werden, eine Erscheinung, die Hilgermann übergeht.

Die Annahme, daß in einer Typhusbacillenmischbouillon wahrscheinlich mehr verschiedenartige Agglutinogene enthalten sind, als in einer Bouillon, die nur mit einem einzigen Stamme beimpft wurde, und daß infolgedessen auch mit größerer Wahrscheinlichkeit in jedem Typhusantiserum ein entsprechendes Agglutinin sich vorfindet, liegt nahe und schien daher auch uns zunächst für die Vermehrung der Mischbouillon zu sprechen. Da uns dies aber weder durch die Hilgermannschen Untersuchungen noch durch die Arbeiten von Falta und Nöggerath (s. o.) hinreichend bewiesen schien, und auch unsere oben niedergelegten Untersuchungen keineswegs Anhaltspunkte ergaben, die jenen theoretischen Erwägungen eine praktische Stütze verleihen konnten, so haben wir durch nachfolgende Versuche mehr Klarheit zu schaffen unternommen.

Wir stellten uns zunächst von vieren unserer Typhusstämme, die wir A, B, H, P nennen, und welche bakteriologisch als einwandfreie Typhen festgestellt waren, je eine Bouillonkultur dar, welche nach 24-stündigem Wachstum bei 37° durch 1-proz. Formalinzusatz abgetötet wurde. Zur Darstellung der Mischbouillon gossen wir gleiche Teile dieser 4 formalinisierten Bouillonkulturen zusammen. Wir erzielten dadurch zum Unterschied von der bei den ersten Untersuchungen benutzten Mischbouillon, welche, wie ersichtlich, mit der 4-fachen Bacillennenge geimpft war, eine Bacillenaufschwemmung, die in ihrer Dichtigkeit etwa jeder der einzelnen Bouillonkulturen gleichzusetzen war. Dieses Vorgehen scheint uns von Bedeutung zu sein. Denn ganz abgesehen davon, daß die Menge der Bacillen, welche sich in einer Bouillon befinden, bekanntlich für die Höhe des Agglutinationstiters nicht gleichgültig ist¹⁾, haben wir bei der jetzt gewählten Darstellung der Mischbouillon mehr Garantie, daß alle Stämme etwa in gleicher Menge vertreten sind, während bei der Hilgermannschen Art der Darstellung es sehr leicht vorkommen könnte, daß der eine oder der andere der in dieselbe Bouillon überimpften Stämme sich rascher vermehrt, die anderen überwuchert und so die Hauptmenge der Bacillen repräsentiert. Von jeder unserer 4 Typhusbouillonkulturen und ebenso von der wie eben beschrieben dargestellten Mischbouillon stellten wir uns nun Immunsera dar, indem wir jungen Kaninchen je 1 ccm frischer durch 30 Minuten bei 65° abgetöteter Kultur intraperitoneal injizierten. Nach 10 Tagen wurde jedem der 5 Tiere Blut entnommen und die durch Zentrifugieren aus den Wattetupfern erhaltenen Sera im Frigo-Eisapparat aufbewahrt.

Wir untersuchten nun jedes der Sera auf seinen Gehalt an Agglutininen, zunächst gegenüber seinem eigenen Stamm, der in abgetöteter

1) Der Ansicht von Falta und Nöggerath, daß die Wirkung agglutinationshemmender Körper durch Anwendung sehr dichter Bouillon vermieden wird, können wir uns nicht anschließen.

Formalinbouillon vorrätig gehalten wurde, um den Titer des erhaltenen Immunserums zu bestimmen (siehe Tabelle I); dann wurde jedes der Sera gegen eine frisch, wie oben erwähnt, zubereitete, abgetötete und konservierte Mischbouillon aus den 4 Stämmen auf Agglutination untersucht. Die Resultate der letzten Untersuchung finden sich in Tabelle II aufzeichnet. Tabelle III zeigt die Agglutinationswerte, welche jedes der 4 Immunsera mit jedem der anderen 3 Stämme zusammengebracht, ergibt, und Tabelle IV den Agglutinationstiter des Immunserums M (aus der Mischung der 4 Stämme gewonnen) gegenüber den 4 einzelnen Stämmen.

In den angefügten Tabellen I, II und IV ist die Höhe des Titers sowohl nach 1-stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° als auch nach weiteren 23 Stunden bei Zimmertemperatur, getrennt angegeben, um bei Gelegenheit dieser Untersuchungen festzustellen, ob bei längerem Stehen der Agglutinationstiter wesentliche Verschiebungen zeigt. Wie aus den Tabellen ersichtlich, war dies bei allen Kulturen, außer dem Stamm B, der Fall. Letzterer hatte schon nach 1 Stunde sein höchstes Titer erreicht. Ein längeres Stehenlassen und nochmalige Untersuchung dürfte daher, wie es auch in der Literatur wiederholt schon empfohlen ist, bei negativem Widal nach 1-stündigem Verweilen im Brutschrank stets anzuraten sein. In praxi wird dies Verfahren bei uns durchgeführt.

Betrachten wir zunächst die Tabellen I und II, so sehen wir, daß jedes der erhaltenen Sera sowohl seinen eigenen Stamm agglutiniert, als auch die Typhusbacillenmischbouillon. Die am besten agglutinablen Stämme sind B und H, die beiden anderen P und A sind ärmer an Agglutininogenen, während die aus den 4 Stämmen zu gleichen Teilen

Tabelle I.

	1:200	1:300	1:400	1:600	1:800	1:1000	1:1200	Kontrolle
Serum A aggl. T. A. { Nach 1 Std. bei 37° Nach 24 Stunden	+ +	- +	- +	- -	- -	- -	- -	- -
Serum B aggl. T. B. { 1 Stunde bei 37° Nach 24 Stunden	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	- -	- -	- -
Serum H aggl. T. H. { 1 Stunde bei 37° 24 Stunden	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	- -
Serum P aggl. T. P. { 1 Stunde bei 37° 24 Stunden	+ +	+ +	+ +	- +	- -	- -	- -	- -
Serum M aggl. T. M. { 1 Stunde bei 37° 24 Stunden	+ +	+ +	+ +	- +	- +	- -	- -	- -

Tabelle II.

	1:200	1:300	1:400	1:600	1:800	1:1000	1:1200	Kontrolle
Serum A aggl. T. M. { 1 Stunde bei 37° 24 Stunden	+ +	+ +	- +	- +	- -	- -	- -	- -
Serum B aggl. T. M. { 1 Stunde bei 37° 24 Stunden	+ +	+ +	+ +	- +	- -	- -	- -	- -
Serum H aggl. T. M. { 1 Stunde bei 37° 24 Stunden	+ +	+ +	+ +	+ +	- +	- +	- -	- -
Serum P aggl. T. M. { 1 Stunde bei 37° 24 Stunden	+ +	+ +	+ +	- +	- -	- -	- -	- -

Tabelle III.

	1:100	1:200	1:400	1:600	1:800	1:1000	1:1200	1:1600	Kontrolle
Typhus A wird agglut. von Serum B	+	+	+	+	-	-	-	-	-
" " " " " "	+	+	+	+	-	-	-	-	-
" " " " " "	+	+	+	+	-	-	-	-	-
" " B " " "	+	+	+	+	+	+	+	-	-
" " " " " "	+	+	+	+	+	+	+	-	-
" " H " " "	+	+	-	-	-	-	-	-	-
" " " " " "	+	+	+	+	+	+	+	-	-
" " " " " "	+	+	+	+	+	+	+	-	-
" " P " " "	+	+	-	-	-	-	-	-	-
" " " " " "	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" " " " " "	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" " " " " "	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle IV.

	1:200	1:300	1:400	1:600	1:800	1:1000	1:1200	Kontrolle
Serum M aggl. T. A. { 1 Stunde bei 37° 24 Stunden	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum M aggl. T. B. { 1 Stunde bei 37° 24 Stunden	+	+	+	+	-	-	-	-
Serum M aggl. T. H. { 1 Stunde bei 37° 24 Stunden	+	+	+	+	+	-	-	-
Serum M. aggl. T. P. { 1 Stunde bei 37° 24 Stunden	+	+	+	-	-	-	-	-

zusammengesetzte Mischbouillon nur mittlere Werte zeigt. Sie ist also den bestagglutinablen Stämmen nicht gleichwertig.

Etwas anders ist das Bild, wenn wir die in Tabelle III niedergelegten Werte mit in Betracht ziehen. Hier fällt Stamm P durch abweichendes Verhalten auf. Er wird von den beiden Seren H und B gar nicht agglutiniert und von Serum H nur bis 1:200, während bei dem eigenen Serum der Agglutinationstiter bei 600 und bei dem aus der Mischbouillon gewonnenen Immuserum bei 400 liegt. In übereinstimmender Weise zeigt das aus dem Stamme P gewonnene Serum ein abweichendes Verhalten gegenüber den anderen 3 Stämmen, indem es seinen eigenen Stamm und die Mischbouillon höher agglutiniert als die anderen 3 Stämme. Am auffallendsten war es, daß die sonst vorzüglich agglutinablen Stämme B und H nur die niederen Titer von 200 bzw. von 400 zeigten. Hier war also anscheinend eine Ueberlegenheit der Mischbouillon über diese Stämme vorhanden, die dadurch bedingt war, daß Stamm P offenbar abweichende Eigenschaften hatte. Dies veranlaßte uns, zunächst den Stamm P noch einmal einer eingehenden Untersuchung zu unterwerfen und auch seine Geschichte zu verfolgen. Bei der Untersuchung zeigte sich, daß Stamm P alle Eigenschaften eines Typhusstammes zeigte, nur daß er Traubenzucker, Lävulose, Mannit und Maltose rascher als andere Typhusstämme zersetzte und sehr schwer agglutinabel war. Er stammte von einer im Puerperium unter septischen Erscheinungen erkrankten Frau. In den Faeces fand sich

reichlich der obenerwähnte Typhusbacillenstamm; Widal 1:300 positiv. Bei der Sektion fanden sich alte narbige Veränderungen im Ileum und frische Geschwürsbildungen im Colon, die als Colontyphus angesprochen wurden. Dabei keine Milzschwellung und im übrigen normaler Organbefund.

Es handelte sich also um einen durchaus abnorm verlaufenen Typhusfall, der bakteriologisch in einer Abart des Typhusbacillus seine Erklärung finden dürfte.

Dies bringt uns auf einen weiteren, nicht zu unterschätzenden Nachteil der Mischbouillon. Die Möglichkeit, daß in der Mischbouillon auch ein Stamm verwandt wird, welcher nicht ein absolut einwandfreier Typhus ist, ist gegeben und damit auch die Wahrscheinlichkeit, daß eine solche Mischbouillon auch von Seren agglutiniert wird, die von dem Typhus nahestehenden Erkrankungen stammen. Dies würde eine Fehldiagnose zur Folge haben und die Widal-Reaktion, welche ohnehin in den Augen mancher Kliniker und praktischer Aerzte sich nicht der Wertschätzung erfreut, die ihr als diagnostisches Hilfsmittel ersten Ranges gebührt, diskreditieren können. Man mag uns einwenden, daß es in einem gut geführten bakteriologischen Laboratorium nicht vorkommen darf, daß ein nicht vollkommen einwandfreier und gut agglutinabler Typhusstamm als solcher angesehen wird, aber jeder bakteriologisch erfahrene Arbeiter wird uns zugestehen, daß es einer nicht zu unterschätzenden Arbeit und Sorgfalt bedarf, etwa ein halbes Dutzend Typhusstämmen fortlaufend in bestimmten Zwischenräumen auf Reinheit und Agglutinabilität gegenüber einer Reihe von Seren zu prüfen.

Vergleichen wir (Tabelle III) die aus den Stämmen A, B und H erhaltenen Immunsera (Stamm P bleibt wegen der erwähnten Abweichung außer Betracht), so sehen wir, daß die aus den bestagglutinablen Stämmen B und H erhaltenen Sera den Stamm A höher agglutinieren, als das Serum A es tut; sie sind also reicher an Agglutininen.

Die Untersuchung des Immunserums M (aus der Mischung der 4 Stämme gewonnen) gegen jeden der einzelnen Stämme ergab die zu erwartenden Resultate (Tabelle IV); Stamm H und B zeigten den höchsten Titer, Stamm A den niedrigsten. Die Mischbouillon ergab hier, wie aus Tabelle I ersichtlich, den gleich hohen Titer wie Stamm H.

Unsere Untersuchungsergebnisse zusammenfassend, kommen wir zu nachstehender Schlußfolgerung.

Die nach der mikroskopischen Methode ausgeführten Widal-Reaktionen mit einem einzigen gut agglutinablen Stamme haben bei uns bisher gleich rasche und gute Resultate ergeben, als die gleichzeitige Verwendung mehrerer Typhusstämmen in Form einer Typhusbacillenmischbouillon.

Die Agglutininogene der verschiedenen Typhusbacillenstämmen und dementsprechend die durch sie hervorgerufenen Agglutinine im tierischen Serum sind nach unserer Ansicht nicht qualitativ, sondern nur quantitativ verschieden, so daß ein gut agglutinabler und gut agglutininbildender Stamm alle für Typhusbacillen charakteristische Agglutininogene in der größten Menge in seinem Protoplasma aufweist. Ein schlecht agglutinabler Stamm dagegen weist bloß einzelne Agglutininogene in größerer Menge auf und ruft deshalb auch nur die Bildung von bestimmten Agglutininen in großem Maße hervor, während andere nur ganz wenig oder

überhaupt nicht in wirksamer Menge gebildet werden. Handelt es sich in einem Krankheitsfall darum, das Serum des Patienten auf Typhusagglutinine zu untersuchen, so muß demnach die Verwendung eines gut agglutinablen Stammes die günstigsten Chancen bieten. Die Verwendung einer Typhusbacillenmischbouillon erhöht zwar auch die Wahrscheinlichkeit, daß möglichst alle agglutinogene = haptophore Gruppen für nachzuweisende Typhusagglutinine vorhanden sind, aber diese können entsprechend der gesamten Bacillenzahl nur spärlich vorhanden sein. Die weniger gut agglutinablen Bacillenstämme wirken gewissenmaßen verdünnend und Agglutinationstiter erniedrigend.

Die Typhusbacillenmischbouillon wurde in unseren Versuchen niemals höher, meist schlechter agglutiniert, als ein gut agglutinabler Stamm allein.

Durch Verwendung mehrerer Typhusstämme in Form einer Typhusbacillenmischbouillon zum Zwecke der Widal-Reaktion wächst auch die Möglichkeit, daß ein nicht absolut einwandfreier Typhusstamm darunter ist.

Endlich kommen bekanntlich in der Gruppe der Typhaceen auch Gruppenagglutininogene vor, die also sowohl bei Coli, wie Typhus und Paratyphus vorhanden sein können.

Je größer die Anzahl der in einer Mischbouillon vertretenen Typhusstämme, desto größer ist auch die Gefahr der Reaktion von Gruppenagglutininen. Die Verwendung einer Typhusbacillenmischbouillon bietet also nicht nur keinen Vorteil für die Diagnose des Typhus, sondern begünstigt sogar eine Verwechslung mit anderen, dem Typhus biologisch nahestehende Krankheitsformen¹⁾.

Nachdruck verboten.

Ueber Züchtung von anaëroben Mikroorganismen der Mundhöhle (u. a. *Spirillum sputigenum*).

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten (Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky).]

Von Marinestabsarzt Dr. P. Mühlens.

Mit 1 Tafel Mikrophotogramme von Prof. E. Zettnow.

Gelegentlich der Züchtungsversuche von Mundspirochäten gelang es mir im Winter 1907/08, einige Mikroorganismen der Mundhöhle zu züchten, deren Beschreibung hier kurz folgt.

Die Kulturversuche wurden angestellt nach der von mir früher (1) beschriebenen Methode der Züchtung der Zahnspirochäten und fusiformen Bacillen, also in Pferdeserumagar (1 : 3) in hoher Schicht, zunächst in Schüttel-, dann Stichkultur.

1) Zu gleichen Ergebnissen wie wir ist auch W. Rosenthal-Göttingen bei seinen Untersuchungen über die Agglutinabilität von Typhusstämmen gelangt.

I. Züchtung des *Spirillum sputigenum*.

1) Kultur. In von fauligem Zahnbelag angelegten Schüttelkulturen sah ich in der unteren Hälfte der Kulturröhrchen ganz feine hauchartige Kolonien, welche die größte Aehnlichkeit mit Kolonien von *Sp. dentium* (1) hatten. Bei der Färbung von Ausstrichpräparaten nach Giemsa erkannte man jedoch kommaförmige, blaßrötlich färbbare Mikroorganismen. Die Reinzüchtung im hohen Stich von den isolierten Kolonien aus gelang leicht, und ich konnte die Reinkulturen bis zur 6. Generation weiterzüchten. Alsdann gingen sie mir nach meiner Uebersiedelung nach Wilhelmshaven ein, als im dortigen Laboratorium für einige Zeit der Brutschrank versagt hatte (einige Tage ohne Heizung war und dann eine Zeit lang Temperaturen von 40—45° gezeigt hatte). Bisher waren die Kulturen ebenso wie die der Zahnspirochäten und fusiformen Bacillen dauernd bei 37° gehalten außer in den Tagen der Uebersiedelung von Berlin nach Wilhelmshaven. Leider mußte so das beabsichtigte eingehendere Studium des Mikroorganismus vorläufig unterbleiben. Immerhin kann ich schon folgendes berichten:

Den gezüchteten Mikroorganismus halte ich in Uebereinstimmung mit Prof. Zettnow für das *Spirillum sputigenum* (Miller). Er beginnt 1—3 Tage nach der Ueberimpfung durch Stich zu wachsen und zeigt alsdann im klaren Serumagar anfangs feine wolkige, weißliche Kolonien mit einem etwas dichteren gelblichen Zentrum; bald wachsen sie zu einem einzigen, nach wenigen Tagen dichter werdenden, in der Mitte undurchsichtigen, nach der Peripherie hin wolkigen, durchscheinenden Impfstich zusammen. Das Wachstum ist streng anaërob, nur in den unteren zwei Dritteln des Kulturmediums.

In späteren Generationen gelang auch häufig die Ueberimpfung in neutralen, schwach und stark alkalischen Agar sowie Traubenzuckeragar ohne Serumzusatz in hoher Schicht. Das Wachstum erfolgte aber, namentlich in stark alkalischem Agar, langsamer und weniger üppig; auch trat in den genannten Nährmedien die Wolkenbildung nicht deutlich in die Erscheinung. In dem von Kutscher (2) angegebenen Placentaagar gediehen die Spirillen gut.

Eine Züchtung in Serumbouillon anaërob gelang mir bisher nicht, wenigstens nicht in Reinkultur.

2) Literatur. Die Literatur über *Sp. sputigenum* ist von Miller (3), dem besten Kenner der Mikroorganismen der Mundhöhle, in seinem Lehrbuche zusammengestellt. Miller sagt daselbst über Züchtungsversuche: „Trotzdem ich in manchen Fällen fast reines Material zum Aussäen bekommen und die verschiedensten Nährmedien angewandt habe, ist es mir nie gelungen, auch nur im geringsten Grade ein Wachstum dieses Bakteriums (*Sp. sputigenum*) zu erzielen.“ Aehnlich äußert sich Miller auch noch im Jahre 1906 (4). Aus der neueren Literatur ist mir auch über eine Reinkultivierung des *Sp. sputigenum* nichts bekannt. Günther (5) schreibt in seinem Lehrbuche vom Jahre 1906 bei Besprechung „der eigentlichen Mundpilze“: „Sämtlich haben sie sich bisher den Versuchen, sie künstlich zu züchten, widersetzt.“

3) Morphologie. Das *Spirillum sputigenum* ist in der Regel von halbmondförmiger Gestalt; es ist dicker und länger wie der Cholera vibrio. Mitunter liegen 2 Spirillen S-förmig aneinander. Die Bewegungen sind ziemlich lebhaft, wackelnd, torkelnd oder schwirrend, nach Miller „bohrerähnlich“. Die Spirillen färben sich leidlich gut mit

verdünnter Karbolfuchsinlösung und Gentianaviolett, auch mit Giemsa-Lösung. — Bei der Geißelfärbung nach Loeffler (Fig. 7) und nach Zettnow (Fig. 9) erkennt man an den Spirillen 1, 2 oder 3 Geißeln. Die meisten haben anscheinend eine einzige dicke Geißel (Geißelzopf?) an der konkaven Seite; manche zeigen daneben oder scheinbar gegenüberliegend eine zweite feinere Geißel, manche Spirillen haben 3 feinere Geißeln. Bei den Spirillen mit mehreren Geißeln scheint es mir nicht ganz sicher, ob diese ihren Ursprung nur an einer (der konkaven) Seite des Mikroorganismus haben und im gefärbten Präparat nur hinübergelagert sind oder ob sie an beiden Seiten, eventuell an verschiedenen Stellen, ihren Ursprung nehmen.

Fig. 7 stammt von einer Mischkultur von *Spirillum sputigenum* und fusiformen Bacillen (von denen die letzteren isoliert auf Fig. 10 mit schönen Kernteilungsbildern zu sehen sind). Es sei bemerkt, daß diese Mischkultur angelegt war zum Zweck von Geißelfärbungsversuchen bei den fusiformen Bacillen. Trotz vieler mühsamer Versuche gelang es mir weder nach der Loefflerschen, noch nach der Zettnowschen Methode, bei den von mir aus dem Zahnbelag reinkultivierten fusiformen Bacillen Geißeln darzustellen, während an dem zur Kontrolle der Geißelfärbung beigemischten, im selben Medium (Serumagar) gewachsenen *Sp. sputigenum* die Geißeln stets schön gefärbt waren. Die Plautsche Geißeldarstellungsmethode (6) konnte ich noch nicht nachprüfen. Bemerkt sei auch noch, daß ich niemals bei verschiedenen von mir reingezüchteten Stämmen des *Bacillus fusiformis* aus der Mundhöhle in Kultur aktive Bewegung gesehen habe. Diese Befunde stehen in gewissem Widerspruch mit denen von Plaut (6), der Geißeln bei fusiformen Bacillen beschreibt, allerdings nicht aus der Kultur, sondern bei direkter Färbung des dem Belag von Angina ulceromembranosa entnommenen Materials; auch sah Plaut bei den lebenden Bacillen Bewegung. Ich halte es nicht für ausgeschlossen, daß Plaut ein anderes Bakterium hatte, wie das von mir kultivierte.

Plaut hält nun ferner das *Spirillum sputigenum* — von dem er gute Abbildungen mit Geißeln gibt, die zum Teil mit den bei meinen Kulturspirillen dargestellten Geißelbildern übereinstimmen — für eine Entwicklungsform der fusiformen Bacillen. Nach Besprechung der S-förmig gekrümmten Formen des *Sp. sputigenum* sagt Plaut: „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 in genetischem 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.“

Die gelungene Kultivierung des fusiformen *Bacillus* (1) sowie des *Spirillum sputigenum* in verschieden wachsenden Kolonien spricht gegen eine derartige Zusammengehörigkeit der beiden Mikroorganismen.

Ich möchte nur noch darauf hinweisen, daß allerdings größere Formen von *Sp. sputigenum* vorkommen mit zugespitzten Enden, die kleineren, leicht gekrümmten fusiformen Bacillen in Gestalt sehr ähnlich sein können. Sie unterscheiden sich aber von ihnen deutlich durch die verschiedene Art der Färbbarkeit nach Giemsa. Meiner Ansicht nach gehören nur solche Stäbchen mit zugespitzten Enden zu

den fusiformen Bacillen, die sich bei Giemsa-Färbung hellblau färben und im Innern deutliche rote Punkte (Chromatin?) erkennen lassen.

II. Züchtung eines „anaeroben Vibrio“ der Mundhöhle (?).

Nach genau derselben Methode gelang es mir auch noch, aus dem Zahnbelag einen kleinen kommaförmigen Mikroorganismus der Mundhöhle zu züchten, der in seinem kulturellen Verhalten von dem *Spirillum sputigenum* nicht zu unterscheiden war; höchstens schienen die Stichkulturen in Serumagar etwas langsamer und weniger üppig zu wachsen; auch war die Wolkenbildung manchmal nicht so deutlich ausgeprägt. Morphologisch zeigten sich große Ähnlichkeiten; die Größe war jedoch verschieden. Die „anaeroben Vibrionen“ — wie ich sie vorläufig bezeichnen möchte — erschienen in den Ausstrichpräparaten kleiner wie die kleinsten Formen des *Spirillum sputigenum*; sie sind noch kleiner als die Choleravibrionen, so daß man sie im Kulturausstrichpräparat, nach Giemsa oder mit verdünnter Karbol-fuchsinlösung gefärbt, kaum erkennt als äußerst kleine, zarte, meist kommaförmige, rötlich gefärbte Gebilde. Bei der Zettnowschen Geißelfärbung sieht man eine ähnliche Begeißelung der oft punktförmig oder länglich-oval erscheinenden Mikroorganismen wie bei *Sp. sputigenum*, nur scheinen bei den ersteren auch endständige Geißeln vorzukommen (Fig. 8).

Die Weiterzüchtung gelang aus demselben Grunde wie unter I. nur bis zur 7. Generation.

Ob es sich bei diesem „Vibrio“ um einen der im Millerschen Handbuch beschriebenen vibrionenähnlichen Mikroorganismen der Mundhöhle handelt, oder ob die Kultur vielleicht identisch ist mit der von *Sp. sputigenum* und nur kleine Entwicklungsformen zeigt (wie Herr Prof. Zettnow, dem ich die Kulturen und Präparate zeigte, anzunehmen schien), wage ich noch nicht endgültig zu entscheiden. Eine Verschiedenheit der beiden Mikroorganismen erscheint mir jedoch nicht unwahrscheinlich.

III. Züchtung eines „anaeroben Geißelbacillus der Mundhöhle“.

Kulturell von den beiden beschriebenen Mikroorganismen nur durch üppigeres Wachstum zu unterscheiden, wurde ein dritter sehr interessanter Mikroorganismus reingezüchtet, dessen Weiterkultivierung in 9 Generationen gelang, dessen Klassifizierung mir aber vorläufig noch nicht klar ist. Ich bezeichne ihn vorläufig als „anaeroben Geißelbacillus der Mundhöhle“.

Diese Mikroorganismen zeigen in Kultur verschiedene Größe von etwa $4\ \mu$ an; die meisten haben etwa die Größe der fusiformen Bacillen, aber sie sind breiter und die Enden sind nur manchmal etwas zugespitzt; manche erscheinen leicht halbmondförmig gekrümmt, größere auch gewunden. Nach Giemsa färbt sich der Mikroorganismus rötlich-violett; häufig erkennt man im Innern dicht nebeneinander liegend ziemlich dicke dunklere Punkte, die man mitunter auch bei der Loefflerschen Geißelfärbung sieht.

Als auffallendste Eigenschaft dieses in Kultur oft zu großen, zum Teil gewundenen Fäden auswachsenden Mikroorganismus erwähne ich, daß sich an ihm mit der folgenden Modifikation der Giemsa-Färbung, wie sie für die Pallida-Schnellfärbung bekannt ist, fast regelmäßig wunderschön deutliche seitenständige Gei-

Beln darstellen ließen: Kulturmaterial wurde, in 1 Tropfen Wasser aufgeschwemmt, auf gut gereinigtem Objektträger gut verteilt. Die Präparate ließ ich alsdann, am besten hoch über der Flamme, gut lufttrocknen werden. Darauf übergieß ich sie mit einer bis zum Aufwallen erhitzten Lösung von je 6 Tropfen Giemsa-Farbstoff auf 5 ccm 0,5-proz. Glycerinlösung (in destilliertem Wasser gelöst). Färbedauer etwa 15 Minuten. Vorsichtige Wasserspülung. Lufttrocknen. Untersuchung in Oelimmersion. — Die auf der Tafel abgebildeten Fig. 1, 2 u. 3 stellen solche nach Giemsa gefärbte „Geißelbacillen“ in verschiedenen Größen dar. (Sämtliche Mikrophotogramme sind 1:1000.) Fig. 4 zeigt die Bacillen nach Loefflers und Fig. 5 u. 6 nach Zettnows Geißelmethode gefärbt. Bei einem Vergleich sieht man, daß die modifizierte Giemsa-Methode den beiden bekannten Geißelfärbungsmethoden bezüglich dieses Mikroorganismus kaum nachsteht. Bei unserem „Bacillus“ bemerkt man dünne und dickere Geißeln (Zöpfe). Auffallend sind die meist ziemlich gleichmäßigen Windungen der Geißeln, die in Größe und Aussehen eine gewisse Aehnlichkeit mit *Spirochaete dentium* haben. In älteren Kulturen sah ich oft lange „Bacillen“ fadenartig durcheinander geschlungen, manche fast von der Größe eines Gesichtsfeldes. Wenn, wie häufig, der Bacillenleib schlecht oder gar nicht gefärbt war, glaubte man einen Spirochätenknäuel vor sich zu sehen.

Hier sei noch erwähnt, daß ich versucht habe, mit derselben Giemsa-Methode bei den meisten bekannten geißeltragenden Bakterien, namentlich den größeren, zum Teil auch in Serumagar gezüchtet, Geißeln darzustellen. Nur bei *Botulinus* sah ich an einzelnen Bacillen sehr zarte Geißeln; einzelne lagen auch frei.

Als eine höchst auffallende Tatsache ist noch anzuführen, daß der „Geißelbacillus“ aus der Kultur, in Wasser oder Serumbouillon aufgeschwemmt, niemals aktive Bewegungen zeigte. In diesen Präparaten konnte man gleichwohl die dickeren Geißelzöpfe bei Dunkelfeldbeleuchtung oder auch bei Gasglühlicht mit Schusterkugel nach guter Abblendung mit Zeiss, Achromat und Okular 8, erkennen als unbewegliche Spiralen.

Endlich sei noch erwähnt, daß die Geißelfärbung bei 70 Tage alten Kulturen, die sich nicht mehr überimpfen ließen, noch ebenso gut wie bei jungen Kulturen gelang.

Leider ging auch diese Kultur mit den beiden vorhin beschriebenen ein, so daß das beabsichtigte weitere Studium des Mikroorganismus nicht ausgeführt werden konnte.

Bemerkt sei noch, daß keine der 3 Kulturen den für Zahnspirochäten und *Fusiformis*-Kulturen typischen Geruch der stinkenden Fäulnis zeigte.

Wenngleich die Untersuchungen über die beschriebenen Mikroorganismen noch keineswegs als abgeschlossen gelten können, glaube ich doch, das bisherige Resultat mitteilen zu dürfen, einerseits, um auf den Wert der anaëroben Züchtung in Serumagar beim Studium der Mundmikroorganismen hinzuweisen, andererseits aber auch, weil mir ein genaueres Studium aus äußeren Gründen bisher noch nicht möglich war.

Zusammenfassung.

1) Das *Spirillum sputigenum* läßt sich anaërob in Pferdeserumagar reinzüchten.

2) *Spirillum sputigenum* kann daher nicht, wie Plaut es tut, als Entwicklungsform des ebenfalls kultivierbaren *Bacillus fusiformis* angesehen werden.

3) Bei fusiformen Bacillen aus Kultur ließen sich weder aktive Bewegungen noch nach der Loefflerschen oder Zettnowschen Methode Geißeln darstellen.

5) Ebenfalls in Serumagar anaërob konnte ein sehr kleiner „Vibrio der Mundhöhle“ gezüchtet werden.

5) Auch ließ sich nach derselben Methode kultivieren ein „anaërober Geißelbacillus der Mundhöhle“, dessen dicke Geißeln sich mit einer modifizierten Giemsa-Färbung darstellen ließen.

Abgeschlossen Berlin, im März 1908.

Literatur.

- 1) Mühlens, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 20 und Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.-Krankh. Bd. LV. 1906.
- 2) Kutscher, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. Heft 3.
- 3) Miller, Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig (G. Thieme) 1892.
- 4) —, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 9.
- 5) Günther, Bakteriologie. Leipzig (G. Thieme) 1906.
- 6) Plaut, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. Heft 4.

Tafelerklärung.

Sämtliche Mikrophotogramme sind von Herrn Prof. Zettnow bei derselben Vergrößerung (1:1000) aufgenommen.

Fig. 1. „Anaërober Geißelbacillus“ aus 70-tägiger Serumagarkultur. Modifizierte Giemsa-Färbung.

Fig. 2. Dieselben Bacillen. Kleinere Exemplare.

Fig. 3. Dieselben Bacillen; gleiche Färbung aus 21-tägiger Kultur.

Fig. 4. „Anaërober Geißelbacillen“ aus derselben Kultur wie die in Fig. 1 u. 2. Geißeldarstellung nach Loeffler.

Fig. 5. Dieselben. Geißeldarstellung nach Zettnow.

Fig. 6. Wie vorige.

Fig. 7. Mischkultur von *Spirillum sputigenum* und *Bacillus fusiformis*, 6 Tage alt. Loefflersche Geißelfärbung.

Fig. 8. „Anaërober Vibrio der Mundhöhle“ aus 6-tägiger Kultur. Zettnowsche Geißelfärbemethode.

Fig. 9. *Spirillum sputigenum* aus Kultur. Zettnowsche Färbung.

Fig. 10. *Bacillus fusiformis* aus 2-tägiger Kultur. Färbung mit verdünntem Karbolfuchsin.

Inhalt.

Amato, Alessandro, Ueber die feine Struktur der Bakterien, p. 385.

Beintker, Ueber das Verhalten der Bordetschen Reaktion bei Variola, p. 500.

Berghaus, W., Ueber die Beziehungen des Antitoxingehaltes des Diphtherieserums zu seinem Heilwert, p. 450.

Fornet, W. und Porter, A. B., Ueber den Bau der Opsonine. II., p. 461.

Fuhrmann, O., Das Genus *Anonchotaenia* und *Biuterina*. II., p. 412.

Geisse, Ueber den Wert von Typhusbacillen-Mischbouillon zur Serodiagnose des Typhus, p. 517.

Ghon, Anton und Sachs, Milan, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. VII., p. 396.

Grünspan, Th., Ueber den Einfluß von Chininlösungen auf die Phagocytose, p. 444.

Huguenin, B., Nachweis von Tuberkelbacillen im Blute eines Fötus, p. 394.

Körmöcsi, Emil, Beiträge zu den Malaria-

verhältnissen in Budapest und zur Lehre der Frühjahrmalaria, p. 406.

Lühe, Max, Zur Systematik und Faunistik der Distomen. I., p. 428.

Mühlens, P., Ueber Züchtung von anaëroben Mikroorganismen der Mundhöhle (u. a. *Spirillum sputigenum*), p. 523.

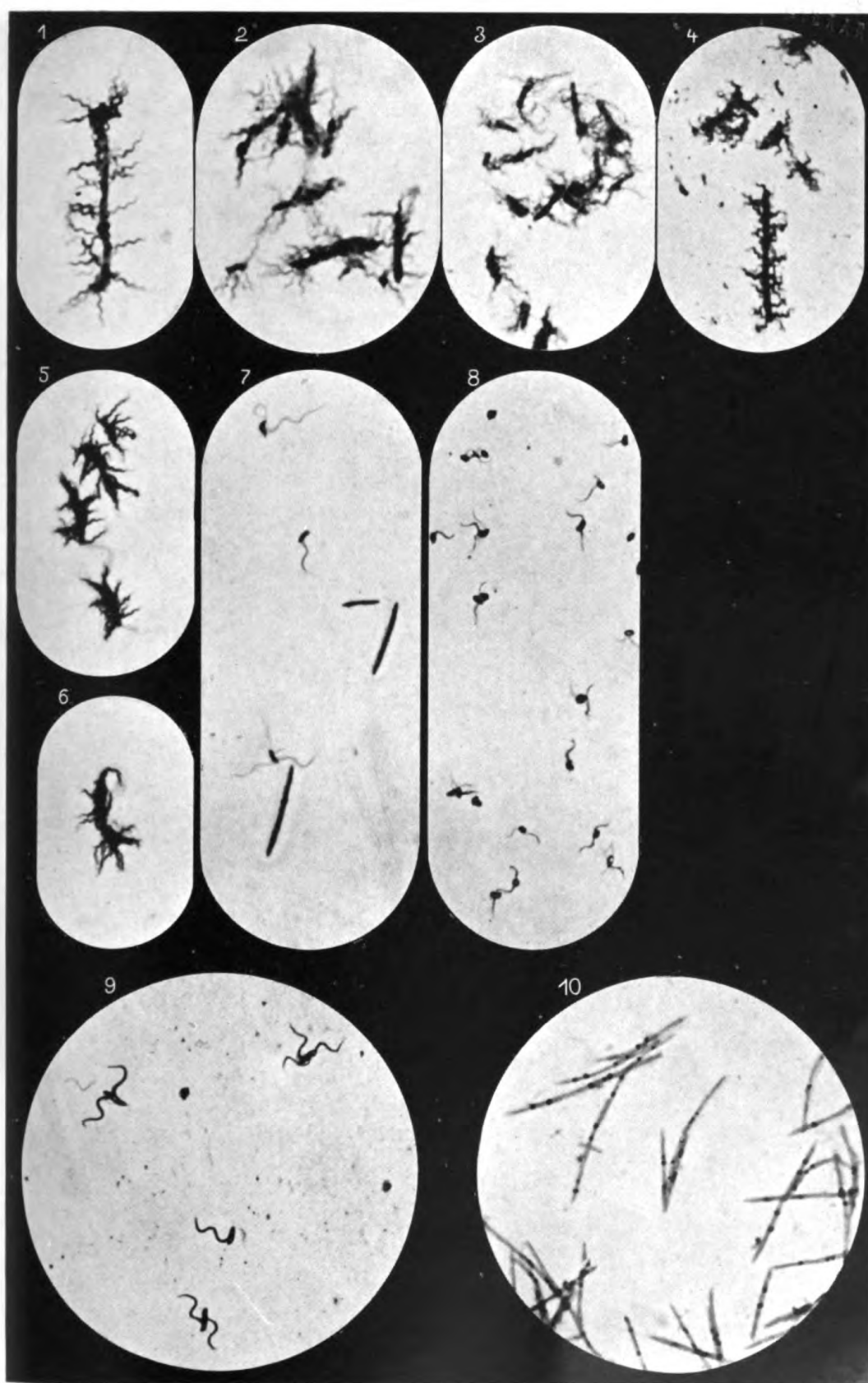
Raskin, Marie, Experimentelle Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit des Komplementbindungsphänomen für die Typhusdiagnose, p. 508.

Slatinéanu und Daniélopou, D., Sur la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum des malades atteints de lèpre, p. 480.

Stokvis, C. S., Alkohol- und Essigsäuretoleranz der Bakterien, p. 436.

Thompson, E. L. und Marchildon, J. W., Ueber Anaphylaxie beim Kaninchen unter besonderer Berücksichtigung des „Arthusschen Phänomens“, p. 484.

Weichardt, Wolfgang, Die Kenopräzipitinreaktion und ihre Beziehung zur Kenotoxinforschung, p. 496.



E. Zettnow phot.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by

Google

Original from
COLUMBIA UNIVERSITY

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung der toxischen Produkte der Pestbacillen auf die Atmung.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität zu Neapel, geleitet von Prof. G. Galeotti.]

Von Dr. med. **V. de Bonis**, Assistent, und stud. med. **V. Pietroforte**.

Mit 5 Pneumogrammen.

Bei allen Fällen von Pest, auch wenn keine primären (Pneumonitis pestosa) oder sekundären Lokalisationen in den Atmungsorganen vorhanden sind, sind die Veränderungen der Atmungsfunktionen häufig und bemerkenswert.

Alle Gelehrten, welche sich mit dem klinischen Studium der Pest beschäftigt haben, beschreiben die Atmungsstörungen, welche die heftigen Störungen der Herz- und Blutgefäßfunktionen bei den Kranken begleiten.

Im allgemeinen leiden die Kranken unter Dyspnöe, welche mit den Veränderungen der Temperatur und des Pulses gleichen Schritt hält.

Choksey, welcher Gelegenheit hatte, eine große Zahl Pestkranker in Bombay zu beobachten, behauptet, daß die rein funktionelle Dyspnöe, wenn sie nicht von anatomischen Störungen der Bronchien und Lungen begleitet ist, eines der charakteristischen Anzeichen der Pest ist.

Galeotti und Polverini haben ebenfalls die Atmungsfunktion bei Pestkranken studiert, und zwar vor und nach der serumtherapeutischen Behandlung, und kommen zu dem Schlusse, daß, während die Atmungsstörungen die Folgen der Intoxikationen der Atmungszentren sind, jene sich vermindern und aufhören, wenn die Infektion durch die Tätigkeit des Serums zerstört ist.

Einige Kranke klagen auch über Atmungsbeschwerden, während andere den Atmungstypus von Cheyne-Stokes zeigen, und zwar hauptsächlich in den adynamischen Zuständen und im Coma, welche in vielen Fällen dem Tod vorausgehen.

Alles dies läßt uns annehmen, daß dieselben toxischen Produkte, durch welche sich die Zirkulationszentren so sehr verändern, auch Einfluß auf die Atmungszentren besitzen.

In der Tat haben Lustig und Galeotti, welche die Wirkung des Nukleoproteids aus dem Pestbacillus auf das Kreislaufsystem studierten, sowohl eine Beschleunigung des Atmungsvorganges (Experiment I, II und VIII), wie tiefes und gezwungenes Einatmen konstatiert (Experiment IV, V, XII), jedoch haben sie diese Tatsache nicht weiter untersucht.

Wir haben diese Untersuchungen wieder aufnehmen wollen, um mit einfacher graphischer Methode die Atmungsveränderungen der mit toxischen Produkten behandelten Tiere zu studieren.

Unter diesen toxischen Produkten unterscheiden die Gelehrten gewöhnlich die extracellulären Toxine (oder Exotoxine), welche sich in den Filtraten alter Fleischbrühekulturen finden, und das Nukleoprotein (oder Endotoxine), welche man leicht aus den Bakterienzellen erhält.

Untersuchungsmethode.

Wir haben unsere Experimente an Kaninchen gemacht, welche für die toxischen Produkte der Pest sehr sensibel sind.

Das Tier wurde tracheotomisiert, dann wurde in die Luftröhre ein Röhrchen eingeführt, welches vermittelt eines Gummischlauches mit einer großen Flasche von ca. 7 Liter Inhalt in Verbindung stand.

Vom Kork dieser Flasche ging ein zweites Glasröhrchen aus, welches vermittelt eines anderen Gummischlauches mit einer Marey-Kapsel verbunden war, welche die Atmungsbewegungen registrierte. Ein an dem Rohr in der Luftröhre seitlich sich befindendes weiteres Röhrchen trägt einen Hahn, und erlaubte somit, die Lungen mit der äußeren Luft in den Pausen, in denen die Pneumogramme unterbrochen waren, in Verbindung zu setzen. Bei jedem Tier haben wir zuerst das normale Pneumogramm aufgenommen und dann nach Injektion der toxischen Produkte in regelmäßigen Zeitintervallen weitere Pneumogramme erhalten. Auf diese Weise konnten wir für mehrere Stunden die Veränderungen bei den Atmungsfunktionen verfolgen. Die Zeit wurde mit dem Jacquetschen Apparat registriert.

Zur Herstellung der Pestfiltrate haben wir zuerst in großen Erlenmeyerschen Gefäßen virulente Fleischbrühekulturen präpariert, welche dann ca. einen Monat lang bei 37° im Ofen gehalten wurden. Diese Kulturen wurden mit dem Apparat von Chamberland filtriert und hierauf in kleinen, sterilisierten Glasgefäßen ohne Hinzufügung irgendeines Antiseptikum aufbewahrt.

Das Nukleoproteid wurde nach der Methode von Lustig und Galeotti präpariert.

Am Schlusse des Experimentes wurde das während desselben nicht gestorbene Tier getötet und der Autopsie unterzogen.

I. Experimente mit Filtraten.

No. 1. Kaninchen, 1,700 kg, Rektaltemperatur 37,4°, Injektion von 25 ccm toxischen Filtrats in die Cruralader.

Wie aus den Pneumogrammen hervorgeht, findet nach der Injektion keine Veränderung, weder in dem Rhythmus noch in der Häufigkeit und der Höhe der Atmungsbewegungen statt. Nur die Temperatur des Tieres geht etwas zurück und bleibt während der Dauer des Experimentes unter normal. Das Kaninchen, das nach der Injektion etwas niedergeschlagen ist, erholt sich sofort wieder und bleibt in ruhiger Lage, äußerlich bemerkt man keine bemerkenswerten Veränderungen. 6 Stunden nach der Injektion wird es getötet.

Bei der Autopsie bemerkt man eine leichte Stase in den Eingeweiden, jedoch nichts Auffallendes in den Lungen und in den anderen Organen.

No. 2. Kaninchen, 1,200 kg, Rektaltemperatur 37,5°, 30 ccm toxischen Filtrats, Peritonealinjektion.

Die Temperatur ist nach der Injektion um ca. 1° zurückgegangen, dann ist sie langsam fast bis zur normalen wieder gestiegen.

Aus den Pneumogrammen sind keine Atmungsveränderungen ersichtlich, es resultieren nur einige wenige tiefe Einatmungen.

Nur am Schluß des Experimentes nach 6 Stunden ist die Häufigkeit der Atmungsbewegungen etwas zurückgegangen, während die Höhe derselben größer wurde: Die Verminderung der Häufigkeit ist der längeren Dauer des Ausatmens zuzuschreiben.

Nach der Tötung des Tieres bemerkt man bei der Autopsie außer wenig seröser Flüssigkeit keine nennenswerten anatomischen Veränderungen.

No. 3. Kaninchen, 1,300 kg, Rektaltemperatur 37,6°, Injektion von 50 ccm Filtrat in die Cruralader.

Aus den Pneumogrammen geht hervor, daß sofort nach der Injektion (15 Minuten) die Zahl der Atmungsbewegungen zurückgeht, jedoch ist diese Verminderung nur vorübergehend, denn schon nach 40 Minuten ist die Zahl der Atmungsbewegungen wieder normal und bleibt so während der ganzen Dauer des Experiments; nur die Höhe der Atmungsbewegungen ist gesteigert.

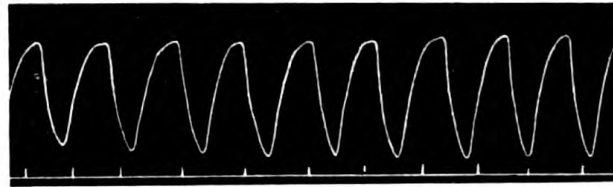


Fig. I. Experiment No. 2: normales Pneumogramm.

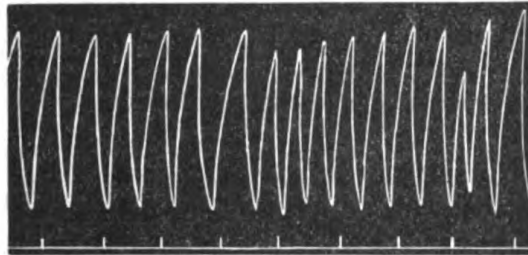


Fig. II. Experiment No. 2: Pneumogramm, 15 Minuten nach der Injektion aufgenommen.

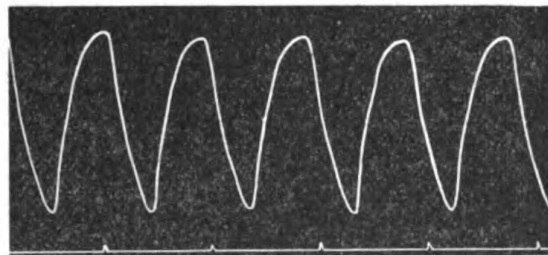


Fig. III. Experiment No. 6: normales Pneumogramm.

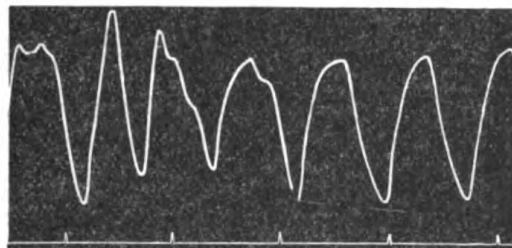


Fig. IV. Experiment No. 6: Pneumogramm, 2 Stunden nach der Injektion aufgenommen.

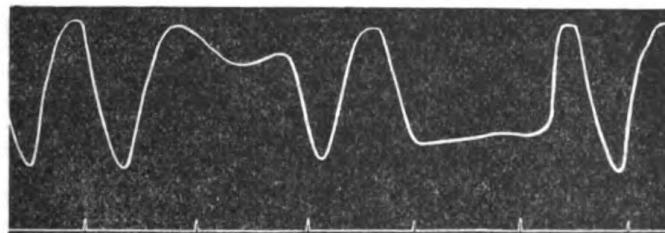


Fig. V. Experiment No. 6: Pneumogramm, nach 4 Stunden aufgenommen.

34*

Die Temperatur geht nach der Injektion zurück, steigt dann aber in dem Maße, daß sie nach Beendigung des Experiments höher als die Normaltemperatur ist.

Das Tier wird getötet und man bemerkt bei der Autopsie im Peritoneum wenig Flüssigkeit, leicht mit Blut vermischt. Der Magen, die Eingeweide, die Leber und die Milz sind hyperämisch, die Nieren etwas ödematös.

Auch die Lungen sind leicht hyperämisch, aber man findet keine Infarkte. Im Herzen bemerkt man sehr dunkle Blutgerinnsel.

II. Experimente mit Nukleoproteid.

No. 1. Kaninchen, 1,950 kg, Rektaltemperatur 36,4°, Injektion von 5 ccm Nukleoproteidlösung in die Cruralader.

Das Experiment hat 8 Stunden gedauert.

7 Minuten nach der Injektion bemerkt man eine Zunahme der Zahl und der Höhe der Atmungsbewegungen, aber nach 15 Minuten vermindert sich die Häufigkeit progressiv, so daß sie nach Beendigung des Experiments auf weniger als die Hälfte der normalen reduziert ist. Die Atmungsbewegungen bleiben für lange Zeit sehr tief, aber nach 8 Stunden werden sie viel oberflächlicher.

Die Temperatur geht schnell zurück; von 36,4 auf 32,2°, um dann wieder auf 34° aufzusteigen.

Das Tier wird nach 9 Stunden getötet, und bei der Autopsie notiert man folgendes:

Wenig hämorrhagische Flüssigkeit im Peritoneum. Leichte Stase in den Eingeweiden mit wenig subserösen Hämorrhagien im Magen. In den Lungen nichts Auffallendes. Das Herz ist in Diastole, voll sehr dunklen flüssigen Blutes.

No. 2. Kaninchen, 1,400 kg, Rektaltemperatur 36,5°, Injektion von 10 ccm Nukleoproteidlösung in die Cruralader.

Aus den Pneumogrammen bemerkt man in den ersten Stunden nach der Injektion eine fast progressive Zunahme der Atmungsbewegungen, welche dann nach 6 Stunden langsam zurückgehen, bis sie unter das Normale sinken.

Gleichzeitig resultiert auch eine bedeutende Zunahme der Heftigkeit der Atmungsbewegungen, welche nach 40 Minuten von 18,5 mm auf 33 mm steigen. Nachdem sie ein Maximum von 40 mm erreicht haben, fällt die Heftigkeit langsam bis zum Normalpunkt.

Die Temperatur geht nach der Injektion schnell zurück, aber nach 1½ Stunden steigt sie wieder, um am Ende des Experiments 39,5° zu erreichen.

Bei Prüfung der Pneumogramme bemerkt man, daß außer den schon beschriebenen Tatsachen keine Veränderungen des Rhythmus eingetreten ist. Nur einige Male zeigt sich ein tiefes Einatmen, dem tiefes Ausatmen folgt.

Das Tier stirbt nach 48 Stunden; bei der Autopsie fällt folgendes auf:

Die Lungen sind etwas ödematös und zeigen auf der Oberfläche kleine punktförmige Hämorrhagien; beim Zerschneiden bemerkt man verschiedene kleine Infarkte. In Diastole Blutgerinnsel im rechten Herzen.

Nichts Besonderes in der Leber; Stase in den Eingeweiden; die Nieren sind ödematös, mit kleinen, punktförmigen Hämorrhagien, hauptsächlich in der Corticalsubstanz; die Milz ist sehr hyperämisch.

No. 3. Kaninchen, 2 kg, Rektaltemperatur 38,2°, Injektion von 10 ccm der Nukleoproteidlösung ins Peritoneum.

Das Experiment hat 6 Stunden gedauert.

Sofort nach der Injektion fand eine Zunahme der Zahl und der Heftigkeit der Atmungsbewegungen statt, aber diese Zunahme der Zahl nimmt dann in dem Maße ab, daß sie sogar unter den Normalpunkt fällt; nur gegen Ende des Experiments beschleunigt sich der Rhythmus wieder.

Die Höhe der Atmungsbewegungen bleibt während des ganzen Experiments über dem Normalpunkt.

Die Temperatur geht nach der Injektion schnell bis zu 33° zurück, dann steigt sie wieder langsam nach 3 Stunden bis über den Normalpunkt.

Das Tier ist während der ganzen Dauer des Experiments unbeweglich und gegen jeden äußeren Reiz gefühllos geblieben.

Nach 8 Stunden wird es getötet, und bei der Autopsie bemerkt man:

Blutige Flüssigkeit im Peritoneum; zahlreiche subseröse Hämorrhagien und Stasen im Magen und den Eingeweiden. In der Milz finden sich zwei Infarkte. Einige weitere kleinere Infarkte bemerkt man auch in der Lunge. Das Herz ist in Diastole, voll dunklen Blutes und kleinen Koagulationen.

No. 4. Kaninchen, 1,780 kg, Rektaltemperatur 36,6°, Injektion von 10 ccm Nukleoproteidlösung in die Cruralader.

Das Experiment dauerte 6 Stunden. Auch in diesem, wie in den vorhergehenden, bemerkt man eine schnelle und starke Zunahme der Zahl und der Heftigkeit der Atmungsbewegungen.

Bei der Beobachtung des nach 15 Minuten nach der Injektion erhaltenen Pneumogrammes stellt sich heraus, daß der Atmungsrythmus etwas verändert ist, und zwar folgen nach langen Atmungsbewegungen andere kurze und beschleunigte, was in den folgenden Pneumogrammen nicht mehr der Fall ist. Die Zunahme der Heftigkeit und Häufigkeit der Atmungsbewegungen dauert während des ganzen Experiments.

Die Temperatur geht sofort schnell nach der Injektion zurück, um dann wieder langsam über den Normalpunkt zu steigen.

Das Tier wird nach 7 Stunden getötet; die Resultate der Autopsie sind den in No. 3 angeführten ähnlich.

No. 5. Kaninchen, 1,540 kg, Rektaltemperatur 38,1°, Injektion von 20 ccm Nukleoproteidlösung in die Cruralader.

4 Stunden dauerte dieses Experiment. Auch bei diesem Tier konstatiert man eine Zunahme der Zahl und der Heftigkeit der Atmungsbewegungen. Gegen Ende des Experiments hat sich der Rhythmus noch mehr beschleunigt, aber die Heftigkeit hat nachgelassen.

Aus den Pneumogrammen ersieht man, daß das Tier sofort nach der Injektion häufige und tiefe Einatmungsbewegungen macht, die von ebenfalls tiefen Ausatmungen gefolgt sind. Nach 4 Stunden ist das Pneumogramm ziemlich unregelmäßig, d. h. es zeigt lange Atmungsbewegungen, welche von kurzen gefolgt werden, und man bemerkt immer eine kleine Pause zwischen dem Ein- und Ausatmen.

Das Tier wird getötet und bei der Autopsie ergibt sich folgendes:

Stase in den Eingeweiden, hauptsächlich in der Milz und der Leber; punkt- oder linienförmige, subseröse Hämorrhagien in Magen und Gedärmen.

In den sehr hyperämischen Lungen bemerkt man kleine, vereinzelte Infarkte; das Herz ist in Diastole, beim Zerschneiden desselben kommen kleine Koagulationen zum Vorschein. Stase im Gehirn.

No. 6. Kaninchen, 1,700 kg, Rektaltemperatur 37,8°, Injektion von 30 ccm Nukleoproteidlösung in die Cruralader.

Aus den Pneumogrammen geht hervor, daß Zahl und Heftigkeit der Atmungsbewegungen sehr nach der Injektion zugenommen haben, erst nach 4 Stunden verlangsamt sich der Rhythmus bedeutend, während die Höhe der Bewegungen sehr verschieden ist.

Die Temperatur ist bis auf 30,1° zurückgegangen.

Schon nach 1 Stunde bemerkt man ungleiche Atmungsbewegungen; zeitweise schneller Uebergang vom Ein- zum Ausatmen, dann wieder Pausen zwischen diesen Bewegungen.

Oft bemerkt man sowohl beim Ein- und Ausatmen zuerst leichte Kontraktionen oder Expansionen des Thorax, welche von stärkeren gefolgt sind. Dasselbe, jedoch intensiver, notiert man nach 2—3 Stunden.

Sofort nach der Injektion ist das Tier von starkem Zittern befallen worden, was ungefähr 10 Minuten dauerte. Dann ist es unbeweglich und gefühllos während des ganzen Experiments geblieben. Nach einer Stunde wurde das Tier am Hinterleib von einer Paralysis befallen.

Nach ca. 5 Stunden ist das Tier gestorben; bei der Autopsie bemerkt man: Blutige Flüssigkeit im Peritoneum und Pericard; zahlreiche punktförmige Hämorrhagien im Magen und den Eingeweiden; Stase in den Nieren. In der Milz bemerkt man zahlreiche Infarkte.

Beim Ausdrücken der Leber fallen aus deren Gefäßen kleine, sehr dunkle Blutkoagulationen nieder. In den Lungen bemerkt man zahlreiche Infarkte, von denen einige von ziemlicher Größe sind. An einigen Stellen sind die Lungen von halb koaguliertem Blut durchdrungen. Das Herz ist in Diastole und beim Zerschneiden kommen dunkles Blut und kleine, zahlreiche Koagulationen zum Vorschein. Im Gehirn notiert man eine intensive Stase.

* * *

Aus den Resultaten dieser Untersuchungen können wir folgende Schlüsse ziehen:

1. Bei der Injektion mit toxischen Filtraten der Pestbacillen ins Peritoneum oder die Adern, auch in starken Dosen (siehe Experiment 3), um eine intensive Intoxikation der Organismen zu erreichen, finden keine Veränderungen der Atmungsfunktionen statt; wenn Veränderungen jedoch vorhanden sind, so sind sie so leicht, daß es nicht der Mühe wert ist, davon Notiz zu nehmen. Auch die dem Experiment ausgesetzt gewesenen Tiere haben nie Anzeichen von starker Intoxikation gezeigt.

Bei der Autopsie haben wir nie bemerkenswerte anatomische Veränderungen gefunden.

2. Bei den Injektionen mit dem Nukleoprotein ins Peritoneum und die Adern findet man stets eine Zunahme der Heftigkeit und Häufigkeit der Atmungsbewegungen, welche sich noch mehr verändern, bis sie unregelmäßig im Rhythmus und der Häufigkeit werden, wenn die Intoxikation des Organismus größer wird (siehe Experiment No. 6).

Die mit dem Nukleoprotein behandelten Tiere (auch mit kleinen Dosen, siehe Experiment No. 1) haben stets Anzeichen einer starken Intoxikation gezeigt, und bei der Autopsie haben wir wichtige Anzeichen von funktionellen und anatomischen Störungen gefunden, und zwar hauptsächlich Stase und Hyperämie und kleine Infarkte in den Lungen.

3. Die Temperatur ist nach der Injektion stets zurückgegangen, und zwar weniger bei der Injektion der toxischen Filtrate, als bei der des Nukleoproteids. Oft hat nach einiger, in den einzelnen Fällen verschiedener Zeit eine Fieberreaktion stattgefunden.

Beim Vergleich unserer experimentellen Resultate mit den von vielen Gelehrten beobachteten klinischen Resultaten bei den Kranken ergibt sich eine augenscheinliche Analogie in den Atmungsfunktionen. Wir können deshalb den Schluß ziehen, daß die Symptome, welche sich auf die Atmungsfunktionen beziehen, und die, wie wir schon gesagt haben, bei den Pestkranken besonders hervorspringen, auch von einer Intoxikation herrühren, und daß das toxische Element, welches bei der natürlichen Infektion auf die Atmungsfunktion wirkt, wirklich das Nukleoprotein ist.

Da jedoch Infarkte in den Lungen und Stasen in dem Adersystem vorgefunden wurden, müssen wir daraus schließen, daß die Atmungsstörungen teilweise von Intoxikationen der Zentren, jedoch auch zum großen Teil von den veränderten zirkulatorischen und anatomischen Bedingungen abhängen können.

Literatur.

- Galeotti und Polverini, Sui disturbi dell'apparato circolatorio nei malati di peste bubbonica. Florenz 1898.
 Lustig und Galeotti, Intorno l'azione del nucleoproteide estratto dai bacilli della peste bubbonica. (Lo Sperimentale. I. 1898.)
 Polverini, Ricerche sperimentali sulla polmonite pestica. (Settimana Medica. III. No. 47—48.)
 Galeotti, Azione dei nucleoproteidi sulle cellule e sui tessuti. (Lo Sperimentale. 1900. Dec. — Brit. Med. Journal. 1899. 1. Jul. p. 25.)
 Jhn Brownlee and I. C. M'Clure, Notes on the clinical aspect of the cases of the bubonic plague, at present under treatment in the city of Glasgow Fever Hospital Belvidere. (Brit. Med. Journ. 1900. p. 688.)

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Untersuchungen über Geflügeldiphtherie.

[Aus dem Institute für Seuchenlehre der Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Stuttgart (Vorstand: Prof. Dr. Zwick).]

Von **Albert Hausser**, approb. Tierarzt aus Ludwigsburg.

Einteilung bezw. Inhaltsverzeichnis.

- A. Einleitung und literarische Behandlung.
 - 1) Ist die Geflügeldiphtherie in der Tat eine Infektionskrankheit?
 - 2) Kritische Besprechung der bisher beschuldigten Infektionserreger.
- B. Eigene Untersuchungen.
 - I. Teil: Beschreibung des benutzten Materials
 - II. Teil: Bakteriologische Verarbeitung des Materials.
 - a) Zusammenfassung der bakteriologischen Resultate, erhalten
 - 1) durch Plattenverfahren;
 - 2) durch Belagverimpfung an weiße Mäuse, Tauben und Hühner.
 - III. Teil: Ergebnisse der Versuche, mit Reinkulturen die Diphtherie zu erzeugen.
- C. Schluß.
 - Anhang A: Nährbodenprüfung.
 - Anhang B: Zusammenstellung der Versuche, mit Reinkulturen die Diphtherie zu erzeugen.

Einleitung.

Auf dem Gebiet der seit den letzten Jahrzehnten genauer bekannten Geflügelkrankheiten stellten wohl das dunkelste und hinsichtlich des Zusammenhanges oder eventuell vorhandener Wechselbeziehungen der klaren Uebersichtlichkeit am meisten entbehrende Kapitel die unter der Bezeichnung „Geflügeldiphtherie“ zusammengefaßten Krankheitszustände dar. So sagt 1889 einer ihrer Erforscher, Pfeiffer, „daß hier eine Konfusion in bezug auf die Nomenklatur herrscht, wie kaum auf einem anderen Gebiet der Pathologie“.

Zunächst erscheint das verwunderlich. Nicht nur das wissenschaftliche Interesse, auch gar nicht gering anzuschlagende Erwägungen volkswirtschaftlicher und veterinärhygienischer Natur haben doch immer wieder zu dem Versuch geführt, bei diesen Affektionen, die ich der Einfachheit halber jetzt zunächst als ein einheitliches Objekt annehmen will, eine nach allen Seiten befriedigende und erschöpfende Deutung und Darstellung zu bilden.

Eine kurzgefaßte Geschichte der Krankheit und ihrer Art vermag wohl am besten der Einblick in die vorhandene Literatur zu geben. Bei der überreichen Fülle des Materials mußte allerdings davon Abstand genommen werden, einzelne Arbeiten auch nur exzerptorisch anzuführen und gegenüberzustellen, was den logischen Aufbau mancher Deduktionen oft nicht genügend scharf hervortreten läßt. Zur Sichtung des Stoffes erscheint es zweckmäßig, eine Ordnung nach gewissen Gesichtspunkten vorzunehmen, wie sich deren mancherlei ergeben, beispielsweise aus den aufgestellten ätiologischen Thesen und daran sich knüpfenden Streitfragen. Aus den literarisch festgelegten Erfahrungstatsachen und Forschungsergebnissen wären nun zunächst 3 Fragen zu beantworten:

I. Ist die Geflügeldiphtherie ganz allgemein gesprochen in Wirklichkeit eine ansteckende Krankheit?

II. Wenn ja, sind die die Krankheit bedingenden Erreger parasitärer oder bakterieller Natur, oder kommen beide Formen vor?

III. Wenn der Anstoß zu der Krankheit durch Kleinlebewesen bakterieller Form gegeben wird, haben wir es mit einer spezifischen Infektion zu tun? Sind die als Ursachen der Geflügeldiphtherie äußerlich ähnlicher Erkrankungen beim Menschen oder solcher bei anderen Haustieren festgelegten Mikroorganismen verantwortlich zu machen oder welches sind die Erreger?

Daß die beim Haushuhn, Truthuhn, Rebhuhn, Pfau, Fasan, Taube, Papagei, seltener beim Wassergeflügel vorkommende Diphtherie, vulgär in Verquickung mit anderen von Laien statuierten Erkrankungen auch Pips, in Amerika Roup, in England und Schottland Croup genannt, von jeher vom weitaus größten Teil der Geflügelzüchter als Seuche betrachtet wurde, beweisen schon die nach Zürn im Volksmund gebräuchlichen alten Benennungen,

bei Hühnern: „Bösartiger Schnupfen, ansteckende Lungenkrankheit, Rotz, Bräune“,

bei Tauben: „Gelbe Mundfäule, Schanker, gelbe Knöpfchen, Schnörgel, Niese, Schwamm, Schnipp“.

Auch von wissenschaftlichen Untersuchern, als deren erste Leisering 1860, Russ 1861 zu nennen sind, ist die Geflügeldiphtherie durchweg als Infektionskrankheit betrachtet worden; es bestand die Vermutung, daß der fixe Ansteckungsstoff in den entzündlichen Exsudaten, teilweise auch in den Exkreten der kranken Vögel enthalten sei und bei Gelegenheit der Kohabitation kranker und gesunder Vögel im weitesten Sinne weiterverbreitet werde. Diese Anschauung war man durch Uebertragungsversuche zu erhärten des öfteren bemüht. Die Resultate fielen in der Mehrzahl negativ, aber auch positiv aus.

Nach Siedamgrotzky, Friedberger und Perroncito gelingt es nur schwer oder gar nicht, gesunde Tiere durch pathologische Produkte diphtheriekranker zu infizieren. Babes und Puscarin konnten durch Diphtheriemembranen, die reich an Trichomonas-Formen waren, die Krankheit nicht erzeugen. Kitt erwähnt, daß bei der künstlichen Uebertragung der Geflügeldiphtherie sehr häufig nichts herauskomme. Friedberger-Fröhner führen an, daß eine bakterielle Diphtherie sehr schwer überimpfbar sei. Moore konnte weder durch Zusammenhalten kranker mit gesunden Tieren, noch durch direkte Einimpfung die Krankheit weiterverbreiten.

Von gelungenen Infektionsversuchen hingegen auch bei Kaninchen berichten uns Cornevin und Nicati. Trinchera konnte bei einem Latenzstadium von 7–20 Tagen die von ihm mit dem Namen Coryza contagiosa belegte Seuche leicht von Tier zu Tier weiterimpfen. Mazzanti übertrug die Krankheit durch Pseudomembranen, die sehr viel Flagellaten enthielten, wenn er diese nicht vorher durch Zusatz von NaCl getötet hatte. Loeffler erhielt sich Taubendiphtheriefälle durch Injektion krankhafter Sekrete auf gesunde Tauben. Streit kommt zu dem Versuchsergebnis: „Die amerikanische Hühnerdiphtherie ist durch wochen- und monatelanges Zusammenhalten gesunder mit kranken Tieren ziemlich leicht zu übertragen, viel schwerer durch direktes Ueberimpfen von Krankheitsprodukten.“

Vorgreifend erwähne ich, daß ich durch Inokulation entzündlicher Exsudate ebenfalls typische Diphtheriefälle erzeugen konnte.

Für sich insonderheit zu erwähnen sind die Versuche von Loir und Dudoux, die durch alle Organbestandteile Kranker die Diphtherie weiterimpfen konnten, und die Ergebnisse Guérins, der ebenso wohl durch die Exkrete wie durch die Exsudate natürlich verseuchter Hühner sich Impffälle zu verschaffen vermochte.

Ein infektiöser Charakter der Krankheit kann also einem Zweifel nicht unterliegen.

Nun handelt es sich in zweiter Linie darum, die gemutmaßten Erreger durchzumustern. Zwei große Gruppen sind es, die sich hier scheiden lassen: Die erste aus dem Reich der Protozoen, die zweite aus dem der Bakterien. Die Hauptverfechter und Begründer der Protozoentheorie gehören meist der früheren Periode der Forschung und dem historischen Herd der Seuche, Italien, wie auch Frankreich an.

Vor allem ist es Rivolta, der sich 1869 eingehend mit diesen Untersuchungen befaßt hat, später 1872 zusammen mit Silvestrini, bei einer Epidemie in der Umgegend von Pisa. Er fand in den Hautknotten der Hühner eiförmige bis rundliche, stark lichtbrechende Kügelchen, Psorospermien, mit doppeltkonturierter Membran und großem Kern inmitten einer homogenen Zelleibmasse; die ausgewachsenen Formen zeigten Teilung des Kernes in 4 Körperchen, aus denen die Mikrokokken hervorgingen, die durch ihr Ausschwärmen die croupösen Kopfschleimhautaffektionen und die Knötchen des kontagiösen Epithelioms verursachen sollten. 1880 sah Rivolta seinen Erreger als einen Pilz an, den er *Epitheliomyces croupogenus* nannte. Weiter gab er die Beschreibung einer Diphtherieform junger Hühner und Tauben, hervorgerufen durch einen Ciliaten, den *Cercomonas gallinae*, den auch Davaine schon 1875 bei einer Taubendiphtherie beobachtet und *Cercomonas gallinarum* genannt hatte. 1886 sah Perroncito Coccidien bei der Diphtherie von Tauben, Hühnern und Truthühnern. 1889 beobachtete Pfeiffer bei mit Diphtherie und kontagiösem Epitheliom behafteten Hühnern und Tauben Gregarinen, in anderen Fällen Flagellaten, als deren Ruheformen er die Gregarinen ansprach. 1894 fanden Piana und Galli-Valerio stark lichtbrechende Körperchen, die größten in etwa 4 μ Ausdehnung, zum Teil beweglich, mit amöboiden Formen, verschieden granuliert, einen oder zwei Kerne aufweisend, die sie als Protozoen ansahen. 1896 beobachtete Mazzanti schon von anderen Autoren beschriebene Flagellaten.

Andererseits fanden 1890 Babes und Puscarin bei einer Taubendiphtherie *Trichomonas* von denselben Erscheinungsformen wie die durch Pfeiffer beschriebenen Gebilde. Bei derselben Diphtherieform aber eruierten sie den 1884 von Loeffler entdeckten *Bacillus diphtheriae columbarum* und erzeugten mit ihm die Krankheit wieder: Ein eklatanter Beweis dafür, daß die erwähnten Formen mit der Hervorbringung der Krankheit gar nichts zu tun haben, sondern ein rein zufälliges Vorkommnis darstellen.

1879 findet Friedberger Protozoen auch im gesunden Geflügelmaul. Virchow und Kromayer wie auch neuere Forscher nehmen die Gregarinen als Zellkerndestraktionsformen an. Streit fand in der Mundhöhle und in den Därmen gesunder Hühner ebenso wie in zwei durch Bakterienreinkulturen künstlich erzeugten Diphtheriefällen wirkliche Protozoen vor. Dann stieß er auch auf mit den von Rivolta-Silvestrini und anderen gefundenen Protozoen sehr oft dem Aussehen nach übereinstimmende Formen ebensowohl in den durch Bakterienreinkulturen hervorgerufenen wie in den natürlichen Krankheitsfällen und meint deshalb, die meisten dieser Körper als Degenerationsprodukte von Epithel- bzw. Endothelkernen auffassen zu müssen.

Ich selbst habe ähnliche Untersuchungsergebnisse erhalten, außerdem in einem mit diphtherischen Schleimhautaffektionen verbundenen Fall von kontagiösem Epitheliom, dem einzigen, der in meine Beobachtung kam, aus dem Maulhöhlenbelag sowohl wie aus dem Pleurablag ein von mir regelmäßig bei Hühnerdiphtheriefällen gefundenes pathogenes Bakterium isoliert, ein Hinweis darauf, daß das Epitheliom im höchsten Fall den Boden für die sekundär einsetzende Bakteriendiphtherie vorbereitete, oder daß beide Krankheiten rein zufällig nebeneinander hergingen. Nun braucht man noch nicht einmal die Ansicht Klees zu teilen, wonach die Erreger der sogenannten Geflügelpocken oder des kontagiösen Epithelioms allem Anschein nach in die Gruppe der ultravisiblen Bakterien gehören. Zwar weisen darauf auch die Untersuchungen Löwenthals hin. Dieser eruierte ein im Blute kreisendes, filtrierbares, auf künstlichen Nährböden von Pocke und Herzblut kultivierbares Virus für die Taubenpocke, für die, wie er sagt, charakteristisch sei, daß die vergrößerten Epidermiszellen aus Fett und Eiweiß bestehende Einschlüsse enthalten, die als Reaktionsprodukte aufzufassen seien.

Auch abgesehen davon, daß die von Zürn, sowie Friedberger und Fröhner einer bakteriellen gegenübergestellte gregarinöse Diphtherieform sich tatsächlich von der

Geflügelpocke nicht trennen läßt, somit auch besser als solche benannt würde, ferner abgesehen davon, daß ein strikter Unterschied im bakteriologischen Befund verschiedenartiger diphtherischer Affektionen ohne weiteres nicht erstellt werden kann, erscheint durch die neueren Untersuchungen jede die sogenannten Gregarinen in ätiologische Beziehungen setzende Hypothese von vornherein ziemlich hinfällig.

Die Protozoen kommen also für die Aetiologie der Geflügeldiphtherie nicht in Frage.

Ist somit die die Geflügeldiphtherie bewirkende Noxe, soweit nicht mehr mittelbare Einflüsse in Betracht kommen, ganz allgemein als eine bakterielle anzusehen, so wäre nun die Frage nach dem oder den speziellen Erregern zu erledigen.

Es ist hier der Platz, ein Thema zu streifen, das schon vielfach ventiliert und von den einen Forschern nach der positiven, von den anderen nach der negativen Seite entschieden wurde; ich meine das Thema von der Identität der Vogeldiphtherie mit der primären menschlichen Diphtherie, d. h. jener spezifischen akuten Infektionskrankheit, welche hervorgerufen durch den Klebs-Loefflerschen Bacillus in Form einer croupös-diphtherischen Schleimhautentzündung vorwiegend in der Rachenhöhle und im Kehlkopf lokalisiert ist.

In der jüngsten mit der Aetiologie der Geflügeldiphtherie sich befassenden Arbeit 1906 hebt Müller als gegen die Identität sprechende Momente hervor: 1) Die Erfolglosigkeit des Diphtherieheilserums bei den Tieren; 2) das Fehlen diphtherischer, aber nach Yersin und Roux durch Diphtherietoxin künstlich erzeugbarer Lähmungen und vor allem das Fehlen eines einwandfreien Diphtheriebacillennachweises. Er sagt: „Je exakter im Laufe der Jahre die bakteriologische Diphtheriediagnose sich gestaltet hat, um so mehr verlor die Identitätslehre an Boden, und heute dürfte es kaum noch einen kompetenten Verfechter derselben geben.“

Trotzdem hat es ganz in der jüngsten Zeit einen solchen gegeben: Piorkowski, 1907, der zufolge eines positiven Bakteriennachweises und erfolgreicher Anwendung des Heilserums sich für die Gemeinsamkeit beider Krankheiten ausgesprochen hat.

Ich sehe mich demzufolge veranlaßt, kurz die für und gegen die Identität angeführten Beobachtungen und ihre Vertreter aufzuzählen.

Buniva stellte zuerst den Grundsatz der Identität auf. Fälle von direkter Uebertragung der Hühnerdiphtherie auf den Menschen haben berichtet Böing (1886), Hingworth (1888), Bilhaut (1890). Böing hatte als Patienten die kleine Tochter eines Geflügelzüchters wegen 2maliger in kurzem Abstand erfolgter „diphtherischer Angina und Conjunctivitis“. Durch Nachforschungen kam man darauf, daß die Kleine die Gewohnheit hatte, sich von Hühnern Brot aus dem Munde picken zu lassen, und daß dies beidemale vor der Erkrankung durch ein mit Diphtherie behaftetes Huhn geschehen war. Einen Fall von Uebertragung der Geflügeldiphtherie auf Kinder in Posilippo mittels des Trinkwassers berichtet Menzies (1881). Weitere Uebertragungsfälle auf Kinder erzählen Cole (1894), Schrevens (1896). Umgekehrt übertrug Chicoli (1884) durch Pseudomembranen des Menschen die Krankheit auf Hühner, ebenso sah sie Roth (1883) bei allen Hühnern ausbrechen, die Pseudomembranen Diphtheriekranker aufgepickt hatten. Als weitere Vertreter der unitären Anschauung sind zu nennen Bermont (1890), der in Bonvillers eine Diphtherieepidemie bei scharlachkranken Kindern ausbrechen sah, welche mit diphtheriekranken Hühnern in Berührung kamen. Barbier (1889 u. 1891) beobachtete den Ausbruch von Diphtherie bei einer 67-jährigen Frau, welche einen mit Diphtherie verseuchten Hühnerstall desinfiziert hatte. Debré (1892) berichtet von einer Wechselübertragung der Diphtherie von kranken Soldaten auf Hühner und von diesen wieder auf ihren Wärter und Eigentümer. Gerhardt (1883) erwähnt den Ausbruch der Diphtherie bei 2 Dritteln der Angestellten einer mit Geflügeldiphtherie verseuchten Hühnerbrutanstalt in Nesselhausen, das übrigens von menschlicher Diphtherie frei war. Tissier (1887), Longuet (1887 u. 1892), Chauveau

(1887) betrachteten als Ausgangspunkt diphtherischer Erkrankungen beim Menschen in 4 Proz. der Fälle die Düngerstätte, wo kranke Hühner ihre Beläge verstreut hatten. 1879 will Nicati in Marseille nach Epizootien der Geflügeldiphtherie diphtherische Erkrankungen beim Menschen in vermehrtem Maße auftreten gesehen haben. Paulin (1888) führt an, daß die griechische Insel Skiatos, auf der man Diphtherie nicht kannte, von dem Augenblick an verseucht war, als diphtheriekranke Truthühner eingeführt wurden. Als Anhänger der Identitätstheorie sind noch zu nennen Darrach (1863), Desmartis (1868), Emmerich (1897), Maxuton (1902), Stevenson (1898), Stumpf (1883), Turner (1887), Artault de Vevey, Wheler (1887). Neben dem menschlichen Diphtheriebacillus beschuldigen noch andere Arten Faguet, der eine durch das *Bact. coli commune* hervorgerufene Form annimmt, Ferré, der das *Bact. coli* sowie Friedländers Pneumobakterium antraf, auch im Pharynx gesunder Hühner den menschlichen Diphtheriebacillus saprophytisch angetroffen haben will. Von einem positiven Impfresultat mit dem Klebs-Loefflerschen Stäbchen berichtet Galley.

Demgegenüber stehen gegenteilige Beobachtungen der Dualisten. Ein Schüler Trasbots verschluckte Pseudomembranen von Hühnern, ohne sich Diphtherie zuzuziehen; nach Rivolta sind die Pseudomembranen bei Hühnern gar nicht diphtherischer, sondern croupöser Natur, was allerdings der Wirklichkeit nicht entspricht; wie Friedberger und Sidamgrotzky erweisen, handelt es sich um einen doppelten, einen croupös-diphtherischen Prozeß. Weiter sind anzuführen Gratia und Liénaux (1896), die die Wirkungslosigkeit der Serumtherapie bei diphtheriekranken Geflügel konstatierten, Barella (1895), Colin (1885), Klein (1889), Mégnin (1879), Müller (1906), Nocard (1889), Penzoldt (1887), Pütz (1887), Ritter (1895), Sante-Sirena (1884), Saint-Yves-Ménard (1890), Strauss, Streit (1904), Yersin und Roux (1888).

Wie erklären sich nun diese Widersprüche?

Ein Teil der positiven Angaben darf wohl so gedeutet werden, daß die betreffenden Berichtersteller dem Grundsatz des „post hoc, ergo propter hoc“ allzu bereitwillig Geltung verschafften.

Aber auch diejenigen Beobachtungen, die sich gerade bei genauerer Prüfung der Verhältnisse doch nicht so ohne weiteres als zusammenhanglose trügliche Vermutungen auffassen lassen, sind leicht und ungezwungen zu erklären. Ich zitiere hier zunächst Bruno Galli-Valerio, der 1897 eine Zusammenfassung der seitherigen Studien über Geflügeldiphtherie speziell im Hinblick auf die Identitätsfrage geschrieben hat. Er sagt: „So wie es beim Menschen neben der primären durch den Klebs-Loefflerschen Bacillus bedingten Diphtherie Pseudodiphtherieen im Gefolge von Streptokokken, von Staphylokokken, dem *Micrococcus* von Roux und Yersin und dem Friedländerschen Pneumoniebacillus gibt, ist man berechtigt, anzunehmen, daß auch beim Geflügel die Pseudomembranen verschiedenen Ursprungs sind: *En premier lieu la diphtérie des oiseaux est-elle une seule maladie ou bien ne s'agit-il pas de plusieurs maladies?*“ Und aus der Antwort auf diese Frage, der Voraussetzung qu'avec le nom de diphtérie l'on confond chez les oiseaux différentes formes morbides, stellt Galli-Valerio das Axiom auf: „Es gibt gewiß Diphtherieformen beim Geflügel, welche erwiesenermaßen beim Menschen pseudodiphtherische Anginen hervorzurufen imstande sind.“

Der Ansicht Galli-Valerios muß in gewissem Sinne vollständig zugestimmt werden. Ich brauche nur zu erwähnen, daß von Ritter, Streit, Müller und mir als ein nicht seltener Begleiter diphtherischer Prozesse beim Huhn der *Bacillus necroticus* gefunden wurde, der neuerdings von Ellermann als Ursache schwerer diphtherisch-nekrotischer Halsaffektionen beim Menschen beschrieben wird. Auch

hat Müller als Beleg dieser Anschauung einen Fall von gutartiger Angina bei einem 8-jährigen Mädchen angeführt, die durch den *Bac. necrophorus* bedingt war; ich erwähne ferner, daß Artault de Vevey und Streit in selteneren Fällen, ich fast regelmäßig in diphtherischen Belägen beim Huhn den *Bac. pyocyaneus* gefunden habe, der beim Menschen schwere Conjunctivitis und Otitis hervorzurufen vermag; ich erwähne vorausgreifend, daß ich unter anderen hochvirulenten Eiterbakterien einen pathogenen *Streptococcus* isoliert habe.

Bei dieser Sachlage unterliegt es keinem Zweifel, daß unter Umständen eine Uebertragung des entzündlich-exsudativen Prozesses vom Huhn auf den Menschen oder schließlich auch umgekehrt eintreten kann, daß also für die Beobachter derjenigen Diphtherieübertragungsfälle, die eines tatsächlichen Zusammenhanges nicht entbehren, die Ansicht Galli-Valerios zutrifft, die dahin geht:

„Il s'ont peut-être eu seulement le tort, d'appeler diphthérie ce qui n'était qu'une angine pseudomembraneuse.“

Nicht sowohl aber kann die Mutmaßung Galli-Valerios Anklang finden, daß gerade eben die Vertreter des Einheitsgedankens echte Diphtherieformen beobachtet haben könnten, da es nicht ausgeschlossen sei, daß unter den verschiedenen von ihm angenommenen Diphtherieformen die durch den Klebs-Loefflerschen *Bacillus* bedingte Infektionskrankheit zu finden sei. Es fällt an der Hand der Literatur trotz der neuerlichen Stellungnahme Piorkowskis nicht schwer, mit der größtmöglichen Wahrscheinlichkeit zu beweisen, daß das nicht der Fall ist.

Dem Heilserumversuch Piorkowskis ist eine Bedeutung nicht zuzuschreiben. Wenn nach einer Impfung von 1 ccm sämtliche schwerkranke (8) Hühner eingingen und von 30 leichtkranken 17 innerhalb 8 Tagen genasen, von den übrigen 13 aber nach nochmaliger Impfung 7, so ist es, wenn man den oft eigenartig verschleppten zu Scheinheilung ebenso wie manchmal zu rascher Heilung geneigten Verlauf noch nicht komplizierter diphtherischer Affektionen in Betracht zieht, ohne weiteres ersichtlich, daß unter Umständen ganz dieselben vorläufigen Mortalitätsziffern auch ohne irgend eine sero-therapeutische Maßnahme sich hätten ergeben können.

Von anderer Seite wurde auch eine Wirkung des Behringschen Serums ganz entschieden in Abrede gestellt, so von Harrison (für ca. 20 Fälle durchprobiert). Loeffler konnte durch Ueberimpfung des Klebs-Loefflerschen Stäbchens auf Hühner die Geflügeldiphtherie künstlich nicht erzeugen. Ebensovwenig erreichte das Harrison durch Ueberimpfung frischer menschlicher Diphtheriemembranen, aus denen der Erreger kulturell nachgewiesen war. Zur Feststellung der Frage, ob tatsächlich der Klebs-Loefflersche *Bacillus* den natürlichen Hühnerdiphtheriebelägen zugrunde liegt, müßte er in einer Reihe von Fällen festgestellt werden, Piorkowski spricht nur von einem Fall, wo er ein morphologisch und kulturell gleiches Stäbchen vorfand; anderweitige Angaben, die nur nach dem mikroskopischen Befund von Ausstrichen der Pseudomembranen das Vorhandensein von Diphtheriebacillen annahmen, sind bedeutungslos, so die Krajewskis (1887).

Bakterien, die morphologisch und kulturell von Klebs-Loefflerschen nicht zu unterscheiden waren, aber sich durch mangelnde Virulenz unterschieden, haben auf der Rachenschleimhaut gesunder Tauben gefunden Mac Fadyean, Hewlett, Harrison, auch Sharp. Müller spricht einmal von einem mikroskopisch ähnlichen Bilde bei ganz verschiedenem Kolonienwachstum. Aehnliche Befunde kann ich später selbst anführen.

Dem einen positiven Resultat Piorkowski stehen ca. 300 negative von Harrison gegenüber, der niemals aus Sekreten und Exsudaten kranker Hühner oder Tauben den Klebs-Loefflerschen *Bacillus* züchten konnte.

Ich selbst habe mittels kombinierten Plattenverfahrens in ca. 50 Fällen den *Bacillus* nie gefunden. Auch sonst ist in der neueren Literatur ein dahingehender, bakteriologisch durchgeführter Nachweis nicht erbracht worden.

Friedberger und Fröhner heben hervor, daß ihnen bei der Untersuchung von Tausenden diphtheriekranker Hühner niemals ein Fall von Uebertragung bekannt geworden sei. Aehnlich spricht sich Harrison aus. Dieser hat auch ca. 20 junge

Meerschweinchen mit Pseudomembranen und festen Eiterexsudaten diphtheriekranker Hühner geimpft, ohne daß dadurch die für die menschliche Diphtherie typischen Veränderungen eingetreten wären.

Aus allen diesen Gründen ergibt sich wie für Harrison, so für jeden Beurteiler der überzeugende Schluß, daß die Geflügeldiphtherie in einem direkten Zusammenhang zu der primären spezifischen Diphtherie des Menschen nicht steht.

Nach Erledigung dieser Frage liegt es mir ob, die wichtigsten anderen als Erreger der Krankheit angesehenen bzw. bei der Untersuchung der diphtherischen Beläge gefundenen Stäbchen anzuführen.

1884 veröffentlichte Loeffler seine Untersuchungen über Taubendiphtherie aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. Er fand in den Belägen der erkrankten Tauben, sodann noch in der Leber (selten im Herzblut) ein von ihm *Bacillus diphtheriae columbarum* genanntes Stäbchen, das, Coli-Formen aufweisend, morphologisch von dem Erreger der Schweinepest sich nicht unterscheiden, kulturell durch Nichtgerinnung der Milch und Wachstum auf der Kartoffel sich trennen ließ. Die Stäbchen riefen bei weißen Mäusen eine typische Impfkrankheit hervor: Die Tiere gingen gewöhnlich am 5.–7. Tage ein, die Bakterien fanden sich im Herzblut sowie in der regelmäßig mit feinsten weißen Pünktchen (nekrotische Herde) übersäten Leber. Auf Tauben verimpft, erzielten die Bacillen das natürliche Krankheitsbild. Hühner reagierten nur mit kleinen weißen Fleckchen. Diese Resultate wurden bestätigt durch Cornil und Mégnin, 1890 durch Babes und Puscariu.

1895 fand Eberlein bei der Untersuchung von 6 diphtheriekranken Rebhühnern eine regelmäßig wiederkehrende Form von 2–5 μ langen, 1–2 μ breiten Stäbchen mit abgerundeten Enden.

Weiterhin stellte 1895 Ritter den von Loeffler bei der Kälberdiphtherie eruierten *Nekrosebacillus* bei der Hühnerdiphtherie fest.

Im gleichen Jahre fand Veranus Moore in den Pseudomembranen der Hühner einen dem Erreger der Taubendiphtherie morphologisch und kulturell entsprechenden, experimentell abweichenden *Bacillus*, der sich nach ihm von dem Erreger der Hühnercholera und der Schweinepest nicht unterscheidet.

Von diesem Stäbchen, das ich für einen nebenläufigen Befund halte, wie ich solche später anführen werde, ergibt sich der Uebergang zu einer Reihe von Epizootien, die mindestens stammverwandte, höchstwahrscheinlich aber die gleichen Erreger demonstrierend im spezifischen Verlauf übereinstimmende Merkmale aufweisen.

Zunächst 1894 die Tunesische Geflügeldiphtherie von Loir und Ducloux beschrieben, verläuft rasch unter septikämischen, besonders auch in Diarrhöen sich ausdrückenden Erscheinungen, ist von ähnlicher Ansteckungskraft für die meisten Geflügelarten und zeigt — was differentialdiagnostisch für alle diese Seucheninvasionen in Betracht kommt — diphtherische Beläge in der Trachea und im Darmkanal.

Dieser Epizootie weise ich als wesensverwandte, in eine und dieselbe Gruppe gehörige, die weiter beschriebenen zu von Murajeff 1903, Petit 1903, Guérin 1903. Besonders die Guérinsche, im Mai 1899 begonnene und schematisch ausgebaute, Arbeit vermag in ihren Ergebnissen einwandfreie Aufklärung der Ursache und des Wesens dieser Art diphtherischer Erkrankungen zu geben.

Zu Anfang seiner Studie hebt Guérin hervor, daß z. B. Loir und Dudoux die Krankheit in ihrer eigentlich septikämischen Form angetroffen hätten, sich also leicht einen virulenten Erreger verschaffen konnten, während er die Krankheit nur sehr selten in ihrer perakuten Form antraf und auch dann den Mikroben nur wenig reichlich und von außerordentlich schwankender Virulenz. Guérins aus den chronischen Läsionen des Huhns — am liebsten, da hier öfters fast in Reinkultur vorhanden, aus dem Material der Luftsäcke — isolierter Erreger ist ein *Coccobakterium*; es unterscheidet sich nach ihm von dem *Bacillus diphtheriae gallinarum* (Loir und Ducloux) (durch Nichtwachstum auf der Kartoffel) nicht.

Der Durchgang durch das Kaninchen schwächt das Bakterium. Ca. 15 Taubenpassagen durch subpalpebrale immer letal endigende Verimpfung einer Emulsion der jeweilig sich bildenden Pseudomembran verleihen dem Erreger hochgradige Virulenz. Die Anzeichen, auch die bakteriologischen, bei der Sektion von Impftieren sind die einer rapid verlaufenen Septikämie.

Durch Verfütterung dieses hochpathogenen Taubenbakteriums an Hühner gelingt es, alle typischen Lokalerscheinungen hervor-

zurufen. Der Verlauf ist verschieden; gewöhnlich bilden die lokalen proliferierenden Läsionen den Ausgangspunkt für die Generalisation des Erregers, in gewissem Sinne auch für die Generalisation der lokalen Affektionen: diphtherischer Darmbelag, Trachealbelag. Uebrigens beherbergen manche in 1—2 Monaten kachektisch sterbende Impftiere weder mehr im Herzblut noch in den Parenchymen den spezifischen Erreger.

Es handelt sich also bei dieser Diphtherie mit Sicherheit um eine Septikämie, nach Guérin im Süden mehr akut, im Norden mehr chronisch verlaufend. Diese Annahme G. dürfte allerdings kaum durchweg stichhaltig sein; auch erscheint es mir nach mancherlei Angaben und Beobachtungen nicht ausgeschlossen, daß Guérin unter den durch sein Coccobakterium verursachten septikämischen Krankheitsformen auch spontane Krankheitsfälle in die Hand bekam, die ätiologisch mit jenen nicht zu identifizieren gewesen wären.

Um diese auf septikämischer Grundlage beruhende Diphtherieform von einer etwaigen anderen unterscheiden zu können, wird der einzige sicher zum Ziel führende Weg der der subpalpebralen Taubenimpfung sein; es dürfte sich hierbei empfehlen, die erste Taube mit Belag aus Huhn, die zweite Taube mit Exkrementen der ersten zu infizieren. Positiver Erfolg auch der 2. Impfung ergibt mit Bestimmtheit die besprochene Diphtherieform.

Endlich sind noch als für die Geflügeldiphtherie verantwortlich gemachte Erreger anzuführen:

1) als Ursache der amerikanischen Roupkrankheit: der Roupbacillus von Hans Streit beschrieben;

2) als Erreger der Hühnerdiphtherie ein neuerdings von Reiner Müller (Kiel) entdecktes, dem Klebs-Löfflerschen Bacillus in gewissem Sinne verwandtes Stäbchen.

Auf beide werde ich im weiteren Verlauf meiner Arbeit noch näher einzugehen haben. Ich schließe damit die Orientierung in der Literatur ab und komme auf meine eigenen Versuche, deren Ergebnisse ich in gedrängter Kürze in 3 Teilen abhandeln werde.

Im I. Teil werde ich einen kurzen Ueberblick geben über das mir zur Verfügung gestandene Material.

Im II. Teil bringe ich eine Zusammenfassung der durch die verbundenen Untersuchungsmethoden des Plattenverfahrens und der Belagverimpfung erzielten bakteriologischen Resultate, sowie im Anhang eine kurze Nährbodenprüfung der wichtigsten isolierten Mikroorganismen.

Im III. Teil endlich werde ich im Anhang die Versuche, welche angestellt wurden, in der Absicht mittels der Reinkulturen dieser Belagbewohner die Geflügeldiphtherie zu erzeugen, aufzählen und die gewonnenen Schlußfolgerungen zusammenfassen.

Erster Teil.

Da ich, um gewiß eine reine Diphtherieform zu geben, nur ein durch bakteriologische Relationen als einheitlich erkanntes Symptomen- und Sektionsbild erstellen will, andererseits aber nicht das Ergebnis von 52 Krankheits- bzw. 49 Sektionsfällen stückweise anführen kann, so habe ich mich entschlossen, das Fazit dieser Fälle, deren ich einige unten wiedergebe, in der folgenden Tabelle niederzulegen.

A. Sektionsberichte.

NB. Wenn nichts Besonderes beigefügt ist, so gilt für alle angeführten Fälle, daß das Herzblut gut geronnen ist, die Leber meist geringgradige, parenchymatöse Degeneration aufweist, die übrigen Körperdrüsen wie auch der Darm keine Veränderungen zeigen, die Lungen gewöhnlich leicht ödematös infiltriert, übrigens wie auch die Trachea von irgendwelchen Krankheitserscheinungen ganz frei sind.

I. L(aufende) N(ummer) d(er) S(ektion) 5.

Mechelner Huhn, 1 $\frac{1}{2}$ -jährig, kräftig, lebendig abgesandt, kommt tot an.

Sektion sofort nach Ankunft: Im Kehlkopfeingang sitzen auf beide Seiten verteilt 2 linsengroße, käsige, dünne Beläge; eine gelbe Membran findet sich vor und seitlich vom Zungengrund an der Schnabelspitze des Unterkiefers. Umgebung der Nasenöffnungen mit Borken beschmutzt; Nasenöffnungen durch eingetrocknetes Sekret vollständig verpicht; beide Nasengänge, namentlich aber der rechte und die zugehörige Cella infraorbitalis sind angefüllt mit dickflüssigem, gelbgrünlichem Eiter, dem festere Bodenbestandteile beigemischt sind. Den Abschluß gegen die Siebbeine, mit diesen lose verbunden, bildet je eine käsige, ca. erbsengroße, kugelige Masse. Der linke Augapfel ist intakt; zu konstatieren eine serös-schleimige Conjunctivitis; von dem durch die rechte Augenhöhle und den geschlossenen vorgewölbten Lidsack gebildeten Raum ist ein großer Teil durch ein $\frac{1}{2}$ cm langes, $\frac{1}{8}$ cm dickes, punktähnliches, trockenes, unregelmäßig geformtes gelbes Gebilde ausgefüllt, auch unter der Palpebra testia findet sich ein halbmondförmiges, weißgelbes bis gelbbraunes, käsig zerfallenes Belagstück. Die Cornea ist in ihrem ganzen Verlauf getrübt, der Augapfel hochgradig atrophiert.

II. L. N. d. S. 3.

Graues Mechelner Huhn, 1 $\frac{1}{2}$ -jährig, groß, sehr abgemagert, seit ca. 3 Wochen erkrankt, wurde lebendig abgeschickt; bei der Ankunft liegt es ganz matt und teilnahmslos am Boden; die Atmung geschieht röchelnd, hier und da pfeifend, sehr angestrengt; bei jedem unter Mitwirkung der Bauch- und Brustmuskulatur erfolgenden Atemzug wird der Kopf mit aufgerissenem Schnabel hintenüber geworfen, der Tod erfolgt tags darauf unter diarrhoischen Begleiterscheinungen.

Sektion 1 Stunde post mortem: Im Herzbeutel findet sich reichlich grau getriebte Flüssigkeit mit gelben Fibrinflocken gemischt, während dem Myocard einige dünne, membranöse Plättchen direkt aufgelagert sind. Der linke Brustluftsack schließt wie in einer Abszeßkapsel in seiner ganzen räumlichen Ausdehnung trockenen, gelbgrünen, krümeligen, etwa $\frac{1}{2}$ cm dicken Eiter ein. Beide Lungen zeigen im Bereich der Bronchien inmitten des übrigens rot hepatisierten Gewebes schwarzgelbe, bis zu Bohnengröße gehende, nekrotische Herde. Im Kehlkopflumen, die Stimmritze fast völlig verschließend, findet sich eine gelbgrüne, locker aufsitzende, trockene Masse; zu beiden Seiten und wenig oral vom Kehlkopf ist je eine nicht ganz linsengroße, ziemlich fest anhaftende Belaginsel. Rachen- und Gaumenschleimhaut bis zur Schnabelspitze sind von einem fast gleichmäßigen, gelben, grünlich-grau schattierten häutigen Ueberzug bedeckt. Im aboralen Teil der Gaumenspalte ist ein fast bohnen großer bröckeliger Klumpen zu sehen, beide Nasenöffnungen sind mit größtenteils verkrustetem Sekret beschmiert; die Schleimhaut der Nasengänge und der Unteraugenhöhlezellen ist geschwollen, mit gelblichem Exsudat bedeckt. Vor dem rechten Auge sitzt ein ca. haselnußgroßer, gelbgrüner Pfropf, der mit der geschwürig perforierten Cornea vollständig verwachsen ist; beim Ablösen desselben treten mit Eiterflocken gemischte Teile des inneren Auges, auch in Fetzen herumschwimmende Teile der Retina in die Augenhöhle.

III. L. N. d. S. 9.

Mittelschwerer, weißgelber Ungarhahn, ca. 2 Jahre alt. Temperatur bei der Aufnahme 41,4° C, macht, den Kopf meist unter dem gestäubten Gefieder verborgen haltend, den Eindruck großer Mattigkeit; periodisch ist die Atmung bei aufgerissenem Schnabel rasselnd und schnarchend. Freßlust gering. Der Kamm ist geschwollen und blaurot verfärbt, er fühlt sich kalt an, die Zacken des Kammes sind schwarzot, der hinterste bildet nur noch einen von schwarzem Blutschorf überzogenen Stumpf. Auf die Basis des Kammes verteilt finden sich 3—4 schwarzgelbe, knollig-warzige, unregelmäßig geformte, erbsen- bis bohnen große, lederartig derb und rissig sich anfühlende Neubildungen. Ebenso sind die Kehllappen und der vordere Gesichtsteil (Gegend der Nasenöffnungen und Maulwinkel) teils mit schuppigen Krusten, teils mit klumpigen Proliferationen besät; eine solche an und im rechten Maulwinkel sitzende starke Warze verhindert den vollständigen Schluß des Schnabels. Eine durch schwarzklümpiges, eingetrocknetes Sekret gebildete Kruste sitzt über dem rechten Auge, dieses

und seine Umgebung völlig bedeckend. Nach Entfernung der Kruste sieht man die Lidbindehäute hochgerötet, dick geschwollen und mit serös-schleimigem Exsudat bedeckt. Auf der Cornea findet sich ein ca. linsengroßes, graugelbes Nebelwölkchen. Nasenöffnungen mit eingetrocknetem Sekret bedeckt; Maulhöhle mit fadenziehendem zähem Schleim erfüllt, seitlich neben der Zunge vom rechten Maulwinkel ausgehend, lagert eine Membran fest auf, nach deren mühsamer Entfernung ein leicht blutender, an den Rändern zerfressener, geschwüriger Untergrund bleibt. Die von weißgrünem Schleim überzogene, gerötete Rachenschleimhaut weist 12—15 stecknadelstich bis stecknadelkopfgroße, kuppelartig prominierende, rundliche, gelbweiße trocken-festweiche, homogene Knötchen auf; beiderseits vom Kehlkopf sitzt ein gelbes, käsiges Klümpchen. Die entfernten Beläge bilden sich wieder nach; Foetor ex ore; aus der rechten Nasenöffnung läßt sich durch Druck schleimig-eitriges Sekret auspressen. Am rechten Auge bilden sich des öfteren große Luftblasen im Sekret; am Abend vor dem Eingehen des Tieres stellt sich stinkende Diarrhöe ein.

Bei der unmittelbar post mortem erfolgten Sektion ist hochgradiger Muskelschwund zu konstatieren; im rechten und linken Brustluftsack ist ein etwa $\frac{1}{2}$ cm dicker, krümelig-bröckeliger, fibrinöser Belag.

IV. L. N. d. S. 16.

Weißgraues, großes, schweres, starkes Mechelner Huhn, ca. 2 Jahre alt, tot eingesandt.

Sektion: Gut bemuskelt Tier, mit reichlichem Fettpolster. In den Eileitern 3 halbfertige und ein ganz fertiges Ei. Herzblut schlecht geronnen, teerartig verfärbt. Nach Eröffnung des Abdomens finden sich am Bauchfellüberzug der Leber 3—4 dünne, gelbgrüne, fibrinöse Platten; ferner sind noch einige käseähnliche Absonderungen in den Mesenterialblättern zu sehen. Der rechte Brustsack ist in seiner ganzen Ausdehnung der seitlichen Brustwand entlang mit einem Ausguß einer glatten, gelben, fast harten Croupmasse in die mit rauher Innenfläche versehene, verdickte bräunlich-gelbe Pleurafalte hinein erfüllt. Der linke Brustluftsack zeigt im Bereich der Lungenpitze denselben bröckeligen Trockenbelag, an der Lungenbasis beherbergt er reichlichen, mit festeren käsigen Bestandteilen vermischten, dickflüssigen, schmierigen, graugelben Eiter; mehr in den zentralen Partien beider Lungen sind zahlreiche, teils schwarz-graurote, teils mehr gelb getrübe Pneumonieherde von sehr verschiedener Ausdehnung anzutreffen, die anscheinend die Neigung zu konfluieren besitzen. Es sind im Bereich der größeren Bronchien einzelne bis erbsengroße, kavernöse Geschwüre von jauchig aussehender und stinkender Zerfallsmasse angefüllt vorhanden; die Kavernen sind durch grau-rotbraune Granulationsmembranen von der hepatisierten Umgebung abgehoben. Die Bronchien sind teilweise mit schleimigem, auch etwas konsistentere mörtelartige Beimengungen aufweisenden Eiter erfüllt. Die Schleimhaut der Rachenhöhle, der Gaumen und die Gaumenspalte sind mit einem stellenweise bis $\frac{1}{2}$ cm dicken, gelbgrau-käsigen Belag erfüllt, der Maulhöhlenboden ist besonders in der Gegend der Maulwinkel und der Schnabelspitze von einer hautartigen, auf bloßgelegter Muskulatur fest angewachsenen Membran austapeziert. Nasenöffnungen durch Sekretborken vollständig verschlossen. Beide Nasengänge mit grüngelbem, dünnem Eiter angefüllt. Unter den verklebten Lidern des linken Auges, teilweise auch unter und über der Nickhaut sitzt ein trockener, ziemlich harter, klein kastaniengroßer, die Lider halbkugelig vorwölbender Pfropf; nach seiner Entfernung tropft ziemlich viel seröse Flüssigkeit aus dem inneren Augenwinkel, die Cornea ist in ihrem ganzen Verlauf rauchig getrübt; der Augapfel atrophiert; der rechte Augapfel wird durch eine etwas weichere, rein weiße Belagmasse überdeckt.

V. L. N. d. S. 24.

Im Gegensatz zu diesem ein typisches, ausgeprägtes und kompliziertes Symptomenbild zeigenden Fall steht der folgende: Am 31. Mai wurde ein sehr starker, schwarzer $2\frac{1}{2}$ -jähriger Langshahn übernommen, der eine wesentliche Störung des Allgemeinbefindens nicht zeigt, nur die Freßlust läßt etwas zu wünschen übrig. Temperatur $41,8^{\circ}$ C. Außerdem ist noch eine zeitweilig verhältnismäßig tiefe, etwas pumpende Atmung augenfällig. Am rechten Nasenloch etwas gelbes Sekret; auf Druck läßt sich ein Tropfen seröser Flüssigkeit auspressen; links seitlich am mittleren Teil der Gaumenspalte sitzt eine stark linsengroße, insuläre Membran ziemlich fest auf; zu beiden Seiten des Kehlkopfes, wenig in dessen Lumen hineinragend, sind käsig-bröckelige Stippchen zu sehen, die nach ihrer Abnahme sich wieder nachbilden. Nach weiteren 8 Tagen zeigt der Hahn weder lokale noch allgemeine Erscheinungen mehr; der Fall wird deshalb als geheilt betrachtet. Nach Verlauf von 4 Wochen versagt der Hahn plötzlich das Futter vollständig, kann sich vor Schwäche kaum mehr auf den Beinen halten, legt den Kopf, wobei glasiger Schleim aus dem Schnabel tropft, auf die Seite,

wenn er nicht in hochgradiger Atemnot mit krampfhaft aufgerissenem Schnabel nach Luft ringt. Temperatur 42.3. Außerdem haben sich der insuläre Belag am Gaumen und die Kehlkopfstippchen wieder gebildet. Am 2. Tag nach dieser Erkrankung beträgt die Temperatur noch 38,6° C. Das Tier zeigt aus seinem somnolenten Zustand heraus bisweilen maniakalische Erscheinungen; einige Stunden vor der Agonie und dem Verenden wird übelriechender, grüner, diarrhoischer Kot abgesetzt.

Bei der Sektion findet sich außer einer weitestgehenden Abmagerung und den erwähnten Lokalerscheinungen linksseitig in eine Pleurafalte eingeschlossen eine 4—5 cm lange, 1—1½ cm breite, dicke, käsige, gelbgrüne Exsudatmasse.

VI. L. N. d. S. 37.

Weißer, sehr großer, kräftiger Truthahn, 2 Jahre. Temperatur bei der Aufnahme 41,6, ist bei der Ankunft verhältnismäßig munter, nimmt auch, so gut es gehen will, Futter auf; vom 14. Mai ab, wo schlechtes Wetter eingetreten ist, kann keine Nahrung mehr verschluckt werden; das Tier ist sehr matt und hinfällig; birgt, wenn es nicht mit hochgradigen Atembeschwerden zu kämpfen hat, den Kopf unter den Flügel und geht am 18. Mai ein.

Sektion unmittelbar post mortem. Die rechte entzündete Lunge ist mit einigen käsigen, linsengroßen, kavernösen Geschwüren besetzt; die linke Lunge ist intakt; die Trachea frei; an den Rändern des Kehlkopfes sitzen 2 kleine Belaginseln. Die ganze Maul- und Rachenhöhle ist fast vollständig angefüllt mit von ¼ bis zu 1 cm dickem, sehr schwer abzunehmendem, gelbgrünem Belag, der fast die Konsistenz von wildem Fleisch angenommen hat. Durch vom Maulhöhlenboden aufwuchernde, knollige Membranen ist die Zunge nach außen und oben gedrängt. Nach Entfernung des Gaumenbelags sieht man auch die Gaumenspalte vollständig mit Belag erfüllt. Der rechte Nasengang ist durch Eiter vollständig verlegt, die rechte Unteraugenhöhlenzelle weist einen gelbgrünen, welschnußgroßen trockenen Inhalt auf; fast ebenso große Pfröpfe nehmen beiderseits den weitaus größten Teil des Augenhöhleninnern ein; der Augapfel selbst ist nicht verändert, wenn auch stark zurückgedrängt.

VII. L. N. d. S. 49.

Ebenfalls ein Beispiel von ad maximum gesteigertem Maulhöhlenbelag bietet der folgende Fall: ca. 1½-jähriges, rotbraunes, kräftiges Italienerhuhn (sei ca. 3 Wochen offensichtlich krank). Nahrungsaufnahme ist ganz unmöglich; das Tier geht am Abend der Einlieferung unter Erstickungsanfällen zugrunde.

Sektion am nächsten Morgen vorgenommen: Beide Augen und Lidsäcke sind vollständig belagfrei, nicht einmal ein Bindehautkatarrh ist wahrzunehmen, beide Nasengänge sind mit schleimigem Eiter erfüllt, aus dem Maul strömt ein fötider Geruch, die Zungenspitze ist abgestorben und weggefallen. Der Rest der Zunge ist vollständig in eine dicke, gelbe Belagshülle eingebettet, die in 1 cm Dicke mit dem Maulhöhlenboden verwachsen, besonders auch von den beiden Maulwinkeln aus in das Cavum oris eindringend, bei hochgradig aufgesperrtem Schnabel dorsal an den Gaumenbelag anstößt.

VIII. L. N. d. S. 42.

Gelbes, ca. 1-jähriges, sehr kräftiges Huhn — Faverolles.

Während ein Teil der diesem Huhn zugehörigen Sendung mit von Anfang an durch taubeneigroße, ein- und doppelseitige Tumoren vollständig deformierten Köpfen sich präsentierte, zeigte ein anderer ein außerordentlich wechselvolles Krankheitsbild. Das angeführte Huhn war ca. 2 Monate in meiner Beobachtung; ich habe oft gar keine Krankheits Symptome mehr gefunden außer einem minimalen, nur bei genauester Untersuchung wahrzunehmenden Stippchen in der Gaumenspalte oder Kehlkopfgegend, zuweilen lagen gar keine katarrhalischen Erscheinungen vor, meist aber fand sich seröses, manchmal auch serös-schleimiges und eiteriges Exsudat; am 2. Juli ging das Tier ein.

Sektion. Conjunctivalschleimhaut beiderseits sehr stark geschwollen, in den Lidsäcken graugelbe, mörtelig-bröckelige, zum Teil käseähnliche Massen. Rechts sitzt unter der Schleimhaut der Palpebra inferior ein baselnußgroßer Knoten, der sich aus trockener gelbgrüner Substanz erstellt. Zwischen dem linken inneren Augenwinkel und dem linken Maulwinkel erhebt sich ein halb welschnußgroßer Absceß, der in einen dicken Balg eingebettet ist. Beim Durchschneiden der Kapsel stößt man auf eine ziemlich kompakte, gelbe Masse, die peripherwärts geschichtet erscheint. Die Nasenhöhlen sind beiderseits sehr aufgetrieben, bei Entfernung des stark nach der Mundhöhle zu ausgebüchteten Gaumenbelages sieht man, daß die ganze knöcherne Unterlage des Gaumens, wie auch teilweise die Nasenmuscheln durch sehr ausgedehnten gelbweißen Belag verdrängt sind. Weiterhin finden sich käsige Beläge in der Rachenhöhle, im Bereich des Kehlkopfes, am Zungenuntergrund.

Eine weitere Illustration für den wechselvollen vielgestaltigen Verlauf diphtherischer Affektionen gibt der folgende Fall:

IX. L. N. d. S. 46.

Perlhuhnfarbiges, kräftiges, ca. 2-jähriges Huhn, ebenfalls aus einem Bestand, aus dem in der zweiten Hälfte des Winters der größte Teil, ca. 90 Stück, durch Diphtherie weggerafft worden war. Das Huhn war nach Angabe krank gewesen, hatte sich aber wieder vollständig erholt; am 10. April, wo über Nacht ein leichter Reif gefallen war, traten neuerdings einige Erkrankungsfälle auf, unter denen der anzuführende ist: Der Kopf ist heiß, schmerzhaft, wird meistens seitlich getragen, öfters werden schlenkernde, niesende Bewegungen vollführt. Die linke Nasenöffnung ist mit eitrigem Sekret beschmiert, das sich durch Druck auf den schmerzhaften Nasengang leicht vermehren läßt. Die linke Conjunctiva ist hochgerötet, die Umgebung vermehrt warm, außer der Schwellung besteht starke Lichtscheu und fortgesetzter Tränenfluß. Aus der Gaumenspalte tropft zeitweise zäher, fadenziehender, eitriger Schleim in die Maulhöhle; gerade an einer Stelle, wo er niedertropfend mit der Zunge in Berührung kommt, hat sich eine ca. 5 mm lange, 3 mm breite und 1—2 mm dicke Pseudomembran gebildet, die sich nicht allzuschwer abnehmen läßt, am nächsten Tag sich aber schon wieder erneuert hat und nach jedesmaligem Abziehen in längerer oder kürzerer Frist hartnäckig wieder erscheint. Das Exsudat der erkrankten Conjunctivalschleimhäute wird öfters durch Luftblasen aufgetrieben. Nach 10 Tagen außer einer leichten Verdickung der Bindehäute keine Spur von Erkrankung mehr zu sehen. Am 2. Mai stellt sich wieder seröser Nasen- und Augenfluß ein, Belag diesmal nicht beobachtet. Dieses Schauspiel wiederholt sich noch 2 mal, am 29. Mai und nachdem hier in einigen Tagen Rückgang der Erscheinungen erfolgt ist, am 14. Juni. Nun bleibt das Tier mit kurzen Erholungsperioden krank bis zum 23. Juli, wo es eingeht unter schweren Lokalerscheinungen: Beiderseitige eitrig-rhinitische Conjunctivitis, Conjunctivalbelag, Einschmelzung der linken Gaumenplatte durch käsige, von der Cella infraorbitalis durchgebrochene Zerfallsmassen, insuläre Pseudomembranen an den Seitenwänden und am Boden der Maulhöhle.

Eine jedesmalige Neuinfektion dieses Huhns im Institut vermag ich nicht anzunehmen, da es, in einem noch nicht für diphtheriekranken Hühner benutzten Käfig untergebracht, auch keine Gelegenheit, mit anderen Hühnern zusammenzukommen, hatte, und einer jedesmaligen Untersuchung entsprechende Desinfektionsmaßregeln vorausgingen.

X. L. N. d. S. 34.

Aus einer Gruppe von 12 durch ein zugekauftes Italienerhuhn angesteckten Hühnern, die meist einseitigen Bindehautkatarrh aufwiesen:

Kleines, graues, schwächliches, ca. 2-jähriges Huhn. Temperatur bei der Aufnahme 42,7. Umgebung des linken geschlossenen Auges benäht, mit gelben Borken bedeckt. Der linke Lidsack ist durch flüssige, teilweise auch fest gewordene, entzündliche Ausschwitzungen blasig aufgetrieben. Die Lidbindehaut und Nickhaut, mit wenig eitrigem Schleim bedeckt, zeigt starke Gefäßinjektion, ist dunkelrot bis schmutzig-grau verfärbt, stark durchsaftet, hochgradig geschwollen, heiß, schmerzhaft und über den ganzen Bulbus vorgefallen. Auch die rechte Lidspalte ist verklebt, doch ist keine Ausbuchtung vorhanden. Beim gewaltsamen Öffnen fließen sofort einige Tropfen klaren wässrigen Sekrets über das Gesicht ab. In diesem Fall, der längere Zeit der einzige der Art blieb, finden sich einige kleine Croupmembranen in der Gaumenspalte und seitlich am Zungengrund; ein halb linsengroßer Belag sitzt rechts seitlich am Kehlkopf. Am 2. Tag nach der Einlieferung ist auch ein seröser Nasenkatarrh festzustellen, das Tier geht bei sehr wechselndem Krankheitsbild, ohne übrigens weitere Erscheinungen zu zeigen, nach hochgradiger Abmagerung ein.

B. Tabelle der natürlichen Krankheitsfälle.

Laufende Nummer	Serös-schleimige Katarthe; schleimig-eitrige Entzündungszustände der Nasenhöhlen und ihrer Nebenhöhlen	Submuköse Knoten der Unteraugenhöhlezellen	Serös-schleimige katarhalische, croupös-diphtherische Prozesse der Conjunctiven; Exsudation von festem Belag in oder auf die Lidbindehäute	Erkrankungen des Augeninnern	Croupös-diphtherische Entzündung der Maul- und Rachenschleimhaut; Pseudomembranen	Bronchitis, Pneumonie	Pleural- oder Peritonealbeläge	Einfache Darmkatarthe	Nährzustand: gut + " schlecht —	Genesen: 3 Getötet: 3 Gestorben: 49
1	+	+	+		+				—	
2	+		+		+				—	
3	+		+		+				—	
4	+	+	+		+				—	
5	+	+	+		+				—	
6	+		+		+				—	
7	+		+		+		+		—	
8			+		+		+		—	
9	+	+	+		+		+		—	
10	+		+		+		+		—	
11	+		+		+		+		—	
12	+		+		+		+		—	
13	+		+		+		+		—	
14	+	+	+		+		+		—	
15	+		+		+		+		—	
16	+		+		+		+		—	
17	+	+	+		+		+		—	
18	+		+	+	+	+	+		—	
19	+		+		+		+		—	
20	+		+		+	+	+	+	—	
21	+		+		+		+		—	
22	+		+		+		+		—	
23	+	+	+		+		+	+	—	
24	+	+	+		+		+		—	
25	+		+		+		+		—	
26	+		+		+		+		—	
27	+	+	+		+		+		—	
28			+		+		+		—	
29	+		+		+		+		—	
30	+		+		+		+		—	
31	+		+		+		+		—	
32	+	+	+		+	+	+		—	
33	+		+		+		+		—	
34	+		+		+		+		—	
35	+	+	+		+		+		—	
36	+	+	+		+		+		—	
37	+		+		+		+		—	
38	+		+		+	+	+		—	
39	+		+		+		+		—	
40	+		+		+		+		—	
41	+	+	+		+		+		—	
42	+	+	+		+		+		+	
43	+		+		+		+		—	
44			+		+		+		—	
45	+		+		+		+	+	—	
46	+	+	+		+		+		—	
47	+		+		+		+		—	
48	+		+		+	+	+		—	
49	+		+		+		+	+	—	
50	+	+	+		+		+		—	
51	+		+		+		+		—	
52	+		+		+		+		—	
Summe	49	16	43	4	41	6	17	4	36 —	16 +

35*

Generated on 2019-09-14 17:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/nnc1.cu05548039
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wenn ich nun Entstehung und Zusammenhang der lokalen Affektionen, wie ich sie ihrer Art und Häufigkeit nach tabellarisch festgelegt habe, streife, so ergibt sich als fast niemals vermißtes Lokalleiden eine Rhinitis, ein primärer Entzündungsprozeß bald mehr serösen, bald mehr schleimig-eitrigen Charakters in der Nasenhöhle, die wohl in der Regel als Eingangspforte der Infektion aufzufassen ist. Von hier aus greift der Prozeß per continuitatem weiter zunächst auf die Nasennebenhöhlen, durch den Tränenkanal in den Lidsack, dann durch Vermittlung der Gaumenspalte, in der namentlich bei scheinbar geheilten Fällen geringste Spuren von Belag versteckt zu finden sind, auf die Maul- und Rachenschleimhaut, je nach Umständen bald da, bald dort schwerere Läsionen verursachend. Im Gegensatz zu der durch heftige Laryngitis und Stenose gekennzeichneten primären Diphtherie des Menschen zeigt die Kehlkopfschleimhaut in den von mir beobachteten Hühnerdiphtheriefällen nur seltener entzündliche Veränderungen und fest aufsitzenden, das Kehlkopflumen einnehmenden Belag. Die in der Umgebung der Kehlkopfränder eingesprengten Belaginseln greifen gewöhnlich nicht auf die Kehlkopfschleimhaut über; die nicht selten bei Sektionen gefundenen, die Stimmritze verschließenden Belagpfropfe sitzen gewöhnlich nur lose auf und sind wohl gegen das letale Ende zu in den meisten Fällen ganz mechanisch in das Kehlkopfinnere aspiriert worden. Auch die sehr häufigen eitrigen Affektionen in erster Linie der Luftsäcke weisen auf die oberen Luftwege als auf eine Operationsbasis und Hauptniederlassung des Kontagiums hin.

In selteneren Fällen mögen auch Primäraffektionen der Maul- und Rachenhöhle häufiger der Conjunctiven erfolgen; doch läßt sich auch hier nicht mit Bestimmtheit sagen, ob nicht ein schon abgeheiltes oder nicht wahrgenommener katarrhalischer Prozeß in der Nasenhöhle den Boden für die Infektion vorbereitet hat.

Als direkte Verbreiter der Infektion kommen auch okkulte Krankheitsträger, Rekonvaleszenten in Betracht. So kommt auch durch den oft planlosen Zukauf irgend eines oder einiger gerade gefälliger Stücke leichter empfänglicher Degenerationsrassen die Diphtherie in einen Hühnerbestand.

Als sehr wesentliches Verbreitungsmoment konnte ich teils durch eigene Beobachtung, teils durch Nachfragen die Sorglosigkeit eruieren, mit der vielfach Kadaver eingegangener Tiere oder Köpfe frühzeitig geschlachteter, statt regelrecht verbrannt oder vergraben zu werden, auf irgend eine Abfallstätte oder einen Dunghaufen geworfen werden, so daß gesunde Hühner gerade auf ihren Lieblingsplätzen beim Scharren nach Futter, wie ich einmal beobachten konnte, durch unmittelbares Bepicken sich anstecken. Die Infektion durch Kratzen der Augenlider hingegen vermittelt der mit Exkrementen beschmutzten Krallen kann für eine Diphtherieform, wo der Darminhalt kein infektiöses Material enthält, nicht in Betracht kommen.

Schöpfe ich aus meinem auch klinisch wie pathologisch-anatomisch genauestens untersuchten Krankheitsmaterial eine Begriffsbestimmung der „Geflügeldiphtherie“, so erscheint mir zu eng umgrenzt das von R. Müller erstellte Krankheitsbild: „ein infektiöser, ziemlich chronisch verlaufender, auf die Kopfschleimhäute beschränkter, entzündlich exsuda-

tiver Prozeß ohne wesentliche Mitbeteiligung der äußeren Haut oder der inneren Organe“.

Ein auf die Kopfschleimhäute beschränkter Prozeß resultiert wohl aus einzelnen Fällen, nicht aber Formen der Krankheit.

Ich möchte aus dem mir zur Verfügung gestandenen Beobachtungsmaterial für die auf der Höhe der typischen Entwicklung stehende Krankheit die etwas weiter gehende Definition bilden:

Die Geflügeldiphtherie ist eine Summe infektiöser croupös-diphtherischer bzw. eitrig-katarrhalischer Prozesse, die sich vorwiegend und in erster Linie in Nasen- und Conjunctivalschleimhäuten abspielen, zugleich auch in Form von Pseudomembranen speziell an gewissen Lieblingsstellen, wie in manchen Fällen in und auf der Gesamtfläche der Maul- und Rachenschleimhaut, mit Vorliebe auftreten, ferner ziemlich häufig in Pleura-, seltener Peritonealfalten lokalisiert sind.

Als nicht ganz seltene Komplikationsformen ergeben sich: eitrig Panophthalmie und eitrig nekrotische Lungenentzündung.

Zweiter Teil.

Bei der Aufstellung des Untersuchungsplans ging ich von folgenden Erwägungen aus. Mikroskopische Untersuchung der verschiedenen Arten von Belägen vermag höchstens für Mutmaßungen Stoff zu geben, einen einigermaßen bestimmten Hinweis aber auf einen in Betracht kommenden Mikroorganismus nicht zu erstellen, denn es findet sich in Bildern, besonders aus Maulhöhlenbelägen, durchaus nicht ein öfters anzutreffendes Ueberwiegen einer bestimmten Bakterienart.

Dieser sehr wechselvolle Befund in verschiedenen Belägen oder in verschiedenen Belagschichten läßt sich zwar beim Plattenverfahren nicht vermeiden, immerhin ist hier eine bessere vergleichende Uebersicht möglich.

Als Untersuchungsobjekte werden sich, wie auch Guérin hervorgehoben hat, neben den anderen die Brustbeläge empfehlen, da diese nicht in dem angegebenen Maß der Verunreinigung durch Einwanderung akzessorischer Keime ausgesetzt sind.

Zu Züchtungszwecken waren heranzuziehen 1) Agarplatten (Gelatineplatten nicht, da sich in den Belägen immer gelatineverflüssigende Arten vorfinden), 2) Serumagarplatten mit Rücksicht auf den Klebs-Loefflerschen Bacillus, 3) Blutagarplatten mit Rücksicht auf den Müllerschen „Hühnerdiphtheriebacillus“.

Um aber nicht durch einen Ballast vielleicht ganz bedeutungsloser Bakterien aufgehalten zu sein, empfahl es sich, dem Plattenverfahren Stütze und Ergänzung zu geben durch gleichzeitige Verimpfung des infektiösen Materials.

Als Impftiere kamen in Betracht in erster Linie die Taube und das Huhn, und, falls diese versagten, war anzunehmen, daß auch die Impfung auf weiße Mäuse eventuell wertvolle Fingerzeige geben, zum mindesten eine Anzahl pathogener von nicht pathogenen Arten scheiden könne.

Gleichzeitig erschien die Verimpfung des Herzbluts bzw. Darminhalts diphtheriekranker Hühner dringend geboten, einerseits um etwa nebenläufig vorhandene seuchenhafte Erkrankungen auszuschließen, andererseits um vielleicht mit Generalisation des Erregers verbundene Diphtherieformen (s. Guérin, Loir und Dudoux) als solche zu erkennen.

Ehe ich an die Bearbeitung der einzelnen Fälle in diesem Sinn ging, habe ich einige Voruntersuchungen unternommen, angeregt durch eine Studie von Oster-tag und Ackermann: „Kommen die Erreger der Geflügelcholera im Darm gesunder Gänse vor?“

Von nach und nach 10 Hühnern, die, in anderen Versuchsreihen gehalten, zur Tötung bestimmt waren, wurden nach vorausgegangenem Hungernlassen aus normalem Gaumenspalten- und Rachensekret Agarplatten zur Bestimmung der Bakterienflora des gesunden Hühnermauls und Rachens gegessen, sowie je eine Taube subkutan geimpft, speziell mit Rücksicht darauf, ob sich nicht vielleicht im gesunden Hühnerrachen die Geflügelcholera Bakterien in saprophytischem Zustand befänden, oder ob ein bei der Beurteilung der Geflügeldiphtherie irgendwie eine Rolle spielender Mikroorganismus zu finden wäre.

Es erübrigt sich, die Resultate im einzelnen anzuführen; sämtliche Impfungen fielen negativ aus; Kolonien des *Bact. avicidum* habe ich nicht gefunden, ebensowenig einen der späterhin aus Diphtheriebelägen isolierten pathogenen Erreger. In Anbetracht mancher nur auf mikroskopische Untersuchung gestützten Angaben über einen Fund des menschlichen Diphtheriebacillus habe ich anzuführen:

In der 48-stündigen Agarplatte vom Huhn 3, 5 und 10 fand ich eine ca. linsen-große, grau-weiße bis grau-gelbe, unregelmäßig gezackte, trocken-krümelige Häutchenkolonie (bei noch weiterer Nährbodenprüfung auch ganz verschieden vom Klebs-Löfflerschen Bacillus), die grampositive, lange, dicke, an den verjüngten Enden leicht eingebogene, öfters in V und ähnlichen Formen zu 2 und 3 nebeneinanderlagernde Bakterien enthielt. Sie ließen sich von zur Probe angefertigten Ausstrichen des *Bac. diphth. hom.* nicht unterscheiden.

Allgemeines technisches Verfahren.

Das krankhafte Material wurde folgendermaßen in Verwendung gebracht: Von den Pseudomembranen der Maulhöhle wurde die oberste Schicht angesengt, wenn sie dick genug waren, auch abgetragen. Dann wurde mit vorher ausgeglühtem Messer etwas Belag direkt über der affizierten Schleimhautstelle entnommen, wobei durch kräftiges Schaben mit dem Messer auch die obersten Schichten der erkrankten Schleimhäute mitgenommen wurden. Exsudate der Nasenhöhlen- oder Unteraugenhöhlenzellen wurden dadurch zugänglich gemacht, daß nach vorausgegangener Reinigung mit 1-proz. Sublimatlösung je nach Bedarf in der halben Höhe des Gesichts oder weiter oben bzw. unten durch einen Querschnitt mit vorher ausgeglühter Schere ein Teil des Gesichtsschädels abgetragen wurde; bei Lidsackknoten und Belaganhäufungen in den Luftsäcken wurden nach Absengung der Oberfläche durch Schnitte mit zuvor ausgeglühtem Messer die tieferen reinen Schichten verwendet. Die so entnommenen krankhaften Produkte wurden je nach ihrer Konsistenz mit steriler Bouillon vermischt oder in zuvor sterilisierten Reibschalen verrieben. Derartige von jedem Diphtheriehuhn aus verschiedenen Exsudaten hergestellte Belagemulsionen wurden sofort nach ihrer Herstellung zuerst zum Plattenguß, dann zu Ausstrichpräparaten und endlich zur Verimpfung verwendet.

Hier sei nebenbei vermerkt: Oefters wurde zu Verdünnungszwecken eine Oese solcher Emulsion in ein zweites Reagenzglas steriler Bouillon verbracht. Eine solche zufällig stehen gebliebene, gut abgeschlossene, mit einigen Tropfen Belagemulsion beschickte Bouillon nahm nach einiger Zeit leicht gelbgrüne Verfärbung an. Dies brachte mich auf den Gedanken, fernerhin aus verschiedenen Exsudaten und Belägen jedes Diphtheriehuhns 3 solcher Bouillonröhrchen anzulegen und stehen zu lassen. War in einem oder seltener sämtlichen 3 Röhrchen Verfärbung eingetreten, so wurde eine Oese der Flüssigkeit entnommen und daraus Platten gegossen. Durch diese Methode vermochte ich den *Bac. pyocyaneus*, den ich direkt auf Platten nur viermal, durch Verimpfung dreimal bei Maus, einmal bei Taube fand, in weitaus den meisten folgenden Fällen nachzuweisen.

Mikroskopische Untersuchungen.

Durch die angeführte Bearbeitungsweise glaube ich wenigstens ganz bedeutungslose Beimengsel von vornherein ausgeschieden zu haben.

Um etwas Ueberblick zu verschaffen, färbte ich die Ausstriche einfach mit Gentionaviolett, nach Gram und versuchs halber auch nach Ziehl-Gabbet. Säurefeste Bakterien fand ich nie; das Gram-Bild war äußerst wechsellvull und auch im einzelnen sehr mannigfaltig zusammengesetzt: zeitweilig wohl ein Dutzend verschiedener Mikroorganismen, darunter auch Kokken von allen Größen. Am ehesten instruktiv waren, wenn genügend verdünnt, die einfach gefärbten Ausstriche. Bei einer Anzahl Hühner, insonderheit H. 5, 8, 11, 14, 15, 18, 24, 26, 30, 31, 37, 43, fand ich zahlreiche, oft sich über das ganze Gesichtsfeld erstreckende Fäden vom Aussehen der Nekrosebacillenfäden.

Wie in den Exsudaten der Kopfschleimhäute neben vielen anderen, so fand ich in den Belägen der Luftsäcke fast immer in überwiegender Anzahl, zuweilen aber nur scheinbar in Reinkultur eine Bakterienform, die auch im Herzblut der mit Brustbelag geimpften Mäuse wiedergefunden, den Gedanken an das Guérinsche Coccobakterium nahelegte. Abgesehen von den kulturellen Verschiedenheiten, ergab sich bei der Weiterzüchtung auch eine gewisse Abänderung in morphologischer Richtung: im Gegensatz zu der ursprünglich im Organismus gegebenen, ovoiden, an Kokken erinnernden Gestalt der Bakterien trat späterhin deren Stäbchencharakter augenfälliger in die Erscheinung.

Weiter fand ich öfter zahlreiche gramnegative Stäbchenformen von $\frac{1}{4}$ bis höchstens $\frac{1}{2}$ μ Dicke; die Länge betrug meist ca. 2 μ , doch ging sie auch nicht selten bis zu 4 μ . Häufig traf ich auch auf sehr zarte, höchstens $\frac{1}{2}$ μ lange und etwa ebenso dicke, gramnegative Stäbchen. Für beide Figuren ergab die weitere Prüfung, daß sie durch Mikroorganismen verschiedener Art erstellt waren.

Gramnegative Kokken fand ich ebenso wie grampositive in verschiedenen Größendimensionen.

Bakterienzüchtung

I. aus Herzblut diphtheriekranker Hühner auf schräg erstarrtem Agar und in Bouillon.

In jedem einzelnen Fall wurden zwecks Prüfung des Keimgehalts des Herzblutes und der inneren Organe der an Diphtherie eingegangenen Hühner Kulturen des Herzblutes auf schrägem Agar und in Bouillon angelegt. Die Sektionen wurden ziemlich oft direkt post mortem ausgeführt. Von 49 Sektionsfällen wuchs fünfmal eine dick-schleimige Coli-Kultur, zweimal einige stecknadelkopfgroße, dick-schleimige Einzelkolonien, daneben punktiert-tautröpfchenähnliche, fast glashelle, ziemlich zahlreiche Einzelkolonien: H. 5 und H. 17, einmal bei H. 44 fand ich diese Kolonien allein, das Kondenswasser war ganz wenig gelb-grau getrübt, spärlicher flockiger Bodensatz. Der Ausstrich offenbarte ein kurzes, an den Enden abgerundetes, etwa doppelt so langes als breites, nicht immer ganz gleichmäßig satt gefärbtes Stäbchen. Dasselbe war grampositiv und beweglich, Gelatine wurde nicht verflüssigt.

Beide Arten waren für Mäuse nicht pathogen; der Beschreibung nach könnte es sich bei dem letzteren Stäbchen wohl um das von Joest beschriebene *Bacterium intestinale gallinarum* handeln.

II. aus Belägen diphtheriekranker Hühner mittels des Plattenverfahrens.

a) Agarplatten.

Auch dieses Verfahren war in differentialdiagnostischer Hinsicht wenig zuverlässig. So fand ich sogar unter der schwachen Vergrößerung nicht zu unterscheidende Kolonien, die sich im mikroskopischen Bild als aus ganz verschiedenen Mikroorganismen erstellt erwiesen, noch mehr aber auch morphologisch gleiche Stäbchen, die bei der kulturellen Weiterprüfung weitgehende Gegensätze aufwiesen.

Ich habe deshalb für die in Betracht kommenden Mikroorganismen eine Nährbodenprüfung durchgeführt und aus den sich hier ergebenden charakteristischen Eigenheiten der einzelnen die Zuweisung der in den Platten vorgefundenen Kolonien zu ihrer Art leichter vorzunehmen vermocht. Näheres habe ich nicht angegeben. Daß übrigens für das tatsächliche Vorkommen eines Mikroorganismus in diesen Belägen der Plattenorganismus an sich nicht maßgebend sei, erhellt ohne weiteres.

b) Blutagarplatten.

Die erstarrten Blutagarplatten, nach der von Drigalski-Conradi für Typhusstuhlaussaaten angewandten Methode besät, erwiesen sich zum Zweck der Bakterienisolierung als ein etwas penibler Nährboden. Besonders anfangs hatte ich ziemlich viele Schwierigkeiten, auf die ich nicht näher eingehen will. Bessere und einwandfreiere räumliche Scheidung war ermöglicht, wenn ich statt Belagemulsion das wasserhelle Augen- oder Nasensekret kranker Hühner verwenden konnte, das nach Müller von ihm so genannten Hühnerdiphtheriebacillus oft fast in Reinkultur enthalten soll. Des öfteren übertrug ich auch von der ca. 50° C. warmen, zum Plattengießen fertigen Blutagarmischung auf drei erwärmte sterile Reagenzgläser, um diese dann nach der gewöhnlichen Weise mit Impfmateriale zu beschicken und in Platten auszugießen.

Bei allen diesen Versuchen erhielt ich zwar Kolonien, die sehr deutliche Höfe zeigten, aber sonst nicht in Uebereinstimmung mit dem Müllerschen Stäbchen zu bringen waren, und solche, die dem Bakterium ähnlich sehend, auch im mikroskopischen Bild entsprachen, aber keinen ausgesprochenen Hof bildeten. Es wurde nun ein mit Diphtherie behaftetes Huhn, das ebenfalls wieder ähnliche Kolonien ohne Hofbildung aus dem Augensekret geliefert hatte, an Herrn Dr. Müller (Kiel) geschickt zwecks Nachprüfung. In liebenswürdigster Weise teilte dieser mit, er habe ein dem seinen ähnliches Stäbchen allerdings ohne deutliche Hofbildung isoliert, nur bei sehr dünnen Platten trete ein solcher eher in die Erscheinung.

Damit wäre mein auffallender negativer Befund erklärt. Wenn die Fähigkeit, einen Hof zu bilden, bei dem Stäbchen eine wechselnde ist, eventuell auch von dem Nährboden nicht bloß in Hinsicht auf das Mischungsverhältnis zwischen Blut und Agar (gewöhnlich 1:10) beeinflußt wird, so ist es ganz gut möglich, daß eine derartige Kolonie von mir des öfteren übersehen wurde, da nach den anfänglichen Befunden Müllers eine deutliche Hofbildung für den Diphtheriebacillus „en miniature“ geradezu als Charakteristikum erscheinen mußte.

Abgesehen davon, kann ich aber feststellen, daß auch dieses nur unter gewissen Voraussetzungen einen Ansatz von Hof bildende Stäbchen gewiß nicht immer vorhanden war; ich finde nämlich in meinen Protokoll-

heften neben anderen in 2 Fällen, H. 11 und H. 32, ausdrücklich hervorgehoben, daß weder in ausgestrichenen noch in direkt übergossenen Platten eine der Kolonie Müller auch nur im mikroskopischen Bild entsprechende gefunden worden sei. (Das Gram-Bild der Kultur ist gar nicht zu erkennen.)

Untersucht habe ich 35 Fälle auf Blutagarplatten.

c) Serumagarplatten.

1 Teil Serum wird zu 1 Teil auf 50—60° C erwärmten Agar gebracht, gut durchgeschüttelt, und dann entweder nach Beschickung mit Belag gegossen oder nach Erstarrung der Masse besät. Ich brachte Serumagarplatten in Anwendung zur exakten Durchprüfung der Frage, ob ich nicht echte menschliche Diphtheriebacillen finden könne. Zur leichteren Kontrolle goß ich verschiedene Male aus einer Reinkultur des Klebs-Loefflerschen Bacillus Serumagarplatten. Das Resultat der Untersuchungen war negativ. In 7 Fällen, Huhn 6, 13, 17, 19, 31, 38, 42, fand ich dünn-häutchenförmige, unregelmäßig gezackte, stecknadelkopf-stark linsengroße Kolonien von der Konsistenz einer gekochten Kartoffel, die lange und dicke, an den umgebogenen Enden schmälere, zuweilen auch kolbenförmig aufgetriebene Stäbe enthielten. Bei Verimpfung an Meerschweinchen und Mäuse erwiesen sich die Bakterien als nicht pathogen, auch die weitere Nährbodenprüfung ergab keine Uebereinstimmung mit dem Klebs-Loefflerschen Bacillus.

Nebenbei hatte ich durch die Serumagarplatten eine Kontrolle für das Vorkommen des Müllerschen Stäbchens; mit Bestimmtheit fand ich in 20 Fällen dreimal keine an den „Hühnerdiphtheriebacillus“ erinnernde Kolonie, in anderen Fällen stieß ich öfters auf im Gram-Bild entsprechende, stark punktgroße, glashelle, leicht gekörnte Kolonien inmitten milchiger Trübung des Nährbodens. Diese Kolonien waren nur mit dem Nährboden abzuheben, da sie teilweise in ihn eingesunken waren.

Verimpfung von infektiösem bzw. auf Keimfreiheit zu prüfendem Material:

I. auf weiße Mäuse.

1) In jedem von mir untersuchten Fall verimpfte ich subkutan an eine weiße Maus 2 Oesen Herzblut des Huhns. Unter dem Material waren 3 frisch erkrankte und sofort darauf getötete Hühner, H. 10, 13, 30. Die Mäuse wurden längere Zeit unter Beobachtung gehalten, eine Erkrankung oder ein Todesfall kam nie vor. Damit war sowohl die septikämische Form der Diphtherie, als eine andere in Betracht kommende, etwa zufällig nebenherlaufende Infektionskrankheit ausgeschlossen.

2) Von jedem aus einem und demselben Bestand stammenden Transport diphtheriekranker Hühner wurden mindestens 1 oder 2 Mäuse, von jedem Einzelfall 1 Maus mit Darminhalt subkutan geimpft. Insgesamt waren das 19, darunter 3 aus den frisch getöteten, H. 10, 13, 30. Die aus H. 14 geimpfte Maus ging ein am 30. April, 8 Tage nach der Impfung. Aus Herzblut angelegte Kulturen blieben steril. Sonst war nie eine Störung der Impftiere zu beobachten.

Dieses Ergebnis spricht ebenfalls gegen die septikämische Diphtherieform.

3) Von jedem Diphtheriefall wurden 2 Mäuse aus verschiedenen Belägen subkutan geimpft, also entweder Gaumenbelag und Conjunctivalbelag, oder, wenn ein solcher vorhanden war, immer eine Maus aus Brustbelag. Nur schwere, ca. 8 Tage dauernde Erkrankung folgte, wenn die Beläge alt oder wenn sie dem lebenden Huhn schonend entnommen worden waren. Regelmäßig erfolgte der Tod bei mit Brustbelag geimpften Mäusen, und wenn die übrigen Beläge womöglich der an die affizierte Schleimhaut angrenzenden Schicht entnommen waren; um so prompter, je mehr Gewebstrümmer von der Schleimhaut selbst mit abgeschabt worden waren.

Das Krankheits- und Sektionsbild war, wie anzunehmen, im einzelnen ziemlich variabel.

Ich erwartete von Anfang an nichts anderes, als daß sämtliche oder wenigstens die meisten der so geimpften Mäuse an einer Mischinfektion zunächst zugrunde gehen werden. Dies war aber weniger häufig der Fall als vermutet. Aus beiden zuerst geimpften Mäusen von Belag Huhn II z. B. erhielt ich dasselbe später auf verschiedenen Nährböden durchgeprüfte, aber, da für kein Impftier pathogen, nicht näher angeführte, feine, gramnegative Stäbchen, das mir später noch sehr oft begegnete, vollständig rein aus dem Herzblut. Während also die Verimpfung der Kultur wirkungslos blieb, tötete ein Tropfen Herzblut oder ein Stückchen Milz weitere Impftiere unter denselben Erscheinungen, wie sie die ursprünglich mit Belag geimpften Mäuse aufwiesen. Diese Infektiosität des Herzblutes erhielt sich in einer Versuchsreihe beliebig lange, in einer anderen nahm sie früher oder später ein Ende. Bei der Untersuchung der Impfstelle fand ich zuweilen zahlreiche Mikroorganismen, ziemlich häufig Nekrosefäden, nicht selten auch ein sporenbildendes Stäbchen, das in seinem Aussehen an das maligne Oedem erinnerte. Ich versuchte den Nekrosebacillus anaërob reinzuzüchten, was aber fehlschlug.

Aus den aus Herzblut der geimpften Mäuse angelegten Kulturen erhielt ich etwa zur Hälfte reine, zur anderen meist 2 oder 3 Kolonienformen. Auf diese Weise hatte ich namentlich bei sehr pathogenen Erregern, wie es beispielsweise der von mir isolierte Coli-ähnliche ist, Gelegenheit, das tatsächliche Vorkommen zu beobachten.

Neben dem Plattenverfahren erzielte ich durch die durchgängige Belagverimpfung eine Anzahl pathogener Kulturen, auf die ich nachher etwas näher eingehen werde.

Die mit verschiedenartigem Material an Tauben und Hühnern vorgenommenen Infektionsversuche gebe ich umstehend tabellarisch wieder.

**Verimpfung von infektiösem Material.
II. an Tauben.**

Erklärung zu der Tabelle: Submuköse Impfung bedeutet, daß nach vorausgegangenem leichter Skarifikation der Backen- und der Conjunctivalschleimhaut in beide Stellen und in die Nasenschleimhaut etwas Belagemulsion eingespritzt wurde: zusammen $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ ccm; geschah die Impfung von Taube auf Taube, so wurde sie nach Art Guérin's subpalpebral vorgenommen. H. = Huhn, IT. = Impftaube.

Tabelle I.

Impftier	Datum der Impfung	Impfart	Impfmateriel	Nummer des verwendeten Huhns	Ausgang der Impfung	Bemerkungen
Impftaube I	23. April 07	submukös	Gaumenbelag	H. 12	genesen	Einige Tage leichte katarrhalische Erscheinungen.
" II	25. "	"	Conjunctivalbelag	H. 14	+ 29. April	Eitriger beidseitiger Nasenkatarrh und ebensolches Conjunctivalsekret; Stippchen, aus diesen Coli- und andere Bakterien zu isolieren.
" III	29. "	"	Conjunctivalbelägen	IT. II.	genesen	Weder lokale noch allgemeine auffällige Störungen.
" IV	28. "	"	Brustbelag	H. 15	+ 3. April	Typischer Diphtheriefall: rechtes Auge durch bohnen großen, gelben Eiterpfropf verschlossen, eitriger Nasenausfluß; kleiner Belag im Maul.
" V	3. Mai	"	Conjunctivalbelag	IT. IV	+ 11. Mai	Stippchen in der Maulhöhle, beidseitiger eitriger Nasenkatarrh.
" VI	11. "	"	Conjunctivalsekret	IT. V	genesen	Keine eigentlichen Krankheitserscheinungen.
" VII	30. April	"	Maulhöhlenbelag	H. 16	+ 4. Mai	Serös-schleimiger Nasenkatarrh: in den Sekreten und im Hb. schlanke, grampositive Stäbchen.
" VIII	3. Mai	"	Gaumenbelag	H. 19	+ 9. "	Maulhöhle mit glasigem Schleim erfüllt, an der Impfstelle und seitlich an der Gaumenspalte insuläre Groupmembran.
" IX	9. "	"	Conjunctivalbelag	IT. VIII	genesen	Geringgradige lokale Reaktion.
" X	8. "	"	Unterzungenbelag	H. 21	+ 12. Mai	Geringer, einseitiger, schleimiger Nasen- und Augenkatarrh; kurze, plumpe, bipolare Stäbchen in Sekreten und Herzblut.
" XI	14. "	"	Conjunctivalbelag	H. 25	+ 17. "	Typischer Diphtheriefall: Lidspalte durch Belagpfropf verschlossen; in Gaumenspalte und beiden Nasengängen krümeliges Sekret; am Gaumen r. weißgelbe, doppelt linsengroße Groupmembran.

Verimpfung von infektiösem Material.
III. an Hühner.
Tabelle II.

Impftier	Datum der Impfung	Impfart	Impfmateriale	Nummer des verwendeten Huhns	Ausgang der Impfung	Bemerkungen
Huhn: Fußnummer 3						
"	14. April 07	submukös	sterile Bouillon	—	—	An der lädierten Stelle dünner weißer Überzug: 5 Tage lang; wenig seröser Nasenfluß; nach 8 Tagen frei.
"	31 18. "	"	24-stünd. Belagfiltrat	IHF. 35	—	Aehnlich: Keine Störung des Allgemeinbefindens.
"	52 24. "	"	48-stünd. "	H. 39	—	dgl.
"	11 27. Mai	"	Darminhalt	H. 10	—	dgl.
"	13 12. "	"	"	H. 13	—	dgl.
"	33 13. "	"	"	H. 30	—	dgl.
"	20 12. "	"	"	H. 22	—	dgl.
"	25 13. "	"	"	H. 23	—	dgl.
"	35 12. "	"	Zungenbelag	H. 22	+ 8. Juni 07	Hochgradig diphtheriekrank: eminenter Maulhöhlenbelag.
"	37 13. "	"	Brustbelag	H. 23	+ 15. " 07	dgl.
"	40 8. Juni	"	Maulhöhlenbelag	IHF. 35	—	6—8 Tage lang serös-schleimiger Nasenfluß; im Maul gelbweißer dünner Belag auf der verletzten und geschwollenen Schleimhaut; nach 10 Tagen nichts mehr zu sehen.
"	32 20. Mai	"	Gaumenbelag	H. 27	—	Keine diphtherische Krankheitserscheinung.
"	44 28. "	"	Conjunctivalbelag	H. 30	—	dgl.

Die durch das Plattenverfahren isolierten, durch Verimpfung von Belägen an Mäuse, Tauben und Hühner wiedergewonnenen, in beiden Fällen aber außer dem Coli-Stäbchen CA sehr unregelmäßig auftretenden Kulturen, die ich im folgenden einer Nährbodenprüfung unterzogen habe, sind folgende (ich habe denselben alphabetische Bezeichnung beigelegt, da es nicht gut anging, bei dem öfteren Nebeneinandervorkommen der Bakterien sie nach der Nummer des vorliegenden Objekts zu benennen):

Kurze Morphologie und Pathogenität der isolierten Bakterien.

	Morphologie	gramnegativ — grampositiv +	unbeweglich — beweglich +	tötet Mäuse in:
CA (B)	coliähnliches Stäbchen, von plumpen, großen Kokken ähnlichen Formen bis zu Stäbchen, die die 3—5-fache Länge ihrer Breite haben, mit abgerundeten Enden	—	+	18—24 alte Kulturen in 36 St.
CC	große sehr schlanke, zuweilen leicht gebogene Stäbchen, 0,3—0,5 μ breit, bis zu 5 μ lang	—	—	gewöhnlich 24 St. seltener 1—2 Tg.
CD	etwas über punktgroße, satt gefärbte Stäbchen, mit abgerundeten Enden, Kokkentypus, zuweilen etwas länger als breit, zu mehreren nebeneinander liegend	—	—	3—5 Tagen
CE	etwa 0,5 μ langes und breites, oft kokkenförmiges Stäbchen, mit abgerundeten Enden, satt gefärbt	—	+	1—3 „
CF	kleiner Coccus, in Bouillon in Kettenform	+	—	2—3 „
CG	schlanke Stäbchen, etwa $\frac{1}{2}$ μ breit, 2—6 μ lang, aber auch kürzere dickere Formen	+	—	2—3 „
CH	kurze, plumpe bipolar gefärbte Stäbchen, mit abgerundeten Enden	—	—	1—2 „
CJ	0,2—0,4 μ breite, bis zu 5 μ lange Stäbchen, mit abgerundeten Enden, zuweilen gebogenem Verlauf	+	—	4—5 „
CK	sehr feine, gleichmäßig zart gefärbte Stäbchen, mit abgerundeten Enden, $\frac{1}{2}$ μ lang, $\frac{1}{4}$ μ breit, zuweilen ovoide Formen	—	—	3 „
CL	feine Stäbchen $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ μ breit, 1—2 μ lang, sehr zart	—	—	5 „
CM	schwach gefärbte Stäbchen mit abgerundeten Enden, $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ μ breit, 2—4 μ lang	—	—	nicht pathogen

Die im Anhang gebrachte Nährbodenprüfung hat für die einzelnen Kulturen folgende Resultate gezeitigt, von denen ich nur einige bemerkenswerte Punkte anführen will.

CA und CB mit verschiedengradiger Virulenz ausgestattet, kulturell sich vollständig entsprechend, sind ihrem Wachstum nach unter die Coli-Gruppe zu subsumieren. Morphologisch abweichend, zeigt CC Wachstumsformen, die ebenfalls an die Coli-Typhusgruppe erinnern. Bei den gramnegativen ovoiden Bakterien CD ist interessant das Wachstum im Gelatinestich, das von typischen Rotlaufkulturen oft nicht zu unterscheiden ist. CE zeigt sich bei genauem Vergleich mit den Streitschen Angaben als identisch mit dem Roubbacillus. CF, der Streptococcus zeigt die allgemeinen Eigenschaften des Streptococcus pyogenes. Die pathogenen Stäbchen CK und CC und das nicht pathogene, deshalb nicht näher angeführte CM konnte ich mit einem näher bekannten Bakterium nicht identifizieren. CG weist kulturell keinerlei Verschiedenheiten vom Bac. pyocyaneus auf. CH und CJ decken sich in jeder Hinsicht mit den Erregern der Hühnercholera und des Schweinerotlaufs. Um zu prüfen, ob die drei isolierten Stämme CI tatsächlich echte Formen des Bac. erysipelatos suum darstellten, wurde unternommen ein

Rotlaufserumversuch:

I. Von einer übernommenen Rotlaufkultur, sowie von den zu prüfenden CJ I, II und III erhielten je 2 Mäuse 0,3 ccm einer 24-stünd. Bouillonkultur, Verdünnung mit 0,75-proz. Kochsalzlösung 1:30 intrap.

	I.	II.	III.	IV.
Datum der Impfung:	10. VI. 07	10. VI. 07	10. VI. 07	23. VI. 07
Impfmaterial:	Rotlaufkultur	CJ I	CJ II	CJ III
Impftier:	Ms. I 14 g Ms. II 17,6 g	Ms. III 18 g Ms. IV 16 g	Ms. V 15,5 g Ms. VI 21 g	Ms. VII 16 g Ms. VIII 19 g
Art der Impfung:	intrapertoneal	intrapertoneal	intrapertoneal	intrapertoneal
Ausgang der Impfung:	Ms. I † 12.VI.: R. Ms. II † 11.: R.	Ms. III † 12.: R. Ms. IV † 12.: R.	Ms. V † 12.: R. Ms. VI † 13.: R.	Ms. VII † 24.: R. Ms. VIII † 25.: R.

Gleichzeitig mit diesen Kontrollen erhielten intraperitoneal 0,3 ccm derselben Bouillonkulturverdünnungen je 2 Mäuse, nachdem sie eine Stunde zuvor 0,3 ccm einer Versandserumverdünnung 1:20 subkutan bekommen hatten.

Impftier	Gewicht	Serum in Ver- dünnung	24-stünd. Bouillon- kult. in Verdg.	Tag der Impfung	Tag des Todes	Zahl der Tage	Bemerkungen
Ms. I bd. O.	13,6	0,3 subk.	3,0 intrap. v. echtem Rotlauf	mittags 3 h. 10. VI. 07	13./14. VI. 07	3½—4	† an Rotlauf
Ms. II bd. O. coup.	16,8	"	dgl.	dgl.	—	—	genesen
Ms. III bd. O.	18,0	"	0,3 intrap. v. CJ I	"	—	—	"
Ms. IV l. O. c.	16,0	"	dgl.	"	—	—	"
Ms. V bd. O.	21,2	"	0,3 intrap. v. CJ II	"	—	—	"
Ms. VI l. O. c.	17,4	"	dgl.	"	18. VI. 07 abends	8½	† an Rotlauf
Ms. Ia bd. O.	16,3	"	0,3 intrap. v. CJ III	mitt. 3 h. 23. VI. 07	4. VII. 07 morgens	12	dgl.
Ms. IIa l. O. c.	15,2	"	dgl.	dgl.	—	—	genesen

Die geimpften, aber wieder genesenen Mäuse waren teilweise offensichtlich krank.

Aus diesem Versuch resultiert, daß CJ I, II und III mit echten Schweinerotlaufkulturen identisch sind.

Dritter Teil.

Ansteckungsversuche mit Reinkulturen.

Abgesehen von den auf eine wesensverschiedene Diphtherieform bezüglichen und daher in anderer technischer Ausarbeitung vorgenommenen Uebertragungsversuchen Guérins hat solche bei der gleichen Diphtherieform Streit in größerem Maßstab mit Reinkulturen vorgenommen.

Die Streitsche Versuchsanordnung hat allerdings verschiedene schwache Seiten:

Mängel bei den von Streit unternommenen Infektionsversuchen:

1) Es erscheint nicht sicher, ob genügende Absonderungsmaßregeln getroffen waren. Wie auch Müller hervorgehoben hat, ist nirgends angegeben, auf welche einwandfreie Art die natürlich kranken und die jeweilig 1) mit Belägen, 2) mit Mischkulturen, 3) mit Reinkulturen geimpften Hühner voneinander getrennt waren.

So konnten auch

2) bei der Impfung mit 2 verschiedenen Bakterienkulturen, die beide Diphtherie hervorriefen, keineswegs mit aller Sicherheit die Erkrankungen auf jene zurückbezogen werden.

Diese Unsicherheit wird noch vermehrt dadurch, daß

3) Streit auch sonst keinerlei Kontrolltiere aufgestellt hatte.

Als zumeist anfechtbar aber erachte ich den Umstand, daß

4) Streit eine große Anzahl (ca. 60) natürlich durchsuchter Hühner zu Versuchszwecken verwendet hat.

Diese Uebelstände zu vermeiden, schlug ich folgenden Versuchsweg ein:

Anordnung der eigenen Infektionsversuche.

Zur Verwendung gelangten sämtliche in Belägen öfter gefundene, im zweiten Teil näher geprüfte Kulturen, 1) um eine möglichst große Zahl von Bakterien durch das Experiment als das nachgewiesenermaßen einzig sichere Prüfungsmittel auf ihren eventuellen ätiologischen Zusammenhang mit Diphtherie hin durchzuforschen, 2) um durch diese Stellung auf breitere Basis eine wesentlich verstärkte Kontrolle allen irreführenden Faktoren gegenüber zu haben.

Eine vor Ansteckung sichere Unterkunft der Versuchstiere wurde folgendermaßen bewerkstelligt: Während die natürlich kranken Hühner in besonderen Räumlichkeiten untergebracht waren, wurden für die Impfhühner frisch angekaufte und desinfizierte Kisten in Gelasse eingeteilt und mit den nötigsten Schutzvorrichtungen im Freien aufgestellt.

Das zur Impfung verwendete Tiermaterial bestand gewöhnlich aus ca. $\frac{1}{2}$ -jährigen, aber auch älteren Landhühnern, die nach vorausgegangener Prüfung auf ihren Gesundheitszustand je nach Bedarf auf dem Markt zusammengekauft wurden. Die neu erstandenen Hühner wurden zunächst 8—10 Tage in den Kisten der Beobachtung ausgesetzt zwecks Feststellung der Frage, ob nicht die veränderten Lebensbedingungen — Aufenthaltsort und Nahrungsaufnahme — irgend eine tödliche Erkrankung herbeizuführen imstande seien. Dabei ist einmal ein schwächliches Hühnchen an profusem Durchfall am 5. Tag gestorben.

Als Kontrolltiere dienten von jedem Transport mehrere Hühner, die ungeimpft in den Kisten belassen wurden.

Das zur Impfung verwendete Kulturmaterial bestand aus verschiedenen Mengen der jeweiligen Abschwemmung eines 24-stündigen Agarstrichs durch eine 0,75-proz. sterile Kochsalzlösung. Der Agarstrich war aus einer Platteneinzelkolonie angelegt und durch gewöhnliche, sowie nach Gram gefärbte Ausstrichpräparate auf seine Reinheit geprüft worden.

Die Infektionsmethode war dieselbe, wie bei Belagemulsion. Eine Impfung „in Nase, Maul oder Augenlid“ versteht sich also, wenn sonst nichts beigefügt ist, dahin, daß nach vorausgegangener minimaler Skarifikation eines Teils der Schleimhaut die Kultur dieser teils aufgeträufelt, teils eingespritzt wurde.

Die Bezeichnung der Kulturen ist dieselbe wie im zweiten Abschnitt: CGH. 34 heißt also die beschriebene Kultur G isoliert aus dem Huhn, mit der laufenden Nummer 34. Ein beigetztes $\frac{1}{4}$ oder $\frac{1}{2}$ bedeutet, daß die Impfmenge $\frac{1}{4}$ oder $\frac{1}{2}$ ccm der oben erwähnten Kulturabschwemmung betrug.

Die Zusammenstellung der Impffälle ist nicht chronologisch, sondern nach Gründen der Uebersichtlichkeit erfolgt.

Ich bemerke noch, daß hier nicht eine wörtliche Wiedergabe der von mir beinahe täglich bis ins einzelne durchgeführten Impf- und Untersuchungsprotokolle erfolgen soll, sondern daß ich nur einen so kurz als möglich gefaßten, das Wesentliche streifenden und hervorhebenden Ueberschlag, im Anhang fernerhin ein Resumé der Versuchsergebnisse und der aus diesen zu folgernden Tatsachen geben werde.

Ueberblick über die Impfversuche.

Eine gewisse Veranschaulichung des Gesamtergebnisses meiner Infektionsversuche bietet schon die von mir getroffene Einteilung der bezüglichen Bakterien in eine nicht pathogene, eine pathogene, und, wenn ich so sagen darf, mehr oder minder spezifisch pathogene Gruppe.

Gruppe I.

Demzufolge haben jedesmal mit stärkerer Dosis $\frac{1}{4}$ und $\frac{1}{2}$ ccm wiederholte Infektionsversuche mit CM: Fußnummer 15 und 30, CL: F. 23 und 24, CD: F. 18 und 27 nur geringfügige Reaktionserscheinungen gezeigt, die einen spezifischen Einfluß der Kultur ausschließen und von denen spätestens nach ca. 10 Tagen gewöhnlich keine Spur mehr zu sehen war. Das gleiche gilt von der Kultur Müller: H. F. 15, Taube F. 210 und 213, bei H. F. 21 hat das Nasensekret statt ausgesprochen serösen, mehr dünnschleimigen Charakter und ist einige Tage länger zu konstatieren als bei den übrigen. Erscheinungen, bei denen es zweifelhaft erscheint, ob sie als bloße Heilvorgänge aufgefaßt werden sollen, zeigt CK: H. F. 26 und 29, T. F. 311. Eine ganz strenge Grenze zwischen Gruppe I und III läßt sich also nicht ziehen.

Gruppe II.

Regelmäßig letaler Erfolg der Impfung ist zu konstatieren für CJ-Rotlauf und CH-Hühnercholera, fast durchweg letaler Ausgang der Impfkrankheit für CC.

Gruppe III.

Hier erzeugt CF (Streptococcus) einmal an der Impfstelle starken lokalen Belag und schleimig-eitrig ca. 14 Tage dauernde Sekretion: F. 10 und F. 7, ausgesprochene Schwellung der affizierten Teile: Taube F. 193. Ganz ähnliche Verhältnisse finden sich bei CE-Roupbacillus. Hier beherbergt meist auch die Gaumenspalte etwas glasigen Schleim: F. 12 und T. F. 58; bei F. 19 auch vorübergehende insuläre Belagbildung. Bei beiden kein Todesfall.

Nach Infektionen mit Pyocyaneus resultiert nach 5—6-wöchiger Krankheit letales Ende für F. 36, nach 5 Tagen Taube F. 111, nach 10 Tagen F. 31. Genesen sind nach 14 Tagen bis 3 Wochen F. 2 und F. 22, nach 3—4-wöchiger zeitweilig schwerer Erkrankung F. 14 (weiß). Das Colistäbchen CA ruft in 8-tägigem bis 8-wöchigem, ziemlich wechselvollem Krankheitsverlauf den Tod hervor bei F. 8, 3, 17, 5, 6, 33, Taube F. 146, 114, 181. Genesen sind Taube F. 105, H. F. 19 und 11 nach ca. 14 Tagen, F. 16 nach 5 Wochen, F. 9 nach 2 Monaten.

Was die Art der Impfkrankheiten in Gruppe III anbetrifft, so können also zuweilen an Diphtherie erinnernde Bilder erzeugen: Das ovoide Bakterium CC, der Streptococcus und der Roupbacillus, des öfteren zeitigen Symptomenbilder, die von denen spontaner Diphtheriefälle nicht zu unterscheiden sind, der Pyocyaneus und das Colistäbchen CA.

Vergleichende Ergebnisse der Impfungen.

Wenn ich das Müllersche Stäbchen in der Gruppe der für Hühner und Tauben nicht pathogenen Bakterien untergebracht habe, so lag es mir fern, damit ausdrücken zu wollen, daß diesem Stäbchen überhaupt keinerlei Pathogenität zukomme. Ich wollte nur in Ansehung bringen, daß sich in den wenigen diesbezüglich von mir unternommenen Versuchen dieses Ergebnis herausgestellt hat. Dabei ist allerdings auch noch in Betracht zu ziehen, daß die von mir frisch isolierte Kultur mangels einer deutlichen Blutagarhofbildung nicht mit apodiktischer Sicherheit als die von Müller angesprochene erklärt werden kann.

Ein teilweiser Widerspruch meiner Ergebnisse scheint auch zu den von Streit erlangten vorzuliegen. Dieser erlangte einerseits mit dem von ihm deshalb so genannten Roupbacillus die Roupkrankheit, andererseits sagt er: „Minder oder mehr typische Coli-Bakterien wuchsen ebenfalls aus den verschiedenen Exsudaten. Einige derselben erzeugten submukös in den Augenlidern oder im Maul heiße Tumoren, die aber bald wieder resorbiert wurden.“ Hierzu ist zu bemerken: 1) ob Streit gerade „Coli-Bakterien“ in Anwendung gebracht hat, die nach allen ihren Eigenschaften mit der von mir isolierten CA übereinstimmen, ist unsicher, 2) bei eingehender Durchsicht der Impffälle resultiert aus meinen Versuchen mit dem Coli-Stäbchen CA und dem Bac. pyocyaneus folgendes:

I. Die einige Zeit auf künstlichen Nährböden gezüchtete Kultur ist in ihren pathogenen Eigenschaften sehr reduziert.

II. Passage durch den Tierkörper (eventuell zunächst bei weniger resistenten Tierarten: weißen Mäusen durch große Mengen der Kultur oder intraperitoneale Impfung forziert) verleiht den Stäbchen erhöhte Wirkungskraft.

III. Eine spezifische Virulenz bei einer bestimmten Tierart eignet sich eine Kultur dadurch an, daß sie in kontinuierlicher Passage die Rolle eines Krankheits-erregers bei derselben Tierart übernimmt. Die Virulenz steigert sich auch nach Maßgabe des Umstands, ob die Lokalaffektion ein letales Ende genommen hat. Die Passage durch Hühner oder Tauben bedingt keinen wahrnehmbaren Unterschied der Virulenz.

Hinwiederum erwähnt Streit von seinem Stäbchen: „Die Virulenz des Roupbacillus war anfangs keine sehr große“ (zahlreiche negative Infektionsversuche), doch ließ sie sich durch ein- oder zweimalige Passage durch Tauben stark steigern.

Auf diesem Boden ließe sich eine Erklärung der nicht einhelligen Versuchsergebnisse wohl finden; trotzdem aber und wiewohl schon durch die Angaben Streits betreffs Wirkung bei Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen der Roupbacillus als ein strenger Eitererreger festgelegt wurde, glaube ich ihm doch in bezug auf die Geflügeldiphtherie zwar eine Rolle, aber nicht beherrschender Art zuweisen zu müssen: 1) In den Exsudaten spontaner Diphtheriefälle findet sich der Roupbacillus verhältnismäßig selten (Streits Angaben und eigene Beobachtung). 2) Von sämtlichen Uebertragungsfällen der Diphtherie auf Tauben gibt Streit nur in einem einzigen Fall (Impftaube 14) an, daß er den

Roupbacillus im Eiter gefunden habe. 3) Im allgemeinen erwähnt Streit, daß auch bei künstlich infizierten Hühnern nach längerem Krankheitsverlauf die ursächlichen Bakterien oft ganz aus den Schleimhautsekreten verschwinden, da die Stäbchen sowohl bei den spontanen wie bei den künstlich übertragenen Erkrankungen wohl frühzeitig in den käsigen Exsudatmassen absterben. Im speziellen wird nur in einem typischen Diphtheriefall ein bakteriologischer Befund angegeben; hier heißt es zum Schluß wörtlich: „aus dem Eiter wuchsen in geringer Anzahl die eingepfropften Roubbakterien, der Hauptzahl nach aber ein kurzes coli-ähnliches Stäbchen“. Dieses coli-ähnliche Stäbchen dürfte vielleicht zu identifizieren sein mit dem von mir isolierten, für dessen ätiologische Bedeutung maßgebende Umstände sprechen:

I. Unter der Bakterienflora des gesunden Hühnermauls findet sich CA nicht.

II. Bei allen natürlichen Diphtheriefällen ist das Stäbchen in den Exsudaten anzutreffen.

III. Wie das Guérinsche Bakterium, kommt auch dieses in den Belägen der Pleurasäcke öfters fast in Reinkultur vor.

IV. Bei gesteigerter Virulenz gelingen die meisten Infektionsversuche; auch in den Impffällen finden sich die Bakterien jederzeit.

V. Auch andere Versuchstiere — Kaninchen, Meerschweinchen, Mäuse — werden unter subkutaner Bildung pseudomembranöser Beläge und Eiterungen, bezw. peritonitischen und pyämischen Erscheinungen getötet.

Zweifel lassen berechtigt erscheinen:

I. Die sehr großen zur Infektion nötigen Quantitäten der Kultur.

II. Die bedeutend schwankende, künstlich zu steigernde Virulenz.

Von diesen beiden Uebelständen berichtet für sein Coccobakterium auch Guérin.

III. Die vielleicht nicht ganz einwandfreie Art der Impfung: künstliche Läsionen.

IV. Trotz des progressiven Charakters der erregten Eiterungsprozesse Fehlen der eigentlich typisch proliferierenden Beläge.

V. Was aber vor allem gegen mein Stäbchen als einen einheitlichen Erreger der lokalen Geflügeldiphtherie spricht, ist der Umstand, daß durch den Bac. pyocyaneus ähnliche Krankheitsbilder erzeugt werden konnten, daß dasselbe von dem in seiner Virulenz gesteigerten Roubbacillus berichtet wird und eventuell für den akkommodierten Streptococcus und das gramnegative zarte Stäbchen CK nicht ausgeschlossen erscheint, wie ja auch bei dem Müllerschen Stäbchen in weiteren Versuchen pathogene Wirkungen in diesem Sinne vielleicht noch konstatiert werden können.

Berücksichtigt man ferner, daß im mikroskopischen Bild ziemlich häufig der Bacillus necrophorus gefunden wurde, der anerkanntermaßen (s. Kälberdiphtherie) bei diphtherischer Belagbildung eine Rolle spielt, so erscheint der Schluß naheliegend, daß vielleicht keinem dieser Erreger eine spezifische Infektionskraft an sich und auf sich beschränkt eigentümlich ist. Mit anderen Worten: Die Rolle dieser Mikro-

organismen ist teilweise wenigstens ganz gewiß mehr sekundärer Natur: sie bedingen wohl und dies in verschiedengradiger Einzelwirkung wie auch vorzüglich durch ihre Gesamtwirkung die Entwicklung, das Gesicht der Krankheit, während für den ersten Anstoß zu derselben aus Gründen der angeführten Pluralität das Vorhandensein einer bestimmten Bakterienart als *conditio sine qua non* mit absoluter Sicherheit nicht festgelegt werden kann.

Daß auf dem Weg des gewöhnlichen Agarplattenverfahrens und der Belagimpfung ein Mikroorganismus eruiert werden könnte, bei dem die genannten Bedenken nicht obwalten, glaube ich nach meinen Untersuchungen verneinen zu dürfen.

Nun bestehen drei Möglichkeiten:

I. Es handelt sich um ein auf gewöhnlichen Agarplatten nicht in Einzelkolonien wachsendes Kleinlebewesen: Hier käme in Betracht der von Müller so genannte „Hühnerdiphtheriebacillus“. Um diese Sache definitiv spruchreif zu gestalten, müßten immerhin noch eine größere Anzahl Infektionsversuche mit frisch isolierten Kulturen vorgenommen werden. So viel steht fest, daß das Müllersche Stäbchen nicht ausnahmslos in den Belägen anzutreffen ist, und daß Müller nur von einer positiven Taubenimpfung berichtet, während im übrigen der „Hühnerdiphtheriebacillus“, soviel bis jetzt bekannt, noch in keinem Fall bei Hühnern Krankheitserscheinungen diphtherischer oder anderer Art hervorgerufen hat. Demzufolge vermag ich das Müllersche Stäbchen als Erreger der Hühnerdiphtherie vorerst nicht anzusehen.

II. Es ist ein Ansteckungsstoff gegeben, der auch nach irgend welchen Zusätzen nicht auf Nährböden von der gewöhnlich gebräuchlichen Grundsubstanz wächst, der vielleicht als ultravisibler Mikroorganismus von außerordentlicher Kleinheit auch Tonfilter zu passieren vermag. Dagegen sprechen allerdings die von mir unternommenen Infektionsversuche mit durch Tonfilter passiertem zerriebenen Belag, aber ich verkenne nicht, daß diese Prüfungsmaßnahmen noch nicht ausreichend und umfangreich genug erscheinen, um hier das letzte Wort als gesprochen gelten zu lassen.

III. Es wird eine zumeist in allgemeiner Verbreitung auftretende Noxe präponiert: z. B. durch ungünstige Witterungsverhältnisse bedingte Nasenkatarrhe, die besonders bei verfeinerten Rassen außerordentlich häufig sind. Nun finden gefährliche Bakterien, neben anderen in erster Linie solche pyogener Natur, ein günstiges Feld ihrer Entwicklung. Der Aufnahme dieser Bakterien wird jedenfalls wesentlich Vorschub geleistet durch die Gewohnheit des Hausgefögels, sich die Nahrung auf dem Boden, namentlich aus allen möglichen Unratstätten zusammenzuscharren. Dabei mögen vielleicht auch, entsprechend dem Drang des Gefögels, kleine Steinchen, Glassplitterchen usw. aufzunehmen, kleinste für den Ansatz von Pseudomembranen die Operationsbasis der aufgenommenen Bakterien erstellende Läsionen gegeben werden. Fernerhin erfolgt nun ganz analog den künstlichen Infektionsversuchen bei der gegenseitigen, sehr häufigen und leichten Uebertragungsmöglichkeit der krankhaften Exsudate eine je nach dem Umfang der Einzelpassagen bemessene Steigerung der Artvirulenz, so daß für die Weiterverbreitung der unter bakterieller Mitwirkung ge-

wissermaßen autochthon entstandenen Krankheit prädisponierende Insulte eigentlich wenig mehr, mindestens erst in zweiter Linie in Betracht kommen. Aus diesen Erwägungen heraus erklärt sich auch am ehesten die in der Literatur hervorgehobene so sehr verschiedene Infektiosität und der verschiedengradige Krankheitsverlauf spontaner Diphtheriefälle.

In diesem allseitig gestützten und gefestigten Sinn kann die lokale Form der Geflügeldiphtherie sich ungezwungen auffassen lassen.

Schlußbetrachtungen.

I. In nebenläufigem Befund ist festzulegen:

Die von mir als Schweinerotlauf- und Hühnercholeraerreger angesprochenen Bakterien erweisen sich mit Sicherheit als solche durch ihre kulturellen Eigenschaften, durch den Ausgang ihrer Verimpfung und durch den positiven Rotlaufserumversuch. In den Bakterienbrutstätten, wie sie die Hühnerdiphtheriebeläge darstellen, können also nicht ganz selten echte Schweinerotlauf- und Hühnercholeraabakterien sich ansiedeln, letztere anscheinend in etwas milderer Virulenz. Diese Tatsache erscheint angesichts der außerordentlichen Häufigkeit der Geflügeldiphtherie und der Wahrscheinlichkeit, daß die erwähnten Stäbchen in diesen Belägen wohl günstigere Entwicklungsbedingungen für ihre saprophytische Existenz als anderswo finden, für den Verbreitungsmodus beider Seuchen nicht ganz bedeutungslos.

II. In Hinsicht auf mein Thema ergibt sich:

1) Die croupös-diphtherische Entzündung der Kopfschleimhäute, seltener der serösen Häute des Hausgefügels, in erster Linie der Hühner und Tauben ist eine ätiologisch einheitliche Erkrankung nicht.

2) Die Geflügeldiphtherie besteht vielmehr aus zwei ihrem Wesen nach verschiedenen Krankheiten, bei äußerlich übereinstimmenden, wenn auch nicht gleichweit verbreiteten Symptomen lokaler Art.

3) Die eine Krankheitsform hat akuten bzw. perakuten, seltener verschleppten Verlauf auf septikämischer Grundlage, die andere stellt eine Summe lokal beschränkter Eiterungs- bzw. Gewebskoagulationsprozesse dar. Die Signatur beider Krankheitsformen beruht auf dem Gegensatz zwischen durchweg gegebener Infektiosität und Nichtinfektiosität des Darminhalts, nicht immer evidenter Bakteriämie und Freiheit des Blutes und der inneren Organe von pathogenen Erregern, nicht regelmäßige Ausdehnung der diphtherischen Lokalaffektionen auf den Darmkanal, die Trachea usw. und gewöhnliches Freibleiben dieser Apparate.

4) Die erstere Form tritt bei uns und in Amerika verhältnismäßig sehr selten auf, häufiger anscheinend in den südlichen Ländern.

5) Mit der menschlichen Diphtherie, jener durch den Klebs-Loefflerschen Bacillus bedingten Infektionskrankheit, hat die Geflügeldiphtherie primär-ätiologisch nichts zu tun. Dagegen ergeben sich für die Abwicklung der croupös-diphtherischen Entzündungsprozesse mancherlei Berührungspunkte.

6) Ein grundsätzlicher Unterschied zwischen Hühner- und Taubendiphtherie besteht, da erstere auf letztere übertragbar ist,

nicht. Es ist also der in Hühnerdiphtheriebelägen nicht gefundene *Bacillus diphtheriae columbarum* (Loeffler) nicht das einzige Stäbchen, das diphtherische Affektionen der Tauben zu verursachen vermag.

7) Der Erreger der septikämischen Krankheitsform der Geflügel-diphtherie ist ein Coccobakterium, das nach künstlich erhöhter Virulenz durch Verfütterung die Krankheit hervorzurufen vermag (Guérin, Loir und Dudoux).

8) Die Frage nach einem ausschließlichen Erreger der anderen Form lasse ich offen, glaube aber dem von mir unter der Bezeichnung CA näher geschilderten coliähnlichen Stäbchen im Rahmen der aufgeführten Verhältnisse hinsichtlich der Geflügeldiphtherie ätiologische Bedeutung zumessen zu sollen, da von der in Betracht kommenden Gruppe dieses in erster Linie den an einen Erreger zu stellenden Anforderungen entspricht.

Anlage A. Nährbodenprüfung.

CA.

a) Feste Nährböden.

Agarplatte.

Makroskopisch: Oberflächliche Kolonien, bei durchfallendem Licht saftig, perlmutterglänzend, zart-blau fluoreszierend, bei auffallendem Licht weißschleimig, durchschnittlich stecknadelkopfgroß, übrigens von Stecknadelstich-Linsengröße sich bewegend, fast durchweg regelmäßig kreisrund, glattrandig, zuweilen, aber selten, von ganz leicht wellig verlaufendem Rand umgrenzt. Mittlere Kolonien: Rundlich bis oval, stecknadelstichgroß, tiefe unregelmäßig rundlich, ei- oder wetzsteinförmig.

Bei 40—100-facher Vergrößerung regelmäßig gelb-brauner Kreis, zuweilen ganz leicht an den Rändern gelappt; viele einmal größere, einmal kleinere, tautropfenähnliche Gebilde in sich schließend, manchmal tritt die Granulation auch fast gar nicht in die Erscheinung. Einzelne Kolonien zeigen weitgehende strahlenförmige Septierung. Die Drigalski-Platte hat sich nach 24 Stunden stark gerötet.

Schräger Agar.

Nach 24 Stunden sehr üppiges Kolonienwachstum, meist in Stecknadelkopf-Linsengröße, oder dickschleimiger saftig glänzender, reicher Ueberzug bei durchfallendem Licht namentlich an den dünneren Stellen metallisch blau-grün, bei auffallendem Licht weiß-gelb auch mit grauer Nüance erscheinend. Kondenswasser leicht gelblich getrübt, nicht allzu reicher, weißlich-gelber, später fadenziehender, mehlig aussehender Bodensatz, der sich beim Aufschütteln diffus verteilt; wird nach etwa 4 Wochen braun; Kondenswasser klarer.

Agarstich.

Entlang dem Stichkanal dünnes farbloses Bändchen, auf der Oberfläche unregelmäßig rundlicher, etwas fettiger glänzender Nagelkopf, der sich nach 48 Stunden über die ganze Oberfläche in Form eines gelbweißen, mit der Zeit dicker werdenden Häutchens ausgebreitet hat. Das Wachstum im Stich tritt gegen das auf der Oberfläche fast vollständig zurück (zuweilen finden sich einige Gasblasen im Agar).

Blutagarplatte.

Insgesamt dickes, fast kleinfingerbreites, weißschleimiges Wachstum folgender Art: Entlang dem Impfstich etwa stricknadeldicker gelbrötlicher Belag, der in eine etwas zartere rosarote Randzone auf beiden Seiten übergeht. Bei durchfallendem Licht erscheinen namentlich die Randzonen deutlich karmoisinrot, während auf den Grenzen gegen den Impfstich ein bläulicher Schimmer liegt. Ein Hof ist saumartig angedeutet.

Gelatineplatte.

Makroskopisch: Meist stecknadelkopfgroße, scharf konturierte, fast kreisrunde, aber auch unregelmäßig runde, bei auffallendem Licht weiße, bei durchfallendem schön blau schimmernde Kolonien. Bei schwacher Vergrößerung: Gelblichbraune Farbe, schollig-körnige, in der Peripherie lichtere Zusammensetzung, schwarzer Saum.

Schräge Gelatine.

Nach 24—48 Stunden ist ein über die ganze Gelatinefläche ausgedehnter, kräftig hauchförmiger, zuweilen aus feinsten Pünktchen zusammengesetzt erscheinender, weißlicher, in durchfallendem Licht bläulichgrauer Belag gewachsen.

Kartoffel.

Nach 24 Stunden breiter schleimiger Streifen auf der Kartoffel, nach 48 Stunden saftig glänzender, gelbgrauweißer, dann graubrauner, dicker, auf die ganze Fläche ausgedehnter Belag. Auf Glycerinkartoffel Wachstum etwas langsamer.

Gelatinestich.

Entlang dem Stichkanal ein zartes Bändchen, aus weißlich-grauen, in älteren Kulturen braunen Körnchen zusammengesetzt; nach 2 Tagen ist ein die ganze Oberfläche der Gelatine einnehmender Nagelkopf erstellt durch ein dünnes, speckig nach Art eines Glimmerplättchens weiß bis graugrünlich aussehendes, mattglänzendes, zuweilen durch vom Mittelpunkt ausgehende Radien zackig gefurchtes Häutchen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt, ist aber bei 14 Tage bis 3 Wochen alten Kulturen trichterförmig nebelig, nach Art eines Kraters eingesunken.

b) Flüssige Nährböden.

Bouillon.

Nach 12 Stunden gleichmäßig starke, diffuse Trübung der Bouillon, sehr deutliche Ringbildung, Spuren von Bodensatz; nach 24—48 Stunden hat sich ein ziemlich unzusammenhängendes, dünnes Kahmhäutchen gebildet. Schon nach 14 Tagen hat sich die Bouillon ziemlich, aber nicht vollständig aufgehellt. Der erst weißgelb schleimige Bodensatz ist dann grob gekörnt, klumpig-flockig, fadenziehend, von bräunlicher Farbe. Reaktion immer alkalisch.

Lackmusmolke.

Nach 24 Stunden gleichmäßig hellrote Färbung; stark saure Reaktion schon nach 12 Stunden.

Sterilisierte Milch.

Nach 5—6 Tagen ist unter der 3—4 mm dicken Rahmschicht, nicht immer mit Sicherheit, eine 2—3 mm dicke Schicht milchig getrübtter Molke wahrzunehmen. Deutliche Gerinnung ist nicht zu konstatieren. Reaktion schon nach 12—24 Stunden stark sauer.

c) Gärproben.

1-proz. Maltose, Laktose, Saccharose, Dextrose.

Bouillon gleichmäßig stark getrübt; im Knie grieselig-flockiger Glasrandniederschlag (dünner moos- oder schleierartiger Belag) im langen Schenkel bis zur Höhe der Kugelbasis reichend. In Maltose und Dextrose etwa $\frac{1}{3}$ der Höhe des langen Schenkels vergärt, weniger in Laktose und Saccharose. Reaktion sauer.

d) Indolprobe.

Negativ.

CB. dasselbe wie CA.

CC.

a) Feste Nährböden.

Schräger Agar.

Dasselbe wie CC.

Agarstich.

Dasselbe wie CA.

Etwas besseres Wachstum im Stich.

Agarplatte.

Dasselbe wie CA.

Wächst auf Drigalski-Agar schön blau.

Blutagarplatte.

Ganze Platte, soweit nicht von der Kultur eingenommen, vollständig aufgehell; bei durchfallendem Licht entlang dem Strich stechnadelstich breiter, dunkelgrauer, fluoreszierender Belag, grauweiße breite Randzone mit rötlichem Schimmer, deutlicher, etwa 5—6 mm breiter, leicht violetter Hof.

Gelatinewachstum: Dasselbe wie CA. Kartoffel.

Nach 24—36 Stunden lose zusammenhängendes, etwas bröckeliges Häutchen (ganz trocken und mürbe auf Glyz.-Kart.), das sich in ca. 8 Tagen braun verfärbt, in 14 Tagen bis 3 Wochen Schokoladenfarbe annimmt.

b) Flüssige Nährböden.**Bouillon.**

Diffuse, sehr starke Trübung der Bouillon, schon nach 12 Stunden Kahmhäutchen. Reaktion alkalisch.

Lackmusmolke.

Nach 24 Stunden schön bläuliche Verfärbung, Kahmhäutchen. Reaktion amphoter.

Sterilisierte Milch.

Keine Spur einer Koagulation. Reaktion leicht alkalisch.

c) Gärprobe.**Maltose, Laktose, Dextrose, Saccharose.**

Sehr starke, diffuse Trübung der Bouillon; Kahmbaut; auch im langen Schenkel zartes, an Moos erinnerndes Glasrandwachstum; in Maltose etwa die Hälfte, Dextrose $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{4}$, Laktose $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{6}$, Saccharose noch etwas weniger vergärt. Reaktion alkalisch nach 48 Stunden.

Indolprobe.

Positiv.

CD.**a) Feste Nährböden.**

Agarplatte: Oberflächlich: Stechnadelstich- bis stechnadelkopfgroße, bei auffallendem Licht gelbweiße, bei durchfallendem Licht bläulich schimmernde Kolonien mit scharfem Rand, während mehr isolierte, bis zu Linsengröße ausgewachsene Kolonien in der Regel geschlossenen, aber gebuchteten Rand aufweisen; in der Tiefe rundliche bis Wetzsteinformen. Bei schwacher Vergrößerung gelblich-braune, peripherwärts hellere, ganz fein granuliert, fast homogene runde Scheiben.

Schräger Agar: Bei durchfallendem Licht intensiv bläulich schimmernde, bei auffallendem fast farblose, meist aus feuchtglänzenden, schleimigen Punkten zusammengesetzte Auflagerung. Kondenswasser leicht gelb, dürrtiger, schleimiger, anfänglich gelbweißer, später bräunlicher Bodensatz.

Agarstich: Entlang dem Stichkanal gut gewachsenes Bändchen von grauweißer Farbe mit deutlich konturierten, leicht gezähnelten Rändern; auf der Oberfläche nach 48 Stunden meist ein dünnes, homogenes, bläulich bis gelblich-weißes Häutchen.

Blutagarplatte: Uppiges, fast kleinfingerbreites, weißschleimiges Wachstum ohne Besonderheiten.

Kartoffel: Wachstum zweifelhaft, besteht wahrscheinlich nicht.

Gelatineplatte: Oberflächlich: Meist stechnadelstichgroße, weißgelbe, ganz leicht bläulich irisierenden Schimmer zeigende, rundliche, in der Tiefe punktförmige Kolonien; nicht ganz glattrandige Scheiben, gelblich und fein granuliert, so erscheinen sie bei schwacher Vergrößerung.

Schräge Gelatine: Entlang der Strichfläche sehr dünnes, blaugraues, aus feinsten Pünktchen zusammengesetztes Band, erst nach 48 Stunden in die Erscheinung tretend.

Gelatinestich: Auf der Oberfläche weißliche, ziemlich üppige, trocken-schleimige Auflagerung mit wellig tief eingeschnittenen Rändern, die von einem zarten Saum umfaßt sind. Im Stich wächst ein fein gekörnter Faden mit federbartähnlichen, den Stich nach allen Seiten umgebenden feinen Ausläufern; unterhalb der Oberfläche sammeln sich diese Ausläufer zu dichten Büscheln, die in nach abwärts gebogenem Verlauf die ganze Dicke des Nährbodens durchsetzen; zuweilen werden auch im oberen Drittel seitliche, wie Baumäste abstehende Schleifen ausgeschickt.

b) Flüssige Nährböden:

Bouillon: Nach 12 Stunden gleichmäßig diffuse, aber nicht so starke Trübung; beim Aufschütteln dicke, blaue Nebelwolken; Reaktion alkalisch; penetranter Schwefelwasserstoffgeruch besonders in Cibils-Bouillon.

Lackmusmolke: Nach 24 Stunden ganz minimale Rötung; weinrot mit einem Stich ins Violette. Reaktion amphoter bzw. neutral.

Sterilisierte Milch: Keine Spur von Gerinnung; Reaktion leicht alkalisch.

c) Gärproben:

Bouillon gleichmäßig getrübt, beim Aufschütteln dünne blaue Nebel. Kein Randwachstum. Dextrose $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{16}$, Laktose $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{16}$, Maltose $\frac{1}{8}$, Saccharose eine Spur vergärt. Reaktion nach 24 Stunden sauer, nach 48 Stunden alkalisch.

d) Indolprobe:

Positiv.

CE. (Roupbacillus).

a) Feste Nährböden.

Agarplatte: Oberflächlich: Bei durchfallendem Licht bläulich, mit einem leichten Stich ins Grünliche; bei auffallendem graugelblich bis weißgelblich erscheinende, meist, aber nicht immer, kreisrunde, ca. stecknadelkopfgröße, schleimige Zentren, in ein bei durchfallendem Licht graublaues bis tiefblaues, dünnes Häutchen eingebettet, das eine unregelmäßig polygonale Form aufweist und meist ziemlich tief gebuchteten Rand zeigt; zuweilen gehen die Einkerbungen so weit dem schleimigen Mittelpunkt zu, daß das ganze Gebilde flechtenartiges Aussehen bekommt. Die ganze Kolonie ist nach 2–3 Tagen linsen- bis bohnen groß. Das umgebende Häutchen hat etwa den 5-fachen Durchmesser des schleimigen Zentrums.

Wächst auf der Drigalski-Platte schön blau.

Bei schwacher Vergrößerung erscheint die Kolonie homogen, höchstens ganz fein granuliert.

Schräger Agar: Nach 48 Stunden die ganze Oberfläche des Nährbodens einnehmendes, bei auffallendem Licht graugelbes, bei durchfallendem graublaues, matt glänzendes Häutchen, Kondenswasser grau getrübt, Spuren von sandigem Bodensatz.

Agarstich: Entlang dem Stichkanal feines, ziemlich homogen erscheinendes Fädchen oder Bändchen, auf der Oberfläche nach 48 Stunden dünner grauer Ueberzug.

Blutagarplatte: Entlang dem Impfstrich etwa zündholzbreiter, in Regenbogenfarben schimmernder Belag; dann folgt auf einen dünnen Saum zu beiden Seiten eine etwa $\frac{1}{2}$ mal so breite, rosaröthliche, auch etwas fluoreszierende Randzone bei auffallendem Licht; bei durchfallendem Licht erscheint inmitten eines karmoisin- bis weinroten Gürtels ein blaues Band. Die Kultur ist umsäumt von einem 5–6 mm breiten, sehr deutlichen, farblosen, hellen Hof.

Kartoffel: Nach 2 Tagen mitteldicker, leicht schleimiger und feucht glänzender glatter grauer Ueberzug über die ganze Kartoffel.

Gelatineplatte: Mattglänzende, weißgrau gelbliche, unregelmäßig rundlich bis polygonal auswachsende, bald in Dellen der Gelatine schließlich bis auf den Boden der Platte einsinkende Kolonien; bei schwacher Vergrößerung: Ganz fein granuliert (oft nicht wahrzunehmen) peripherwärts heller werdend, sind sie zuweilen radiär gestreift.

Schräge Gelatine: Nach 48 Stunden graues, dünnes, glänzendes Häutchen, unter dem sich die Gelatine rasch kraterförmig rinnig verflüssigt; über die Vertiefung abfließend, senkt sich die Oberflächenschicht mit der Kultur, einen dickflüssigen trüben Bodensatz bildend.

Gelatinestich: Nach 48 Stunden im Stichkanal ein feines graues Bändchen, in dessen unmittelbarer Umgebung die Gelatine etwas später langsam einzuschmelzen beginnt. In erster Linie betrifft diese Verflüssigung, hier allmählich die ganze Breite des Nährbodens in ihren Bereich einziehend, die oberste durch einen glatten dünnen Ueberzug begrenzte Gelatineschicht. Die durch einen grauen Bodensatz gegen den festen Nährboden abgegrenzte Verflüssigungszone schreitet nun in zylindrischer Ausbreitung weiter, bis sie nach ca. 3 Wochen, $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ des Nährbodens fest lassend, Halt macht.

b) Flüssige Nährböden.

Bouillon: Schon nach 24 Stunden gleichmäßig diffuse, starke Trübung und penetranter süßlicher Geruch der Bouillon; leichter graubrauner Bodensatz; nach einigen Tagen erstet ein Kahmhäutchen, das leicht brüchig wird, so daß nur Teile desselben gewöhnlich gesehen werden. Oft bleibt es auch bei einem Ansatz zu Häutchenbildung. Reaktion alkalisch.

Lackmusmolke: Nach 24 Stunden dunkelvioletten Verfärbung; Kahmhäutchen; Reaktion amphoter.

Sterilisierte Milch: Nach 36 Stunden Ansatz zu Gerinnung, nach 4–5 Tagen ist die Milch klumpig geronnen; nach 5–6 Tagen ist etwa $\frac{1}{6}$ der Höhe des Nährbodens von trübem, graugelblichem Serum eingenommen; nach 3–4 Wochen ist

das Ganze eine graugelbliche, dickflüssige Masse mit grauweißem Bodensatz und von stinkendem Geruch. Reaktion deutlich alkalisch.

Gärproben: Diffuse starke Trübung der Bouillon, fluoreszierendes Kahlhäutchen, flockiger Bodensatz. Keine Gasbildung in Saccharose, Laktose und Maltose, $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$, vergärt in Dextrin, hier Reaktion sauer.

Indolprobe: Negativ.

CF Streptococcus.

a) Feste Nährböden.

Agarplatte: Oberflächlich: Meist stecknadelstichgroße, selten etwas größere dünn-schleimige Kolonien, bei durchfallendem Lichte leicht bläulich schimmernd, mit zusammenhängendem, zuweilen leicht gewelltem Rand; in der Tiefe Wetzsteinformen, bei schwacher Vergrößerung: Ganz leicht granuliert.

Schräger Agar: Dünnes, meist wellig gerandetes, gelbweißes, bei durchfallendem Lichte bläulich-gelbes, zuweilen etwas krümelig erscheinendes Häutchen. Kondenswasser fast klar, wenig weißlicher Bodensatz.

Agarstich: Entlang dem Stichkanal mittelmäßiges faden- oder schleierförmiges Wachstum. Nach ca. 8 Tagen öfters um den Strich herum Gruppierung kleinster Kügelchen oder Körnchen; auf der Oberfläche ein dünnes, zartes, fast farbloses, zuweilen die ganze Breite des Nährbodens einnehmendes, öfters aber auch mit welligen Rändern endigendes Häutchen.

Blutagarplatte: Nicht gerade üppiges, aber saftiges Wachstum; Farbe gelb, bei durchfallendem Lichte rötlich-braun mit leichtem Irisglanz. Den Abschluß bildet ein 2—3 mm dicker, deutlicher Hof.

Schräge Gelatine: Nach 48 Stunden dünner, grauweiß, auf die Ausstrichfläche beschränkter, schleierartiger Belag.

Gelatinestich: Ähnlich nur langsamer wie im Agarstich.

Kartoffel: Dünnes, trockenes, membranöses Wachstum.

b) Flüssige Nährböden.

Bouillon: Nach 24 Stunden diffuse Trübung und Bodensatz.

Lackmusmolke: Keine deutliche Farbenveränderung; Reaktion amphoter, späterhin Säuerung ganz leicht vorwiegend.

Sterilisierte Milch: Keine Gerinnung; Reaktion amphoter, bisweilen Anflug von Säuerung.

Gärproben: Gleichmäßig diffuse Trübung der Bouillon.

Indolprobe: Negativ.

CG Pyocyanus.

a) Feste Nährböden.

Agarplatte: Ganze Platte zeigt schon nach 24, intensiver noch nach 48 Stunden hellgrüne Färbung; oberflächlich: Unregelmäßig runde, in der Größe sehr variierende, dicke, saftig-glänzende, grünliche bis grünlich-gelbe Kolonien; in der Tiefe meist gelbliche Wetzsteinformen. Bei schwacher Vergrößerung: Nicht ganz deutlich konturierte grüngelbe Scheiben, teils mehr grobkörnig, wie aus Eiern zusammengesetzt, teils feiner granuliert.

Schräger Agar: Saftig-schmieriger, üppiger, nach 24—48 Stunden die ganze Oberfläche des Agars einnehmender, gelbgrüner, später gelbgrauer Belag; Kondenswasser fast klar, leicht gelbgrün getrübt; weißlicher Bodensatz, der Agar selbst fluoresziert tiefblaugrün.

Agarstich: Entlang dem Stichkanal leicht gekörnter, an sich farbloser Faden. Der umgebende Agar zeigt Farbnuancen von hellem Grüngelb bis zu tiefem Blaugrün. Der Nagelkopf hat sich meistens schon im Brutschrank als grünlich-grauer schmieriger Belag über die ganze Agaroberfläche ausgebreitet.

Blutagarplatte: Weißgrünliches, breites, üppig schleimiges Wachstum; schmaler Hof deutlicher nach 36 Stunden.

Kartoffel: Auf gewöhnlicher Kartoffel nach 24 Stunden gelbgrauer, schleimiger Belag, der in 5—6 Tagen vollständig nachgedunkelt ist, mit rotbrauner Demarkationslinie, Kondenswasser schmutzig-gelbgrün; auf Glycerinkartoffel: Grüner dickschleimiger Belag, nach 8—10 Tagen hat sich der Kartoffelschnitt in allen seinen Flächen ganz dunkelgrün verfärbt, Bodenflüssigkeit hellgrün.

Gelatineplatte: Ganze Platte zeigt intensiv grünen Schimmer. Oberflächliche Kolonien erscheinen anfangs rundlich, leicht gesäumt; präsentieren sich aber bald in Dellen der Gelatine eingesunken als krümeliger Bodensatz in einem schmutzig-graugrünen Sumpf. In der Tiefe sind rundliche bis wetzsteinförmige gelbweiße Kolonien zu finden. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen gelbliche, zart gra-

nulierte, rundlich-glattrandige, zuweilen aber auch etwas lappige oder mit feinen Härchen besetzte, in der Randzone meist hellere Kolonien.

Schräge Gelatine: Rasch rinnenförmig weiterschreitende Verflüssigung.

Gelatinestich: Entlang dem Stichkanal gelbgrüner bröckeliger Faden; schon nach wenigen Tagen tritt im oberen Teil des Nährbodens rasch zylinderförmig nach abwärts fortschreitende Verflüssigung ein. Die verflüssigte Gelatine ist blaugrün verfärbt.

b) Flüssige Nährböden.

Bouillon: Nach 12 Stunden leicht grüne Fluoreszenz der Bouillon; unter einem silberglänzenden starken Häutchen findet sich ein dunkelgrüner Ring, der nach unten fortschreitet, wenig krümeliger Bodensatz.

Lackmusmolke: Nach 12 Stunden tiefdunkelviolett; blaues schuppiges Kahmhäutchen, nach 48 Stunden tiefdunkelblauviolett, bei auffallendem Lichte schwarz erscheinend. Reaktion schwach alkalisch.

Sterilisierte Milch: Zeigt schon nach 24 Stunden Ansatz zu Gerinnung; das Koagulum verflüssigt sich allmählich wieder, die Verflüssigungszone fluoresziert gelbgrün. Reaktion alkalisch.

Gärproben: Bouillon im langen Schenkel klar; namentlich in der Kugel grüne Verfärbung und glasrandständiger, moosartiger, gelbweißer Belag; keine Vergärung.

Indolprobe: Negativ.

CH Geflügelcholera.

a) Feste Nährböden.

Agarplatte: Meist regelmäßig runde, stecknadelstich- bis stecknadelkopfgröße, dünnschleimige, bei durchfallendem Lichte bläulich schimmernde Oberflächenkolonien, tiefe: Unregelmäßig rund bis wetzsteinförmig. Bei schwacher Vergrößerung: Beide Gruppen sehr fein granuliert.

Schräger Agar: Sehr zartblauer, aus teils bandartig zusammenhängenden Pünktchen, teils stecknadelstichgroßen Einzelkolonien bestehender, feuchtglänzender, dünnschleimiger Belag; Kondenswasser fast ganz klar, dünnflockiger graubrauner Bodensatz.

Agarstich: Entlang dem Stichkanal sehr zartes, dünnes, öfter durchbrochenes Bändchen oder Fädchen, nach 48 Stunden auf der ganzen Agaroberfläche gelblich-weißes Häutchen.

Blutagarplatte: Dickschleimiger, grauer, bei durchfallendem Lichte graubrauner Belag; kein Hof.

Gelatineplatte: Bei langsamerem Wachstum ähnlich wie auf der Agarplatte.

Schräge Gelatine: Nach 48 Stunden dünne, hauchartige, fast farblose Strichfläche.

Gelatinestich: Entlang dem Stichkanal dünnes, fast farbloses, homogenes Bändchen; nach 48 Stunden auf der Oberfläche weißgrauer bis blaugrauer hauchartiger Ueberzug.

b) Flüssige Nährböden.

Bouillon: Nach 24 Stunden gleichmäßig diffuse, schwache Trübung; beim Aufschütteln dünne, wolkige Nebel.

Lackmusmolke: Keine deutliche Farbenveränderung, Reaktion ganz schwach sauer.

Sterilisierte Milch: Milch nicht koaguliert, leicht alkalisch.

Gärproben: Beim Aufschütteln dünne Wölken in der Bouillon, zartes glasrandständiges Wachstum, Spuren von Säure, keine Vergärung.

Indolprobe: Positiv.

CJ Rotlauf.

a) Feste Nährböden.

Agarplatte: Feine, kleine, weißliche bis grauweißliche, wenig prominente, punktförmige, in der Tiefe kaum sichtbare, wetzsteinförmige Kolonien. Bei schwacher Vergrößerung: Grau-hellgelblich, strukturlos, zum Teil fein granuliert.

Schräger Agar: Sehr zarter, aus feinsten, bei durchfallendem Licht leicht bläulich schimmernden Punkten zusammengesetzter Belag, Kondenswasser klar, dürftiger Bodensatz.

Agarstich: Entlang dem Stichkanal ganz fein behaarter Faden, im oberen Drittel zuweilen wolkenartige Schleifen aussendend. Nagelkopf fein, farblos, dürftig.

Blutagarplatte: Erst nach 48 Stunden mühsam sichtbares Wachstum feinsten Einzelpünktchen.

Gelatineplatte: Die oberflächlichen Kolonien klein, unregelmäßig geformt, heben sich gut ab, sind mit seltenen, ungleich langen Ausläufern ausgestattet. Bei schwacher Vergrößerung grob gekörnt.

Schräge Gelatine: Feinste, farblose, kaum von der Umgebung sich abhebende Pünktchen.

Gelatinestich: Meistens typische Gläserbürsten- oder Tannenbaumform, auch einzelne zarte Schleifen oder Wölkchen, im oberen Drittel des Stichkanals ausgehend, finden sich vor.

Kartoffel: Wachstum nicht mit Sicherheit zu konstatieren.

b) Flüssige Nährböden.

Bouillon: Nach 24 Stunden schwache Trübung, sehr geringer Bodensatz, beim Aufschütteln blaue schleierartige Wolken.

Lackmusmolke: Nach 24 Stunden wenig sichtliche Rötung, schwach saure Reaktion.

Sterilisierte Milch: Milch nicht koaguliert, bleibt alkalisch.

Gärproben: Bouillon wenig getrübt, samtartiger Glasrandniederschlag. Keine Vergärung oder Säuerung.

Indolprobe: Negativ.

CK.

a) Feste Nährböden.

Agarplatte: Makroskopisch erst nach dem 3. Tag, und auch da nur schwer sichtbare feinste, weiße, vorzüglich in der Tiefe sitzende Pünktchen. Bei schwacher Vergrößerung: unregelmäßig schollige, an der Peripherie sich leicht lockig auflösende, kleine dunkle Flecken.

Schräger Agar: Feiner, aber dichter, punktiert tautropfenähnlicher, durchscheinender Belag. Kondenswasser nicht getrübt, geringer krümelig-grauer Bodensatz, löst sich beim Aufschütteln in winzige Flöckchen auf.

Agarstich: Entlang dem Stichkanal unregelmäßig angeordnetes, aus feinen weißen, später bräunlichen Kügelchen zusammengesetztes Band, Nagelkopf weißlich, dünn-schleimig, linsengroß.

Blutagarplatte: Weißgelber, schleierartiger Belag von dünn- und trockenschleimiger Konsistenz, meist aus stecknadelstichgroßen, regelmäßig rundlichen Kolonien zusammengesetzt.

Gelatineplatte: Sehr schlechtes Wachstum, nach ca. 10 Tagen sind feinste, farblose, über die Oberfläche nicht erhabene Punkte zu sehen, die bei schwacher Vergrößerung homogen, strukturlos erscheinen.

Schräge Gelatine: Nach 5—6 Tagen kaum sichtbares, trockenes, zartestes Pünktchenwachstum.

Gelatinestich: Nach derselben Zeit farbloses, später granuliert erscheinendes Bändchen; an der Einstichstelle stecknadelkopfgroßer, weißgelber Belag.

b) Flüssige Nährböden.

Bouillon: Ganz leichte Trübung der Bouillon, nach 2—3 Tagen Spuren von Bodensatz, der späterhin klümprig wird. Ringbildung.

Lackmusmolke: Keine Farbveränderung nachzuweisen; Reaktion amphoter.

Sterilisierte Milch: Milch nicht koaguliert, bleibt alkalisch.

Gärproben: Feines glasrandständiges Wachstum auch im langen Schenkel bis zu $\frac{1}{2}$, dessen Höhe; Bouillon sonst fast klar, nur beim Aufschütteln zarteste Flöckchen im Knie. Keine Vergärung oder Säuerung.

Indolprobe: Negativ.

CL.

a) Feste Nährböden.

Agarplatte: Oberflächlich: stecknadelstichgroße, weißgelbe Punkte. Bei schwacher Vergrößerung: runde, ganz leicht gelappte Scheiben von folgender Zusammensetzung: dunkle, exzentrische, innerste Zone, wie eine Haube darüberhergestülpt braune, aus eiförmigen Gebilden zusammengesetzte Mittelschicht, etwa ebenso breite, schollige, hellere, rundliche, periphere Schicht; die tiefen Kolonien sind wetzsteinförmig, schollig.

Schräger Agar: Hirsekorngroße, glashelle, bei auffallendem und durchfallendem Licht glanzlose, dicht gesäte Pünktchen; Kondenswasser klar, sehr dürtiger fleischbrüpflockenähnlicher Bodensatz.

Agarstich: Entlang dem Stichkanal dünnes, durchscheinendes, schleierartiges Fädchen: Nagelkopf haufkorngroß, hauchartig, weißlich.

Blutagarplatte: Sehr dünner, schleimartiger trockener Belag.

Gelatineplatte: Aehnlich wie auf der Agarplatte.

Schräge Gelatine: Nach 3—4 Tagen feinsten, fast glasheller Pünktchenbelag in spärlicher Ausdehnung.

Gelatinestich: Nach 3 Tagen entlang dem Stichkanal dünner Faden aus glänzenden weißen Kügelchen erstellt; vom 4. Tage ab ca. linsengroßer, weißlicher trocken-schleimiger Nagelkopf.

b) Flüssige Nährböden.

Bouillon: Diffuse schwache Trübung der Bouillon, die sich späterhin aufklärt; Ringbildung, wenig Bodensatz; beim Aufschütteln dünne Nebel.
Lackmusmolke: Keine Farbveränderung; Reaktion amphoter.
Sterilisierte Milch: Keine Gerinnung oder Säuerung.
Gärproben: Bouillon kaum getrübt, sehr feiner zarter Glasrandrasen; keine Vergärung oder Säuerung.
Indolprobe: Negativ.

Um die Möglichkeit eines Vergleichs zu erleichtern, gebe ich beifolgend eine kurze Tabelle der mit Geflügeldiphtherie in Beziehung gebrachten Bakterien.

	Guérin	Loeffler	Müller	Streit	Hausser
Form	Coccobacillus	colilähnliches Stäbchen	Stäbchen von sehr verschiedener Länge	Stäbchen $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{4}$ μ lang $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ μ dick	colilähnliches Stäbchen
Grambild	gramnegativ	gramnegativ	grampositiv	gramnegativ	gramnegativ
Bewegung	beweglich	unbeweglich	unbeweglich	lebhaft beweglich	beweglich
Wachstum auf Agar	spärlich	gut	nur auf Blutagar	gut	gut
Wachstum in Bouillon	spärlich, geringe Trübung	gut, starke Trübung	sehr spärlich, minimale Trübung	gut, starke Trübung	gut, starke Trübung
Wachstum in Gelatine	nicht verflüssigt	nicht verflüssigt	verflüssigt	verflüssigt	nicht verflüssigt
Wachstum in Kartoffel	kein Wachstum	kein Wachstum	kein Wachstum	mäßiger Belag	dicker Belag
Wachstum in Milch	keine Gerinnung	keine Gerinnung	Gerinnung am 3. Tag	Gerinnung am 4. Tag	keine deutl. Gerinnung
Pathogenität	Ein Tropfen der vollvirulenten Kultur tötet weiße Mäuse in 24 Stunden (subkutan)	1 Oese Agarkultur tötet weiße Mäuse unter Bildung nekrotischer Leberherde in 5—7 Tagen (subkutan)	ruft bei weißen Mäusen Nekrose an der Impfstelle hervor (subkutan)	$\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{4}$ ccm der Bouillonkultur tötet weiße Mäuse in 12 bis 18 Stunden (subkutan)	1 Oese Agarkultur tötet weiße Mäuse in spätestens 18—24 Stunden (bei vollvirulenter Kultur, subkutan)

Anlage B.

Ausführung der Ansteckungsversuche mit Reinkulturen.

Gruppe I.

Für Hühner und Tauben nicht pathogene, anscheinend ohne markante Lokalsymptome ertragene Bakterien.

Erklärung zu den Formeln: An der Spitze steht das Datum der Impfung; F. = Fußnummer des Impfhuhns, (weiß = Farbe der Fußnummer) ← = geimpft aus K(kultur), M von H(uhn) 5 $\frac{1}{4}$ (ccm). Gb. = Gaumenbelag. Cb. = Conjunctivalbelag, Brb. = Brustbelag. Ein beigefügtes Ms. bedeutet, daß die Kultur direkt vor der Impfung durch eine weiße Maus durchgeleitet wurde.

CM.

I. je 2 mal: 18. Juni F. 15 (weiß) ← CM. $\frac{1}{4}$ H. 5 Gb. in Maul u. r. Nase. Kleiner weißer Hahn, etwas schwächlich:

II. je 2 mal: 18. Juni F. 30 ← CM. $\frac{1}{4}$ H. 34: Cb. in Os u. Palpebra sup. sin.

Rotweißer kleiner, munterer Hahn. Die Impfungen verliefen genau wie mit steriler Bouillon, deshalb hier nichts Näheres.

CL.

I. 18. Juni 07 F. 23 (weiß) CL. $\frac{1}{4}$ H. 6 Cb.: in Maul u. Nase.

Mittelkräftiges schwarzes Huhn mit Haube. 19. Juni kein Ausfluß aus der Nase. auf der Maulschleimhaut dünnes weißes Fleckchen. 22. Juni. Das Fleckchen, das sich gleich geblieben ist, deckte einen kaum linsengroßen, leicht blutenden Schleimhautdefekt. 24. Juni an der ersten Stelle fast nichts mehr zu sehen, dagegen wird jetzt am Gaumen etwa fingerbreit dahinter eine etwas über linsengroße rundliche, dünne gelbe Membran wahrgenommen; wird ebenfalls abgezogen, eine leicht erodierte Stelle hinterlassend. 26. Juni fast nichts mehr zu sehen. 29. Juni Infektionsversuch mit $\frac{1}{2}$ ccm wiederholt; aus der Nase etwas wasserhelles Sekret beobachtet bis 6. Juli. Am 10. Juli gar nichts mehr zu sehen.

II. 18. Juni 07: F. 24 ← CL. $\frac{1}{4}$ H. 30 Gb. in Os u. Palpebra infer. d.

Kleiner, grauer, munterer Hahn. 22. Juni leichte Conjunctivitis; die r. untere Bindehaut ist etwas geschwollen, im Maul eine kleine, blaurot angelaufene ödematöse Stelle. 24. Juni im Maul fast nichts mehr zu sehen, die Conjunctiva des r. Auges ist noch etwas geschwollen und stärker durchsaffet. 29. Juni keine augenfälligen Erscheinungen mehr. Wiederholung mit $\frac{1}{2}$ ccm Kultur: Es treten wieder auf seröse Conjunctivitis und Rhinitis, von denen bis zum 10. Juli keine Spur mehr zu beobachten ist.

CK.

I. 18. Juni 07: F. 26 ← CK. $\frac{1}{4}$ H. 8 (Unterzungenbelag) Ms.: in Nase u. Maul.

Rotgescheckter starker Hahn: 22. Juni etwas vertrocknetes Sekret an der Nasenöffnung, eine schmutzig grauweiße, dünne Lamelle neben der Zunge am Maulwinkel. 24. Juni. Der kleine Belag an der Zunge wird abgehoben; durch Druck auf den Nasenrücken ein Tropfen wässrigen Sekrets. 26. Juni Belag nicht mehr gekommen, nur noch verschwollene, verfärbte Schleimhautpartie. Spuren von Sekret vorhanden auch am 29. Juni noch, wo eine 2. Impfung mit $\frac{1}{2}$ ccm Kultur vorgenommen wird, diesmal auch in das l. obere Augenlid. 2. Juli l. oberes Augenlid mäßig geschwollen, am inneren Augenlid tropft häufig etwas trübes, wässriges Sekret ab; durch Druck auf die Nase ein Tropfen auszupressen; Belag nicht zu sehen. 5. Juli Sekretion eher etwas vermehrt; am 10. Juli nur noch eine kleine feuchte Schwellung am Augenlid. 15. Juli alles frei.

II. 18. Juni 07 F. 29 ← CK. $\frac{1}{4}$ H. 21 Gb. in Maul u. Nase.

Mittelstarker rotbrauner Hahn. 22. Juni wenig leicht getrübbtes Sekret aus Nase l.; an der Einstichstelle im Maul nicht ganz linsengroßes graugelbes Fleckchen. 24. Juni von diesem nur noch ein Stippchen zu sehen, 3—4 ebensolche finden sich an der korrespondierenden Stelle im Gaumen. 26. Juni an der Einstichstelle nichts mehr, aus Nasenhöhle etwas Sekret, durch Druck vermehrt, in der Gaumenspalte wenig glasiger Schleim. 29. Juni. Noch etwas Sekret; an Stelle der Stippchen linsengroßer Belag, nach dessen Entfernung eine leicht blutende Erosion zutage tritt. (Aussaaten des zerriebenen Belags auf Agarplatten zeigen das eingebrachte Stäbchen in ziemlich großer Anzahl. 2. Juli Membran wieder gebildet, 5. Juli spontan abgestoßen, kein Sekret mehr. 2. Juli Infektionsversuch. 6. Juli mit $\frac{1}{2}$ ccm Kultur in Os und Palpebr. sup. s. 8. Juli kleine vermehrt warme Schwellung des Augenlids mit etwas Tränenfluß; auf der geschabten Maulschleimhaut nur ein kleines, weißes Streifchen, das am 10. Juli verschwunden ist. Allgemeinbefinden war nie gestört.

Ebenfalls am 6. Juli wird eine Taube F. 39 mit derselben Kultur geimpft und zwar so, daß die Maulschleimhaut etwas skarifiziert und dann mit Kultur getränkte Wattebäuschchen kräftig eingerieben werden. Am übernächsten Tag sind einzelne gelbe, rundliche, prominente Fleckchen in rotgrauer geschwollener Schleimhaut zu sehen, die am 9. Juli noch etwas zugenommen haben. Während dieser Zeit wird wenig Futter und ziemlich viel Wasser aufgenommen, am 15. Juli war kein Fleckchen mehr zu sehen, katarrhalischer Ausfluß wurde nicht konstatiert. Allgemeinbefinden war nicht gestört. Ein 2. Infektionsversuch zeitig keine bemerkenswerten Erscheinungen.

CD.

16. Juli 07: F. 18 ← CD $\frac{1}{2}$, H. 11 Gb. Ms. in Nase, Maul u. Augenlid.
 16. Juli 07: F. 27 ← CD $\frac{1}{2}$, H. 25 Gb. Ms. in Nase, Maul u. Augenlid.
 2 gesunde kräftige, rotbraune Hühner: bei beiden treten geringgradige ödematöse Schwellungen sowie fleckige Streifungen auf. Eigentlich katarrhalische Erscheinungen waren nicht zu konstatieren. Futteraufnahme und Allgemeinbefinden war 2 Tage nach der Impfung etwas gestört, von da ab vollständig in Ordnung. 5. Aug. Wiederholung der Impfung: dieselben lokalen Reaktions-, keine Allgemeinerscheinungen. 15. Aug. gar nicht mehr von irgendeiner Störung zu sehen.

Kultur Müller.

Zur Verwendung gelangte eine im März 07 dem Institut gütigst übersandte, schon vorher, dann auch hier öfters umgestochene Reinkultur auf Blutagarstrich; ferner die von mir erwähnte, dem Müllerschen Stäbchen jedenfalls sehr nahe stehende, jedoch ohne deutliche Hofbildung wachsende Kolonie.

I. 18. Juni 07: F. 15 ← CM I $\frac{1}{4}$ RK. Ms. in Nase, Maul u. Augenlid.
 II. 18. Juni 07: F. 23 ← CM II $\frac{1}{4}$ Gb. in Nase, Maul u. Augenlid.

I. $\frac{1}{3}$ -jähr. kräftiger schwarzer Hahn: Allgemeinbefinden nicht gestört; l. oberes Augenlid etwas feucht und geschwollen; im Maul eine leicht ödematöse verfärbte Stelle. 22. Juni Allgemeinbefinden gut; an den lädierten Stellen noch geringgradige Schwellung. 28. Juni keine Lokalerscheinungen mehr. 29. Juni Infektionsversuch wiederholt, an der Einstichstelle im Maule ein kleinstes Fleckchen, das nach 3 Tagen abgestoßen wird.

II. ca. 1-jähr., mittelschweres, braunes Huhn: 20. Juni etwas serös-schleimiger Nasenausfluß. 24. Juni nur noch geringgradige Schwellung der lädierten Stellen, Ausfluß aus der Nase hat mehr schleimig-eitrige Konsistenz angenommen. 28. Juni Lokalerscheinungen verschwunden. Nasenausfluß zurückgegangen, jedoch noch nicht vollständig. 29. Juni Impfung wiederholt; keine Membranbildung, ca. 8 Tage lang besteht noch ein dünn-schleimiger, leicht gelblich gefärbter Nasenausfluß. Allgemeinbefinden war nie sichtlich gestört.

Taube F. 210: erhält $\frac{1}{4}$ ccm derselben Kultur wie I; eine markante Reaktion trat nicht ein.

Taube F. 213: 2. Juli Kultur Müller II $\frac{1}{4}$ ccm in Nase und Bindehaut. 4. Juli wenig schleimig-seröses Sekret in Nasen- und Bindehautschleimhaut zu sehen. Lidbindehaut etwas höher gerötet, durchsäftet und leicht geschwollen. Der seröse einseitige Nasenausfluß erhält sich einige Tage; am 12. Juli ist gar keine Spur mehr zu sehen.

Gruppe II.

Für Hühner und Tauben pathogene, keine Lokalaffektionen verursachende Bakterien.

CJ (Rotlauf).

2 der durch den Serumversuch an Mäusen als Rotlaufstämme erwiesenen, an Tauben noch nicht auf ihre Virulenz durchgeprüften Kulturen: I von H. 12 Gb., II von H. 36 Gb. verimpfte ich am 25. Juni je an eine Taube.

Taube F. 99 erhält 2 Oesen 24-stündige BK. von R I. subkutan, zeigt am 29. Juni hochgradige Störung des Allgemeinbefindens und geht ein. Gelatinestriche aus Herzblut und Leber zeigen das typische Gläserbürstenwachstum.

Taube F. 100 erhält $\frac{1}{4}$ ccm 24-stündige BK. von R II. submukös neben die Zunge, am 28. Juni früh tot aufgefunden. Derselbe bakteriologische Befund wie bei F. 99.

CH.

26. Juni 1907: F. 11 ← CH. $\frac{1}{8}$ H. 17 Gb. in Maul und Augenlid.
 Weißes, kräftiges, ca. 1 Jahr altes Huhn. 27. Juni an der lädierten Stelle ganz flache Auflagerung, Allgemeinbefinden hochgradig gestört, Lider wenig geschwollen, leichter Tränenfluß. 28. Juni Futter- und Wasseraufnahme gänzlich verweigert. 29. Juni †. Im Conjunctivalsekret wie im Herzblut bipolare plumpe Stäbchen.

13. Sept. 1907: Taube F. 93 CH. $\frac{1}{8}$ H. 42 (aus Maus gewonnen) in Maul und Nase.

14. Sept. Allgemeinbefinden nicht gestört, ganz wenig eingetrocknetes Sekret an der Nasenöffnung. 15. Sept. ganz dünner reifählicher Ueberzug am Maulwinkel; kein Ausfluß aus der Nase; Futteraufnahme sistiert, geht am gleichen Abend ein.

CC.

I. 27. Juli: F. 14 ← CC. $\frac{1}{4}$ H. 27 Cb. in Maul und Nase.

II. 27. Juli: Taube F. 168 ← CC. $\frac{1}{4}$ H. 27 Cb. in Maul und Nase.

1) Kleines rotes Huhn, zeigt am 28. Juli leichtes Unwohlsein, 29. Juli serös-schleimigen Nasenausfluß, dünnes Plättchen an der Impfstelle im Maul; bis zum 8. Aug. ist das Allgemeinbefinden zeitweilig etwas getrübt, am 10. Aug. keine Störung mehr.

2) Schwarzweisse, kräftige Taube am 28. Juli hochgradig krank, zeigt Schüttelfröste, am 29. Juli moribund, geht am Abend des gleichen Tages ein; Nasengänge mit gelbgrauer Flüssigkeit erfüllt, Lidbindehäute fleckig gerötet, geschwollen; Maulhöhle mit glasigem Schleim erfüllt; kein lokaler Belag; eingebrachte Bakterien finden sich überall in den Sekreten, auch in Herzblut und Leber.

III. 1. Aug.: Taube F. 107 ← CC. $\frac{1}{4}$ F. 168 in Nase und Augenlid.

IV. 1. Aug.: Taube F. 130 ← CC. $\frac{1}{4}$ F. 168 in Nase und Augenlid.

3) Weiße, ca. 1-jährige Taube: 5. Aug. rechte Nasenöffnung etwas dickflüssiges gelbes Sekret, auch aus linker dünner Schleim, linkes Augenlid geschwollen, serös-schleimige Sekretion. Maulhöhle mit reichlichen Schleimabsonderungen erfüllt, kein Belag. Atmung gewöhnlich bei etwas offen gehaltenem Schnabel, geht am 12. Aug. ein.

Sektion: Die im Leben gefundenen Erscheinungen. Eingebrachtes Stäbchen im Nasensekret, nicht im Herzblut.

4) Kräftige, graue, ca. 1-jährige Taube: Am 3. Aug. zeigt die hochgerötete Maulschleimhaut einen grauen Schleimüberzug; aus rechter Nasenöffnung tropft etwas zähflüssiger dünner Schleim auch aus der Gaumenspalte hängt meist ein schleimiger Faden herab. Allgemeinbefinden hochgradig gestört; profuser Durchfall, am 14. Aug. geht die Taube ein. Das Stäbchen ist in den schleimigeitrigen Exsudaten massenhaft zu finden.

17. Aug.: Taube F. 123: Große, blauschwarze, 2-jährige Briestaube erhält ebenfalls $\frac{1}{4}$ ccm der aus Taube F. 130 isolierten Kultur C. Die Impfstelle bleibt, abgesehen von leichter Schwellung, reaktionslos; Störungen im Allgemeinbefinden traten nie ein.

Gruppe III.

Mikroorganismen, die mehr oder weniger regelmäßig verschieden-gradige Reaktionsformen der betroffenen Teile bedingen, teilweise den Tod der geimpften Hühner und Tauben herbeizuführen imstande sind.

CF. Streptococcus.

12. Juli: F. 10 ← CF. $\frac{1}{4}$ M. 9 Ms.: in Maul, Nase und Lidbindehaut

Weißer, kleiner Hahn, etwas schwächlich. 14. Juli nur lokale Reaktion im Maul.

16. Juli, der lokale Belag wird ziemlich dick und gelb. 18. Juli, der Belag, der sehr fest in der Tiefe aufsitzt, läßt sich nicht abstreifen, nur mühsam, aber nicht vollständig ausgraben; es zeigt sich ein kraterförmig zerfressener, ca. $\frac{1}{4}$ cm tiefer Substanzverlust. 21. Juli wiederum fest auf-sitzender dicker gelber Belag. 26. Juli, Belag hat sich nach dem Maulwinkel zu noch etwas ausgedehnt; 2. Impfung: Einige Tage lang schleimig-eitriger Nasenkatarrh, von dem aber am 5. Aug. nichts mehr wahrzunehmen ist; von dem ursprünglichen Belag ist noch ein ca. erbsengroßes Stück vorhanden, am 10. Aug. gar keine Erscheinung mehr.

12. Juli: F. 7 ← CF. $\frac{1}{4}$ H. 32 IT. 11 in linke Nase und linke Lidbindehaut.

Mittelstarkes munteres perlhuhnfarbiges Huhn. 14. Juli, aus linker Nasenöffnung ein Tropfen serösen Sekretes, an der leicht verklebten, etwas geschwollenen Lidspalte sitzt eine gelbe eingetrocknete krümelige Kruste. 18. Juli, auch die linke Nasenöffnung hat sich durch eine Borke annähernd verschlossen, beim Entfernen derselben quillt ein Tropfen mißfarbigen gelben eitrigen Sekrets aus dem Nasengang. Die Conjunctiva des linken Auges ist stark geschwollen und mit graugelbem Schleim bedeckt. Diese Erscheinungen nehmen gegen den 25. Juli zu wesentlich an Intensität ab; hier wird eine 2. Impfung vorgenommen; es erhält sich ca. 10 Tage lang ein schleimig-eitriger Katarrh, der sich auf die rechte Nasenhöhle ausgedehnt hat; 10. Aug. keine Erscheinung mehr. Allgemeinbefinden war nie offensichtlich gestört.

20. Juli: Taube F. 193 ← CF. $\frac{1}{4}$ (isoliert aus Nasensekret des vorhergegangenen Huhnes F. 7): Nase und Maul.

Taube, 1 $\frac{1}{2}$ -jährig, grau, mit Häubchen: Schon am ersten Tag nach der Impfung reichlicher, schleimiger Nasenfluß, nach einigen Tagen gelbgrün verfärbt. 30. Juli ist nichts mehr zu sehen. An der Impfstelle bei der Zunge hat sich nur ein ganz kleines

Fleckchen gebildet, dagegen ist die ganze Umgegend sehr stark geschwollen, so daß der Schnabel immer leicht geöffnet wird. Die Zunge läßt sich kaum bewegen, Futter- und Getränkaufnahme sehr erschwert; auch diese Schwellung bis zum 5. Aug. vollständig verschwunden.;

CE. Roubacillus.

12. Juli: F. 12 ← CE. $\frac{1}{4}$ H. 28: in Maul kräftig eingerieben.

Fuchserotes mittelstarkes Huhn. 14. Juli an der lädierten Stelle Spur von Belag. 17. Juli Belag ganz wenig dicker geworden, in Maul- und Gaumenspalte eine ziemliche Menge glasigen fadenziehenden Schleimes. Allgemeinbefinden und Futteraufnahme nicht gestört. Nach Abnahme des Membranstückchens bleibt ein leicht blutendes Geschwür, das sich am 20. Juli wieder mit einem dünnen Ueberzug bedeckt hat; an diesem Tag erhält das Huhn noch $\frac{1}{3}$ ccm derselben durch eine Maus frisch durchgeleiteten Kultur in die leicht aufgekratzte Conjunctivalschleimhaut eingespritzt: es stellt sich ziemlich starke Schwellung, Lichtscheu und geringer, dünnschleimiger Tränenfluß ein. 25. Juli, Ueberzug abgestoßen, noch eine Spur von Sekretion. 30. Juli in Ordnung.

17. Juli: Taube F. 58 ← CE. $\frac{1}{4}$ H. 47 Gb.: in rechter Nase und Bindehaut.

19. Juli ganz wenig serös-schleimiges Conjunctivalsekret; durch Druck auf den Nasenrücken ein Tropfen gelblichen Schleimes. 23. Juli derartiges Sekret auch an der anderen Nasenöffnung und in der Gaumenspalte. Lidspalte verklebt, beim Öffnen quillt ein Tropfen grauen, zähen Sekrets hervor. 30. Juli rechte Augenlider noch etwas geschwollen, warm und feucht. 5. Aug. keine Spur mehr. Allgemeinbefinden war nie wesentlich gestört.

26. Juli: F. 19 ← CE. $\frac{1}{4}$ F. 58 (Conjunctivalsekret: Taube) in Maul und Nase.

Mittelschweres schwarzes Huhn, 1-jährig: 29. Juli. Wenig wässriges Sekret aus der rechten Nasenhöhle; seitlich am eingeriebenen Gaumen 3—4 graugelbe Stippchen, in der Gaumenspalte etwas glasiger Schleim. 3. Aug. Spuren von Sekret; an Stelle der Stippchen ein linsengroßer und ein doppelt linsengroßer insulärer Fleck, ein ebensolcher rechtsseitlich vom Kehlkopf. Freßlust wenig vermindert. 6. Aug. haben sich die abgenommenen vorderen Fleckchen teilweise wieder gebildet, am 8. Aug. spontan abgestoßen, auch keine Sekretion mehr. 9. Aug.: 2. Infektionsversuch mit $\frac{1}{2}$ ccm derselben Kultur: Darauf vermehrt warme Schwellung des Augenlides und etwas schleimiger Tränenfluß; an der geschabten Maulschleimhaut nur ein kleines weißes Streifenchen. 20. Aug.: Allgemeinbefinden gut, keine Lokalerscheinungen mehr.

CG. Pyocyaneus.

I. 23. Juni F. 2 ← CG. $\frac{1}{2}$ H. 18 Cb.: in os, palpetr. sup. dext. und in harten Gaumen eingespritzt und eingeschlossen.

Rotbraunes, starkes ca. $\frac{1}{2}$ -jähriges Huhn.

II. 23. Juni F. 22 (weiß) ← CG. $\frac{1}{2}$ H. 21 Gb.

Mittelschweres, weißes, 1-jähriges Huhn. 25. Juni. Bei beiden sind die Nasenöffnungen mit serösem Sekret befeuchtet, das in den folgenden Tagen, namentlich wenn es durch Druck auf den Nasenrücken ausgepreßt wird, gelblich getrübt erscheint. In der Gaumenspalte in großen Mengen ein zäher, trüber Schleim; Gaumen selbst blaurot verfarbt, geschwollen, auf Druck sehr schmerzhaft, mit minimalen croupösen Fleckchen besetzt. Die Hühner sind traurig und nehmen kein Futter auf. Bei beiden gehen bis zum 10. Juli die Erscheinungen vollständig zurück. Ein 2. am 11. Juli mit Kultur aus H. 41 vorgenommener Infektionsversuch zeitigt ähnliche Erscheinungen.

5. Juli F. 14 (weiß) CG. $\frac{1}{2}$ H. 41 Gb. Ms.: in Os und Palp. sup. s.

Weißes, ca. 2-jähriges, kräftiges Huhn. 6. Juli. Linke Augenlider verklebt, beim Öffnen ein Tropfen serösen Sekretes; über die lädierte Stelle in der Maulschleimhaut zeigt sich ein dünner, weißlicher Ueberzug. 9. Juli: Allgemeinbefinden etwas gestört, Lider des linken Auges heiß, schmerzhaft, verdickt, Lidspalte annähernd geschlossen, Umgebung benäßt durch helles Sekret; Membran dicker und gelb geworden. 11. Juli Futteraufnahme versagt. Kamm heiß, geschwollen, ebenso die ganze Kopfpattie am oberen Augenlid stark aufgetrieben; die mit eitrigem Sekret bedeckten Lider lassen sich nur gewaltsam auseinanderbringen. Der gelbe Belag hat sich dem Kehlkopf zu etwa um die Hälfte vergrößert. 15. Juli: Membran $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ cm dick, etwas Speichelfluß; Umgebung des Auges abgeschwollen, Lidspalte geöffnet. Entzündung der Conjunctivalschleimhaut hat etwas nachgelassen. Allgemeinbefinden immer noch deutlich gestört. 25. Juli: Allgemeinbefinden gut; an Lidbindehäuten nur noch leichte Verdickung, Maulbelag fast ganz abgestoßen, keine Neubildung. 28. Juli keine Krankheitssymptome mehr, 2. Impfung mit 1 ccm endet ebenfalls mit Genesung.

12. Juli F. 36 ← CG. 1,5 F. 14 (weiß) Conjunctivalsekret: in Nase, Gaumen, Bindehaut.

ca. 2-jähriges, sehr schweres, kräftiges, rehbraunes Huhn. 15. Juli. Entzündlich-ödematöse Erscheinungen in der Conjunctiva und am Gaumen; betroffene Partien und ihre Umgebung stark geschwollen, mit getrübbem Schleim, auch krustigen Auflagerungen bedeckt. 20. Juli. Allgemeinbefinden andauernd ziemlich gestört; reichlicher, gelbgrüner, beiderseitiger Naseneiter. Conjunctiva graurot, dick verschwollen, große Lichtscheu und schleimig-eiterige Tränensekretion. 23. Juli. Allgemeinbefinden gebessert; erhält deshalb noch $\frac{1}{2}$ ccm Kultur in den linken Brustfellsack eingespritzt. Daraufhin in den nächsten Tagen hochgradige Störung; der Schnabel wird meist leicht geöffnet gehalten, die Atmung geschieht angestrengt, oft keuchend. 29. Juli. Rechtes Augenlid verschlossen, am inneren Augenwinkel tropft wasserklares Sekret ab; beim Öffnen der Lidspalte tritt ein gelbgrüner, über die Cornea sich hinziehender Klumpen in die Erscheinung. 3. Aug. Kopfpattie in der Umgebung der geschlossenen und sehr stark entzündeten, halbkugelartig vorgewölbten Lider heiß, schmerzhaft, ödematös geschwollen, ebenso der cyanotische Kamm und Kehllappen. Kopf meist unter dem Flügel verborgen. Nach Entfernung des Belagpfropfes sind auf der Cornea ein Wölkchen und einige Flecken zu sehen. 25. Aug.: Tier hochgradig abgemagert, apathisch; Cornea grau getrübt, infolge narbiger Einziehungen höckerig, undurchsichtig; Bulbus hochgradig geschwunden. Das schwer atmende, mit dem Kopf in eine Ecke gedrückte Tier zeigt, vorwärts getrieben überall anstoßend, vollständige Erblindung; geht am 27. Aug. ein.

Sektion: Rechtes Auge in allen seinen Teilen mit grüngelbem Eiter durchsetzt. Im linken Brustfellsack sitzt in dessen ganzer Ausdehnung ein grüngelber fester Eiterherd, der die Lunge von den Rippenwandungen abgedrängt hält. In der linken Lunge sind 3—4 große, von einer nekrotischen, graugelben Randzone vom übrigen gelb hepatisierten Lungengewebe abgetrennte, mit grünlich-bröckeligem Eiter gefüllte Kavernen zu konstatieren. In allen diesen Exsudaten, nicht aber im Herzblut, findet sich der *Bac. pyocyaneus* sehr reichlich, jedoch nicht in Reinkultur.

30. Juli. Taube F. 111 ← CG. $\frac{1}{2}$ F. 36 (Augeneiter) in Nase und Palp. sin.

Schon am nächsten Tage Störung des Allgemeinbefindens. 2. Aug. kein Futter mehr aufgenommen, Auge geschlossen, Nasenausfluß. Am 3. Aug. †. Sektion: Beiderseitiger gelbgrüner, stinkender Nasenausfluß, erbsen- bis bohnen großer festweicher Belag derselben Farbe über dem linken Auge. *Pyocyaneus* hier und aus Herzblut zu isolieren.

5. Juli F. 31 ← CG. $\frac{1}{2}$ F. 111 (Naseneiter) in Maul und Nase.

Roter Hahn, groß, kräftig, $\frac{1}{2}$ -jährig. 6. Juli: Auf Maulschleimhaut dünner weißlicher Ueberzug. 8. Juli: Allgemeinbefinden etwas gestört; aus Nase ein Tropfen grüngelber Eiter auszupressen. Lidbindehäute geschwollen, mit serös-schleimigem, zuweilen am inneren Augenwinkel abtropfenden Sekret bedeckt; lokaler Belag im Schnabel. 10. Juli: Hahn schwach, steht zusammengekauert traurig in eine Ecke gedrückt, zeigt Lichtscheu und Atemnot. Beide Nasenöffnungen mit grüngelbem Sekret bedeckt. Umgebung des linken Auges sehr geschwollen, Lidspalte geschlossen, nach Öffnung tropft klares Sekret ab; über dem Augapfel sitzt eine ca. erbsengroße, weiße, feste Croupmasse. Conjunctiva und Umgebung des anderen Auges mit schleimig-eiterigen Absonderungen beschmiert, rechte Gaumenwand hervorgetrieben geschwollen, entlang der Gaumenspalte linsengroßer, gelber Belag; der zuvor im Maul entfernte Belag hat sich bis 12. Juli etwas größer und dicker neu gebildet. 14. Juli: Noch mehr hervorgetreten ist beiderseitiger, profuser eiteriger Nasenkatarrh, röchelnde Atmung bei immerfort geöffnetem Schnabel bedingend; in dem blauroten, übrigens welken Kamm sitzen 2 ca. erbsengroße, krustige Abszesse. † 15. Juli. *Pyocyaneus* überall in den Exsudaten, nicht im Herzblut.

CA. (und B.).

19. Juni F. 9 ← CB. $\frac{1}{2}$ H. 4 Bob. Hs.: in Maul.

2-jähriges, großes, schweres, schwarzes Huhn. 23. Juni $1\frac{1}{2}$ mm dicker, etwa bohnen großer Belag an der Einstichstelle, der ganze Unterkiefer ist sehr heiß, schmerzhaft und stark geschwollen. 1. Juli: Am Unterkiefer hinunter zieht sich ein etwa kastaniengroßer, festweicher, gut abgegrenzter Tumor. Nach Entfernung des Maulbelags läßt sich durch Druck auf die Geschwulst gelbgrüner, widerlich-süßlich stinkender Eiter in die Maulhöhle auspressen; der Maulhöhlenboden ist vorgewölbt, die Zunge fast unbeweglich, wird teilweise zu dem geöffneten Schnabel herausgehängt, die Atmung geschieht sehr angestrengt. Im allgemeinen ist das Tier ziemlich teilnahmslos; beim Anfassen wird es aggressiv und böseartig; am 10. Juli hat sich der Belag an seiner alten Stelle in der früheren Stärke wieder nachgebildet, der Abszeß hat sich eröffnet, an Stelle der äußeren Haut hat sich eine harte Kruste gebildet. Nach Abhebung der-

selben erweist sich der Maulhöhlenboden fast nur als durch narbiges Gewebe erstellt, infolgedessen Futteraufnahme fast unmöglich. Der Belag hat sich noch einmal gebildet. Nach ca. 2 Monaten von der Impfung ab ist Genesung eingetreten.

30. Mai 1907 F. 19 ← CA. $\frac{1}{4}$ H. 12 Gb.: Maul und Lidbindehaut.

Graues, ca. 1 Jahr altes, mittelschweres Huhn. 2. Juni: Die lädierte Conjunctivalschleimhaut ist geringgradig geschwollen, stärker durchsaftet und verdickt, ebenso die Backenschleimhaut, an der Impfstelle ein gelbweißes dünnes Fleckchen (wird entfernt). Allgemeinbefinden nicht gestört. 5. Juni: Die entzündlichen Erscheinungen an den infizierten Augenlidern sind wesentlich zurückgegangen, zu konstatieren ist nur noch eine leichte Verdickung, Maul frei. 10. Juni keine Spur von Erkrankung mehr.

5. Juni 1907 F. 11 ← CA. $\frac{1}{2}$ H. 3 Brb. in Maul und durch die Choanenspalte in die höheren Nasenpartieen.

5. Juni 1907 F. 4 ← CA. $\frac{1}{2}$ H. 8 Gb. in Maul und durch die Choanenspalte in die höheren Nasenpartieen.

2 ca. $\frac{1}{2}$ -jährige, kräftige, gesunde, rotbraune Hühner. 8. Juni: Allgemeinbefinden geringgradig gestört; kleine Schwellungen der Augenlider, mit wenig seröser Sekretion; die geimpften Nasenpartieen zeigen leicht gerötete und geschwollene Schleimhaut, die Gaumenspalte bei beiden mit zähem glasigem Schleim erfüllt; prominenter gelber Belag hat sich nirgends gebildet. Nach ca. 14 Tagen ist keine katarrhalische Erscheinung mehr zu sehen.

20. Juni 1907 CA. $\frac{1}{4}$ Impfhuhn Gb.: Maul, Nase, Lidbindehaut.

Graues, kräftiges Huhn mit Haube. 23. Juni: Allgemeinbefinden etwas gestört, Futteraufnahme unregelmäßig; serös-schleimige Conjunctivitis, die später schleimig-eitrig wird. Die Bindehaut weist einige stecknadelkopfgroße, croupöse Auflagerungen auf. Aus der mit Sekret beschmierten Nasenöffnung tropft zeitweilig etwas hellgraue süßlich riechende Flüssigkeit, auf der Mauschleimhaut 2 grau-gelbweiße Belagansätze, die sich leicht abheben lassen. 25. Juni: Beide Lidspalten durch Sekretkrusten verklebt, links serös-schleimiger, rechts schleimig-eitrig Katarrh; die Conjunctiva ist mit schleimigem Belag bedeckt. Die abgenommenen Plättchen im Maul haben sich neu gebildet, verdickt, aber nicht vergrößert; bei jedem Atemzuge wird aus beiden Nasenöffnungen unangenehm riechender Eiter ausgestoßen. Allgemeinbefinden wechselt, meist etwas getrübt; Futteraufnahme unregelmäßig. Im Laufe des folgenden Monats bald mehr, bald minder heftige katarrhalische Erscheinungen, am 10. Juli hat sich rechts ein subconjunctivaler Belagpfropf gebildet, der sich nach seiner Entfernung nicht mehr nachbildet. Während dieser Zeit ist das Tier auch ziemlich abgemagert. 30. Juli ist nach Erlöschen sämtlicher Symptome Genesung anzunehmen; kein Rückfall beobachtet.

20. Juni F. 8 ← CA. $1\frac{1}{2}$ Impfhuhn P. 35 Gb. Ms: In Maul, linke Nase und Palp. sup. s.

Mittelstarkes, ca. $\frac{1}{2}$ -jähriges, perlhuhnfarbiges Huhn. 23. Juni Allgemeinbefinden wenig gestört, an lädierter Stelle im Maul reifähnlicher Ueberzug; umgebende Schleimhaut geschwollen, schmerzhaft; am linken Auge Lichtscheu, Tränenfluß, entzündlich-ödematöse Schwellung beider Augenlider. 25. Juni starke serös-schleimige Sekretion der Conjunctiva, im oberen Lid ca. bohnen große, fettweiche Schwellung zwischen Schleimhaut und äußerer Haut. Nach Druck auf linken Nasenrücken einige Tropfen graugelben dünnflüssigen Eiters. Ueberzug im Maul etwas verbreitert, wird entfernt. 30. Juni Allgemeinbefinden wesentlich gestört, linke Lidspalte geschlossen, vorgewölbt, auch linker Nasengang ausgebuchtet, linke Gesichtshälfte deformiert, submuköser Knoten im oberen Augenlid, haselnußgroß, Schleimhaut über ihm sehr prall gespannt, heiß und schmerzhaft. Nasenöffnung mit Borken beschmutzt, auch rechts ein Tropfen gelblich getrübt Exsudats; Belag im Maul wieder, aber nicht ganz in der alten Stärke nachgebildet, Atmung röchelnd, schnarchend, Futteraufnahme aufgehoben. 10. Juli geht das Tier ein; außer geschildertem kein weiterer Befund. Der Knoten besteht aus fettweicher, krümelig-bröckeliger, stinkender, käsiger Zerfallsmasse. In ihr wie auch im Naseneiter findet sich das eingebrachte Stäbchen sehr zahlreich vor, nicht im Herzblut und inneren Organen.

13. Juli F. 3 ← CA. $\frac{1}{2}$ F. 8 (Tumor): In Nase und Palp. inf. d.

Rotbrauner, kräftiger Hahn, $\frac{1}{2}$ -jährig. 16. Juli Allgemeinbefinden getrübt, rechts geschlossene Lidspalte, deren weitere Umgebung vermehrt warm und teigig geschwollen ist, stark vorgewölbt, nach Beseitigung des Lidschlusses reichlicher, schleimig-eitrig Tränenabfluß; Lider hoch gerötet, verdickt, an der Einspritzungsstelle einige dünne graugelbe Eiterstreifen. 19. Juli. Auf der Schleimhaut des rechten unteren Augenlides sitzt ein 1 cm langer und breiter, $\frac{1}{4}$ cm dicker, aus käseähnlicher Masse bestehender Belag, der sich in die Tiefe der Schleimhaut fortsetzt. Rechts profuser eitrig Nasenausfluß. 25. Juli Gaumenspalte vollständig mit glasigem Schleim erfüllt; rechtsseitlich

von der Gaumenspalte der stark entzündeten Schleimhaut aufgelagert eine doppelt linsengroße, gelbweiße Membran, beim Abheben bleibt geschwüriger, wenig blutender Untergrund. 30. Juli Allgemeinbefinden hochgradig gestört, rechter Lidsack durch einen haselnußgroßen, käsigen Klumpen erfüllt, links Lichtscheu, Tränenfluß, beiderseitiger eitriger Nasenkatarrh. 6. Aug. Die entfernte Croupmembran im Maule hat sich neu gebildet, ist größer und dicker geworden; ebenso ist nach Entfernung des ersten Klumpens im Lidsack ein zweiter aufgetreten. 10. Aug. hochgradigste Atemnot, Naseneiter mit bröckeligen Beimengungen gemischt, die ganze Gaumenspalte mit krümelig-mörteligem Belag erfüllt; geht am 11. Aug. ein. Eingebrautes Stäbchen überall reichlich in den Exsudaten zu finden.

13. Juli F. 17 ← CA. $\frac{1}{2}$ F. 8 (Naseneiter): In Maul, Nase, Lidbindehaut.

Großes, kräftiges, ca. 2-jähriges braunes Huhn. 18. Juli rechtsseitiger, heftiger, eitriger Bindehautkatarrh, ab und zu bei besonders angestrenzter Atmung treten einige Luftblasen aus dem Augenwinkel hervor, rechte Nasenöffnung durch schwarzgelbe Borken vollständig verpicht, nach Entfernung dieser quellen 3—4 Tropfen schleimigen Eiters hervor; im Maul hat sich seitlich neben der Zunge an der Einstichstelle ein ca. bohnen großer, ziemlich dicker Belag gebildet. 23. Juli. Gaumenspalte wird leicht geschabt, ein mit Kultur getränktes, fest aufgedrücktes Wattebäuschchen einige Stunden in ihr belassen. 26. Juli. In der Gaumenspalte hat sich ein dicker, gelbweißer Ueberzug gebildet; am aboralen Ende der Choanenspalte und rechtsseitlich vom Kehlkopf sitzt je ein linsengroßes Croupfleckchen auf. 30. Juli. Von den entfernten Fleckchen hat sich eins wieder nachgebildet; die ganze Gaumenspalte ist mit krümeligem Belag erfüllt; aus beiden Nasengängen läßt sich dickflüssiger Eiter auspressen; seitlich neben der Zunge hat sich eine 2—3 mm dicke Membran erhalten; Maulschleimhaut geschwollen. Zunge steht etwas in die Höhe, wenig beweglich. Nach vorübergehender Besserung des Allgemeinbefindens geht das Huhn plötzlich am 27. Aug. ein, nachdem sich einige Tage zuvor der Nasenkatarrh wieder mit aller Heftigkeit eingestellt hatte.

13. Juli F. 5 ← CA. $\frac{1}{1}$ F. 8 (Tumor): In Gaumenspalte, Maul und Lidbindehaut.

Ca. 1-jähriges, rotes, kräftiges, mittelschweres Huhn. 16. Juli Nasen- und Bindehautkatarrh; in der Gaumenspalte schleimiges Sekret. 20. Juli. Das zuerst schleimige katarrhalische Exsudat hat eitrigen Charakter angenommen; in der Gaumenspalte ist der Eiter mit ziemlich viel festen Bestandteilen vermischt, seitlich am Maulwinkel an der Einstichstelle und ihrer Umgebung dicker gelber Ueberzug, linke Lidspalte verklebt, vorgewölbt. 23. Juli. Durch den bis auf eine schmale Spalte geschlossenen Lidsack schimmert an Stelle des Augapfels ein gelbweißer bis grüngelber, kappenförmig über den letzteren hergestülpter, trockener, lamellär gestreifter, käsiger Klumpen, Conjunctivalschleimhaut unter ihm höckerig geschwollen, graubraun bis braunrot verfärbt, verdickt. Der Klumpen bildet sich nach 2maliger Entfernung am 25. und am 27. Juli wieder, das dritte Mal bleibt er aus. 27. Juli zeigt die linke Cella infraorbitalis haselnußgroße Vorwölbung nach außen und starke Ausbuchtung der Maulhöhle zu; sie ist, wie sich später erweist, ebenso wie beide Nasengänge mit grünlichem, teils mehr dickflüssigem, teils mehr festem, widerlich-süßlich riechendem Eiter vollständig angefüllt. Am 30. Juli geht das Tier ein; CA. besonders in der Cella infraorbitalis fast in Reinkultur.

13. Juli F. 6 ← CA. $\frac{1}{2}$ (Tumor) I. H. F. 37: Gaumenspalte, Maul, Lidbindehaut.

Ca. $\frac{1}{2}$ -jähriger, kleiner, kräftiger, schwarzer Hahn. 17. Juli Gaumenspalte mit glasigem Schleim erfüllt, einseitige Conjunctivitis, beiderseitige Rhinitis; starker Ausfluß eitriger Tränen; etwas hinter der Einstichstelle im Maul hat sich seitlich neben der Gaumenspalte eine kleine, unregelmäßig polygonal geformte, festweiche Auflagerung gebildet. 30. Juli. Die katarrhalischen Erscheinungen sind sehr zurückgegangen, der Hahn ist munter, erhält deshalb noch $\frac{1}{4}$ ccm der Kultur. Zunächst dieselben Lokalerscheinungen wieder, wie zuvor. 12. Aug. Die von eingetrocknetem eitrigem Sekret überdeckte und zusammengeschweißte Lidspalte muß gewaltsam geöffnet werden: Die Lidbindehäute sind mit graugelbem Schleim überdeckt, sehr stark gerötet und entzündet. Der eitrig-schleimige Schleim weist festere Beimengungen auf. Unter der Nickhaut sitzt eine halbmond förmige, nicht ganz 1 cm lange, ziemlich dicke käsige Auflagerung. 20. Aug. Beide Nasengänge und Gaumenspalte reichlich mit zähem Eiter erfüllt; zwei insuläre Beläge, die sich seitlich neben dem Maulwinkel und etwas weiter hinten gebildet hatten, sind zu einer ca. 2 mm dicken, noch ziemlich in die Tiefe sich erstreckenden kohärenten Membran verschmolzen. 22. Aug. Allgemeinbefinden hochgradig gestört; Atemnot; das sehr abgemagerte Tier geht am selben Abend ein. Bakteriologischer Befund positiv.

2. Aug. F. 38 ← CA. $\frac{1}{2}$, H. F. 5 (Unteraugenhöhleener): In Maul und Nase.

Ca. $\frac{1}{2}$ -jähriges, kräftiges, graues Huhn. 5. Aug. Allgemeinbefinden hochgradig gestört; schleimig-eitriger Nasenausfluß rechts, Stippchen im Maul. 8. Aug. beider-

seitiger reichlicher Nasenausfluß, Futteraufnahme unterdrückt. Das Huhn steht mit gesträubten Federn und gesenktem Kopf in somnolentem Zustand in eine Ecke gedrückt. Bei der Sektion findet sich in der Gaumenspalte ein glasiger, dicker, zäher Schleimpfropf, beide Nasengänge, insonderheit aber der rechte und die rechte Unteraugenhöhle, sind mit dickflüssigem, gelbem Eiter vollständig erfüllt; in diesem ist CA. fast rein zu finden.

2. Aug.: F. 28 ← CA. $\frac{1}{2}$ H. F. 5 (Unteraugenhöhle eiter).

2-jähriges, kräftiges, rebhuhnfarbiges Huhn: Erhält außer in Gaumenspalte und Lidbindehaut noch $\frac{1}{2}$ ccm der Kultur in den rechten Pleurasack. 5. Aug. Allgemeinbefinden ziemlich stark getrübt, schlafsüchtige, matte Stellung. Die linken Augenlider sind heiß und dick geschwollen, sie selbst und ihre Umgebung mit serös-schleimigem Exsudat benetzt; die Gaumenspalte ist mit schleimigem Sekret angefüllt. 10. Aug. Es hat sich beiderseitiger Ausfluß eines dünnen gelben Exsudats aus der Nase eingestellt, in der Gaumenspalte ist dieses Sekret mit käsigen, krümeligen Bestandteilen gemengt. Der Lidsack ist stark vorgewölbt, nach Eröffnung desselben präsentiert sich ein dickrahmiger gelber Eiter. 10. Aug. Allgemeinbefinden meistens gestört, bedeutende Abmagerung, linke Kopfhälfte sehr stark angeschwollen; das Bindehautsekret ist dick gelbgrün verfärbt, am oberen Augenlid sitzt eine bohnen große käsige Wucherung; inmitten der Cornea eine nicht ganz erbsengroße rauchige Nebelwolke. Beide Nasengänge sind mit schleimigem Eiter erfüllt, der jetzt ziemlich bröckelige Elemente führt. Ebenfalls sind die rechten Lidbindehäute mit schleimigem Sekret beschmiert. 1. Sept. Allgemeinbefinden hochgradig getrübt, aus der geöffneten Lidspalte quillt ein Tropfen gelbgrünen Eiters; dann folgt eine verschiedene Gewebstrümmer einschließende Granulationsgeschwulst, die zapfenartig aus der eröffneten vorderen Augenkammer vorgewuchert erscheint; es bestehen hochgradige Atembeschwerden. 4. Sept. †. Sektion: Gaumenspalte ganz mit krümeligem Belag erfüllt, der harte Gaumen von einer derben gelbbraunen Croupmembran fast in seiner ganzen Ausdehnung überzogen; im rechten Brustfellsack findet sich in dessen ganzer Ausdehnung ein $\frac{1}{2}$ cm dicker, äußerlich glatter, übrigens mörtelig-bröckeliger Belag. Isoliert wird in erster Linie CA, auch *Pyocyaneus*.

F. 37 und F. 38: 2 halbjährige rotbraune Hühner erhalten 14 Tage lang von CA täglich frisch angelegte 24-stündige Bouillonkulturen, ebenso die nächsten 14 Tage von *Bac. pyocyaneus* mehrere Kulturen täglich auf Brot. Eine Störung des Allgemeinbefindens war nie zu beobachten, ebensowenig traten je diphtherische Lokalerscheinungen auf.

28. Juni 07: Taube F. 105 ← CA. $\frac{1}{4}$ H. 16 Gb.: in Maul, Nase und Lidbindehaut.

28. Juni 07: Taube F. 146 ← CA. $\frac{1}{2}$ H. 16 Gb.: in Maul, Nase und Lidbindehaut.

I. Kräftige, weiße, ca. 2-jährige Taube: Etwa 14 Tage lang zuerst schleimiger, dann schleimig-eitriger Nasenausfluß, ebensolcher Ausfluß aus der geschwollenen Conjunctiva. Allgemeinbefinden einige Tage lang gestört, nach ca. 3 Wochen keine Krankheitspur mehr zu sehen.

II. Kräftige, blauweiße, ca. 1 $\frac{1}{2}$ -jährige Taube: Zuerst einseitiger, dann beiderseitiger eitriger Nasenausfluß, nach 10 Tagen hochgradige Atemnot, linke Lidspalte geschlossen, über derselben sitzt eine eingetrocknete Kruste eitrigen Sekrets, im Maul kein Belag. † am 16. Juli.

18. Juli: Taube F. 114 ← CA. $\frac{1}{2}$ F. 146 Cb.: in Maul, Nase und Lidbindehaut.

18. Juli: Taube F. 181 ← CA. $\frac{1}{2}$ F. 146 Cb.: in Maul, Nase und Lidbindehaut.

Beide kräftigen grauen Tauben gehen ein, die eine am 5. Aug., die andere am 9. Aug. Erscheinungen: eitrige Nasen- und Conjunctivkatarrhe, die zweite hat ein deutlicheres croupöses Fleckchen im Maul, hält meist den Schnabel leicht geöffnet, die Maulschleimhaut ist stark geschwollen. Bakteriologischer Befund positiv, im Herzblut negativ.

Literatur.

- 1) Artault de Vevey, St., Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1895. p. 683. Zit. n. 26.
- 2) Babes und Puscariu, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. VIII. 1890. p. 376.
- 3) Barbier, Gaz. méd. de Paris. 1889. p. 37. — Ann. de la Soc. méd.-chir. de Liège. 1891. Avril. Zit. n. 26.
- 4) Barella, Bull. de l'Acad. roy. de Belgique. 1896. No. 3. p. 197. Zit. n. 26.

- 5) Bermont, Poincarré, Rev. méd. de l'est. 1890. p. 633. Zit. n. 26.
- 6) Bilhaut, Journ. de méd. de Paris. 1890. Zit. n. 26.
- 7) Böing, Deutsche med. Wochenschr. 1886. p. 552.
- 8) Bollinger, Virchows Archiv. Bd. LVIII. 1890. p. 349.
- 9) Chauveau, Rev. d'hygiène. 1887. p. 915.
- 10) Chicoli, Sicilia agricola. 1884. Zit. n. 26.
- 11) Cole, Arch. of pediatr. Vol. XI. 1894. p. 381. Zit. n. 67.
- 12) Colin, Acad. des scienc. 1885. 15 janv. Zit. n. 26.
- 13) Cornevin et Nicati, Journ. de méd. vét. de Lyon. 1879. Z. n. 26.
- 14) Cornil et Mégnin, Journ. de l'anat. 1885. p. 268. Zit. n. 26.
- 15) Davaine, Dict. encyclop. 1875. Z. n. 26.
- 16) Debrie, Arch. de méd. et pharm. milit. 1892. No. 3. p. 204. — Centralbl. f. Bakt. Bd. XIII. 1892.
- 17) Eber, W., Zeitschr. f. Tiermed. Bd. II. 1898. p. 201.
- 18) Eberlein, R., Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. V. 1894. p. 433.
- 19) Emmerich, Rev. d'hygiène. 1884. p. 850.
- 20) Mac Fadyen and Hewlett, The Brit. med. Journ. Vol. II. 1899. p. 1352. Zit. n. 67.
- 21) Faguet, E., Thèse de Bordeaux. 1896. Z. n. 26.
- 22) Ferré, G., Journ. méd. de Bordeaux. 1896. Juillet et Août. — Arch. clin. de Bordeaux. T. II. 1897. No. 6. p. 275. — 9^{er} Congr. internat. d'hygiène et de démogr. Madrid. 1898. — Ref. Sem. méd. 1898. p. 163. Z. n. 26.
- 23) Friedberger, Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. 1879. p. 161.
- 24) — und Fröhner, Lehrb. d. spez. Path. u. Therap. d. Haustiere. Bd. II. 1906. p. 467.
- 25) Galley, Deutsche med. Wochenschr. 1896. No. 46.
- 26) Galli-Valerio, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXII. 1897. p. 500.
- 27) Gerhardt, Verhandl. d. 2. Kongr. f. inn. Med. 1883. — Allg. Wien. med. Zeitschr. 1883. Z. n. 26.
- 28) Ghirardini, P., Arch. quind. de vet. et zootecnica Pisa. 1901. No. 11—15. Zit. n. 26.
- 29) Gratia et Liénaux, Ann. de méd. vét. 1896. p. 186. — Bull. de l'Acad. de méd. de Belgique. 1898. Avril. Z. n. 26.
- 30) Guérin, C., Echo méd. du Nord. 1902. No. 6. p. 39. — Recueil de méd. vét. 1903. 15 janv. — Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XV. 1903. No. 12. p. 941.
- 31) Hingworth, Brit. med. Journ. Vol. II. 1887. p. 166. Zit. n. 67.
- 32) Joest, Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora des Hühnerdarms. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1902. No. 16.)
- 33) Johne, Bericht über das Veterinärwesen im Königreich Sachsen. 1880.
- 34) Konhäuser, Monatsschr. des Vereins österreichischer Tierärzte. 1878. Zit. n. 67.
- 35) Klein, E., Ann. Report of Med. Off. to Soc. Gov. Board. 1898. Zit. n. 67.
- 36) Klee, R., Die Krankheiten des Hausgeflügels. (Thüringer landwirtsch. Ztg. 1902. No. 13.)
- 37) Lang, Recueil du méd. vét. 1899. No. 1. p. 13. Zit. n. 26.
- 38) Loeffler, Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. II. 1884. p. 482.
- 39) Loir et Dudoux, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VIII. 1894. p. 599.
- 40) Longuet, Rev. d'hygiène. 1887. p. 915. — Sem. méd. 1892. p. 446.
- 41) Leth, Handbuch von Kolle u. Wassermann. Bd. II. 1903. p. 696.
- 42) Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 1904.
- 43) Mazzanti, Observ. clin.-sperimentale sulla pseudo-difterite da accomonadi Parma. 1896. Zit. n. Bg. Jb.
- 44) Maxutow, Wratsch. 1902. No. 12. Zit. n. Bg. Jb.
- 45) Mégnin, Rev. d'hygiène. 1879. p. 585.
- 46) Menziès, Thèse de Paris. 1881. Zit. n. 26.
- 47) Moore, V. A. U. S. Dep. of Agric. Bull. Vol. VIII. 1895. p. 39. Zit. n. 67.
- 48) Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 6.
- 49) Murajeff, Arch. f. Veterinärwissensch. 1901. p. 605.
- 50) Nicati, Rev. d'hygiène. 1879. p. 585.
- 51) Neumann, Arch. f. Kinderkrankh. Stuttgart 1890.
- 52) Nocard, Rec. de méd. vét. 1889. p. 5. Zit. n. 53.
- 53) Nocard-Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux. 1903.
- 54) Noulis, Gaz. méd. d'Orient. 1901. No. 2. p. 572. Zit. n. 26.
- 55) Ostertag und Ackermann, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. I. 1906.
- 56) Paulinis, Bull. méd. 1888. p. 90. Zit. n. 26.
- 57) Perroncito, Il medico veterinario. 1870. Zit. n. 26.
- 58) Piana, P. et Galli-Valerio, Il moderno Zooiatro. 1899. No. 21. p. 411. Zit. n. 26.

- 59) Piorkowski, Beitrag zur Frage der Identität der Vogeldiphtherie und der Menschendiphtherie. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1907. No. 13.)
- 60) Pütz, Oesterreich. Zeitschr. f. Veterinärwissensch. Bd. I. 1887. Heft 1. Zit. n. 67.
- 61) Pfeiffer, L., Zeitschr. f. Hygiene. Bd. V. 1889. p. 363.
- 62) Rahner, Die Magen- und Darmbakterien der Hühner. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX. 1901.)
- 63) Ritter, J., Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX. 1895. p. 662.
- 64) Rivolta, Il medico vet. 1869. — Rivolta e Silvestrini, Ibid. 1873. — Rivolta e Delpatro, L'ornitologia. 1880. Zit. n. 26.
- 65) Sante Sirena, Giorn. di anat. fisiol. et patol. 1844. p. 3. Zit. n. 26.
- 66) Schrevers, Bull. Acad. de méd. Belgique. T. VIII. 1896. p. 380. Zit. n. 67.
- 67) Streit, H., Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVI. 1904. p. 407.
- 68) Tissier, Rev. d'hygiène. 1887. p. 914.
- 69) Trasbot, Gaz. méd. de Paris. 1879. — Ann. de méd. vét. 1879. Zit. n. 36.
- 70) Trinchera, La clin. vet. 1880. Zit. n. 53.
- 71) Zürn, Die Krankheiten des Hausgeflügels. Leipzig 1882. p. 104.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Biologie des Milzbrandbacillus. I

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg
(Leiter: Medizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von Dr. Sieber,
Polizeitierarzt und Assistenten am Institut.

Im Verlaufe meiner Untersuchungen über Einwirkung der Galle und ihrer Salze auf Trypanosomen und Spirochäten schien mir ein Vergleich mit der Gallewirkung auf verschiedene Bakterien wünschenswert.

Da besonders die Gallelöslichkeit der Erreger als differenzierendes Moment zwischen Bakterien und Protozoen von Neufeld und Prowazek¹⁾ als ausschlaggebend erachtet wird, mußten die Befunde bei Bakterien um so mehr interessant erscheinen, als bei letzteren die heterogensten Erscheinungen im Wachstum und Virulenzgrad beobachtet werden. Während Galle und gallehaltige Medien z. B. bei Typhus einen geradezu elektiven Nährboden darstellen, Eigenschaften, die von Drygalski, Conradi, Kayser u. a. zur Typhusdiagnose praktisch verwertet wurden, zeigte die Galle bei anderen Bakterienarten, z. B. bei den Fränkelschen Pneumokokken, lösende Eigenschaften.

Es lag der Gedanke nahe, daß Bakterien, welche von einer Kapsel umgeben sind, wie z. B. Kapselkokken und Milzbrandstäbchen, in der Weise von der Galle oder den Gallensalzen beeinflußt und verändert werden, daß die lipoidartig gedachte Kapsel von der Galle gelöst, verseift wird, und daß auf diese Weise die Bacillen, wenn nicht vernichtet werden, so doch deren Wachstum und Virulenz entsprechende Veränderungen erleiden. Die Ergebnisse speziell beim Milzbrandbacillus ließen jedoch ganz andere Schlüsse bezüglich der Morphologie und Biologie zu, als ich ursprünglich angenommen hatte. Demnach scheint der Milzbrandbacillus nicht von einer räumlich genau begrenzten Kapsel von bestimmter Dicke umgeben zu sein, sondern ein noch näher zu bestimmendes „Linin“-Gerüst gibt, wie dies auch Růžička²⁾ zum Ausdruck bringt, die äußere Form an. In dieses Liningerüst sind nun die chromatin-

1) Neufeld und Prowazek, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt Bd. XXV. p. 501.

2) Arch. f. Hyg. Bd. LXIV und Arch. f. Protistenkunde. 1907.

artigen Substanzen des Bakteriums, nach Růžička das Nukleïn, das er als transformiertes Linin ansieht, eingelagert und werden durch unsere gebräuchlichen Färbarten, besonders nach der Giemsa-Färbung sichtbar. Je nach dem Grade der Auslaugung der äußeren Schicht der Nukleinsubstanz, sei es nun im Tierkörper durch spezifische lytische Serumbestandteile oder durch chemische Agentien oder durch Einwirkung beider, versagt nun der Bacillus an seinem äußeren Rande die Färbung und zeigt sich von einer hellen, mehr oder weniger dicken Schicht, der „Kapsel“, umgeben.

Dieses vorbeschriebene Phänomen wird nun besonders bei Anwendung von Gallen Nährböden in allen Phasen deutlich zur Anschauung gebracht. Die hierbei sichtbaren auftretenden Wachstumsbeeinflussungen und morphologischen Veränderungen sind auch bereits Gegenstand der verschiedensten Deutungen gewesen.

Auch die von mir ausgeführten und unten angegebenen Kulturversuche sind bereits von anderer Seite, wenigstens teilweise, beschrieben; ich habe sie jedoch schon aus dem Grunde wiederholt, weil gerade hier die verschiedensten und widersprechendsten Ergebnisse gefunden und niedergelegt wurden.

Corrado¹⁾, der wohl als erster Kulturversuche mit Galle beschrieb, beobachtete bei Milzbrand eine deutliche Hemmung des Wachstums in Tiergalle, hingegen konnte Falk²⁾, der Milzbrand in steriler Galle züchtete, keine Abschwächung weder im Wachstum noch in der Virulenz feststellen. Auch Leubuscher³⁾ experimentierte mit Galle (Schweine- und Rindergalle) und 3-proz. Gallensäuren, und behauptete, in diesen Medien einen guten Nährboden für Milzbrandbacillen gefunden zu haben. Fischer⁴⁾ beschrieb an der Hand ausführlicher Versuche die Wachstumsveränderungen an Typhus und Milzbrandbacillen. Ich konnte der Hauptsache nach die sehr exakt ausgeführten Versuche bestätigen.

Ich suchte nunmehr den Grund dieser offensichtlich verschiedensten Befunde, die dann auf Grund genauer und gewissenhafter Versuche niedergelegt waren, in der mannigfachen Beschaffenheit der Tiergalle. Tatsächlich ist dieselbe sowohl ihrer Konzentration als ihrer prozentualen Zusammensetzung nach den verschiedensten Variationen unterworfen. Auch die in der Galle enthaltenen Enzyme, die ja durch Erhitzen zerstört werden, scheinen einen nicht unerheblichen Einfluß auf das Bakterienwachstum auszuüben, der wiederum je nach der Temperatur ein verschiedenartiges Zusammenwirken mit den Salzen der Galle erkennen läßt. Es hatte also ein Experimentieren mit den genau dosierbaren Gallensalzen mehr Aussicht auf konstante Ergebnisse, obwohl der Vergleich mit den natürlich gewonnenen Agentien nicht zu vermissen war.

Aus diesen Gesichtspunkten habe ich bei meinen Versuchen folgende Nährsubstrate angewandt:

Flüssige:

1) Reine Ochsen-galle.

Dieselbe wurde in der Weise steril gewonnen, daß ich die Gallenblase unmittelbar nach der Schlachtung des Tieres der Leber entnahm, die äußere Fläche mit glühendem Skalpell abflambierte und mit erhitztem Messer eine Oeffnung anbrachte. Die auf diese Weise in sterilem Kolben aufgefangene Galle hielt sich 2 Tage steril.

1) Corrado, Ref. im Centralbl. f. Bakt. 1892.

2) Falk, Arch. f. Path. und Phys. Bd. XCIII.

3) Leubuscher, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XVII.

4) Fischer, Inaug.-Diss. Bonn 1896.

2) Erhitzte Ochsen-galle (80°).

Unerwarteterweise ließ sich die Galle ohne nennenswerte Koagulierung oder sonst Niederschläge erhitzen, ja sogar zum Kochen bringen. Allerdings wurden hierdurch die der Galle eigentümlichen Enzyme zerstört.

3) Peptonbouillon mit Ochsen-galle gemischt (5:1).

4) Peptonbouillon mit erhitzter Ochsen-galle gemischt (5:1).

5) Peptonbouillon mit 10-proz. Lösung von Natr. taurochol. in physiologischer Kochsalzlösung (5:1).

6) Peptonbouillon mit 10-proz. Lösung von Natr. glycocoll. in physiologischer Kochsalzlösung (5:1).

Feste Nährsubstrate:

7) Gelatine mit Galle (9:1).

8) Gelatine mit Galle (5:5).

9) Gelatine mit 10-proz. Lösung von Natr. tauroch. (9:1).

10) Gelatine mit 10-proz. Lösung von Natr. tauroch. (5:5).

Die erstarrte Gelatine wurde im Wasserbade leicht erwärmt, nach dem Verflüssigen mit Galle resp. Gallensalzlösung versetzt und nach vorsichtigem Schütteln wieder zum Erstarren gebracht. Auch die mit 5:5 versetzte Gelatine besaß noch genügend Konsistenz, um die angelegten Stickskulturen anschaulich zu machen. In gleicher Weise wurden die Agarnährböden hergestellt:

11) Agar mit Galle 5:1.

12) Agar mit Galle 4:2.

13) Agar mit Natr. tauroch. (10 Proz.) 5:1.

14) Agar mit Natr. tauroch. (10 Proz.) 4:2.

Tabelle 1.

	Angewandter Nährboden	Einwirkung	Sichtbares Wachstum
1	Reine Galle	16-stünd. Brutschrank bei 37° C	Deutliches Wachstum +
2	Erhitzte Galle	„ „ „ 37° „	stärkeres Wachstum ++
3	Bouillon mit Galle 5:1	„ „ „ 37° „	Wachstum ++
4	Bouillon mit erhitzter Galle 5:1	„ „ „ 37° „	stärkeres Wachstum ++
5	Bouillon mit taur. Natr. 5:1	„ „ „ 37° „	Wachstum +
6	Bouillon mit glykok. Natr. 5:1	„ „ „ 37° „	Wachstum +
7	Gelatine mit Galle 9:1	3 Tage Zimmertemperatur	Verflüssigung an der Einstichstelle und geringes, aber deutliches Wachstum
8	Gelatine mit Galle 5:5	3 „ „	Gelatine etwas lockeres Wachstum
9	Gelatine mit Natr. taur. 9:1	3 „ „	geringe Verflüssigung, Wachstum
10	Gelatine mit Natr. taur. 5:5	3 „ „	Gelatine etwas locker, schwaches Wachstum
11	Agar mit reiner Galle 5:1	16-stünd. Brutschrank bei 37° C	reichliches Wachstum +++
12	Agar mit Galle 4:2	„ „ „ 37° „	gutes Wachstum ++
13	Agar mit Natr. taur. 5:1	„ „ „ 37° „	reichliches Wachstum +++
14	Agar mit Natr. taur. 4:2	„ „ „ 37° „	gutes Wachstum ++
15	Kontrolle { Bouillon: Gelatine: Agar:	16-stünd. Brutschrank	} reichl. Wachstum
16		3 Tage Zimmertemperatur	
17		16-stünd. Brutschrank	

Die zur Verwendung gebrachte Milzbrandkultur wurde durch mehrere Tierpassagen derartig virulent gemacht, daß ein Kaninchen einer Infektion mit $\frac{1}{10}$ Normalöse einer 24-stündigen Serumkultur in 24—26 Stunden erlag. Von der aus dem Herzblut herausgezüchteten Agarkultur wurde jedesmal je eine Oese zur Verimpfung auf 5 ccm Nährsubstrat verwandt (s. Tabelle 1).

Im Vergleiche zu den Kontrollen war wohl das Wachstum der Milzbrandbacillen etwas gehemmt. Am deutlichsten zeigte sich dies bei den mit Gallensalzen versetzten flüssigen Nährmedien, wie aus der Tabelle 1 hervorgeht. Das üppigste Wachstum wiesen die Galleagarröhrchen auf.

Mikroskopisch zeigten die Kulturen Fadenbildung in bekannter Weise. Nach 20 Stunden beginnen besonders in Kulturen mit Gallebouillon und Galleagarröhrchen Zerfallserscheinungen aufzutreten, die sich in dem Zustandekommen größerer und kleinerer lichter Stellen im Bacillenkörper bekunden. Auch die Färbbarkeit scheint abzunehmen. In weiterer Folge konnte man wie in älteren Kulturen Zunahme der Sporenbildung und Vermehrung der Involutionsformen beobachten. An den Fäden sieht man bald neben anscheinend wohl erhaltenen Stäbchen schlecht oder gar nicht gefärbte Individuen; bei Giemsa-Färbung kann man auch schon eine richtige Auslaugung der Chromatinsubstanz wahrnehmen, die die zu Grunde gehenden Stäbchen unbestimmt granuliert erscheinen läßt. Ähnliche Vorgänge hat auch Růžicka in seinen Glycerinagarkulturen beobachtet.

Es war nun die naheliegende Folgerung zu prüfen, ob die überschnell neugewachsenen Individuen, deren weiteres Wachstum durch eine rasche Sporenbildung, wenn nicht Zerstörung sistierte, auch in ihrer Virulenz herabgesetzt, wenn nicht gänzlich avirulent geworden waren.

Abgespülte und mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschene, somit von oberflächlichen Gallebeimischungen befreite Kulturrasen wuchsen auf den entsprechenden gallefreien Nährsubstraten ebenso üppig aus, wie die Kontrolle.

Virulenzversuche.

(S. Tabelle 2.)

Die Gallenährböden hatten demnach die Virulenz der Milzbrandbacillen teilweise recht erheblich herabgesetzt. Der eigentümliche Befund bei Kultur aus Galleagar und Agar mit Natr. tauroch. und reiner Galle veranlaßte mich zu einer Wiederholung der Versuche, und ich konnte nunmehr wiederum konstatieren, daß eine Maus der Infektion 18, resp. 20, 22 Tage standhielt. Es mußte demnach durch die Gallewirkung entweder eine Abschwächung der Virulenz stattgefunden haben, oder es war anzunehmen, daß eine spezifische Gallewirkung die Infektion verhindert.

Um dies festzustellen, suchte ich die auf Gallenährböden gewachsenen Bacillen von Gallebeimengungen zu befreien, was ich durch wiederholtes Auswaschen des abgehobenen Bacillenrasens in physiologischer Kochsalzlösung erreichte (s. Tabelle 3).

Die Virulenz der auf den Gallenährböden gewachsenen Bacillen war also nur in geringer Weise von einer angenommenen chemischen Wirkung der Galle beeinflußt. Es lag nunmehr die Möglichkeit nahe, daß die gewachsenen Bacillen infolge der raschen Entwicklung und des ebenso schnellen Zerfalls einzelner Individuen gleichartig verschiedene Wachstumsperioden zeigten. Da dieser Umstand infolge der ungleichmäßigen

Tabelle 2.

Abzeichen	Dosis	Kultur aus	Maus verendet nach	Milzbrandstäbchen im Ausstrich
2 Mäuse ohne Abzeichen	$\frac{1}{100}$ Oese	erstarrtem Pferdeserum. Virulente Kultur	24 Stunden	Kontrolle: +
4 Mäuse linkes Ohr	do.	Bouillon mit Galle (5:1)	a) 48 Stunden b) 52 „ c) 50 „ d) 56 „	+ + + +
4 Mäuse rechtes Ohr	do.	Bouillon mit erhitzter Galle(5:1)	a) 60 „ b) 58 „ c) 80 „ d) 48 „	+ + + +
4 Mäuse beide Ohren	do.	Bouillon mit Natr. tauroch. (5:1)	a) 6 Tagen b) 12 „ c) 13 „ d) 2 „	+ + + +
4 Mäuse Schwanzspitze	do.	Bouillon mit glykokolls.Natr.(5:1)	a) 3 „ b) 4 „ c) 4 „ d) 5 „	+ + + +
4 Mäuse l. O. u. Schw.	do.	Galleagar (4:2)	a) 2 „ b) 12 „ c) 12 „ d) lebt	+ + + —
4 Mäuse r. O. u. Schw.	do.	Agar mit Natr. tauroch. (4:2)	a) 5 Tagen b) lebt c) 10 Tagen d) 8 „	+ — + +
4 Mäuse b. O. u. Schw.	do.	reiner Galle	a) 14 „ b) lebt c) 10 Tagen d) 12 „	+ — + +

Tabelle 3.

Abzeichen	Kultur	Dosis	Tot nach
2 Mäuse ohne Abzeichen	Milzbrand auf Galleagar, dreimal ausgewaschen und abzentrifugiert.	$\frac{1}{100}$ Oese	24 Stunden 8 „
2 Mäuse linkes Ohr	Milzbrand in Gallebouillon, dreimal ausgewaschen und abzentrifugiert.	do.	30 „ 28 „
2 Mäuse rechtes Ohr	Milzbrand auf Agar, mit Natr. taur. ausgewaschen und abzentrifugiert	do.	30 „ 26 „
2 Mäuse Kontrolle	Virulenter Milzbrand	do.	24 „ 26 „

Fortentwicklung im Tierkörper ein unklares Bild der Versuche bedingte, kultivierte ich Milzbrandbacillen auf erstarrtem Pferdeserum und verbrachte die abgehobenen Bacillenrasen in Galle resp. Natr. taurocholicum. Nach einer Einwirkung von 12 Stunden wurden die Bacillenflocken wiederholt ausgewaschen und zentrifugiert, wobei sich zeigte,

daß die eigentümliche gelbgrüne Färbung, die durch die Galle entstand, auch bei öfterem Waschen nicht zum Verschwinden kam.

Tabelle 4.

Abzeichen	Milzbrandbacillen, auf Serum gewachsen	Dosis	Tot nach
2 Mäuse ohne Abzeichen	Kontrolle	$\frac{1}{100}$ Oese	20 Stunden 26 "
2 Mäuse linkes Ohr	12 Stunden in Galle	do.	6 Tagen 12 "
2 Mäuse rechtes Ohr	12 Stunden in Natr. taur.	do.	10 " 8 "
2 Mäuse beide Ohren	12 Stunden in Galle, dreimal ausgewaschen	do.	30 Stunden 26 "
2 Mäuse Schwanzspitze	12 Stunden in Natr. taur., dreimal ausgewaschen	do.	28 " 8 "

Dieselben ausgewaschenen Bacillen auf gewöhnliche gallefreie Nährböden, Bouillon, Agar und Serum verimpft, zeigten nach 10 Stunden üppiges Wachstum.

Hieraus ging hervor, daß die Milzbrandbacillen trotz längerer Einwirkung der Galle resp. der Gallensalze an ihrer ursprünglichen Virulenz und ihrem weiteren Wachstum resp. Vermehrungsvermögen wenig eingebüßt hatten. Sie schienen also, wie der Tierversuch zum Ausdruck brachte, durch ihren Gehalt an Galle in ihrer Angriffsfähigkeit erheblich herabgesetzt, oder es wurde durch die den Bacillen anhaftende Galle die Bildung von Schutzstoffen ausgelöst, die den Organismus der Tiere hinreichend schützten, um die Infektion hintanzuhalten. Um nun nachzuweisen, ob eine rein therapeutische Wirkung der Galle auf den Organismus in Frage kommen könne, die mit der physikalischen Veränderung der gallehaltigen Bacillen nichts gemein hatte, wurden kleine gleiche

Tabelle 5.

Abzeichen	Dosis		Tot nach
2 Mäuse ohne Abzeichen	$\frac{1}{100}$ Oese Kultur mit 0,5 ccm Galle gemischt, subkutan		4 Tagen 3 "
2 Mäuse linkes Ohr	$\frac{1}{100}$ Oese Kultur mit 0,5 ccm Lösung von Natr. taur. (1:10) gemischt, subkutan		2 " 3 "
2 Mäuse rechtes Ohr	$\frac{1}{100}$ Oese Kultur in die linke Körperseite subkutan	0,5 ccm Galle in die rechte Körperseite	60 Stunden 72 "
2 Mäuse beide Ohren	$\frac{1}{100}$ Oese Kultur in die linke Körperseite subkutan	0,5 ccm Lösung von Natr. tauroct. in die rechte Körperseite	4 Tagen 2 "
2 Mäuse Schwanzspitze	$\frac{1}{100}$ Oese Kultur	nach 6 Std. 0,5 ccm Galle subkutan	3 " 3 "
2 Mäuse Schw. u. l. O.	$\frac{1}{100}$ Oese Kultur	nach 6 Std. 0,5 ccm Lösung von Natr. tauroch.	4 " 3 "
2 Mäuse Schw. u. r. O.	$\frac{1}{100}$ Oese Kultur	Kontrolle	20 Stunden 24 "

Dosen von Galle mit 24-stündiger Milzbrandkultur (auf Pferdeserum gewachsen) gemischt und den Tieren subkutan einverleibt. Eine zweite Reihe von Mäusen erhielt die gleiche Gallen- und Bacillenmenge gleichzeitig, jedoch getrennt — also $\frac{1}{2}$ ccm Galle in der linken und $\frac{1}{100}$ Oese Kultur auf der rechten Seite — subkutan injiziert. In der letzten Versuchsanordnung erhielten die Tiere die Kultur- und Galleinjektion nach einem Zeitunterschied von 6 Stunden (s. Tabelle 5).

Es zeigte sich also ein unverkennbarer Zeitunterschied in der Krankheitsdauer der Versuchstiere, wonach ich zu der Annahme berechtigt war, daß die Galle eine Verzögerung des letalen Endes herbeizuführen imstande ist.

Welcher Art diese Virulenzbeeinflussung war und welche Rolle Serum und Leukocyten bei der Hintanhaltung der Infektion spielen, werde ich in der folgenden Beschreibung der angesetzten weiteren Versuche zu schildern versuchen.

Eine echte Immunität scheint hierbei nicht in Frage zu kommen, da die in Tabelle 2 aufgeführten, überlebenden Tiere, welche nach 6 Wochen mit gewöhnlicher Dosis ($\frac{1}{100}$ Oese Kultur) nachinfiziert wurden, prompt am zweiten Tage eingingen.

Zusammenfassung.

1) Das Wachstum des Milzbrandbacillus wird durch Galle- und gallensalzhaltige Nährböden, ferner durch Zusatz von Galle zu den gewöhnlichen Nährsubstraten wenig beeinflußt.

2) Die mit Galle beladenen und die auf Gallenährböden gewachsenen Bacillen verzögern die Infektion; in einigen Fällen ist die Infektion überhaupt nicht eingetreten.

3) Die überlebenden Tiere behalten **keine** Immunität gegen Milzbrand.

4) Die Galle verändert den Milzbrandbacillus weder bezüglich der Virulenz noch bezüglich des Wachstums, da abzentrifugierte, von Galle befreite Bacillen ihre Wachstumsfähigkeit und Virulenz behalten.

5) Die Galle scheint im Tierkörper infektiöswidrig, um nicht zu sagen therapeutische Wirkung zu entfalten, da sowohl gleichzeitige, als auch räumlich und zeitlich getrennte Einverleibung von Galle und Kultur die Infektion verzögert.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen bei der Brustseuche der Pferde.

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsstation II. bayerischen Armeekorps beim Garnisonlazarett Würzburg.]

Von Stabsarzt Dr. Georg Mayer.

Bei der Brustseuche der Pferde wurde von Schütz 1887 ein gramnegativer Diplococcus beschrieben von länglich-ovaler Gestalt, ähnlich dem Pneumococcus; es wird Kapselbildung angegeben im Blute von

Tieren, Wachstum auf Agar und Gelatine bei Zimmertemperatur. Der Coccus wurde im Blute, in den Lungen, in der Brusthöhlenflüssigkeit gefunden; er fand keine allgemeine Anerkennung, man schrieb ihm Verwandtschaft mit den Eiterbakterien zu, es wurde eine Wirkung auf die Komplikationen und Nachkrankheiten angenommen. — Lignière und andere Autoren fanden in den Lungen einen Streptococcus. — Neuerlich sind von Lorenz auf der Haut kranker Pferde Streptokokken gefunden worden, welche Erkrankungen mit typischem Fieber machen können. — Nach Ludwig (Zeitschr. f. Veterinärkunde. 1907. Heft 2) sollen Versuche unter Leitung von Koch einen Coccus ergeben haben, der mit dem von Schütz entdeckten völlig übereinstimme; es soll die Vermutung bestehen, daß die Krankheit durch Zwischenträger, Mücken, Mäuse etc., verbreitet werde. — In letzter Zeit hat Willerdig (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1908. No. 34) mitgeteilt, daß er bei der mikroskopischen Untersuchung des Blutes und intraperitonealer Verimpfung desselben auf Mäuse und Kaninchen, sowie bei subkutaner Verimpfung auf gesunde Pferde verseuchter Bestände negative Ergebnisse hatte. Das Blut kranker Tiere komme als Infektionsträger kaum in Frage. Er züchtete aus den krankhaften Ausscheidungen der Schleimhaut von Nase und Augen Bakterien von Diplokokkenform, ausnahmsweise von Kokkenform, welche sich in Bouillon und flüssigem Blutserum an den Polen in nicht sehr stabilen kurzen Ketten aneinanderlagern. Es wird noch erfolgreiche Behandlung erkrankter und Schutz gesunder Pferde durch ein Serum angegeben, welches unter Vorbehandlung mit jenem Coccus aus Pferden und Rindern gewonnen wurde.

Die Mitteilung Willerdigs veranlaßt mich, Untersuchungen bekannt zu geben, welche ich im Mai und Juni d. J. im 2. und 11. bayr. Feld-Art.-Reg. zu Würzburg anzustellen Gelegenheit hatte. Die Herren Stabsveterinäre Müller und Morhardt haben mich bei der Ausführung dieser Untersuchungen in liebenswürdigster Weise unterstützt.

Bei genannten Regimentern, deren Ställe bis jetzt zusammenlagen, entstand durch Einschleppung eine ziemlich ausgedehnte Brustseuchepidemie. Bei der Vornahme der Untersuchungen ging ich von der ja überhaupt bekannten Beobachtung aus, daß bei menschlichen Infektionskrankheiten, Typhus, Paratyphus, Genickstarre, croupöse Lungenentzündung, beim ersten Beginn der Erkrankung die Erreger im Blute gefunden werden können, demnach solche Krankheiten zunächst gewissermaßen eine Bakteriämie darstellen, welcher spezifische Lokalisierungen im Körper folgen. Eine ähnliche Annahme schien für die Brustseuche der Pferde naheliegend.

Die Blutentnahme wurde nach peinlicher Säuberung, Rasierung und Desinfizierung der Haut mit der Fliete aus der Halsvene gemacht in der Weise, daß das im Strahl hervorspritzende Blut aufgefangen wurde; es dürften daher von der Haut stammende Verunreinigungen auszuschließen sein. Von dem Blute wurden 10 ccm in großen Reagierröhren aufgefangen, welche mit 10 ccm einer Nährlösung beschickt waren, die ähnlich dem Vorgang von Conradi für die Züchtung von Typhusbacillen aus Blut, zu $\frac{1}{2}$ aus sterilisierter Galle und zu $\frac{1}{2}$ aus neutraler Bouillon bestand; zur Verhütung der Gerinnung wird die Mischung sofort leicht geschüttelt. Sie blieb 24 Stunden bei $37,5^{\circ}$ C, alsdann wurden Ausstriche auf Serumagar bzw. Kutscherschem Agar (Placentabouillon-Rinderserum-Peptide de Chapoteaut-Mischung) gemacht. Die Resultate finden sich in Tabelle I. Es ergibt sich, daß bei 16 Blutproben und einer Sektion ein positives Ergebnis erschien, daran nehmen teil 3 Pferde

mit Blutentnahme am 1. Tage der Erkrankung, 2 Pferde am 2. Erkrankungstage, 1 Pferd am 3. Erkrankungstage; bei dem gefallenem Tiere ergab nur die Herzbeutelflüssigkeit einen einwandfreien Befund; bei einem Pferde verlief die Untersuchung am 1., 5. und 10. Krankheitstage negativ, bei einem weiteren am 2. Tage, bei 3 am 3. Tage. Das Blut eines unter den verseuchten Tieren stehenden gesunden Pferdes war steril; bei einem Pferde (Frage), welches am 1. Tage positiven Befund ergab, fand sich nach 4 und 9 Tagen nichts mehr.

Tabelle I.

Datum der Blutentnahme	Name des Pferdes	Erkrankungstag	Wachstum aus Blut auf Serumagarplatten nach Vorkultur in Gallebouillon	Blutausstrichpräparat	Gruber-Widalsche Reaktion des Blutes gegen den <i>Diplococcus lanceolatus</i> (Stamm Frieda)
21. Mai 08	Diocletian	1.	<i>Diplococcus lanceolatus</i> <i>Staphylococcus albus</i>	Traubenförmige Degeneration d. Lymphzellen	1:10 +, 1:20 ±, 1:30 —
23. „ 08	Ziska	1.	steril	normal	1:10 —
22. „ 08	Frieda	2.	<i>Diplococcus lanceolatus</i>	„	1:50 +, 1:100 —
23. „ 08	Gisela	1.	„	wie No. 1	1:25 +, 1:50 —
24. „ 08	Frage	1.	<i>Staphylococcus albus</i> <i>Diplococcus lanceolatus</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	„ „ 1	1:10 +, 1:20 ±, 1:30 —
27. „ 08	Weihe	gesund	steril	normal	1:10 —
27. „ 08	Ziska	5.	„	„	1:10 ±
27. „ 08	Derwisch	3.	„	„	1:25 +, 1:50 —
27. „ 08	Eulalia	3.	„	„	1:25 +, 1:50 —
27. „ 08	Frage	4.	„	wie No. 1	1:20 +, 1:40 —
1. Juni 08	Zenobia	verendet (17. Tag)	Herzbeutelflüssigkeit: <i>Diplococcus lanceolatus</i>	—	1:25 +, 1:50 —
1. „ 08	Grete	2.	steril	normal	1:10 —
1. „ 08	Herold	3.	<i>Diplococcus lanceolatus</i>	„	1:10 ±, 1:20 —
1. „ 08	Berta	3.	steril	„	1:10 —
1. „ 08	Ziska	10.	„	„	1:25 +, 1:50 —
1. „ 08	Frage	9.	„	„	1:30 +, 1:40 ±, 1:50 —
9. „ 08	General	2.	<i>Diplococcus lanceolatus</i>	„	1:10 ±

Die Untersuchung des Blutausstriches von 9 anderen kranken Pferden ergab bei 2 Pferden wieder die Degeneration der Lymphocyten, der sonstige Befund war negativ.

Die Blutausstrichpräparate ergaben unter 26 Entnahmen 6mal die lange bekannte, traubenförmige Degeneration des Plasmas der Lymphzellen des Blutes, sonst war kein Befund zu erheben.

Bei den 7 Pferden mit positivem Blutbefund fanden sich bei 2 Pferden (No. 1 und 4) im Blute Kokken, welche nach ihrem biologischen Verhalten bzw. dem Resultat der Verimpfung auf Mäuse als *Staphylococcus pyogenes albus* zu bezeichnen sind, bei einem 3. Pferde (No. 5) wurde *Staphylococcus pyogenes aureus* identifiziert; diese *Albus* und *Aureus* wichen nur insofern etwas ab, als sie sehr langsam, erst nach 5—6 Tagen Gelatine verflüssigten, die Gram-Färbung nach Loeffler nur teilweise annahmen und dabei eigentümliche Teilungsfiguren zeigten, so daß die Kokken in der Mitte mit einem feinen Bande versehen zu sein schienen.

Im Blute von 6 kranken Pferden und in der Herzbeutelflüssigkeit des gefallenem fand sich ein Bakterium, welches nähere Besprechung verdienen dürfte: Dasselbe war ein sehr kleiner Doppelcoccus, welcher im

Klatschpräparat dort, wo er in größeren Verbänden zusammenliegt, leicht länglich-runde Individuen zeigt, während die Doppelkokken dort, wo sie einzeln liegen, ausgesprochene Lanzettform haben, wobei die beiden Kokken mit den spitzen Enden sich berühren und ferner in einem spitzen Winkel zueinander stehen, so daß die Form einer gekrümmten Hantel erscheint. Eine Kapselbildung konnte ich weder in Kulturen noch in Ausstrichpräparaten aus Mausblut beobachten. In dem folgenden Abschnitt finden sich die Eigenschaften des Coccus zusammengestellt, soweit die Untersuchung bis jetzt abgeschlossen ist. Es wäre speziell darauf hinzuweisen, daß der Coccus nur auf solchen Nährböden ein einigermaßen gutes Fortkommen findet, welchen Serum zugesetzt wurde, das nicht über 60° C erhitzt ist. Wesentlich scheint mir auch der Umstand, daß die Serumkulturen, im Gegensatz zu sonstigen Diplokokken, nicht sehr empfindlich sind, da sie bis zu 14 Tagen übertragbar bleiben, auch Austrocknung wird verhältnismäßig gut, bis zu 3 Tagen, ertragen. Ein Stamm blieb bei starker Austrocknung des Nährbodens vom 23. Juli bis zum 7. Nov. übertragbar.

Biologische Eigenschaften des *Diplococcus lanceolatus*.

Der Coccus ist gegenüber dem Loefflerschen Verfahren der Gram-Färbung absolut gramnegativ.

Gelatine: Kein Wachstum. Traubenzuckeragar: Kein Wachstum. Bouillon: Geringer Bodensatz. Glycerinagar: Aus dicken Aussaaten nur einzelne feinste Kolonien wachsend, die nach 3 Tagen abgestorben sind. Nutroseagar: Kein Wachstum. Milch: Nicht gerinnend. Lackmusmolke: Spur rotviolett nach 2 Tagen. Neutralrotagar: Feinster Schleier um den Einstich, im Stich kein Wachstum. Serum: Feiner Rasen aus einzelstehenden, durchsichtigen, punktchenartigen Kolonien. Serumagar: Feiner Rasen aus graulichen, einzelstehenden, punktchenförmigen, etwas erhabenen Kolonien. Kutscher-Agar: Rasen aus einzelstehenden, graulichen, gewöhnlich nur punktgroßen, manchmal fein tautröpfchenartigen Kolonien; unter der Lupe grau und undurchsichtig, Ränder leicht unregelmäßig. Kutscher-Bouillon: Nach 2 Tagen dick, gelblichmilchig getrübt. — Die Kulturen bleiben auf Serumnährböden bis zu 14 Tagen noch übertragbar. 10 Minuten langer Aufenthalt im Wasserbad von 56° C tötet sie sicher ab. Aus Seidenfäden, die in Kutscher-Bouillonkulturen getaucht und dann im Brutschrank bei 37,5° C getrocknet waren, ließ sich nach 3 Tagen kein Wachstum mehr erzielen. Solche Seidenfäden, 1 Tag alt, bezw. Granaten in Kutscher-Bouillonkultur getaucht und getrocknet, ließen, mit $\frac{1}{10}$ -prozent. Sublimatlösung 5 Minuten zusammengebracht und sofort mit sterilem Wasser gespült, keine Kolonien mehr auskeimen.

Was die Tierversuche betrifft (siehe Tabelle II), so stimmen dieselben mit denen Willerdings insofern überein, als es mir nicht gelang, mit dem Blute kranker Tiere, selbst solcher, bei welchen sich der *Diplococcus* fand, Kaninchen bei intraperitonealer Verimpfung zu infizieren. Die Kokken sind für die gebräuchlichen Versuchstiere entschieden nicht sehr pathogen; dies geht auch aus den Versuchen an Mäusen hervor (siehe Tabelle II), bei welchen verhältnismäßig große Dosen von Impfmateriel ziemlich lange Zeit gebrauchten, um den Tod der Tiere herbeizuführen; erst die wiederholte Passage des Stammes Frieda gab diesem größere Virulenz, doch mußte immer noch $\frac{1}{2}$ ccm Kutscher-Bouillonkultur verwendet werden, um in 48 Stunden zu töten. Der Sektionsbefund war nur bei 3 Mäusen einigermaßen charak-

Tabelle II.
Tierversuche.

Datum					
a) Kaninchen.					
1. Juni	1908	10 ccm Blut + Gallebouillon aus Grete			intraperitoneal: Tier bleibt gesund
1. "	1908	10 " " + " " Herold (Dipl. lanceol.)			" " " "
1. "	1908	10 " " + " " Eulalia			" " " "
1. "	1908	10 " " + " " Ziska			" " " "
1. "	1908	10 " " + " " Derwisch			" " " "
1. "	1908	10 " " + " " General (Dipl. lanceol.)			" " " "
b) Mäuse.					
3. Juni	1908	Dipl. lanceol. aus Blut Frage 1	Oese 2 Tage alter Serumagarkultur in $\frac{1}{2}$ ccm Bouillon subkutan	10. Juni krank; 13. Juni †: Milz doppelt vergrößert; Herzblut und Milz: Diplococcus lanceolatus	
3. "	1908	Desgl. aus Blut Gisela	wie oben	13. Juni krank; 20. Juni †: Kein besonderer Befund; Herzblut: Diplococcus lanceolatus	
3. "	1908	Desgl. aus Blut Frieda	" "	11. Juni krank; 24. Juni †: Doppel-seitige katarrhalische Pneumonie der Oberlappen; hämorrhagische Nierenentzündung, Weichendrüsen dunkelblaurot, stark vergrößert. Herz und Milz: Diplococcus lanceolatus	
5. "	1908	Desgl. aus Blut Diocletian	$\frac{1}{2}$ ccm 4 Tage alter Kutscher-Bouillonkultur subkutan	1. Juli †: Große Milz, doppel-seitige disseminierte, katarrhalische Pneumonie; Herzblut: Diplococcus lanceolatus	
5. "	1908	Desgl. aus Mausblut Frage 13. Juni	wie oben	6. Juli †: Befund wie oben	
5. "	1908	Desgl. aus Mausblut Gisela 20. Juni	" "	6. Juli krank; 10. Juli †: Große Milz, bläulich-diffuse Verfärbung d. Lungen. Herzblut: Diplococcus lanceolatus	
5. "	1908	Desgl. aus Mausblut Frieda 24. Juni	" "	29. Juni krank; 29. Juni †: Große Milz; linke Weichendrüse blaurot, stark vergrößert; kleinste blaurötliche katarrhalisch-pneumonische Herdchen in beiden Lungen. Herzblut und Milz: Diplococcus lanceolatus	
9. Juli	1908	Desgl. aus Mausblut Frieda bends 7 Uhr 29. Juni	" "	11. Juli morgens krank; mittags 4 Uhr †: Große Milz, Lungen unverändert. Milz und Herzblut: Diplococcus lanceolatus	
9. Juli	1908	Desgl. aus Mausmilz Frieda bends 7 Uhr 29. Juni	" "	12. Juli †: Befund wie oben	
c) Meerschweinchen.					
4. Juli	1908	Dipl. lanceol. aus Mausblut Frieda 11. Juli	2 ccm 2 Tage alter Kutscher-Bouillonkultur intraperitoneal	Bleibt gesund	
4. "	1908	Desgl. aus Mausblut Frieda 11. Juli	2 ccm Kutscher-Bouillonkultur + 6 ccm Butter intratoneal	† Nacht vom 15. zum 16. Juli: Fibrinös-schwartige Peritonitis; katarrhalische Pneumonie der linken Lunge, Milztumor; Herzblut: Diplococcus lanceolatus	

teristisch, indem sich eine doppelseitige disseminierte, katarrhalische Pneumonie, je nach der Dauer der Erkrankung stärker vorgeschritten, eingestellt hatte. Der Versuch an Meerschweinchen, welchen gleichzeitig Butter eingespritzt wurde, ergibt, daß bei dieser Methode der *Diplococcus* in ähnlicher Weise wie eine Reihe anderer sonst weniger pathogener Bakterien infektiöse Eigenschaften zu entfalten vermag. Am 16. Okt. wurden 3 Meerschweinchen, das 1. subkutan, das 2. intraperitoneal, das 3. intraperitoneal und mit Butter geimpft, jeweils 1 ccm 4 Wochen alte Kutscher-Bouillonkultur. Tier 1 erkrankte 24. Okt. mit Husten, verendet 31. Okt., Herzbeutel verdickt, Lungen mit Brustkorb verwachsen, kontrahieren sich nicht, haben diffuse tiefrote kleine Herde, Schwellung des Penis und der Aftergegend. Histologisch katarrhalische Pneumonie mit den Diplokokken. — Tier 2 seit 25. Okt. Abszeß am Hals, darin die Diplokokken und albus, seit 24. Okt. Husten, verendet 1. Nov., katarrhalische Entzündung der rechten Lunge, diffuse Herdchen in der linken. — Tier 3 seit 31. Okt. Husten, 6. Nov. Lähmung der Hinterbeine und Tod. Darm- und Mageninhalt blutig verfärbt, Lungen katarrhalische tiefblaurote Herde, Uterus an der Hörnervereinigung dunkelblaurot, Niere punktförmige Blutungen. Die Gruber-Widalsche Reaktion des Blutes der untersuchten Pferde (siehe Tabelle I) wurde makroskopisch mit mikroskopischer Kontrolle mit dem aus Pferd Frieda gezüchteten Stamme an gestellt, 12 Stunden Einwirkung bei 37,5° C. Sie war bei dem gesunden Tier (No. 6) sowie den kranken (No. 12 und 14) negativ, No. 13 und 17 gaben nur den Grenzwert 1:10. Wesentlicher scheint folgendes: Diocletian hat Grenze 1:20, 4 Pferde (No. 4, 8, 9, 11) haben positive Reaktion noch bei 1:25, der eigene Stamm wird von No. 3 bis 1:50 agglutiniert. Bei Ziska und Frage findet sich eine richtige Steigerung der Agglutination während der Erkrankung und Genesung, wie ich sie bei Typhus, Paratyphus, Ruhr, Genickstarre beobachten konnte. Diese Steigerung der Agglutination während des Verlaufes der Krankheit und in der Genesung ist dort so typisch, daß ich wiederholt in ärztlichen Vereinssitzungen, Konferenzen etc. darauf hinwies, daß die Steigerung, selbst in niedrigen Werten, z. B. von 1:10 auf 1:20, wie dies gerade bei schweren Fällen oft nur der Fall ist, wesentlich für die Diagnose sei. Wollte man den Satz umkehren, so würde die Steigerung der Widalschen Reaktion gegenüber einem bestimmten Bakterium diesem für die betreffende Krankheit eine gewisse Spezifität zusprechen. Jedenfalls ist das Verhalten der Reaktion, auch bei solchen Pferden, in deren Blut der *Diplococcus* sich nicht fand, gegenüber dem Stamm Frieda nicht ohne Interesse, wenn auch die Reaktion, wie oft bei Kokken, nur in niedrigen Verdünnungen positiv war. Gleichwohl ist dem Umstande Rechnung zu tragen, daß durch Mitagglutination eine spezifische Reaktion vorgetäuscht sein kann.

Es wäre noch zu erwähnen, daß ein Zusammenhang zwischen der Schwere der Erkrankung und dem Befund der Kokken nicht zu bestehen scheint, auch nicht hinsichtlich von Komplikationen: Das Pferd Frage, bei welchem *Aureus* und *Lanceolatus* sich im Blute fanden, litt nur 2 Tage an Fieber und bronchitischen Erscheinungen.

Irgendwelche weitgehende Schlüsse können natürlich aus den wenigen Untersuchungen nicht gezogen werden; es dürfte wohl gar nicht so unmöglich sein, daß, ähnlich wie bei der Pneumonie oder Genickstarre des Menschen, so auch bei der Brustseuche der Pferde, verschiedene Erreger bei den sporadischen wie bei den gehäuften Erkrankungen in Betracht kommen, womit dann die Unwirksamkeit mancher Schutzimpfungsversuche

eine Erklärung fände. Es dürfte sich aber vielleicht doch empfehlen, die von mir angewandte Methode der Untersuchung des Blutes gleich bei Krankheitsbeginn mit Anreicherung in Gallebouillon und Aussaat auf Ascites- oder Kutscher-Agar einer Nachprüfung speziell auch hinsichtlich des dabei gefundenen *Diplococcus lanceolatus* zu unterziehen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Uebertragung der Tollwut durch die Nasenschleimhaut.

[Hygienisches Institut der Königl. Universität Sassari
(Leiter Prof. Cl. Fermi).]

Von Dr. **Romolo Repetto.**

Da ich einiger persönlicher Forschungen wegen die Wutinfektion bei Ratten durch die Nasenschleimhaut hindurch, wie sie bei diesen Tieren zuerst von Prof. Fermi erzielt wurde, vorzunehmen gezwungen war, halte ich es nicht für bedeutungslos, diese meine Versuche, welche eine so wichtige Tatsache bestätigen, besonders mitzuteilen.

Prof. Fermi war in einer seiner Arbeiten zu den folgenden Schlußsätzen gelangt:

1) Daß alle Muriden, und besonders die schwarzen Ratten, bei denen unter größter Vorsicht die Nasenhöhle mit Emulsion von fixem Virus aus dem Institute zu Sassari benutzt wurde, ohne Ausnahme an der Tollwut zugrunde gingen.

2) Daß ein Teil der Ratten am 6. Tage Lähmung aufwies und am 7. Tage verendete, andere hingegen am 8. Tage Lähmung aufwiesen und am 9. Tage zugrunde gingen, folglich mit einer Verspätung von einigen Tagen.

Versuchsmethode. Mit einem mit fixer 5-proz. Virusemulsion durchtränkten Watteknäulchen benetzte ich 3 Tage hindurch einmal täglich die Nasenschleimhaut der Ratten, wobei ich es vermied, Verwundungen oder Abrasion des Epithels zu verursachen.

Die von mir angestellten Versuche sind kurz die folgenden:

Versuch (24. Juli 1907): 5 schwarze Ratten werden nacheinander täglich 3mal mit fixem Virus aus dem Pasteurschen Institute zu Sassari auf der Nasenschleimhaut infiziert.

Resultat: Eines der Tiere weist am 30. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und verendet am selben Tage um 7 Uhr abends; ein anderes weist am 31. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am selben Tage 4 Uhr nachm., ein drittes weist ebenfalls am 31. Juli 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 1. Aug. um 9 Uhr vorm. Die beiden anderen bleiben am Leben.

Aus diesen Versuchen ergibt sich:

1) Daß 3:5 schwarze Ratten, deren Nasenschleimhaut mit einer Emulsion von fixem Virus aus Sassari benetzt wurde, an der Wut zugrunde gingen, d. h. es zeigte sich eine Sterblichkeit von 60 Proz.

2) Daß ein Teil der Ratten am 6. Tage Lähmung aufwies und am 7. Tage verendete und andere am 7. Tage Lähmung aufwiesen und am 8. Tage starben.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen über einige Angaben in der Arbeit „Lipschütz, Ueber mikroskopisch sichtbare, filtrierbare Virusarten“¹⁾.

Von Prof. **V. Babes**, Bukarest.

In der im Titel erwähnten Arbeit behauptet Herr Lipschütz bei Gelegenheit der Besprechung der kleinen Körperchen, welche ich bei Wut in den Nervenzellen der am meisten ergriffenen Stellen des Nervensystems gefunden habe, daß mir „der Nachweis der Körperchen ausschließlich in nach Ramón y Cajal imprägnierten Schnitten gelungen sei“.

Dies ist nicht ganz richtig, nachdem ich in meiner Arbeit „Untersuchungen über Negris Körperchen etc.“ (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LVI. 1907) an zahlreichen Stellen feststellte, daß dieselben auch nach Giemsa gefärbt werden können, was auch aus den Abbildungen ersichtlich ist.

Auch in den Schlußfolgerungen zeigte ich, daß die Körperchen sich nach Cajal-Giemsa schwarz (Silber) oder blau (Giemsa) färben. Allerdings ist die Blaufärbung mittels reiner Giemsa-Färbung weniger scharf.

Die Körperchen färben sich aber, wenn auch nicht immer, nach Beizung (nach Loeffler), wie aus meiner Arbeit im Atlas der pathologischen Histologie des Nervensystems. 1896. Taf. IV, sowie aus meiner Mitteilung an die rumänische Akademie, zitiert in meiner Arbeit über Negrische Körperchen p. 437, ersichtlich ist, während dieselben bei einfacher Färbung mit Anilinfarben nicht dargestellt werden konnten.

Noch muß ich bemerken, daß ich die Körperchen am besten in Schnittpräparaten darstellen konnte. Allerdings sieht man derartige Gebilde auch in Ausstrichen, doch muß ich gegen die Behauptung von H. Lipschütz protestieren, „daß letztere Präparate viel einfachere Beobachtungsverhältnisse bieten“.

Ausstrichpräparate sind allerdings bequemer und schneller darzustellen, doch sind, namentlich im Zentralnervensystem, an Ausstrichen die Beobachtungsverhältnisse viel ungünstiger, als in feinen, sorgfältig behandelten Schnitten, da ja in den Ausstrichen alle Gewebe zerstört, im höchsten Grade derangiert und disloziert sind und Granulationen der verschiedensten Natur und Färbbarkeit entstehen, so daß infolgedessen von einer genauen Bestimmung nicht nur der charakteristischen Lokalisation, sondern auch der Natur der Granulationen an solchen Präparaten kaum die Rede sein kann.

Wenn demnach jemand die feinen Körperchen, sowie ihre Reaktion, ihre Form und Topographie an Schnittpräparaten des Zentralnervensystems feststellt, kann man demselben hieraus doch keinen Vorwurf machen!

Es geht demnach nicht an, zu behaupten, daß meinen Befunden „keine Bedeutung beigelegt werden kann“, weil ich die Körperchen an Schnittpräparaten dargestellt habe, und zu behaupten, daß ich die Körper-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. Heft 1.

chen ausschließlich an nach Ramón y Cajal imprägnierten Schnitten gefunden habe.

Daß H. Lipschütz bei Wut an Ausstrichen keine eindeutigen Resultate erhalten hatte, ist wohl hauptsächlich dadurch zu erklären, daß dieser Autor mit einer minderwertigen Methode arbeitete.

Nachdruck verboten.

Ueber die Uebertragung eines menschlichen syphilitischen Primäraffektes auf die Haut des Kaninchens.

[Aus dem Institute für spezielle Pathologie der K. Universität Pavia
(Prof. M. Ascoli).]

Von Privatdozent Dr. **M. Truffi.**

Mit 1 Figur.

Nach den interessanten Untersuchungen Bertarellis über die Uebertragbarkeit der Syphilis auf die Hornhaut des Kaninchens hat einige Zeit hindurch die Meinung geherrscht, daß die Haut dieses Tieres für das syphilitische Virus nicht empfänglich sei.

Hoffmann (Verein f. inn. Med. 18. Mai 1908 und Deutsche med. Wochenschr. No. 27) war der erste, der die Möglichkeit dargetan hat, spezifische Läsionen auf der Haut des Kaninchens zu erzeugen. Durch Einspritzung von einem Primäraffekte entnommenem Reizserum in die Hodensubstanz eines Kaninchens gelang es ihm, auf der Bauchhaut an der Einstichstelle eine Erosion mit infiltrierten Rändern und positivem Spirochätenbefund hervorzurufen.

Fast gleichzeitig hatten Levaditi und Yamanouchi (Soc. de Biol. 30 mai 1908) den Versuch gemacht, Stückchen von syphilitischer Cornea unter die Haut der Innenfläche des Ohres und unter die Schleimhaut des Präputiums zu injizieren. An der ersteren Stelle hatten die Inokulationen negativen Erfolg, an der letzteren hingegen konnten die genannten Autoren eine Ausbreitung der Spirochäteninfektion vom inokulierten Stückchen aus in das Nachbargewebe feststellen; jedoch werden die an der Inokulationsstelle eingetretenen makroskopischen Veränderungen nicht näher beschrieben.

Einige Tage später demonstrierte Ossola der Medizinischen Gesellschaft zu Pavia (Sitzung vom 5. Juni 1908) ein Kaninchen, das mit einem charakteristischen, auf dem Scrotum durch Inokulation eines Stückchens einer syphilitischen Kaninchencornea hervorgerufenen Syphilom behaftet war.

Im Laufe einiger einschlägigen Untersuchungen ist es mir gelungen, beim Kaninchen die Syphilis auf die Haut der Scrotalgegend, und zwar direkt von einem menschlichen Primäraffekt, unzweifelhaft zu übertragen, und ich will hier kurz über das gewonnene Ergebnis berichten:

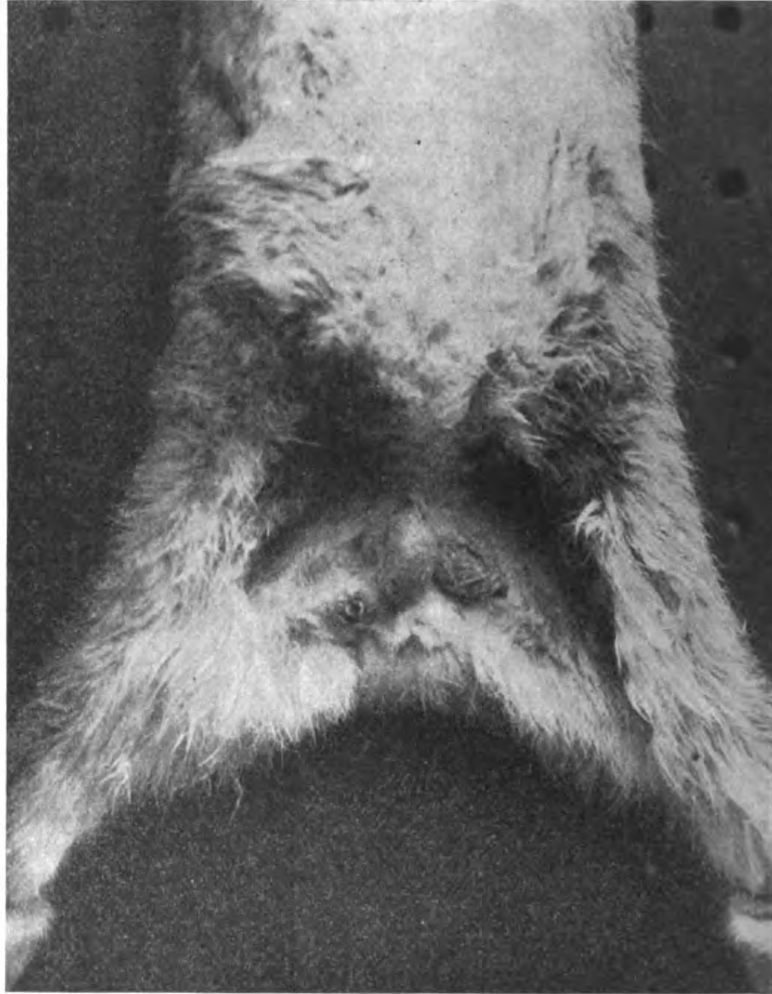
Großes, graues Kaninchen. Inokuliert am 16. Juni 1908 mit dem aus einem seit 15 Tagen bestehenden Primäraffekt eines menschlichen Präputiums durch Kompression erhaltenen spirochätenreichen Serum; es wird ca. 0,1 ccm davon in den rechten Hoden injiziert.

Am nächstfolgenden Tage beträchtliches Oedem und Infiltration des Scrotums und der umliegenden Haut. Das Oedem bleibt 3—4 Tage lang bestehen, worauf es verschwindet.

Einige Tage hindurch lassen sich in demselben Hoden begrenzte Infiltrationszonen palpieren, die später allmählich wieder zur Resorption gelangen.

Am 18. Aug. kein nennenswerter Befund in der betreffenden Gegend, außer einer sehr schwachen Verdickung an der Einstichstelle am unteren Teil des rechten Scrotums.

Am 27. Aug. hat sich an der soeben erwähnten Stelle ein 1 cm im Durchmesser betragendes Geschwür gebildet. Dasselbe ist mit einer dicken Kruste bedeckt, nach deren Entfernung ein ungleichmäßig gestalteter, mit hohen, senkrechten, außen in eine harte, rotblau gefärbte Infiltrationszone übergehenden Rändern umgebener, mißfarbener Grund sichtbar wird (siehe Figur). Keine palpierbaren Leistendrüsen. Der Hoden ist



Uebertragung syphilitischen Primäraffektes auf das Scrotum des Kaninchens.

im Scrotum frei beweglich. In dem von den Rändern abgekratzten Detritus finden sich sehr zahlreiche *Spirochaetae pallidae* (Giemsa).

Am 17. Sept. besteht die Ulceration weiter fort, wenn auch weniger tief das periphere Infiltrat hat beträchtlich abgenommen; keine Inguinaldrüsen fühlbar.

In weiteren 4 Tagen war das Geschwür geheilt.

Die von mir beim Kaninchen erzielte Läsion weist alle makroskopischen Merkmale eines syphilitischen Primäraffektes auf. Die Diagnose fand in der histologischen Untersuchung eines aus dem Rande ausgeschnittenen Fragmentes ihre Bestätigung. Das kompakte Infiltrat besteht größtenteils aus Plasmazellen, zum kleineren Teil aus Lymphocyten und Fibroblasten; spärliche polymorphkernige Leukocyten, wovon einige eosinophil.

Die Gefäßwandungen sind nicht sehr stark verändert. In den nach der Methode von Volpino und Bertarelli behandelten Schnitten gewahrt man äußerst zahlreiche, charakteristische, vorzugsweise die perivaskulären Zonen der mittleren Dermasschichten einnehmende Spirochäten.

Vorliegende Beobachtung bestätigt die Empfänglichkeit der Kaninchenhaut für die syphilitische Infektion vollkommen. Die Haut des Kaninchens reagiert gegen das syphilitische Virus mit den gleichen Erscheinungen, wie die des Menschen, möge ersteres durch corneale Passagen (Levaditi, Ossola) eine Anpassung an den Organismus erfahren haben, oder aber unmittelbar von einer menschlichen Läsion übertragen werden (Hoffmann und vorliegende Beobachtung). In letzterem Falle scheint die Inkubationszeit eine bedeutende Verlängerung zu erfahren (von 34 Tagen im Falle Hoffmanns bis zu 2 Monaten in meinem). Ausdrücklich hervorgehoben zu werden verdient noch der Umstand, daß eine Beteiligung der Lymphdrüsen am syphilitischen Prozeß in meinem und Hofmanns Falle nicht beobachtet wurde, während hingegen Ossola eine solche verzeichnet. Möglicherweise ist dieser Unterschied auf die von Ossola durch die Kaninchenpassage hervorgerufene Anpassung an den tierischen Organismus zurückzuführen¹⁾.

Pavia, 25. Sept. 1908.

Nachdruck verboten.

Uebertragung der Syphilis auf Mäuse.

Vorläufige Mitteilung²⁾.

Von J. Siegel, Berlin.

Bereits im Jahre 1905 hatte ich eine größere Reihe weißer Mäuse mit Lues geimpft und zweimal skleroseähnliche Hautaffekte erzeugt. Der klinische Verlauf und das mikroskopische Bild der Affekte (siehe Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 2) ließen mich den Verdacht aussprechen, daß es sich hier um eine positive Uebertragung der Syphilis auf Mäuse handele.

Diese Untersuchungen wurden vor einem halben Jahre wieder aufgenommen in der Hoffnung, vielleicht bei ganz jungen Mäusen weitergehende Resultate zu erzielen.

Eine größere Anzahl erst 2 Tage alter Mäuse wurde kutan und subkutan mit syphilitischem Material geimpft. Hierbei wurde auf möglichste Bakterienreinheit des Impfstoffes geachtet; besonders aber wurde Verunreinigung des Ausgangsmaterials mit irgendeiner Spirochätenart ausgeschlossen, damit nicht etwa durch Mitwuchern dieser Saprophyten

1) Anmerkung während der Korrektur. Inzwischen ist es mir gelungen, mit dem meinem scheinbar geheilten Kaninchen durch Inzision der Narbe am 24. Sept. entnommenen Materiale zwei weitere Kaninchen (an der Cornea und Scrotalhaut) mit positivem Erfolge syphilitisch zu infizieren.

2) Weitere neue Resultate fortgesetzter Syphilisforschung werden in einer größeren Abhandlung Platz finden.

zu verhängnisvollen Irrtümern in bezug auf den Erreger Veranlassung gegeben würde, wie es häufig vorgekommen ist¹⁾).

Bei einem Teil der geimpften Mäuse zeigten sich nach einigen Wochen an der Impfstelle kleine harte Knötchen, bei anderen Störungen in der Haarentwicklung und rote Flecken in der Haut.

Drei der am schwersten erkrankten Mäuse wurden getötet und zur Impfung auf Affen benutzt. Die Leber der beiden ersten, 28 Tage nach der kutanen und 5 Tage nach der subkutanen Impfung getöteten Mäuse erzeugte, auf je eine Augenbraue von drei Affen geimpft, keinerlei Reaktion. Die Milz der dritten, 66 Tage nach der kutanen und 43 Tage nach der subkutanen Impfung getöteten Maus auf die andere Augenbraue derselben Affen geimpft, erzeugte bei einem Affen einen typischen Primäraffekt, genau so wie ich sie sehr häufig bei Uebertragungen virulenten menschlichen Materiales auf Affen gesehen hatte.

Es scheint demnach, daß die Syphilis sich unter bestimmten Umständen auf weiße Mäuse übertragen läßt.

Spirochäten fehlten ebenso wie im Ausgangsmaterial im Primäraffekt des Affen. Das würde der von dem bekannten Syphilisforscher Grünbaum-Leeds auf Grund seiner Untersuchungen an geimpften Schimpansen auf dem diesjährigen englischen Aerktekongreß zu Sheffield ausgesprochenen Bekundung entsprechen, daß Spirochäten nicht die Erreger der Syphilis sind.

Zusatz während der Korrektur: Unterdessen ist der bei einem Affen erzeugte Primäraffekt zu weiteren Impfungen auf 3 Affen benutzt worden und hat bei einem Affen einen typischen Primäraffekt erzeugt. Nunmehr glaube ich, die Uebertragbarkeit der Syphilis auf Mäuse als gesichert betrachten zu können.

Nachdruck verboten.

Ueber die Beeinflussung der Resistenz der roten Blutkörperchen des Kaninchens gegen ein heterogenes Serum durch Alkohol.

Erwiderung an die Herren E. Friedberger und H. Doepner
Von Prof. **Taav. Laitinen**, Helsingfors.

Die Herren E. Friedberger und H. Doepner haben in diesem Centralblatte. Bd. XLVI. Heft 5 die in meiner Publikation in der Zeitschrift für Hygiene. Bd. LVIII. Heft 1 angeführten hämolytischen Versuche, die hauptsächlich von meinem Assistenten, K. F. Hirvisato, wie auf p. 146 derselben Veröffentlichung angegeben ist, ausgeführt wurden, sehr scharf angegriffen.

Ich finde mich dadurch veranlaßt, mit einigen Worten die Mitteilung der genannten Autoren zu berühren, bevor ich die Sache mit größeren Versuchsserien, die ich schon begonnen habe, beleuchten kann.

Die Versuche der Herren Friedberger und Doepner sind nicht

1) Zum Nachweise der Spirochäten wurde nur die allgemein als exakt anerkannte Giemsa färbung angewendet, jedoch weder die seit dem letzten internationalen Hygienekongreß in Berlin als unzuverlässig erwiesene Silbermethode, noch die Dunkelfeldbesichtigung, die sich nach meinen Erfahrungen zur Agnostizierung beweglicher spiraliger Gebilde als *Spir. pallida* nicht eignet.

ganz komparabel mit meinen Versuchen, da die Herren Friedberger und Doepner als Lysin das Serum der mit roten Blutkörperchen des Kaninchens immunisierten Meerschweinchens benutzt haben, ich dagegen normales Rinder Serum. Sie haben die Resistenz der roten Blutkörperchen nur ein einziges Mal bei jedem Tiere untersucht, ich dagegen habe dieselbe bei jedem Tiere 3mal, im Beginn und 2mal unter der Alkoholgebung bestimmt.

Die genannten Herren haben anfangs 8! Kaninchen mit Alkohol behandelt, von diesen sind in der Zeit der Behandlung mehrere, wahrscheinlich wohl die gegen Alkohol am wenigsten resistenten Tiere, gestorben und die Herren komplettieren die Serie mit neuen kräftigen Kaninchen, so daß das Mittelgewicht der alkoholisierten Kaninchen bei der Blutentnahme 2430 g und das der drei mit Wasser behandelten Kaninchen (das Schlußgewicht des einen mit Wasser behandelten Kaninchens ist gar nicht angegeben und ich habe darum das Anfangsgewicht in der Rechnung mitgenommen) nur 1610 g war. Von den 8 im Versuche vorgekommenen Kaninchen waren also vier 126 Tage, eins 111 Tage, eins 35 und zwei 19 Tage unter der Alkoholbehandlung.

Ich habe schon in einer früheren Publikation gesagt, daß einige Kaninchen (einige alte Männchen) wie auch einige Menschen den Alkohol sehr gut vertragen (ich habe damals sogar 191 Tage die Alkoholgebung fortgesetzt). In meinen jetzigen Versuchen war das Gewicht der sämtlichen Tiere (sowohl der mit Alkohol behandelten wie auch der mit Wasser behandelten Tiere) zwischen 1600—2000 g, so daß die Tiermasse beiderseits so gut wie dieselbe war. Ich habe ebenso manche Alkoholals Kontrolltiere gehabt (dies ist bei genaueren Untersuchungen absolut notwendig, weil die Resistenz der verschiedenen Tierindividuen nennenswert variiert). Zu dem ersten Versuche gehörten 11 und zu dem zweiten 10 Versuchstiere (ein Alkoholtier starb und das entsprechende Kontrolltier wurde aus dem Versuche ausgeschieden). Ich habe die Resistenz der roten Blutkörperchen unter der Alkohol- resp. Wasserbehandlung zum erstenmal 18—37 zum zweitenmal 78—89 Tage nach dem Beginne der Alkoholgebung bei denselben Tieren bestimmt, also im ganzen 42mal, dagegen Friedberger und Doepner nur 11mal. Friedberger und Doepner behaupten jedoch, „doch haben wir unsere Tiere zum Teil doppelt so lange usw.“ mit Alkohol behandelt; die in Frage stehenden Zeiten sind schon oben angegeben.

Friedberger und Doepner haben sehr viel mehr Alkohol den Versuchstieren gegeben als ich.

Die genannten Autoren haben meine Meinung: „Das Serum war nie mehr als 7 Tage alt“ mit einer Interjektion versehen und gar nicht daran gedacht, daß ich immer gleichzeitig ein Alkohol- und ein Kontrolltier untersucht habe.

Bei der Bestimmung des Hämolysegrades haben sowohl Friedberger und Doepner als auch ich einen Fehler gemacht, der wirklich die erhaltenen Resultate trüben kann, wir haben nämlich subjektiv ohne eine Farbenskala die Hämolyse geschätzt, und ich habe bei meinen weiteren Untersuchungen gesehen, wie auch schon Madsen¹⁾ bemerkt hat, daß dieses eine unsichere Methode ist. Wenn man aber die Resultate Friedbergers und Doepners genauer durchmustert und die äußerste Grenze der Hämolyse als Maßstab der Resultate ansieht, so sprechen die Resultate Friedbergers und Doepners mehr für als gegen

1) Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforschung. Bd. I. Lief. 1. p. 62.

mich. Bei der Lysinkonzentration von 0,005 haben die Herren bei den nur 3 Kontrolltieren eine „geringe Spur“ nur einmal gefunden, das ist unter 30 Proz. der Fälle, und bei den 8 alkoholisierten Tieren 4mal, das sind 50 Proz. der Fälle. Wenn ich noch die kleine Anzahl der Versuchstiere, bei denen die Hämolyse nur ein einziges Mal bestimmt wurde, und besonders die geringe Anzahl der Kontrolltiere in der Rechnung berücksichtige und die Resultate mehr für mich sprechen sehe, so muß ich die Einwendung Friedbergers und Doepners als durch ihre wenigen Versuche nicht begründet vollständig zurückweisen.

Charakteristisch für Friedberger und Doepner ist es, daß dieselben in einem kursivierten Stücke der Publikation behaupten, daß die Kontrolltiere „gleichlang mit Leitungswasser gefüttert“ wurden wie die Alkoholtiere; aus der Tabelle I sieht man dagegen, daß 2 Kontrollkaninchen nur 35 Tage und eins 109 Tage mit Wasser gefüttert wurde: die Zeiten der Alkoholbehandlung sind schon früher angegeben.

Die Meinung der genannten Autoren, daß die entstehenden Veränderungen eines Tierorganismus im direkten Verhältnisse zu den gegebenen Alkoholmengen stehen, lasse ich in diesem Zusammenhange unberührt. Es sei nur noch hervorgehoben, daß ich in einer früheren Publikation¹⁾ als 4. Schlußfolgerung gesagt habe: „Der Alkohol besitzt keinen Einfluß weder auf die Anzahl der roten Blutkörperchen noch auf den Hämoglobingehalt“, obwohl ich damals sehr große Alkoholmengen angewendet habe und darum meine Resultate auch mir selbst unerwartet waren und mich veranlaßten, die Frage mit genaueren Methoden und größeren Versuchsserien zu prüfen. Diese Arbeiten sind schon lange angefangen worden. Sobald ich selbst oder irgend welche andere dabei die einwandfreie Wahrheit finden, bin ich bereit, dieselbe anzuerkennen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Schwankungen der opsonischen, agglutinierenden und bakteriolytischen Kraft des Serums im Verlaufe der Cholera und über die Entstehung des Choleratyphoids.

Von Dr. T. Amako,

Direktor am städtischen Krankenhause für Infektionskrankheiten zu Kobe (Japan).

Mit 21 Kurven.

Will man die spezifischen Eigenschaften der Sera von Menschen oder Tieren, die irgendeine Krankheit überstanden oder mit irgendwelchen Bakterien geimpft wurden, erforschen, so muß man außer den Agglutininen, Bakteriolytinen etc. auch die Wrightschen Opsonine berücksichtigen, obgleich der Stand der letzteren auf dem Gebiete der Immunlehre noch nicht genau festgelegt ist.

Bei Gelegenheit der Choleraepidemie, die von August bis Dezember 1907 Kobe heimgesucht hat, habe ich Studien über die Schwankungen des Agglutinationsvermögens und der bakteriolytischen, speziell aber der opsonischen Kraft der Sera im Verlaufe der Cholera angestellt.

1) Ueber den Einfluß des Alkohols auf die Empfindlichkeit des tierischen Körpers für Infektionsstoffe. Jena (Gustav Fischer) 1900. p. 209.

Während der Choleraepidemie betrug die Krankenzahl 486; davon wurden 324 in unserem Krankenhause aufgenommen, von denen wir 58 untersuchten.

Bei der Mitteilung meiner Resultate habe ich meinen Stoff in der Weise geordnet, daß ich zuerst die Untersuchungsmethode bespreche, dann die Kurven über das Verhalten der oben genannten drei Antistoffe im Verlaufe der Krankheit mitteile und endlich meine Hypothese über die Entstehung des Choleratyphoides anschließe.

Untersuchungsmethode.

A. Methode des Opsoninversuches.

Bei der Ausführung des Opsoninversuches wurden die Leukocyten von Menschen und Meerschweinchen verwendet. Die Menschenleukocyten wurden aus dem Blut unter Zusatz von Citratlösung (1-proz. Natriumcitrat und 0,85-proz. Kochsalz) in der Weise entnommen, daß 3—5mal zentrifugiert, gewaschen, und dann die Leukocyten von der Oberfläche abpipettiert wurden. Meerschweinchenleukocyten wurden nach Bouilloninjektion aus der Bauchhöhle entnommen und ebenso behandelt.

Die Sera von Menschen wurden teils von Blut, das aus der Fingerspitze stammte, teils von durch Blasenpflaster erzielten Hautblasen gewonnen.

Die Choleravibrionen, die ich benutzte, stammen von einem typischen Cholerafall aus unserer Epidemie und besitzen kulturell und biologisch die typischen Eigenschaften von Kochschen Choleravibrionen und hochgradige Virulenz. Zu den Versuchen wurden 13—20-stündige gut gewachsene Agarkulturen verwendet.

Bei den Versuchen über die opsonische Kraft des Serums mischte ich mittels einer meßbaren Kapillarröhre 2 Teile frisches unverdünntes oder verdünntes Serum, 1 Teil Bakterienaufschwemmung (von der oben genannten Kulturmasse stets je 2 mg in 1 ccm einer 0,85-proz. Kochsalzlösung verteilt) und 1 Teil Leukocyten in kleinen Röhrchen. Die Röhrchen wurden 15—30 Minuten im Brutofen bei 37° C aufbewahrt, dann von dieser Mischung das Ausstrichpräparat hergestellt und nach Romanowsky gefärbt. Unter dem Mikroskop wurde dann das Resultat der Phagocytose bestimmt.

Bei Benutzung des unverdünnten frischen Immunserums werden Choleravibrionen meist extracellulär aufgelöst, so daß im ganzen Präparate keine Bakterienleiber oder nur sehr wenige Kügelchen bestehen bleiben und man die opsonische Wirkung des Serums nicht erkennen kann. Wohl aber kann man letzteres bei Benutzung des verdünnten Serums sehr deutlich beobachten. Interessant scheint mir die Beobachtung, daß bei Versuchen mit unverdünntem oder schwach verdünntem (1:2) Serum keine oder geringe opsonische Wirkung zu sehen ist, während bei Versuchen mit demselben, aber verdünntem, Serum wie 1:5, 1:10, 1:20 etc. deutlich opsonische Vorgänge auftreten; es erinnert mich dies an die Agglutinoidzone, die wir bei Agglutinationsversuchen mit altem Serum beobachten. Dieselbe war besonders bei Versuchen mit den Meerschweinchenleukocyten und Cholerarekonvaleszentenserum von Menschen außerordentlich deutlich. Solche Verhältnisse sind vielleicht einerseits auf eine Schädigung der Leukocyten durch das Fremds Serum, welche nur in konzentriertem Zustande des Serums stattfindet, andererseits auf den Charakter der Opsonine zurückzuführen.

Die eben mitgeteilten Beobachtungen veranlaßten mich bei meinen Versuchen, das Serum stets mit Kochsalzlösung in verschiedenen Konzentrationen zu verdünnen, nämlich 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 etc., und mit jeder Verdünnung zu experimentieren.

Zur Bestimmung der opsonischen Kraft habe ich die Wrightsche Zählungsmethode (1 und 2), die die Zahl der von den Leukocyten einverleibten Bakterien feststellt und durch Division den Durchschnitt gewinnt, vermeiden müssen, da die Vibrionen verhältnismäßig schnell extracellulär oder intracellulär aufgelöst wurden und ihre Färbbarkeit verlieren. Deshalb kann bei Versuchen mit Choleravibrionen die Zählungsmethode nicht die absolute Kraft der Opsonine des benutzten Serums zeigen. Auch Baechers Methode (3), der den Prozentsatz der phagocytierenden Leukocyten bestimmt, war für meine Zwecke nicht geeignet.

Ich bezeichne bei meinen Versuchen, die ich immer mit den oben erwähnten verschiedenen Serumverdünnungen anstellte, die opsonische Kraft statt durch Index oder Prozentsatz mit folgenden Zeichen (wie beim Agglutinationsversuche):

Zeichen +++ : kräftige Phagocytose (unzählbar),
 " ++ : reichliche Phagocytose,
 " + : mittelgradige Phagocytose,
 " ± : geringe Phagocytose,
 " — : sehr geringe oder keine Phagocytose.

Um zunächst die opsonische Wirkung der Sera von normalen Menschen und Cholerarekonvaleszenten auf Choleravibrionen nachzuweisen, habe ich folgende Prüfung angestellt.

Das zu diesem Versuche benutzte Normalserum wurde von einer gesunden, 30-jähr. Frau, das Rekonvaleszentenserum von einem 25-jähr. Mann, bei dem 2 Wochen seit dem Ausbruch der Krankheit verstrichen waren, frisch entnommen. Zum Vergleich wurden eine 0,85-proz. Kochsalzlösung und ein inaktives Serum, das durch 15 Minuten langes Erhitzen des Normalserums auf 60° C erzielt worden war, benutzt. Die Leukocyten wurden von einem Meerschweinchen entnommen. Zu den Versuchen wurden 2 Teile unverdünntes oder verdünntes Serum, 1 Teil Bakterienemulsion und 1 Teil Leukocyten gemischt, diese Mischung bei 37° C 30 Minuten lang im Brutschrank aufbewahrt und dann mikroskopisch untersucht.

Tabelle I.

No.	Verdünnung des Serums	Resultat der Phagocytose		
		bei inakt. norm. Serum	bei akt. norm. Serum	bei Cholerarekonvaleszentenserum
1	unverdünnt	± ⁴⁾	++ ³⁾	? ¹⁾
2	1:5	—	+ ³⁾	+++ ²⁾
3	1:10	—	± ⁴⁾	+++ ²⁾
4	1:20	—	—	++ ³⁾
5	1:40	—	—	+ ³⁾
6	1:80	—	—	± ⁴⁾
7	1:160	—	—	—
8	Kochsalzlösung (ohne Serumzusatz)	keine Phagocytose, ganz intakte Vibrionen		

- 1) Weder intra- noch extracellulär waren Bakterien sichtbar.
- 2) Reichliche intracelluläre Granula und wenige extracelluläre Körnchen.
- 3) Neben intakten Vibrionen intra- und extracelluläre Kügelchen.
- 4) Ganz intakte Vibrionen.

Wie aus dieser Tabelle zu ersehen ist, trat bei Benutzung des inaktiven Serums und der Kochsalzlösung keine sichtbare Phagocytose auf, dagegen konnte man bei Benutzung des aktiven normalen Serums, besonders bei Benutzung des Cholerarekonvaleszentenserums, kräftige Phagocytose beobachten. Den Titer der opsonischen Kraft des zu diesem Versuche benutzten Rekonvaleszentenserums will ich mit 1:80, wie aus Tabelle I zu ersehen ist, bezeichnen. Da aber das Serum und jede Serumverdünnung mit derselben Menge Vibrionenemulsion + Leukocyten verdünnt wurden, so muß die absolute Kraft desselben mit 1:160 bezeichnet werden.

Wenn die bakteriolytische Kraft des Immunserums zu stark ist und dadurch sowohl bei Versuchen mit unverdünntem Serum als auch bei Versuchen mit nur schwach verdünnten Seren die Cholera vibrionen ganz oder meistens extracellulär aufgelöst werden, so kann man die opsonische Kraft des Serums nicht nachweisen. In solchen Fällen inaktivierte ich das Serum vorher durch 15 Minuten langes Erhitzen auf 60° C. Dadurch verliert das Serum seine bakteriolytische Wirkung, zeigt aber dieselbe lebhaft opsonische Kraft, da das Choleraimmunopsonin auch thermostabil ist, ebenso wie andere Immunopsonine. Die Schädigung der Leukocyten durch Fremdserum kann ebenfalls durch Erhitzen des Serums vermieden werden.

B. Methode des Agglutinationsversuches.

Zum Agglutinationsversuche wurden oben erwähntes Serum und Kultur verwendet. Beim Versuche wurden von der Kulturmasse stets je 2 mg in 3 cm Serumverdünnung verteilt, die Gläschen mit der Mischung bei 37° C im Brutschrank aufbewahrt, und nach 3 Stunden das Resultat durch makroskopische Beobachtung festgestellt.

C. Bestimmungsmethode der bakteriolytischen Kraft des Serums.

Bei der Bestimmung der bakteriolytischen Kraft des Serums habe ich den Reagenzglasversuch verwendet. Da bei der Benutzung des frischen aktiven Serums das Phänomen der Komplementablenkung nicht erscheint, so wurde das zu diesen Versuchen benutzte Serum jedesmal frisch entnommen und meist innerhalb 6 Stunden nach der Gewinnung experimentiert.

Um zu der mikroskopischen Beurteilung genügendes Material zu haben, wurde die Bakterienemulsion etwas dichter hergestellt, indem von der oben genannten Agarkultur stets je 2 mg in 5 ccm einer 0,85-proz. Kochsalzlösung, zu welcher vorher etwas Fleischbrühe zugesetzt wurde, verteilt wurden.

Der Versuch wurde derart angestellt, daß in einer Reihe von sterilisierten Glasröhrchen 2 Teile Serum oder Serumverdünnung (1:5, 1:10, 1:20, 1:40 etc.) mit je 1 Teil Vibrionenemulsion mittels einer sterilisierten meßbaren Kapillarröhre zugesetzt wurden. Da das frische Immunserum nur in konzentriertem Zustande die für die Ambozeptoren nötigen Mengen von Komplement enthält, so wurde zu jedem Röhrchen mit der Serumverdünnung 1 Teil einer Verdünnung (1:10) von normalem Kaninchenserum als Komplement zugesetzt.

Zur Kontrolle wurden zwei Mischungen hergestellt, so daß in einer Röhre Vibrionenemulsion und normales Kaninchenserum (1:10), in der anderen Vibrionenemulsion und inaktives Serum (durch 30 Minuten langes Erhitzen auf 60° C erzielt) enthielt.

Die Röhrchen wurden bei 37° C im Brutschranke 1 Stunde lang aufbewahrt (bei der Aufbewahrung über 2 Stunden beginnen die Cholera-vibrionen sich zu vermehren), dann von jeder Mischung Ausstrichpräparate hergestellt, mit verdünnter Fuchsinlösung gefärbt und mikroskopisch untersucht.

Wenn man solche Versuche mit einem kräftigen Cholerarekonvaleszentenserum ausführt, so sind in einem Präparate von der Mischung mit dem unverdünnten Serum keine intakten Vibrionen, sondern nur sehr wenige Kügelchen, auch im ganzen Präparate keine Bakterien sichtbar. In den Präparaten von den Mischungen mit den schwach verdünnten Seren wie 1:5, 1:10, 1:40, 1:80 etc. kann man meist noch den gleichen Befund erheben. Aber je mehr das Serum verdünnt ist, desto geringer wird seine bakteriolytische Kraft und dadurch nehmen die kugelförmigen Gestalten ab, während intakte Vibrionen zahlreich sichtbar werden. In den Präparaten von der Mischung mit sehr schwacher Serumkonzentration, wie 1:1000, 1:5000 etc., ist die Keimzahl sehr groß, und sind kugelige Formen nicht mehr sichtbar, ebenso wie in den Präparaten von den beiden Kontrollmischungen.

Um die mikroskopischen Befunde zu kontrollieren, habe ich gleichzeitig von jeder Mischung Plattenversuche angestellt, in folgender Weise: Mittels meßbarer Kapillarröhren, die ich, wie oben erwähnt, vorher zahlreich herstellte, wurden je 0,01 ccm Mischung von jedem Röhrchen zu Gelatineagar hinzugefügt, der Nährgelatine (20 Proz.) und Nähragar (2 Proz.) zu gleichen Teilen enthielt und zuerst geschmolzen und dann auf 42° C abgekühlt worden war. Derselbe wurde dann in sterilisierte Petrische Schalen gegossen. Die Schalen wurden im Brutschrank bei 37° C 24 Stunden lang aufbewahrt und dann die in den Platten gewachsenen Kolonien der Cholera-vibrionen gezählt.

In folgender Tabelle stelle ich das Resultat meiner Versuche zusammen, die ich mit einem kräftigen Cholerarekonvaleszentenserum ausführte.

Tabelle II.

No.	Serum- verdünnung	Resultat		Zahl der Kolonien in Platten
		Mikroskopischer Befund		
		Zahl der Gestalten	Form der Gestalten	
1	Unverdünntes Serum	steril		0
2	1:5	„		0
3	1:10	2	Kügelchen	20
4	1:20	3	„	50
5	1:40	3	„	ca. 100
6	1:80	5	„	„ 200
7	1:160	7	„	„ 500
8	1:320	15	„	„ 1000
9	1:640	20	„	„ 5000
10	1:1280	ca. 100	teils Kügelchen, teils intakte Vibrionen	„ 10 000
11	1:2560	ziemlich zahlreich	dgl.	„ 20 000
12	1:5000	zahlreich	ganz intakte Vibrion.	∞
13	1:10 000	„	dgl.	∞
Kont- trolle	Inakt. Serum	zahlreich	ganz intakte Vibrion.	∞
	Norm. Kaninch.- Serum (1:10)	„	dgl.	∞

Wie aus dieser Tabelle zu ersehen ist, zeigt der mikroskopische Befund mit dem Resultat des Plattenversuches stets gute Uebereinstimmung. Aus diesem Grunde glaube ich, daß beim Reagenzglasversuche auch durch mikroskopische Beobachtungen die bakteriolytische Kraft des Serums geprüft werden kann (natürlich müssen jedesmal die Plattenversuche ausgeführt und mit dem mikroskopischen Befunde verglichen werden), und daß dies Verfahren bei Versuchen mit Cholera wenigstens sehr brauchbar ist, ebenso wie die Pfeifferschen Peritonealversuche. Da meine Versuche in vitro ausgeführt wurden, so kann man ihnen vorwerfen, daß sie nicht dieselbe Beweiskraft haben wie die am lebenden Körper vorgenommenen Experimente; auf der anderen Seite ist meine Methode so bequem und einfach, daß man mehrmalige Versuche in wenigen Stunden anstellen und jeden Augenblick eine Nachprüfung vornehmen kann.

Schwankungen der opsonischen, agglutinierenden und bakteriolytischen Kraft des Serums im Verlaufe der Cholera.

Wie bekannt, beobachtete Wright, daß die Opsoninkurve des Serums sowohl bei Behandlung mit einer Vaccine, z. B. Neutuberkulin, als auch im Verlauf einer Krankheit stets zuerst sinkt und dann steigt, was er als negative und positive Phase bezeichnet. Aehnliche Beobachtungen wurden schon von einer Reihe anderer Autoren in bezug auf das Verhalten anderer Antistoffe, wie Agglutinin, Bakteriolyisin, Hämolyisin, Antitoxin etc., beschrieben.

In der Tat zerfallen die Kurven der genannten Antistoffe in drei Phasen, wie es Jörgensen (5) betreffs Typhusagglutinin erwähnte:

- I. Phase: Sinken unter die Norm (negative Phase),
- II. Phase: Steigen über die Norm (positive Phase),
- III. Phase: ein abermaliges Fallen, dessen tiefster Punkt aber über der Norm steht.

Wie oben erwähnt, führte ich im ganzen an 58 Fällen von klinisch und bakteriologisch sicheren Cholerakranken die Blutprüfung aus, die im Verlaufe der Krankheit öfters wiederholt wurde. Die erhaltenen Kurven können in 5 Gruppen eingeteilt werden, nämlich:

- I. Gruppe: leichte Fälle,
- II. Gruppe: mittelschwere Fälle,
- III. Gruppe: schwere Fälle,
- IV. Gruppe: letale Fälle,
- V. Gruppe: Cholera-typhoidfälle.

Da die Kurven meistens dem klinischen Verlaufe der Fälle entsprachen, habe ich die Teilung des Materials mit Berücksichtigung des klinischen Verlaufes vorgenommen. In folgenden Figuren gebe ich bloß das Resultat von je 5 Fällen als Repräsentanten ihrer Gruppe.

Gruppe I.

Leichte Fälle.

Als leichte Erkrankungen kann man diejenigen Fälle bezeichnen, in welchen die Stühle breiig oder flüssig und gelblich gefärbt sind, so daß klinisch die Trennung von gewöhnlichem leichten Darmkatarrh kaum möglich ist.

No. 1. T. U., 26 Jahre alter Bauer. Krankheitsbeginn 14. Nov. Aufgenommen 14. Nov. Geheilt entlassen 26. Nov. Serum wurde viermal entnommen und geprüft (Fig. 1).

No. 2. T. K., 19 Jahre alte Arbeiterin. Beg. 15. Okt. Aufg. 15. Okt. Geheilt entlassen 30. Okt. Serum wurde fünfmal entnommen und geprüft (Fig. 2).

No. 4. T. T., 33 Jahre alte Arbeiterin. Beg. 4. Nov. Aufg. 5. Nov. Geheilt entlassen 16. Nov. Serum wurde viermal entnommen und geprüft (Fig. 4).

No. 5. H. S., 49 Jahre alte Arbeiterin. Beg. 1. Sept. Aufg. 1. Sept. Geheilt entlassen 12. Sept. Serum wurde viermal entnommen und geprüft (Fig. 5).

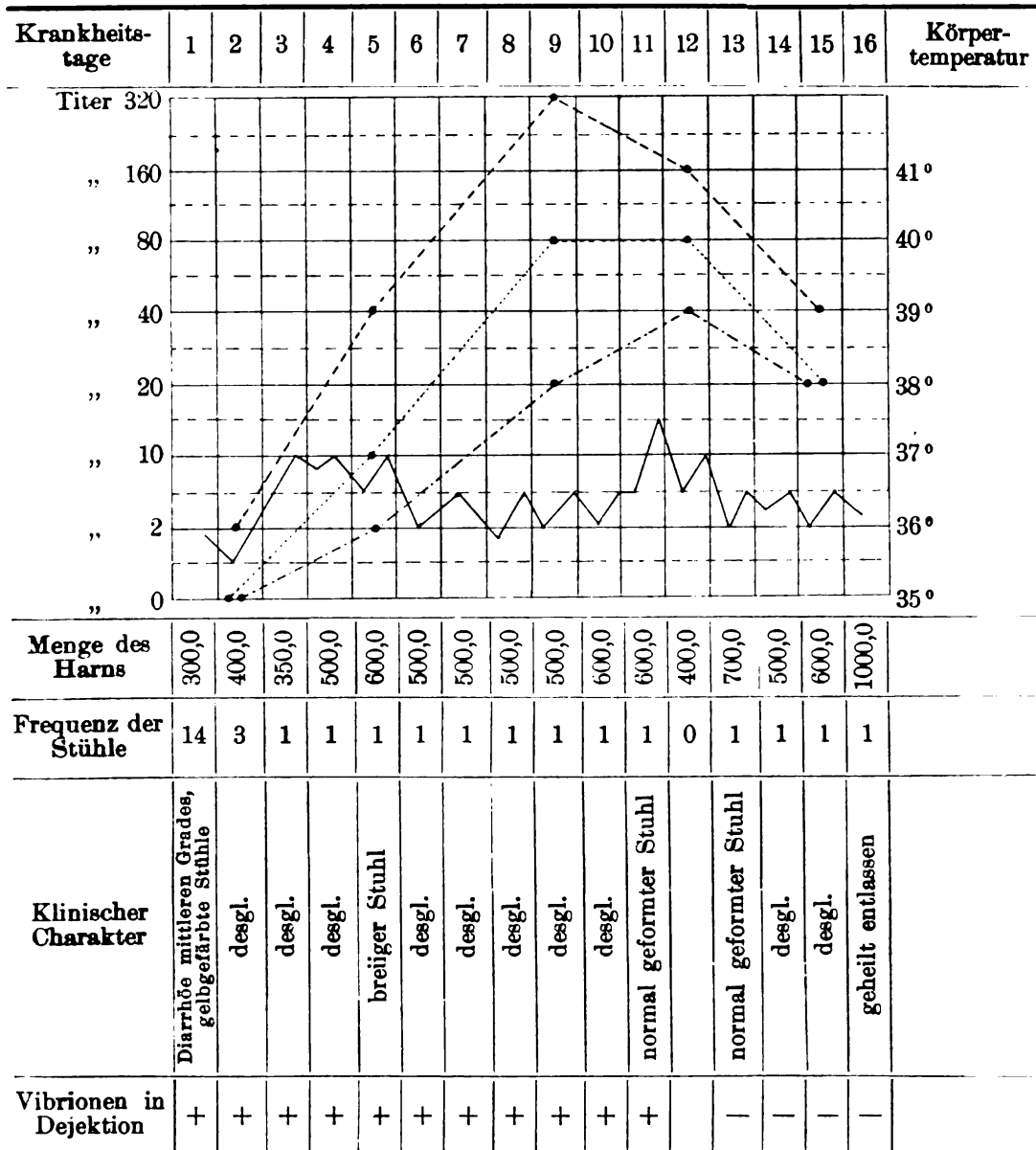


Fig. 2.

Wie man aus den Figuren ersieht, verlaufen bei leichten Fällen (Gruppe 1) die Kurven aller drei Antistoffe in drei Phasen (Sinken, Steigen und Fallen); zuerst sinken sie 2—5 Tage, steigen dann mehr oder weniger rasch an, erreichen meist am 8.—10. Krankheitstage ihr Maximum, um dann zu fallen; nur selten halten sie sich 3—4 Tage auf der gleichen Höhe. Vom 11.—14. Krankheitstage an halten sich aber die Kurven mit geringen Schwankungen auf etwa denselben, verhältnismäßig niedrigen Werten, vielleicht für viele Tage, mit einer nur ganz leichten Tendenz zum allmählichen Abfall. Leider konnte die Blut-

prüfung im weiteren Verlaufe nicht ausgeführt werden, da die Kranken meist nach 12—16 Tagen entlassen wurden.

Vergleichen wir nun die einzelnen Kurven der 3 Antistoffe miteinander, so finden wir, daß sie meist parallel verlaufen. Bei No. 2 erreichte aber die Oponinkurve erst am 11. Krankheitstage das Maximum, während die Agglutinin- und Bakteriolsinkurven schon am

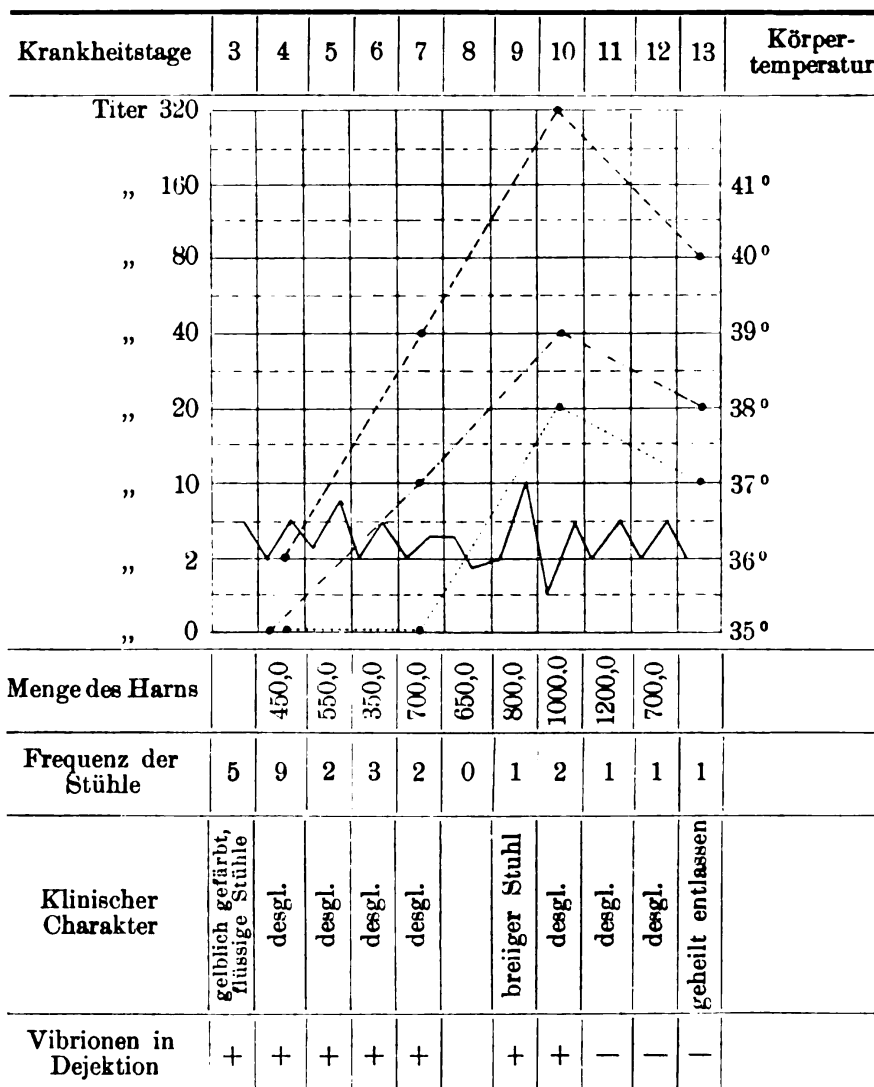


Fig. 3.

9. Krankheitstage auf dem Maximum waren; die Bakteriolsinkurve fiel am 11. Krankheitstage ab; No. 5 bietet beinahe gleichartige Verhältnisse.

Gruppe II.

Mittelschwere Fälle.

Als mittelschwere Erkrankungen bezeichne ich diejenigen Fälle, wo farblos wässrige Stuhlentleerungen mit Schleimflocken, leichte Wadenkrämpfe, Aphonie, Erbrechen etc. auftraten.

No. 6. Y. K., 27 Jahre alter Arbeiter. Beg. 27. Okt. Aufg. 28. Okt. Geheilt entlassen 11. Nov. Serum wurde fünfmal entnommen und geprüft (Fig. 6).

- No. 7. T. I., 24 Jahre alter Schiffer. Beg. 8. Nov. Aufg. 8. Nov. Geheilt
 entlassen 20. Nov. Serum wurde viermal entnommen und geprüft (Fig. 7).
 No. 8. K. S., 18 Jahre alter Schiffer. Beg. 9. Nov. Aufg. 9. Nov. Geheilt
 entlassen 24. Nov. Serum wurde fünfmal entnommen und geprüft (Fig. 8).
 No. 9. T. M., 21 Jahre alter Händler. Beg. 6. Nov. Aufg. 7. Nov. Geheilt
 entlassen 22. Nov. Serum wurde sechsmal entnommen und geprüft (Fig. 9).
 No. 10. M. I., 19 Jahre alter Schiffer. Beg. 25. Okt. Aufg. 26. Okt. Geheilt
 entlassen 7. Nov. Serum wurde fünfmal entnommen und geprüft (Fig. 10).

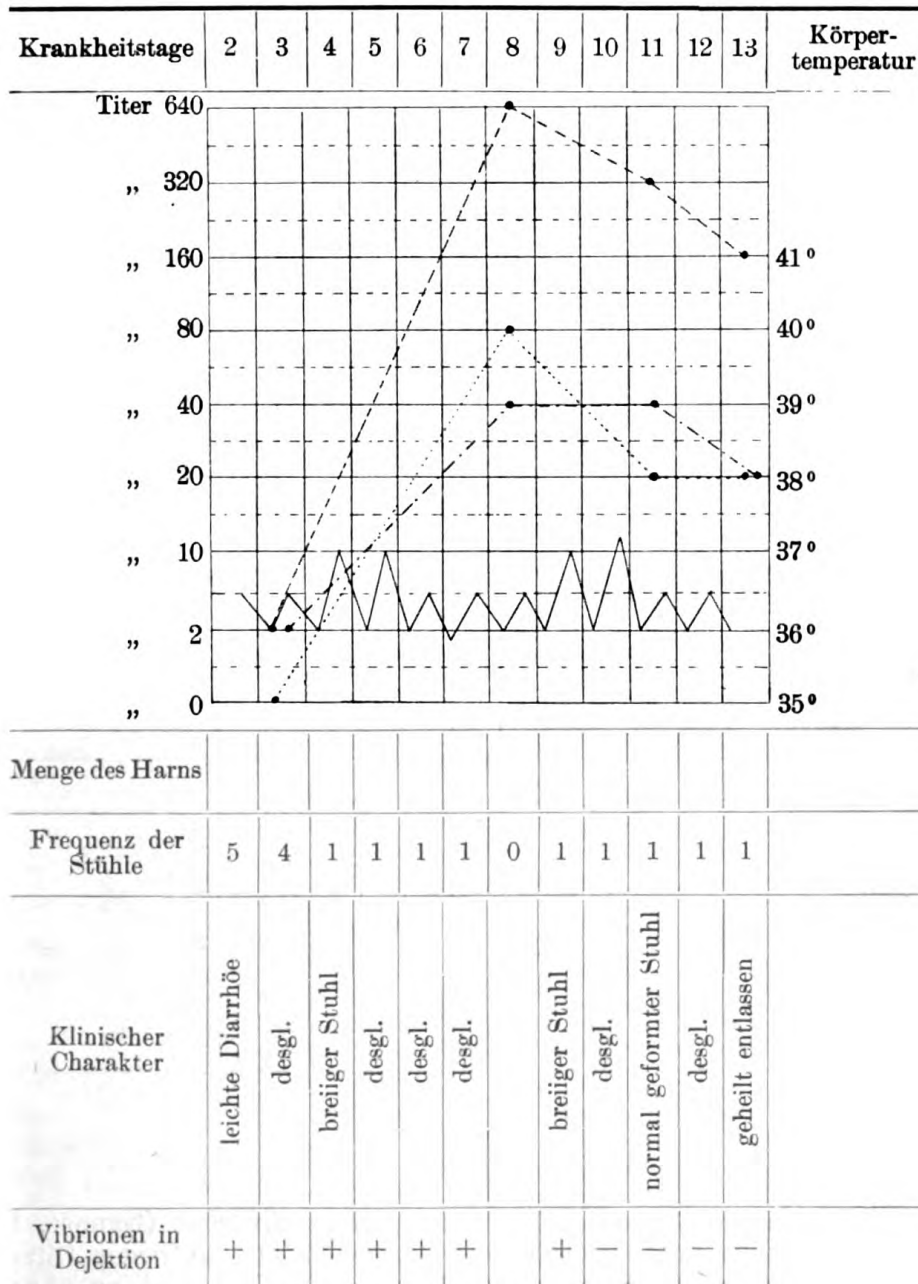


Fig. 4.

Diese Gruppe wird durch höhere Maximalwerte als Gruppe 1 charakterisiert, jedoch zeigt sie mit den Kurven von Gruppe 1 eine ziemliche Uebereinstimmung (No. 6, 7, 8). Bei No. 9 und 10, verhältnismäßig schweren und relativ langsam genesenden Fällen, verharren

39*

die Kurven lange in der negativen Phase und erreichten erst später ihr Maximum, das niedriger als bei den anderen Fällen war.

Gruppe III.

Schwere Fälle.

Als schwere Formen bezeichne ich Fälle, wo neben farblosen wässrigen Dejektionen mit Schleimflocken und Epithelfetzen schwere Symptome.

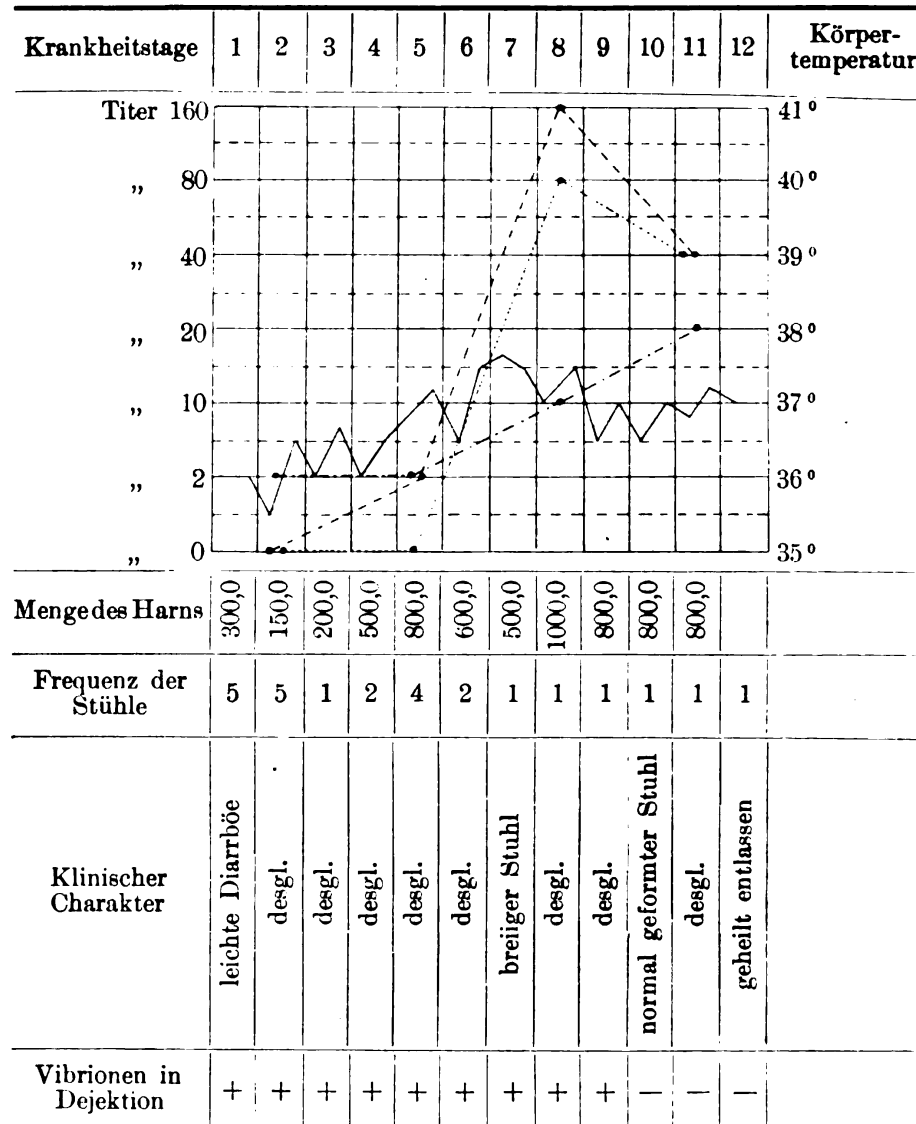


Fig. 5.

wie Wadenkrämpfe, Aphonie, Erbrechen, Herzschwäche, Cyanose, Kaltwerden der Extremitäten, verfallenes Aussehen etc. auftreten (Stadium algidum). Auch solche Fälle gingen häufig noch in Genesung über.

No. 11. H. S., 47 Jahre alter Händler. Beg. 6. Nov. Aufg. 6. Nov. Geheilt entlassen 25. Nov. Serum wurde sechsmal entnommen und geprüft (Fig. 11).

No. 12. F. Y., 31 Jahre alter Schiffer. Beg. 2. Nov. Aufg. 2. Nov. Geheilt entlassen 19. Nov. Serum wurde sechsmal entnommen und geprüft (Fig. 12).

No. 13. T. Y., 23 Jahre alter Händler. Beg. 28. Okt. Aufg. 28. Okt. Geheilt entlassen 18. Nov. Serum wurde sechsmal entnommen und geprüft (Fig. 13).

No. 14. M. N., 20 Jahre alter Arbeiter. Beg. 18. Okt. Aufg. 19. Okt. Geheilt entlassen 4. Nov. Serum wurde fünfmal entnommen und geprüft (Fig. 14).

No. 15. K. M., 9 Jahre alter Schüler. Beg. 6. Okt. Aufg. 7. Okt. Geheilt entlassen 24. Okt. Serum wurde sechsmal entnommen und geprüft (Fig. 15).

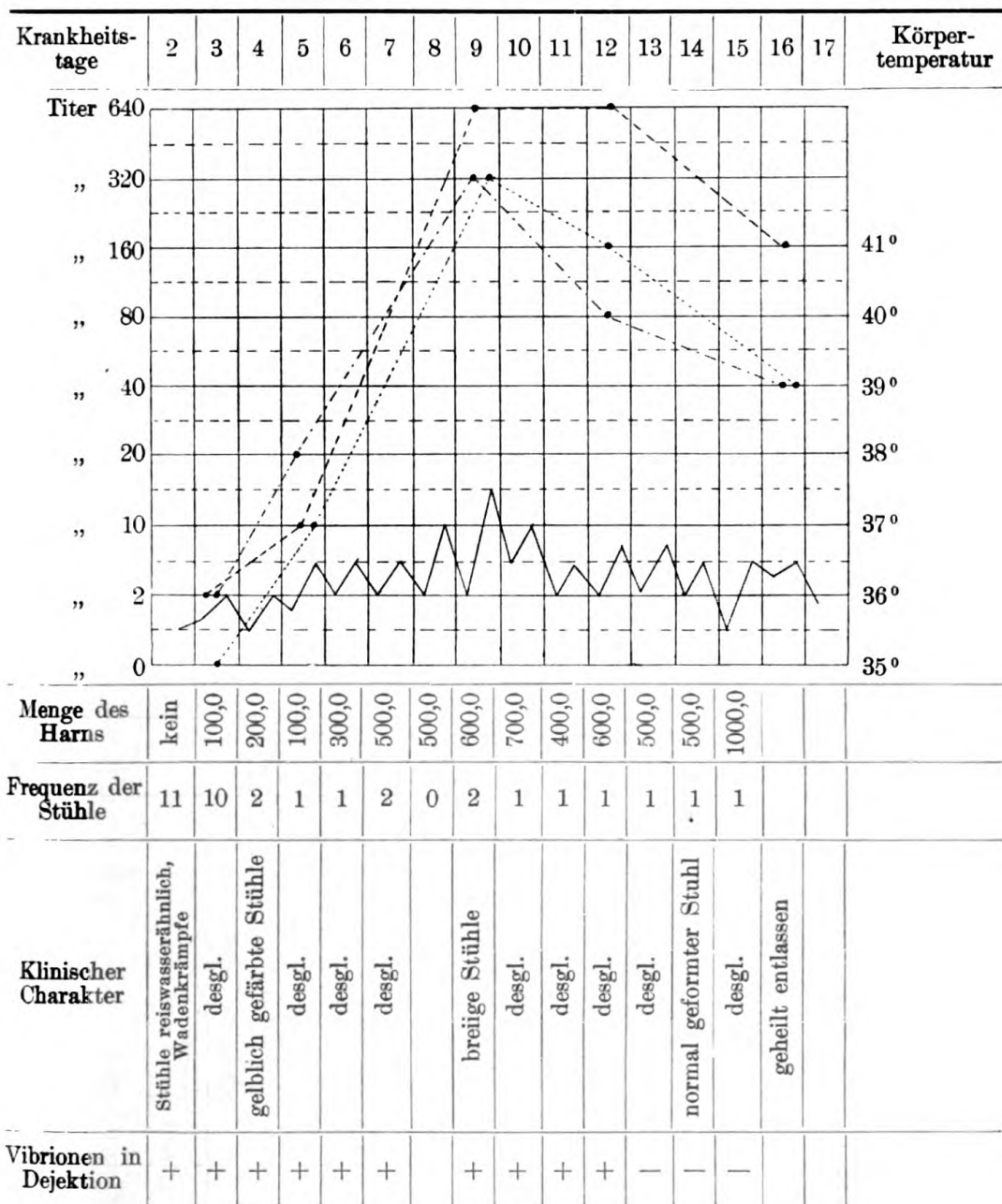


Fig. 6.

Bei dieser Gruppe dauert die negative Phase länger als bei Gruppe I und II, aber das später (am 11.—16. Tage) erreichte Maximum zeigt höhere Werte.

Gruppe IV.

Letale Fälle.

Zu dieser Gruppe rechne ich diejenigen Fälle, welche unter oben genannten gefährlichen Symptomen (Stadium algidum) plötzlich oder

nach einigen Tagen, manchmal auch nach längerem Siechtum ad exitum kamen.

No. 16. A. K., 24 Jahre alter Schiffer. Foudroyanter Fall. Beg. 10. Okt. Tod nach 48 Stunden. Blutprüfung wurde nur einmal angestellt und alle drei Antistoffe waren ganz negativ (Null).

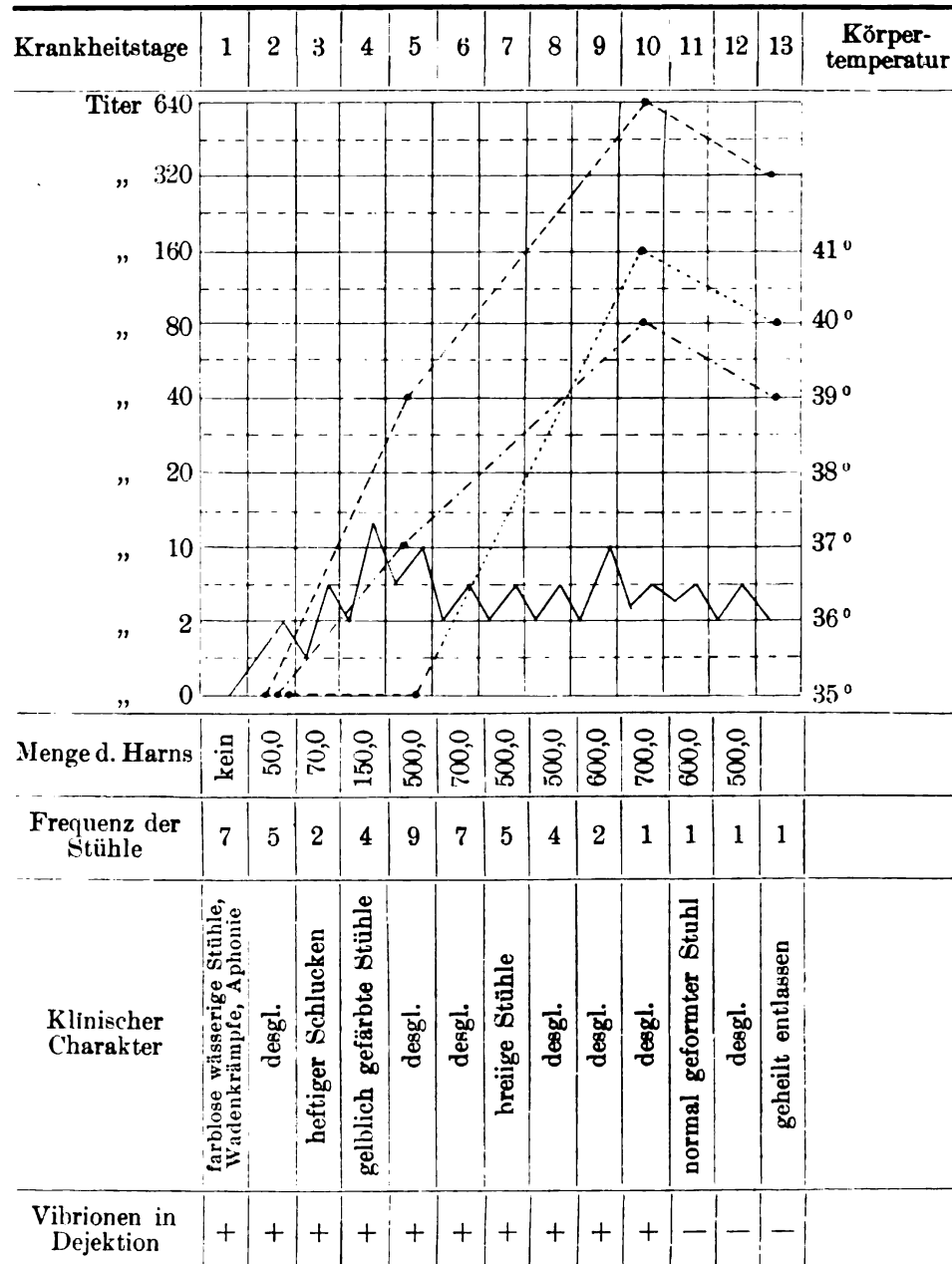


Fig. 7.

No. 17. M. N., 21 Jahre alter Schiffer. Foudroyanter Fall. Beg. 6. Okt. Tod nach 72 Stunden. Blutprüfung wurde nur zweimal angestellt ohne daß die drei Antistoffe nachzuweisen waren.

No. 18. T. S., 41 Jahre alter Rickshakuli. Sehr schwerer, typischer Fall. Beg. 2. Okt. Tod nach 3 Tagen. Blutprüfung wurde zweimal (am 1. und 3. Tage) ausgeführt. Titer der drei Stoffe jedesmal = 0.

No. 19. R. K., 38 Jahre alte Arbeiterin. Schwerer Fall. Beg. 8. Okt. Aufg. 8. Okt. Stirbt nach 5 Tagen an Herzschwäche infolge der langdauernden profusen

Diarrhöen, ohne Typhoiderscheinung. Blutprüfung wurde zweimal (am 2. und 4. Krankheitstage) ausgeführt. Titer der 3 Immunkörper = 0.

No. 20. H. H., 23 Jahre alter Schiffer. Schwerer Fall. Beg. 15. Okt. Der Fall sah am 8. Tage ziemlich hoffnungsvoll aus; da setzten am letzten Tage wieder heftige Diarrhöen ein, denen der sehr geschwächte Patient am 17. Tage erlag.

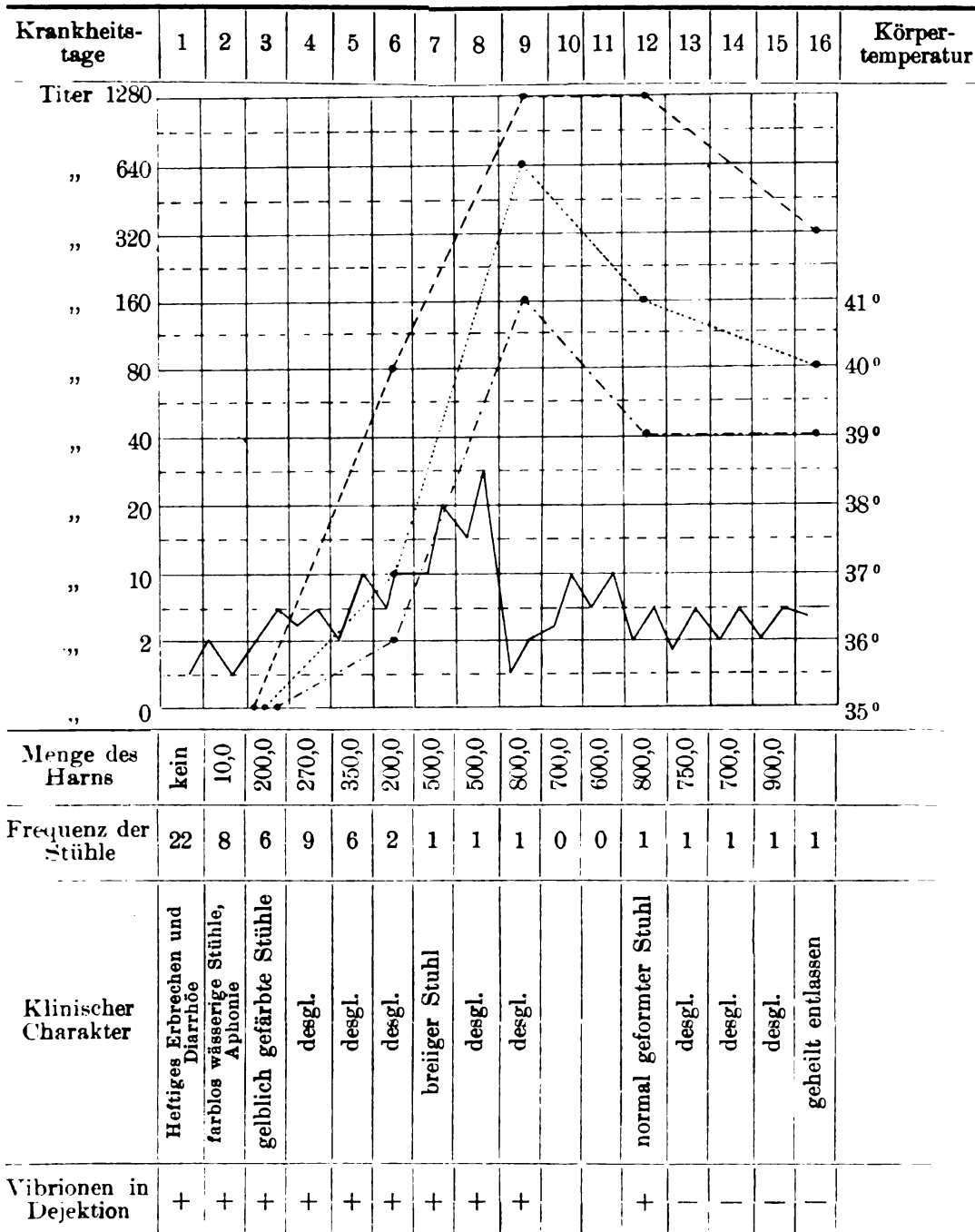


Fig. 8.

Die zu dieser Gruppe gehörigen Patienten starben meist nach einigen Tagen, so daß die Blutprüfung nur ein- bis zweimal ausgeführt werden konnte. Die Titer aller 3 Antikörper waren stets = 0, wodurch die Mitteilung von Kurven überflüssig wird. Bei No. 20 (Fig. 16) ist der

Agglutinationstiter von Beginn bis zum Ende stets = 0. Opsonine und Bakteriolyse zeigten eine schwach angedeutete positive Phase, sinken aber im weiteren ungünstigen Verlauf der Krankheit wieder auf 0.

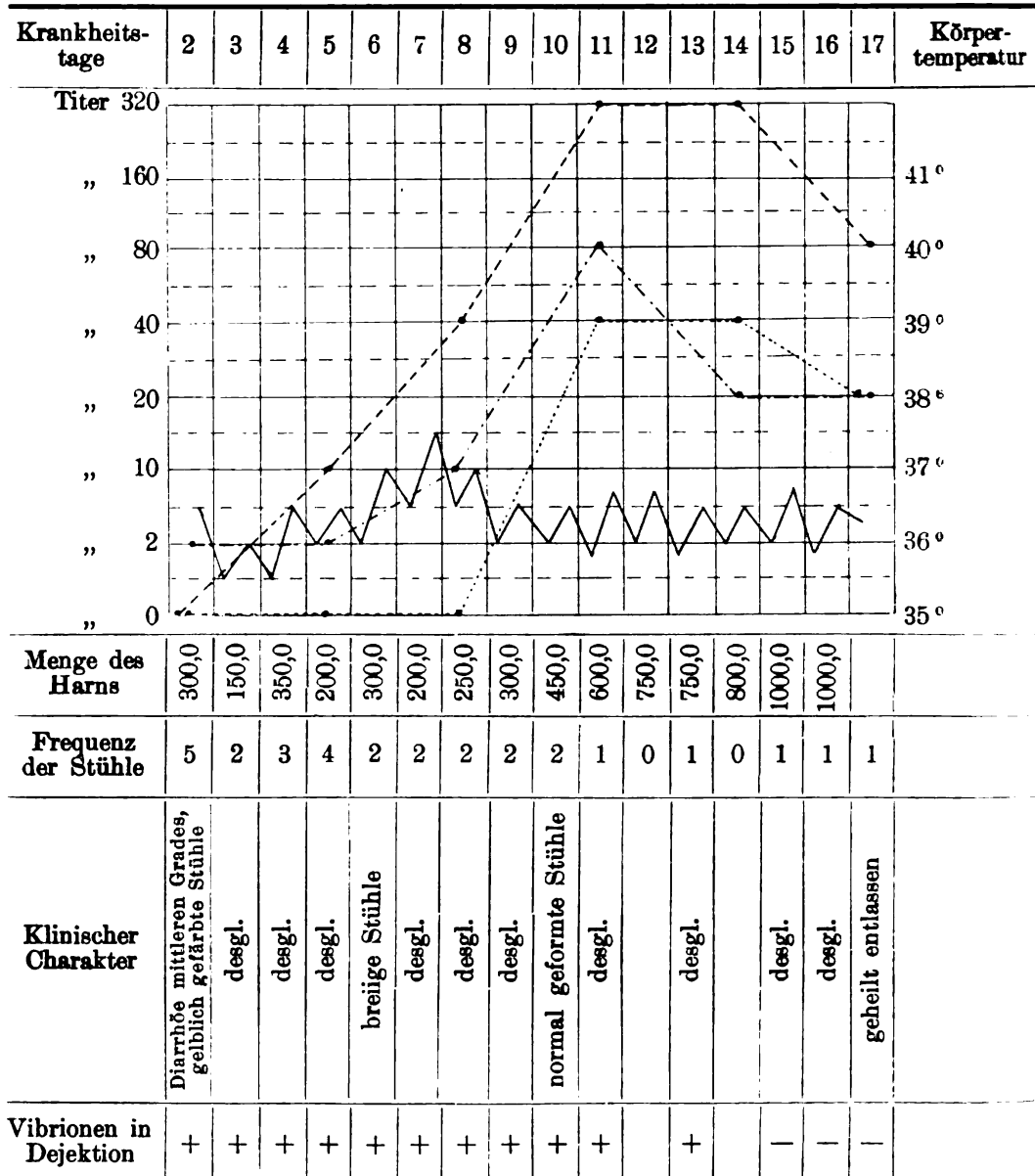


Fig. 9.

Gruppe V.

Choleratyphoidfälle.

In diese Gruppe habe ich diejenigen Fälle aufgenommen, welche nach Ueberstehen des Stadium algidum unter typhusähnlichen Erscheinungen zugrunde gingen.

No. 21. N. Y., 35 Jahre alte Arbeiterin. Schwerer Fall. Beg. 5. Nov. Aufg. 5. Nov. Am 9. Krankheitstage verschwanden plötzlich die Choleravibrionen, die bis dahin reichlich im Stuhl nachgewiesen werden konnten; es traten Typhoiderscheinungen auf und die Patientin ging am 12. Krankheitstage unter tiefer Somnolenz zugrunde.

No. 22. H. J., 33 Jahre alter Arbeiter. Schwerer Fall. Beg. 30. Okt. Aufg. 30. Okt. Am 7. Krankheitstage entwickelte sich das Typhoid, zu gleicher Zeit verschwanden die Choleravibrionen und am 11. Tage starb die Kranke in tiefer Somnolenz.

No. 23. M. Y., 44 Jahre alte Arbeiterin. Schwerer Fall. Beg. 29. Nov. Aufg. 29. Nov. Choleratyphoid am 6. Tage, Verschwinden der Vibrionen, Exitus am 9. Tage.

No. 24. K. K., 20 Jahre alter Schiffer. Beg. 10. Okt. Aufg. 10. Okt. Cholera-typhoid am 5. Tage mit gleichzeitigem Verschwinden der Vibrionen, Tod am 7. Tage in Somnolenz.

No. 25. M. Y., 19 Jahre alter Arbeiter. Schwerer Fall. Beg. 22. Sept. Aufg. 22. Sept. Typhoid am 7. Tage, Verschwinden der Vibrionen, Exitus am 9. Tage in Somnolenz.

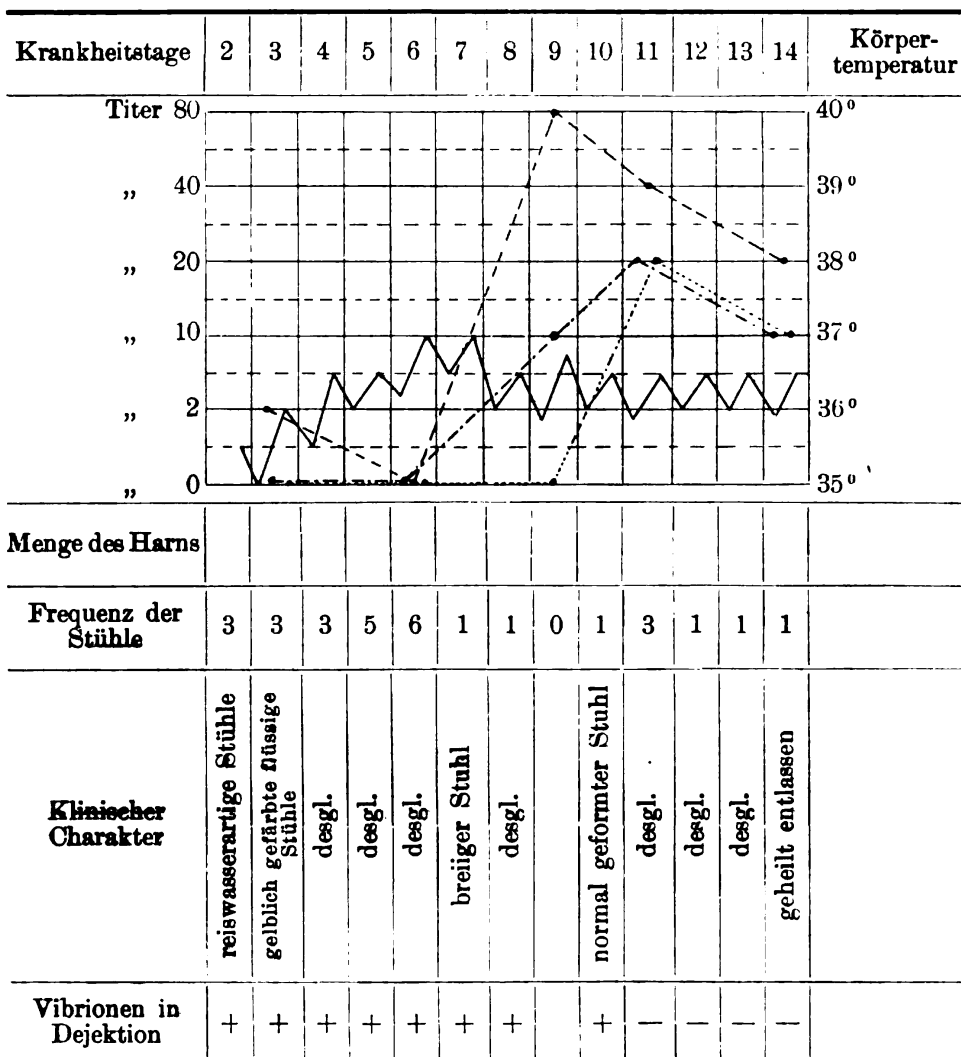


Fig. 10.

Bei den Cholera-typhoidfällen dauerte die negative Phase meist lange und die Kurven zeigten nur geringe Neigung zum Steigen. Die Bakteriolysekurve stieg schneller und höher als die Agglutinin- und Opsoninkurven. Besonders fehlten bei No. 23 und 24 (Fig. 19 und 20) Opsonine und Agglutinine vom Krankheitsbeginn bis zum Tode vollständig, während dagegen die Bakteriolyse rasch anstieg.

Die Tatsache, daß Serum, welches keine opsonische Wirkung darbietet, lebhaft bakteriolytische Kraft zeigt, scheint mir ein Beweis für

die Verschiedenheit von Immunopsoninen und bakteriolytischem Ambozeptor.

Bemerkenswert bei den Cholera typhoidfällen ist die Beobachtung, daß das Verschwinden der Vibrionen in den Dejektionen und das typhöse

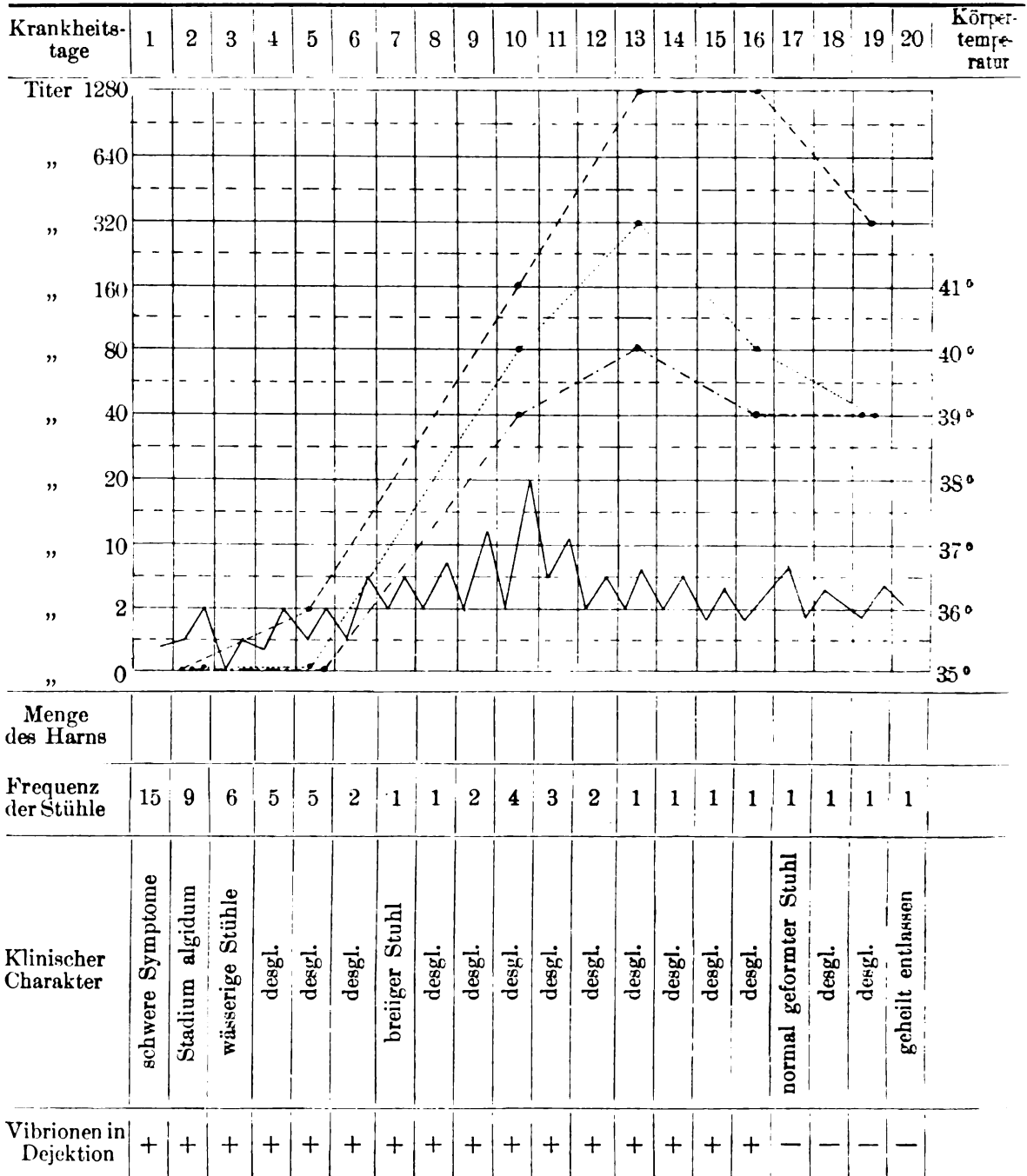


Fig. 11.

Stadium gleichzeitig auftraten, ein Zusammenhang, der mir eine bestimmte Bedeutung zu haben scheint und auf den ich später noch zurückkommen werde. Bei der Obduktion dieser Fälle kann man weder in der Darmwand noch in dem Darminhalt Cholera vibrionen nachweisen; selbst mit

dem Peptonwasseranreicherungsverfahren ist der Nachweis nicht mehr möglich. Andere Bakterien als Coli-Bakterien, Kokken etc. waren weder im Darminhalt noch in der Darmwand (auch wenn sie, was häufig der Fall war, nekrotisch verändert war) in größerer Anzahl nachzuweisen,

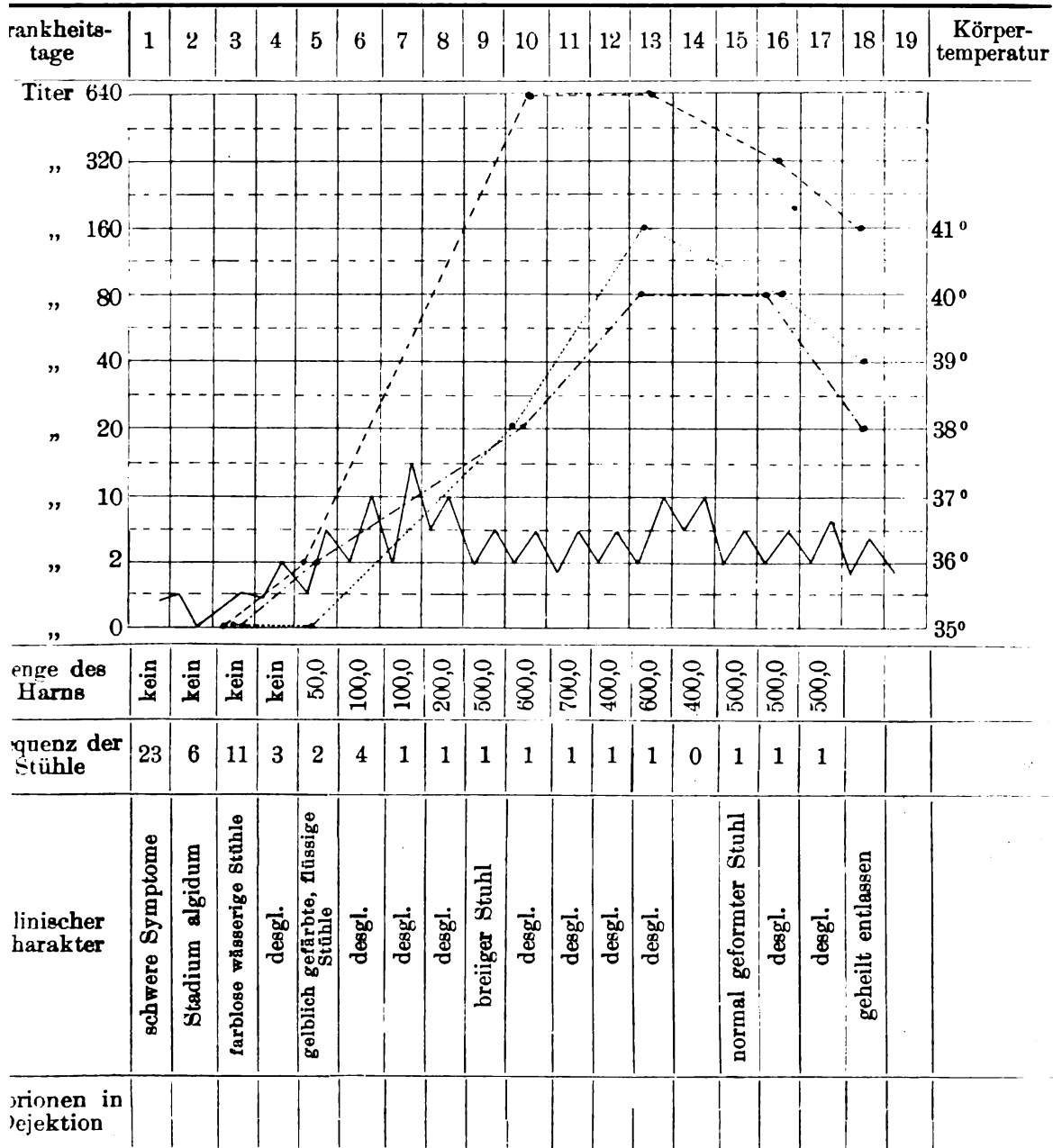


Fig. 12.

so daß die Auffassung des Cholera typhoid als einer Sekundärinfektion des Darmes ohne hinreichende Stütze ist.

Ueber die Entstehung des Cholera typhoid.

Die meisten Autoren, die bisher über Cholera typhoid schrieben (so noch kürzlich Kollé [6] in seinem Handbuch), fassen es als eine Sekun-

därinfektion der Darmschleimhaut mit Darmbakterien auf. Ich kann mich dieser Auffassung nicht anschließen, sondern halte es für hervorgerufen durch Choleratoxine.

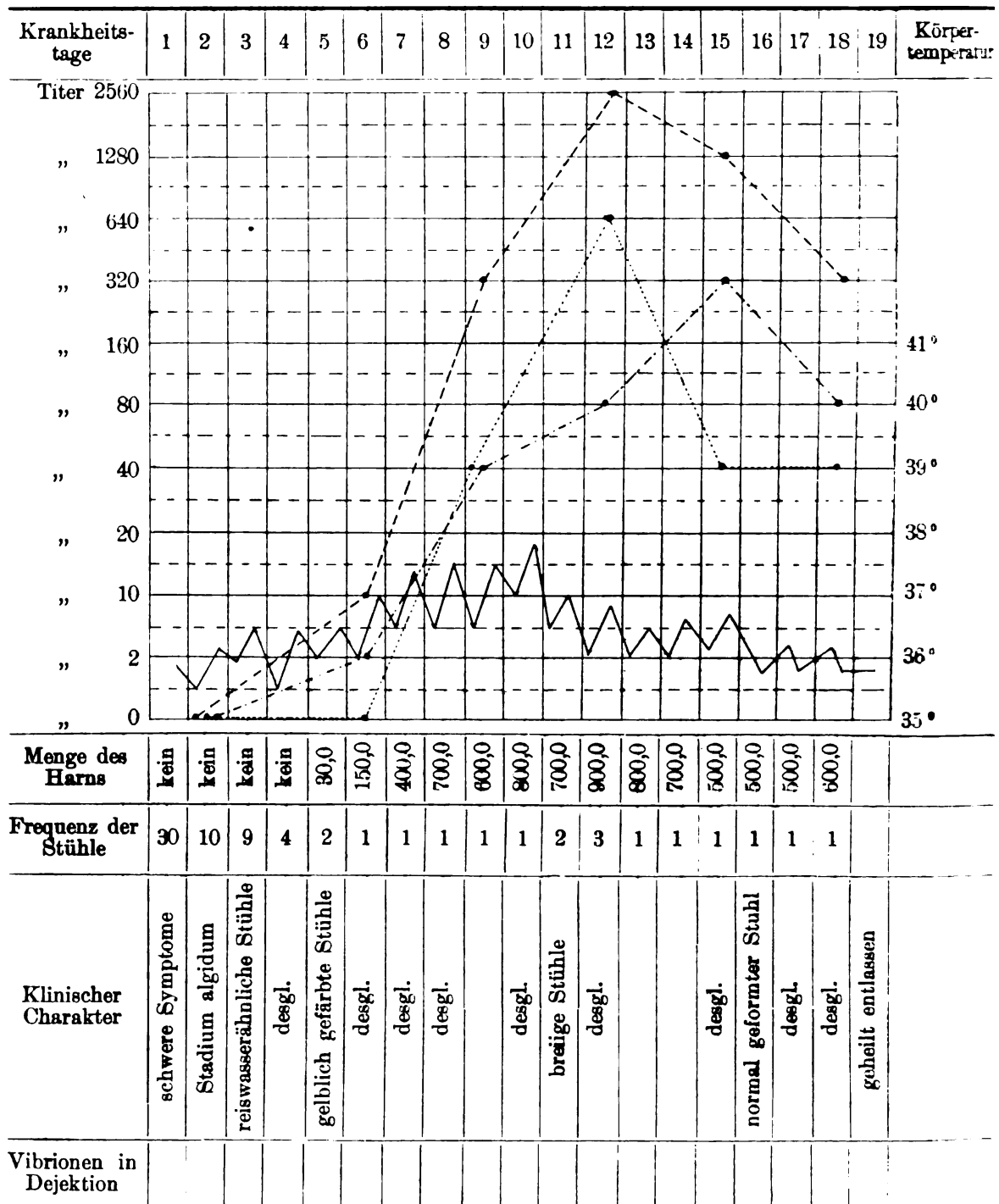


Fig. 13.

Wie neuerdings Kraus (7) angab, bilden die Choleravibrionen zweierlei Arten Toxine, die er als endo- und ektocelluläre Toxine bezeichnet. Meerschweinchen, die mit Choleraektotoxinen geimpft werden.

gehen unter Hypothermie und unter gleichen Erscheinungen wie foudroyante oder sehr schwere Fälle bei Menschen zugrunde. Daher sind gefährliche Symptome im ersten Stadium der Krankheit nach meiner Ansicht hauptsächlich als Vergiftung durch Ektotoxine aufzufassen, wobei

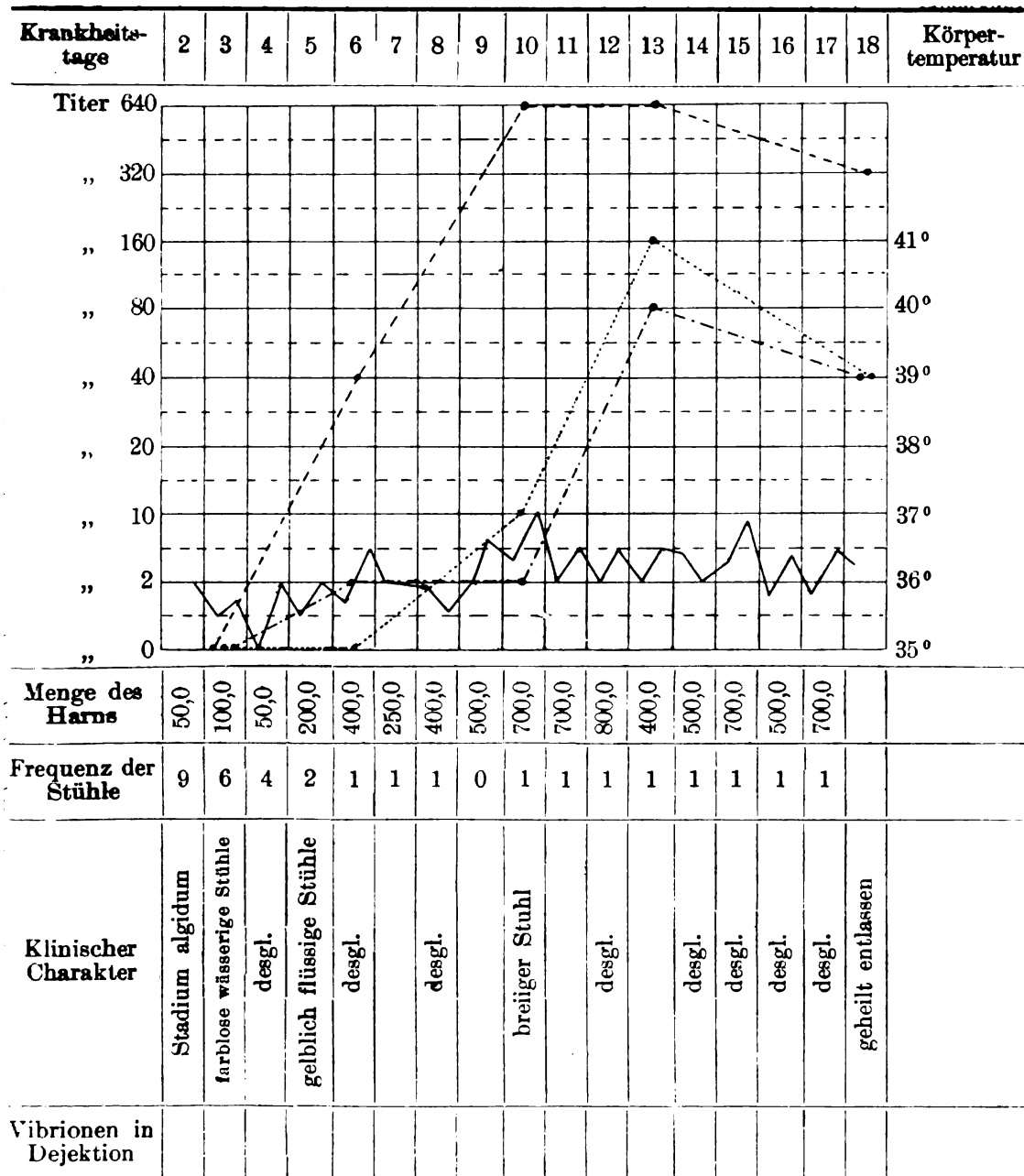


Fig. 14.

ich mich auf eine schon früher ausgesprochene Ansicht R. Kochs (4 und 8), der Cholera asiatica als Toxikose durch ein von Cholera-vibrionen produziertes Gift charakterisierte, stützte.

Die Entwicklung des Cholera typhoides geht mit Steigerung der Körpertemperatur einher und die Patienten gehen unter Delirien, Somnolenz etc. zugrunde, ein ziemlich großer Unterschied von dem, was wir bei der Ektotoxinvergiftung zu sehen gewohnt sind. Bei der Entstehung

des Cholera typhoids scheinen mir im Gegenteil die Endotoxine die Hauptrolle zu spielen; es ist dies eine Hypothese, für die sich vielleicht einige Stützen geben lassen.

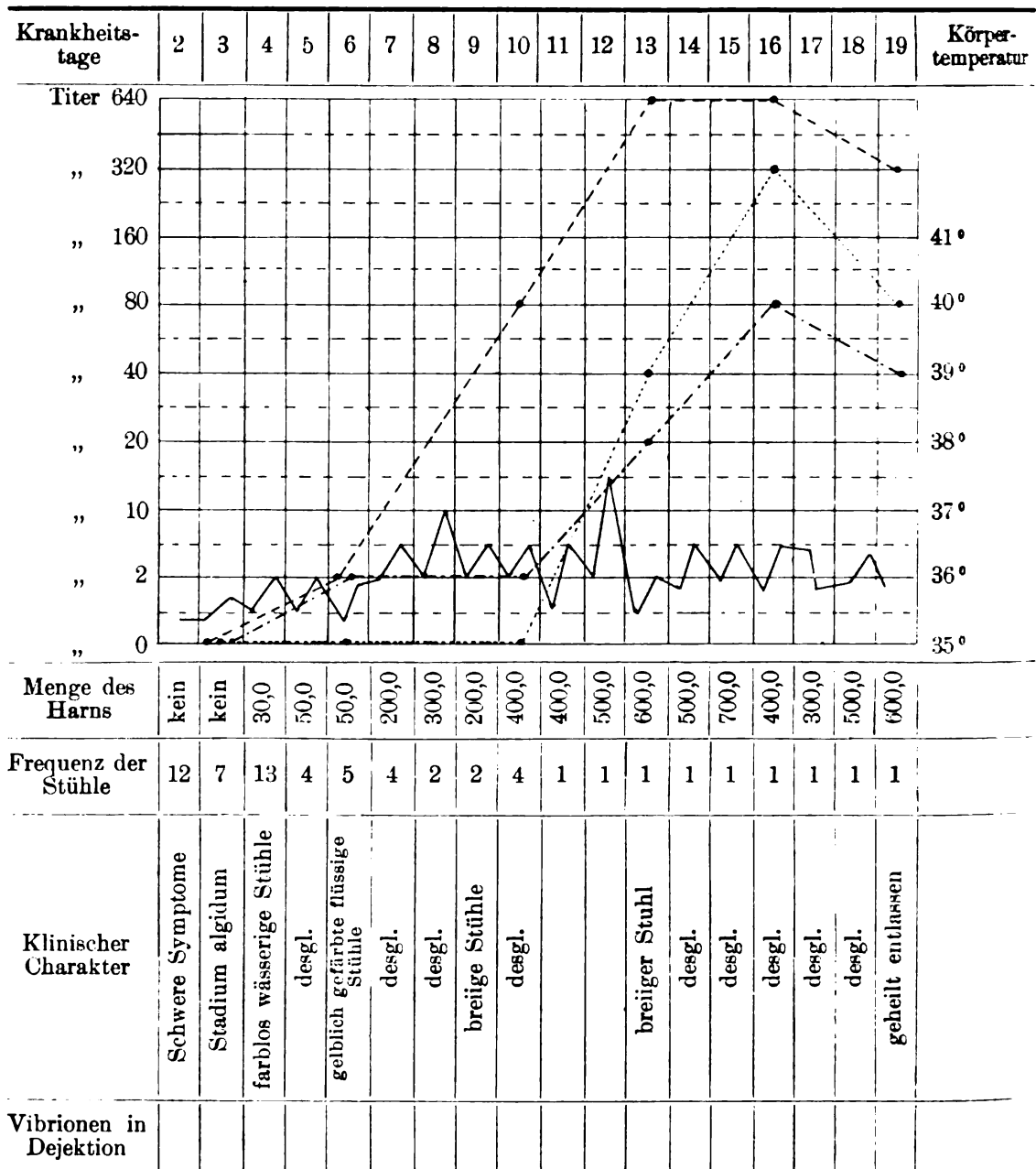


Fig. 15.

Bei allmählich genesenden Kranken müssen alle Antistoffe gegen alle Antigene in den Cholera vibriolen auf dieselbe Weise allmählich erzeugt werden. Bei schweren Fällen können aber infolge heftiger Angriffe auf die Körperzellen durch hochvirulente und übermäßig viele Cholera vibriolen plötzlich die Antistoffe, besonders die Bakteriolyse, schneller und in größerer Menge erzeugt werden, wie im oben erwähnten Falle.

Während bei allmählicher Erzeugung die Bakteriolyse auf den Verlauf der Krankheit nur einen günstigen Einfluß haben können, bewirkt ein plötzliches reichliches Auftreten derselben eine rasche Auflösung der Cholerabakterien im Körper, die dann, wie oben erwähnt, weder im Darminhalt noch in der Darmwand mehr nachzuweisen sind. Als Folgeerscheinung dieser plötzlichen Auflösung zahlreicher Vibrien werden große Mengen Endotoxine frei, und rufen schwere Vergiftungserscheinungen

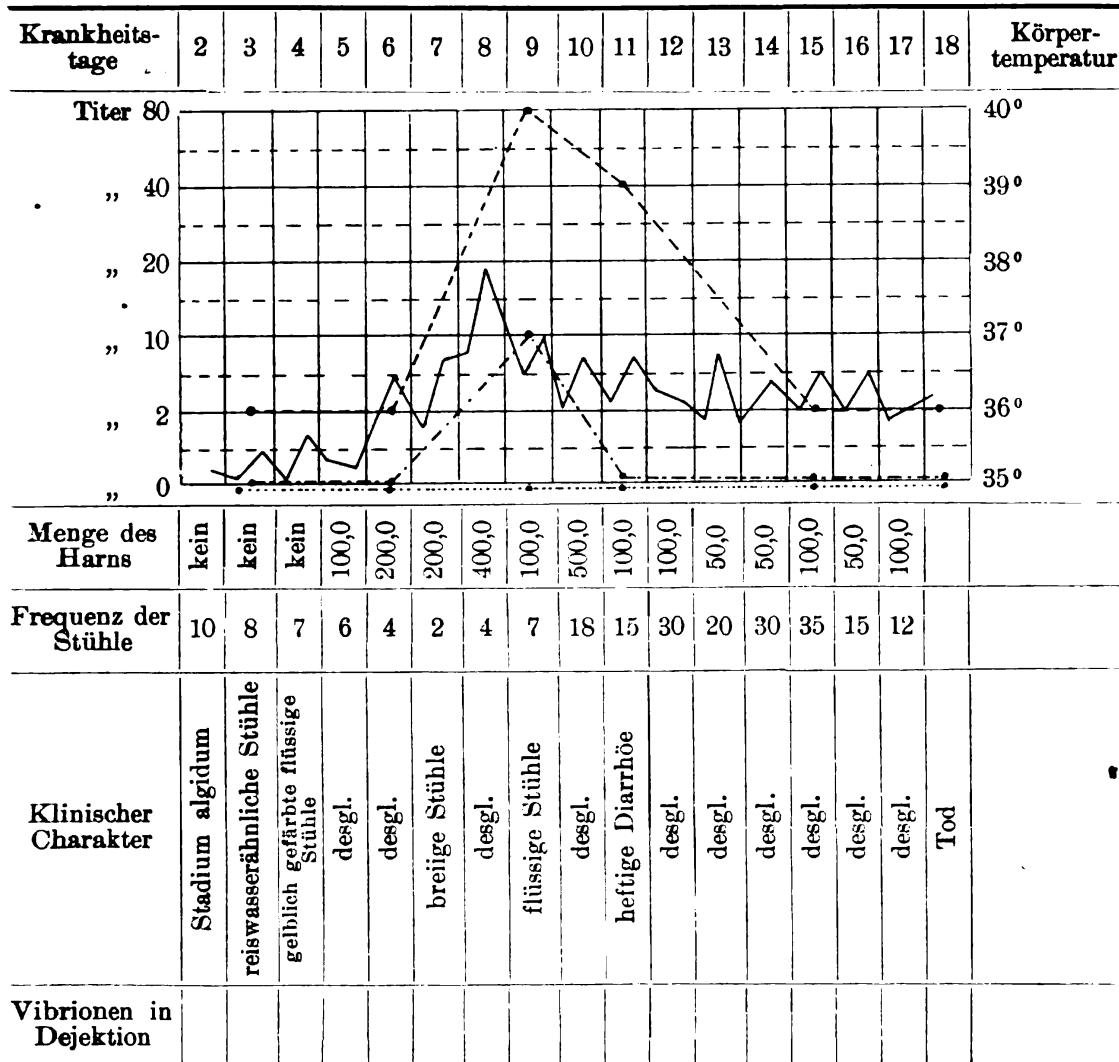


Fig. 16.

hervor, die in dem Symptomenbild des „Choleratypoids“ charakterisiert sind.

Schlußfolgerungen.

Die vorstehenden Ausführungen lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1) Nach meinen Untersuchungen mit Choleravibrien zeigte Normalserum, besonders Cholerarekonvaleszentenserum eine deutliche opsonische Wirkung.

2) Bei Benutzung des frischen unverdünnten Rekonvaleszentenserums wurden die Choleravibrien extracellulär aufgelöst, so daß ihre opso-

nische Wirkung nicht mehr zu erkennen war, doch konnte man bei Benutzung der Verdünnungen des Serums eine deutliche opsonische Wirkung beobachten. Auch beim Versuche mit dem frischen unverdünnten Serum konnte man, obwohl noch einige Vibrionen sichtbar blieben, keine opsonische Wirkung nachweisen, wohl aber bei Verdünnungen, so daß man

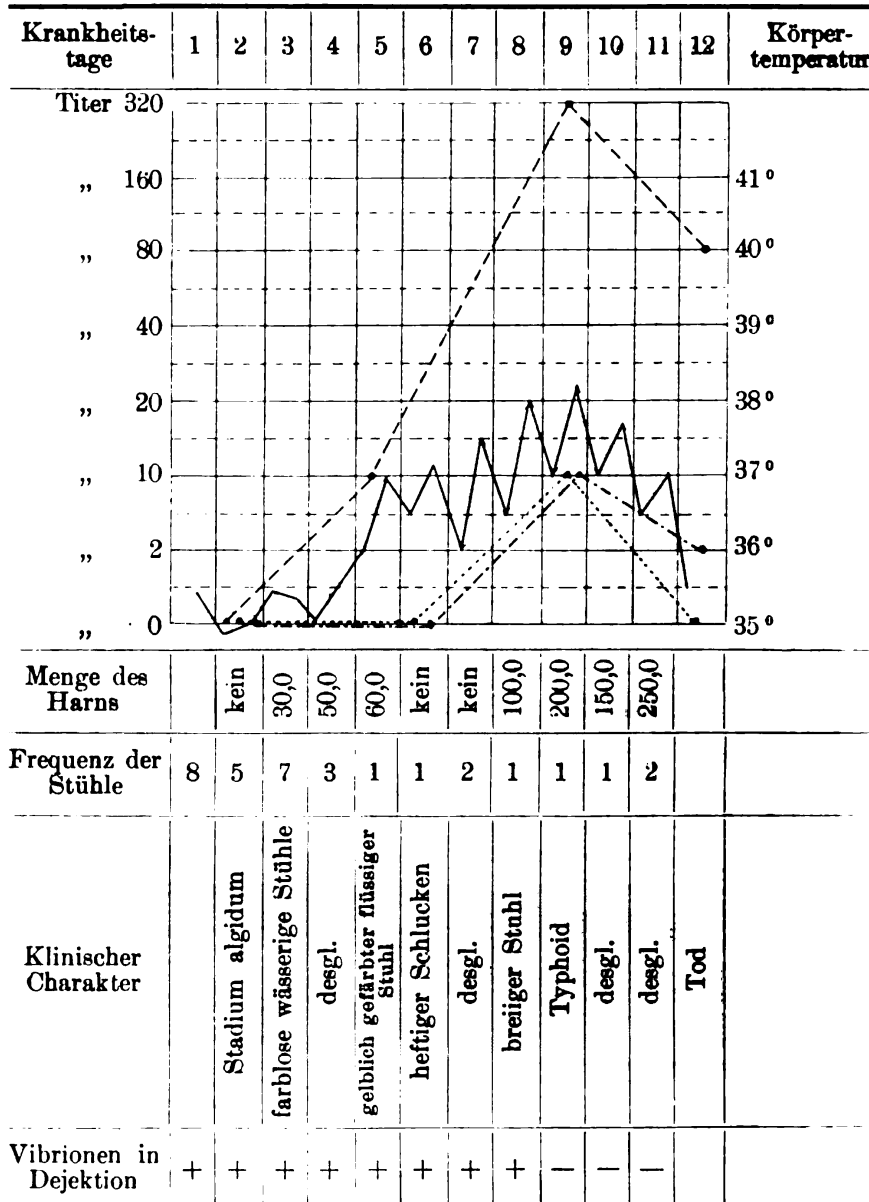


Fig. 17.

an die Agglutinoidzone beim Agglutinationsversuche mit altem Serum erinnert wurde.

3) Wenn die bakteriolytische Kraft des Serums zu stark ist und dadurch auch beim Versuche mit verdünntem Serum keine opsonische Wirkung zu erkennen ist, so kann man nach Inaktivierung des Serums (durch 15 Minuten langes Erhitzen auf 60° C) seine opsonische Kraft beobachten, da Choleraimmunopsonine termostabil sind, wie die anderen Immunopsonine. Die Schädigung der Leukocyten durch Fremdserum kann auch durch die Inaktivierung des Serums vermieden werden.

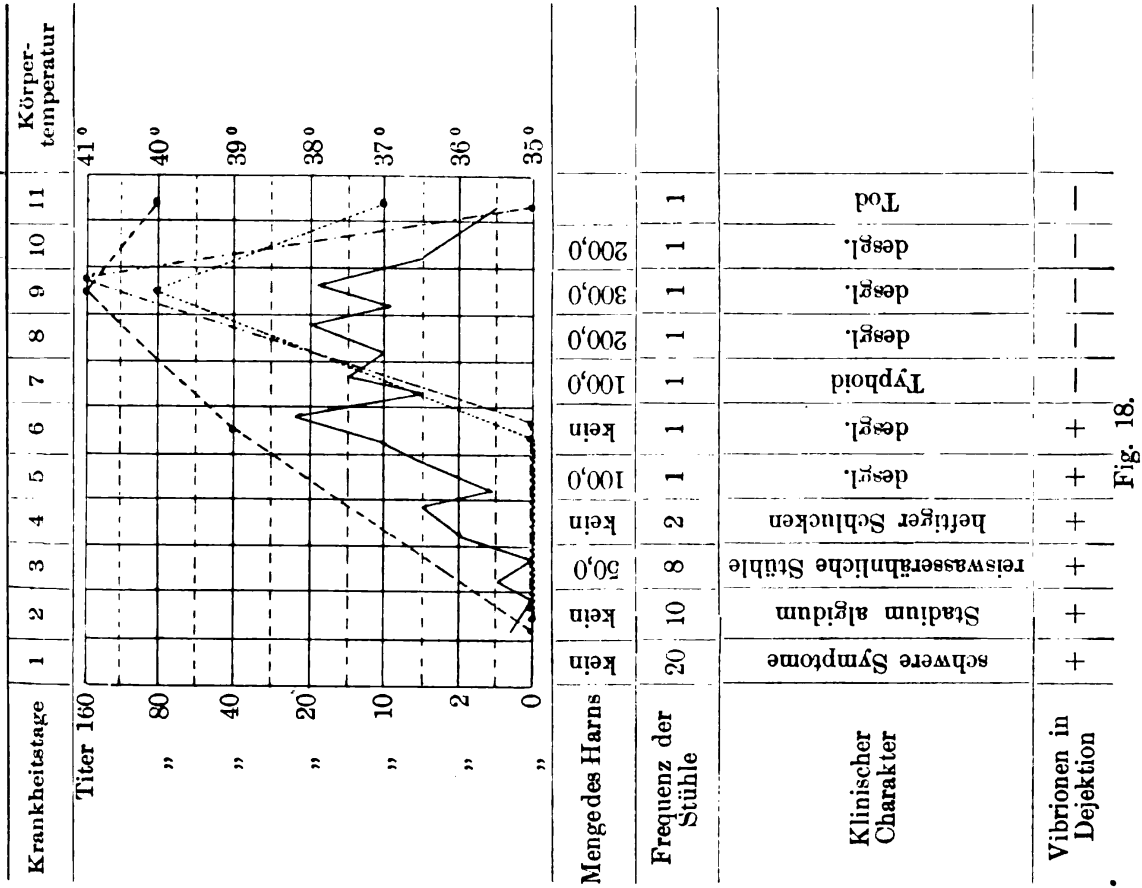


Fig. 18.

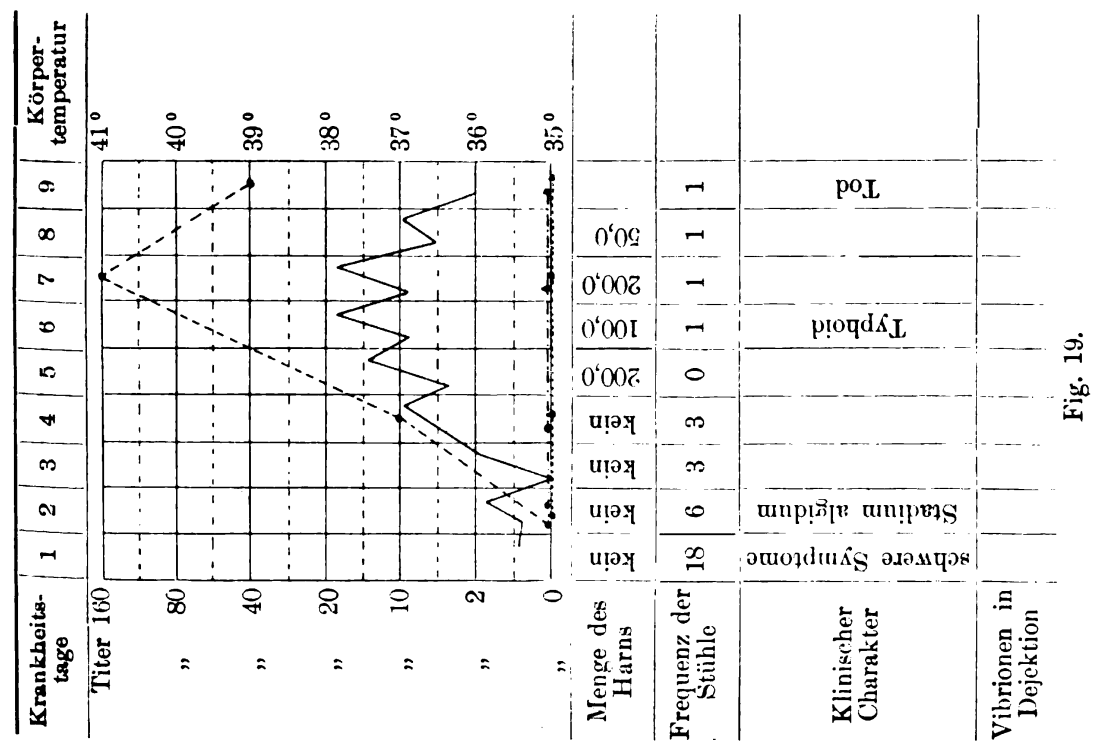


Fig. 19.

4) Zur Bestimmung der bakteriolytischen Kraft des Serums benutzte ich einen Reagensglasversuch, mit dessen Hilfe man die bakteriolytischen Vorgänge mikroskopisch beobachten kann.

5) Opsonin-, Agglutinin- und Bakteriolytinkurven kann man in 3 Phasen einteilen: Sinken unter die Norm, Ansteigen über die Norm und abermaliges Fallen, wobei jedoch immer noch Werte, die über der Norm stehen, resultieren.

6) Die Kurven der oben genannten 3 Antistoffe, die ich von 58 Fällen aufnahm, entsprachen meistens dem klinischen Verlauf, wonach Einteilung in 5 Gruppen:

7) Bei leichten Fällen (Gruppe I) in den ersten 2—3 Tagen Sinken, dann mehr oder weniger rapides Ansteigen und endlich schneller Abfall, bis auf einen niederen Wert, der dann längere Zeit fast konstant blieb.

8) Die Kurven der 3 Antistoffe in einem und demselben Fall verliefen mit einigen Ausnahmen meist parallel.

9) Bei den mittelschweren (Gruppe II) und schweren (Gruppe III) Fällen erreichten die Kurven einen höheren Maximalpunkt als in leichten Fällen und hielten sich länger auf der Höhe; auch dauerte bei schweren Fällen die negative Phase länger als bei leichten und mittelschweren Fällen.

10) Die foudroyanten oder sehr schweren Fälle (Gruppe IV) starben meist nach wenigen Stunden oder Tagen; die Titer der 3 Antistoffe waren = 0.

11) Bei Rezidiven sanken die Kurven auf 0, auch wenn eine mehr oder weniger positive Phase bereits aufgetreten war.

12) Bei den Cholera-typhoidfällen (Gruppe V) dauerte die negative Phase meist lange und zeigte nur sehr geringe Tendenz zum Steigen; bei den meisten Fällen stieg die Bakteriolytinkurve schneller und höher als die Agglutinin- und Opsoninkurven. In einigen Fällen kamen nur Bakteriolytine zur Beobachtung, während die anderen 2 Antistoffe bis zum Tod nicht nachzuweisen waren. Die Tatsache, daß Serum ohne Opsonine eine bakteriolytische Kraft besitzt, scheint mir ein Beweis für die Verschiedenheit von Immunopsonin und bakteriolytischem Ambozeptor zu sein.

13) Die Cholera-typhoide Krankheit fasse ich nicht als Sekundärinfektion oder Mischinfektion, sondern als Vergiftungserscheinung durch Choleraendotoxine auf. Die gefährlichen Symptome im Anfang sind hauptsächlich als Vergiftungserscheinung durch Ektotoxine aufzufassen, dagegen das Cholera-typhoid als Vergiftung durch Endotoxine.

Zum Schluß spreche ich dem Herrn Dr. Quosig in Kobe für die liebenswürdige Unterstützung bei vorliegender Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus.

Kobe, Ende März 1908.

Literatur.

- 1) Proc. Roy. Soc. 1905 und 1907.
- 2) Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 39 und 51.
- 3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LVI. 1907.
- 4) Handbuch d. pathog. Mikroorganismen.
- 5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXVIII. 1905.
- 6) Experiment. Bakt. u. d. Infekt. 1906.
- 7) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XLV. 1908.
- 8) Berl. klin. Wochenschr. 1884.

Nachdruck verboten.

Versuche mit v. Behrings Bovovaccin.

Von

Gustaf Regnér,

und

Olof Stenström,Oberroßarzt, Vortragender in der
Kgl. Landw. Direktion für Tuberkulose-
angelegenheiten in StockholmKgl. Tuberkulosekonsulent
in Stockholm.

I.

Versuche an nicht gegen natürliche Tuberkuloseinfektion geschütztem Rindvieh.

Obschon die Methode der Bekämpfung der Tuberkulose unter dem Rindvieh mit hygienischen Mitteln in ihren Grundzügen unangreifbar ist und, mit Sorgfalt durchgeführt, zum vollständigen Verschwinden der Krankheit in jedem tuberkulösen Viehbestand führt, so kann doch der enthusiastischste Bewunderer dieser Methode nicht leugnen, daß der Weg von dem tuberkulösen Zustand eines Viehbestandes bis zu dessen tuberkelfreiem Zustand in vielen Fällen ein außerordentlich langer, mühseliger und schwerer ist. Wir wollen die Ursachen dieses Verhältnisses hier nicht zu ermitteln versuchen, sondern begnügen uns damit, hier nur darauf aufmerksam zu machen, weil hierin der Grund liegt, weshalb der Landmann allgemein nach einem gleichzeitig effektiven und billigen Mittel ruft, das die Viehzucht aus den harten Fesseln, die die Tuberkulose ihr auferlegt, befreien kann.

Es lag nahe, daß dieses Mittel in einer Schutzimpfung bestehen müsse, und als deshalb Prof. v. Behring meldete, daß er Rindvieh gegen Tuberkulose schutzimpfen könne, war es natürlich, daß man dieser neuen Anregung auch in unserem Lande, wo man dem Kampf gegen die Tuberkulose in den Viehställen stets das größte Interesse gewidmet hatte, alle gebührende Aufmerksamkeit schenken würde. Die Verff. wurden somit im Jahre 1903 nach Marburg gesandt, um sich mit der v. Behringschen Impfmethode näher vertraut zu machen, und nach unserer Rückkehr erhielten wir, nachdem die Regierung die erforderlichen Mittel hierzu angewiesen hatte, von der Kgl. Landwirtschaftlichen Direktion den Auftrag, die v. Behringsche Impfmethode einer genauen Prüfung zu unterziehen. Mit diesem, aus formellen Gründen jährlich erneuerten Auftrag war unter anderem auch die Pflicht verbunden, der Kgl. Landwirtschaftlichen Direktion nach jedem Versuchsjahr einen Bericht über die Versuche einzureichen. Wir haben dies auch getan, diese Jahresberichte sind aber aus leicht verständlichen Gründen nicht veröffentlicht worden. Der jetzt der Oeffentlichkeit übergebene Bericht gründet sich in erster Reihe auf die genannten Rapporte, ist aber natürlich viel umfassender, als alle diese zusammen, weil er auch eine Darstellung der Resultate der fraglichen Versuche enthält. Der Bericht umfaßt jedoch nur die erste Abteilung unserer Versuche, und zwar die Versuche mit Impfung gegen Tuberkulose beim Rindvieh nach v. Behring in nicht gegen die Tuberkulose geschützten Viehbeständen.

Die Arbeit ist so verteilt gewesen, daß wir beide sämtliche Impfungen und die meisten Untersuchungen mit Tuberkulin vorgenommen haben, jedoch so, daß der eine von uns (Stenström) den größeren Teil hier-

von übernommen hat, während der andere (Regnér) sämtliche Aufzeichnungen zu führen und die Berichte über die Versuche abzufassen gehabt hat. Stenström hat außerdem die bakteriologischen Arbeiten, die in einigen Fällen als nötig erachtet worden sind, vorgenommen. Die Obduktionen haben wir in verschiedenen Fällen aus praktischen Gründen den Platztierärzten anvertraut, die sich uns stets mit anerkannter Bereitwilligkeit zur Verfügung gestellt haben. Es ist uns eine angenehme Pflicht, ihnen allen unseren wärmsten Dank hierfür abzustatten.

Versuchsplan. Ausführung der Impfungen.

Am 7. Oktober 1904 erhielten wir von der Kgl. Landwirtschaftlichen Direktion den Auftrag, in hauptsächlichlicher Uebereinstimmung mit einem am 8. April desselben Jahres von der Regierung festgestellten Plane, Prof. E. A. v. Behrings Methode, das Rindvieh gegen Tuberkulose unempfindlich zu machen, einer genauen Prüfung zu unterziehen.

Nach diesem Plane sollte bei der Ausführung der Versuche wahrgenommen werden, 1) daß die Anzahl der Versuchsgüter auf höchstens 10 beschränkt würde; 2) daß die Bestände, innerhalb deren die Versuche vorgenommen werden sollten, im allgemeinen aus einer größeren Anzahl Tiere bestehen und daß diese stark tuberkulös sein sollten, daß die Versuche aber auch auf vollständig tuberkelfreie Bestände erstreckt werden könnten, falls der Besitzer eines solchen Bestandes sich bereit erklärt, denselben zu diesem Zwecke zur Verfügung zu stellen; 3) daß die Versuche im allgemeinen in der Weise vor sich gehen sollten, daß jeder Viehbestand, in welchem die Impfung unter genauer Beobachtung der von v. Behring erteilten Anweisungen geschähe, um Sicherheit über das Vorkommen von Tuberkulose in demselben zu erzielen, mit Tuberkulin geprüft werden solle; 4) daß von sämtlichen bei der ersten Impfung im Viehstall befindlichen sowie während des ersten Versuchsjahres im Viehbestand geborenen und demselben zugeführten Kälbern nur ungefähr die Hälfte geimpft werden, der Rest aber als Kontrolltiere dienen solle; 5) daß nach Verlauf von etwa 1 Jahr nach der ersten Impfung sowohl sämtliche geimpfte Tiere wie sämtliche Kontrolltiere mit Tuberkulin geprüft werden sollten, um ihr Verhalten zu diesem diagnostischen Mittel zu ermitteln.

Wir haben die uns vorgelegte Aufgabe so aufgefaßt, daß es für uns galt, in der Praxis zu erforschen, ob die v. Behringsche Impfmethode vollständig oder teilweise die bisher in unserem Lande angewendete Bangsche Kampfmethod ersetzen könne.

Die ersten Impfungen wurden am 24. Oktober 1904 von uns vorgenommen, und von diesem Tage datieren also unsere Impfversuche.

Wie aus dem weiter unten stehenden detaillierten Bericht hervorgeht, haben wir in 9 Beständen mit hohem Reaktionsprozentsatz geimpft. Vor dem Anfang der Versuche war uns das Versprechen gegeben worden, in einem reaktionsfreien Bestände impfen zu dürfen, durch das Hinscheiden des Besitzers wurde dies aber null und nichtig, und es erwies sich dann schwer, einen solchen Bestand zur Anstellung von Versuchen zu erhalten. Dies kann auch nicht wunder nehmen, da wir für die Unmöglichkeit einer Einführung der Seuche in den Bestand durch die Impfung nicht garantieren zu können meinten. Seit dem Februar 1906 impfen wir jedoch auch in einer durch hygienische Maßregeln erzielten reaktionsfreien Abteilung eines im übrigen tuberkulösen Bestandes. Ueber diese Versuche berichten wir jedoch jetzt nicht, weil wir die Resultate

unserer Impfungen von gegen die Tuberkuloseansteckung **geschützten** Kälbern erst in einigen Jahren vorlegen zu können glauben. Wir hätten natürlich am liebsten gesehen, wenn wir in einem vollständig tuberkel-freien Bestande hätten impfen können, weil der Zweck der Impfung gegen Tuberkulose in einem solchen ja in erster Reihe der war, zu erfahren, ob die Impfung die Tiere dauernd tuberkulös machen könne. Wir persönlich haben zwar derartiges nicht befürchtet, zumal v. Behring einen solchen Effekt leugnet. Andererseits konnte es aber auch keineswegs als unwichtig betrachtet werden, daß die Unschädlichkeit der Methode in der genannten Beziehung bestimmt nachgewiesen würde, damit nicht entgegengesetzte Vermutungen ein Hindernis für die allgemeine Anwendung der Methode bildeten, falls dieselbe sich einer solchen wert erweisen sollte. Wir erinnern daran, daß mancher Landmann noch heute glaubt, daß das Tuberkulin den damit behandelten Tieren Tuberkulose mitteilen könne, trotzdem es ja keine Tuberkelbacillen enthält. Viel annehmbarer wäre ja diese Ansicht indessen bezüglich eines Impfstoffes, der gleich dem v. Behringschen ausschließlich aus Tuberkelbacillen besteht, wenn diese auch nur humanen Ursprunges sind.

Leider sind wir in ein paar Fällen in der Wahl der Versuchsställe nicht glücklich gewesen, die Schuld daran liegt aber nicht an uns. Die betreffenden Tierbesitzer umfaßten die Versuche anfangs mit dem größten Interesse, sie änderten aber bald ihre Haltung unter dem Vorwand, daß die Impfung den Tieren geschadet habe; in einigen Fällen veranlaßte uns das mangelnde Interesse der Besitzer am Rindviehbestand überhaupt, mit den Versuchen nicht fortzufahren.

In einem Falle ist der Versuchsbestand oder der Teil desselben nicht mit Tuberkulin geprüft worden, teils ist derselbe aber als sehr tuberkulös bekannt, teils hatte er keinen Wert für unsere Versuche, weil der Besitzer nicht einmal an den Versuchstieren Tuberkulinproben gestatten wollte.

Da die Besitzer im allgemeinen nicht geneigt waren, ihre Viehbestände in toto mit Tuberkulin umprüfen zu lassen, haben wir uns in den meisten Fällen mit den Resultaten der vor längerer oder kürzerer Zeit vorgenommenen Untersuchungen begnügen müssen. Dieser Umstand dürfte jedoch unseres Erachtens nicht auf die Beurteilung der Impfungsresultate einwirken, weil Maßregeln gegen die Tuberkulose in den fraglichen Beständen nicht unterhalten worden sind, und es also aller Erfahrung nach nicht wahrscheinlich ist, daß der Zustand in bezug auf das Vorkommen der Tuberkulose in denselben eine wesentliche Veränderung zum Besseren erfahren hat, eher im Gegenteil. Daß die Versuchsbestände als stark tuberkulös betrachtet werden müssen, geht aus folgenden Angaben über die in denselben vorgenommenen Untersuchungen mit Tuberkulin hervor (No. X abgerechnet).

Im Versuchshof

I	reagierten	1905	von 225	Tieren	201 = 89,3	Proz.	R.
II	"	1898	" 109	"	72 = 66,5	" "	
III	"	1901	" 449	"	362 = 80,6	" "	
IV	"	1898	" 82	"	79 = 96,3	" "	
V	"	1898	" 150	"	96 = 64,0	" "	
V	"	1907	" 172	"	97 = 56,4	" "	
VI	"	1905	" 120	"	118 = 98,3	" "	
VIII	"	1907	" 20	"	18 = 90,0	" "	
IX	"	1898	" 45	"	15 = 33,3	" "	

Wir haben sämtliche Impfungen selbst ausgeführt und sind hierbei so viel wie möglich den von v. Behring vorgeschriebenen Anweisungen

gefolgt. Es ist indessen nicht leicht gewesen, seine Vorschriften im Detail wahrzunehmen, teils weil diese wiederholten Veränderungen ausgesetzt gewesen sind, teils weil sie uns in gewissen Beziehungen nicht aus praktischen Gesichtspunkten hervorgegangen zu sein scheinen. Um dies zu verdeutlichen, dürfte es nötig sein, das Impfverfahren und dessen Modifikationen in Kürze zu schildern¹⁾.

Das ursprüngliche Verfahren war folgendes: 0,001 g einer 4—6 Wochen alten Serumkultur I (Menschentuberkelbacillen) wurden einem gegen Tuberkulin nicht reagierenden 5—7 Monate alten Tiere intravenös eingespritzt; 4 Wochen danach erhält das Tier eine 25 mal so große Dosis, also 0,025 g²⁾.

Danach besteht der Impfstoff aus 0,004 g im Vakuum getrockneter, aber doch immer noch lebender Tuberkelbacillen, Tb 1 = 1 I.E. (Immunisierungseinheit), womit das Impfen beginnt. Für die zweite Impfung ist „ein anderes Tuberkulosevirus, das mit besonderer Gebrauchsanweisung gesendet wird“, anzuwenden. Bei der ersten Impfung dürfen die Tiere nicht über 12 Monate alt und nicht mit nachweisbaren Krankheitserscheinungen behaftet sein. Ist dagegen eine Tuberkulinprobe positiv ausgefallen, so bildet dies kein Hindernis für eine erste Impfung, insofern die Tiere nicht mit klinisch nachweisbarer Tuberkulose behaftet sind. Ist die Reaktion nach der ersten Impfung heftig und anhaltend, so lasse man von einer zweiten Impfung ab.

Zwei Jahre später (1904) wurden die vorerwähnten Trockenbacillen anempfohlen; die 5-fache Dosis = 5 I.E. wird bei der zweiten Impfung, die frühestens 12 Wochen nach der ersten vorgenommen werden darf, eingespritzt. Jetzt soll man in der Regel nur Tiere, die von 3 Wochen bis zu 4 Monate alt sind, impfen. Gesundes Rindvieh dieses Alters braucht, selbst wenn es einem notorisch tuberkulösen Bestande angehört, nicht vorher mit Tuberkulin geprüft zu werden. Ausnahmsweise kann auch älteres Rindvieh, bis zu 2 Jahre alt, geimpft werden, jedoch nur in dem Falle, wenn die Tiere vollständig frei von Krankheitszeichen sind und eine vorausgegangene Tuberkulinprobe vollständig negativ³⁾ ausgefallen ist. Zu erwähnen ist, daß v. Behring in demselben Jahre, aber an einer anderen Stelle⁴⁾, 3 Wochen bis 3 Monate als das geeignetste Alter für die erste Impfung bezeichnet.

Im Jahre 1905 heißt es in den Anweisungen aus Marburg, daß in der Regel nur gesunde Kälber im Alter von 2—12 Wochen geimpft werden sollen. In Beständen, wo ansteckende Krankheiten gang und gäbe sind, muß man mit der Impfung warten, bis die Krankheit aufgehört hat. Kommt septische Kälberpneumonie vor, so tut man am besten, wenn man die Kälber in den ersten Tagen mit Pneumonieserum behandelt und sie 4 Wochen darauf bovovacciniert (der Impfstoff wird jetzt Bovovaccin benannt), oder man impft auch versuchsweise einzelne Kälber und führt die Impfung bei den übrigen Kälbern aus.

Im Jahre 1906 erhält man das Bovovaccin, zur Erleichterung seiner Zerreibung und Emulsionierung, mit einem Zusatz von Kochsalz.

1) Vergl. Regnér und Stenström, Ueber die Schutzimpfung gegen Tuberkulose beim Rindvieh nach Prof. E. v. Behring. (Mitteilungen der Kgl. Landw. Direktion. No. 5. 1903). [Schwedisch.]

2) v. Behring, Beiträge zur experimentellen Therapie. Heft 5.

3) Beitr. zur experimentellen Therapie. Heft 7.

4) Beitr. zur experimentellen Therapie. Heft 8.

Betreffend die Temperaturmessungen vor und nach der Impfung enthalten v. Behrings Anweisungen folgendes:

Unter allen Umständen muß die Temperatur des Impflings 2mal täglich vor der Impfung, 2mal am Impfungstage und mindestens 2mal an den beiden darauffolgenden Tagen gemessen werden. Ist die Temperatur am zweiten Tage nach der Impfung nicht auf das Normale heruntergegangen oder sind deutliche Folgeerscheinungen wahrnehmbar, so werden die Messungen fortgesetzt.

Etwas geeigneter für die praktische Ausführbarkeit sind die im November 1903 für die Impfversuche im Großherzogtum Hessen erlassenen Vorschriften über die fraglichen Messungen. Sie lauten folgendermaßen: In den Fällen, wo der Tierbesitzer mit dem Messen der Rektaltemperatur vertraut ist, soll diese morgens und abends 2 Tage vor der Impfung und am Morgen des Impfungstages bei jedem Impfling 1mal gemessen werden. Nach der Impfung wird die Temperatur 1mal des Abends und hiernach an den folgenden 5 Tagen je 1mal gemessen. Zeigen die Tiere hierauf noch Temperaturen von über $39,2^{\circ}$, so werden die Messungen so lange fortgesetzt, bis die Temperatur heruntergegangen ist. Bei Tieren, die bei der ersten Impfung ein Alter von 4 Monaten nicht überschritten haben, kann man, wenn sich der Ausführung von Messungen Schwierigkeiten entgegenstellen, davon absehen. Anderenfalls müssen die Messungen auf die oben mitgeteilte Weise stattfinden. Auch bei Impfungen in verseuchten Beständen sind, wenn möglich, Messungen vorzunehmen.

Ueber das Alter unserer Impflinge bei der ersten Injektion gibt die folgende Gruppierung Aufschluß. Es waren demnach

10	Tiere	unter	3	Wochen,
125	"	von	3	" bis 3 Monate,
20	"	"	3	" " 4 " und
3	"	über	4	Monate alt.

Von den Kälbern unter 3 Wochen war das jüngste 11 Tage alt. Das älteste Impftier war bei der ersten Injektion 1 Jahr und 5 Monate alt, aber reaktionsfrei. Mit wenigen Ausnahmen haben wir uns somit an das 1904 empfohlene Alter gehalten, wodurch die meisten in der in den letzten Anweisungen vorgeschriebenen Altersstufe¹⁾ geimpft worden sind.

Das Versuchsmaterial ist in Impf- und Kontrolltiere eingeteilt worden. Dem Plane nach sollten diese beiden Gruppen ungefähr gleich groß sein, es erwies sich indessen sehr bald als unmöglich, diese Proportion einzuhalten, teils weil die Tierbesitzer nur mit Schwierigkeit dazu zu bewegen waren, Kälber einzig und allein zu dem Zwecke, als Kontrolltiere zu dienen, herzugeben, teils weil das Kälbermaterial in den Beständen infolge verschiedener Kalamitäten geringer an Zahl wurde, als berechnet war. Unseren 158 Impflingen entsprechen also nur 67 Kontrolltiere oder etwa 30 Proz. des Versuchsmaterials. Wir können jedoch nicht finden, daß dieser Umstand auf die Beurteilung der Impfergebnisse störend eingewirkt hätte.

Ein jedes Impftier wurde am linken Ohr mit einer ungeraden, jedes Kontrolltier am rechten Ohr mit einer geraden Zahl gezeichnet. Außer-

1) Bei unseren Impfversuchen an vor Tuberkulose geschütztem Rindvieh, über die wir später Bericht erstatten werden, haben wir von 6 Tage alte Kälber bis 1 Jahr 10 Monate altes Jungvieh geimpft.

dem haben wir, um uns noch mehr gegen Irrtümer zu sichern, die Stallnummer der Versuchstiere aufgezeichnet, wo solche vorgekommen sind. Die von uns angewendeten Ohrenzeichen — System Deriaz, Firma Rau in Karlsruhe — sind nämlich nicht vollständig befriedigend. Obschon wir die Zeichen stets am medialen Teile des Ohres in der Nähe der Kommissur angebracht haben, sind sie oft herausgefallen, wo uns aber die Viehstallnummer zugänglich war, da hat die Identifizierung leicht erfolgen können. In jedem Falle haben wir an dem Loche im linken oder rechten Ohre, welches das Zeichen hinterlassen hat, bestimmen können, ob das Tier ein Impf- oder ein Kontrolltier war.

Das für die Impfungen bezogene Bovovaccin ist stets innerhalb des für jede Sendung als Termin für die Anwendbarkeit des Impfstoffes angegebenen Zeitraumes angewendet worden. In einigen Fällen interessierte es uns, die pathogene Wirksamkeit des Bovovaccins durch Impfung von Meerschweinchen mit demselben zu ermitteln. Hierbei zeigte es sich, daß das Bovovaccin, wie auch Thomassen¹⁾ und Vallée²⁾ konstatiert haben, zuweilen aus Bacillen bestand, die keine Reproduktionsfähigkeit besaßen, indem die Versuchstiere sich als vollständig unberührt von dem Impfstoff erwiesen. Hieraus muß man schließen, daß die Bovovaccination nicht mit Notwendigkeit die Anwendung lebenden Tuberkulosevirus voraussetzt, oder daß der Impfstoff in gewissen Fällen unwirksam oder wenigstens weniger wirksam ist.

Die Herstellung der Bovovaccinemulsion, die stets unmittelbar vor der Impfung erfolgt ist, ist eine keineswegs einfache Prozedur. Wie man auch verfährt, so scheint es doch unvermeidlich, daß die Emulsion flockig wird und daß die Flocken in wenigen Augenblicken zu Boden sinken, sich aneinanderheften und größere Klumpen bilden. Eine genaue Dosierung des Bovovaccins ist unter allen Umständen unmöglich und dürfte vom Erfinder wohl kaum beabsichtigt sein. Um indessen Ungleichheiten in dieser Beziehung so viel wie möglich zu vermeiden, tut man am besten, wenn man nicht auf einmal größere Mengen des Impfstoffes verarbeitet oder zusammen in ein Gefäß gießt. Ferner genügt es nicht, daß man die Emulsion vor jeder Füllung der Spritze kräftig schüttelt, sondern man muß auch unmittelbar vor der Injektion einen Finger auf die Röhre der Spritze legen und den Spritzeninhalt umschütteln, denn sonst bleibt ein großer Teil des Impfstoffes zurück.

Das Verfahren bei der Ausführung der Impfungen im übrigen bietet nicht die geringsten Schwierigkeiten dar. Wir verfahren ungefähr auf folgende Weise.

Der Operateur nimmt auf einem Melkschemel oder dergleichen im Viehstalle (Kälberhaus), wo das Licht reichlich einströmt, z. B. an einer Türöffnung, Platz. Nachdem das Kalb ihm zugeführt ist, werden die Haare an der Einstichstelle über der linken Halsfurche abgeschnitten. Die Stelle wird mit Auroformlösung abgewaschen, die Jugularis auf die gewöhnliche Weise angestaut und ein Schnitt durch die Haut über der Ader gemacht, was die Einführung der Kanüle in hohem Grade erleichtert und die Operation zu einer ruhig und schnell verlaufenden macht; außerdem gewinnt man hierdurch den Vorteil, daß die Kanülen nicht so oft geschliffen zu werden brauchen. Die von uns in der letzteren Zeit angewendeten Kanülen (die von Ebeling) geben einen kräftigen

1) VIII. internat. tierärztl. Kongreß. Budapest 1905.

2) Bull. de la soc. centr. de méd. vétér. 1906. p. 409.

Blutstrahl. Nachblutungen, wie sie anderweitig bei der Anwendung dieser Kanülen beobachtet wurden, sind bei uns nicht eingetroffen. Dagegen wäre es wünschenswert, wenn der Kanülenkopf etwas leichter gemacht würde; seine, wie uns vorkommt, unnötige Schwere im Verhältnis zur Nadel verursacht nämlich, daß man sie leicht hinfallen läßt und daß sie somit verunreinigt wird.

Wie erwähnt, ziehen wir es vor, nicht, wie die Anweisungen v. Behrings in erster Reihe anraten, das Tier da zu impfen, wo es steht, sondern es an einem Platze im Viehstall zu impfen. Dies erstere Verfahren ist nämlich für den Operateur sehr unbequem und gestattet nicht die erforderliche Beleuchtung des Operationsfeldes. Soll man es übrigens, wie die Anweisungen außerdem betonen, vermeiden, daß die Emulsion auf den Stallboden tropft, was kaum angängig ist, so fällt natürlich die Bedeutung dieser Vorsichtsmaßregel weg, wenn sämtliche Impfungen an einem einzigen, noch dazu leicht desinfizierbaren Platze vorgenommen werden.

Bei der Impfung älterer Tiere wendeten wir mit Vorteil einen Notstall für Ochsen an. Hier hebt sich die Ader durch Pressung an der Kante der Halsöffnung selbst empor und es bedarf keines Schnittes durch die Haut. Natürlich muß das Tier unmittelbar nach der Injektion zurückgezwungen werden, damit der Druck auf die Vene rechtzeitig aufhört.

Was die Temperaturmessungen der Impflinge betrifft, so haben wir uns aus praktischen Gründen auf eine Messung unmittelbar vor der Injektion beschränkt. Die Messungen haben wir von dem Stallpersonal vornehmen lassen, um uns zu überzeugen, daß sie mit der Handhabung des Thermometers Bescheid wissen bzw. um sie darin zu instruieren. Tiere mit hoher Vortemperatur haben wir nicht geimpft, durch eine Temperatur von $40-40,1^{\circ}$ haben wir uns jedoch nicht abschrecken lassen, wenn das Kalb gesund erschien; solche Temperaturen trifft man ja relativ oft bei Kälbern an.

Die Temperaturen nach der Impfung, welche sämtlich von dem Stallpersonal unter Leitung des Besitzers oder des Hofinspektors gemessen wurden, sind am Abend des Impftages um 6 Uhr sowie an den folgenden Tagen 6 Uhr vorm. und 6 Uhr nachm., so lange wie die Temperatur $39,5^{\circ}$ überstiegen hat, aufgezeichnet worden. Die Beurteilung der Temperaturen ist nach denselben Grundsätzen erfolgt, wie bei der Untersuchung mit Tuberkulin, d. h. nach den seit 1898 in unserem Lande angewendeten und in Uebereinstimmung mit den auf dem VIII. internationalen tierärztlichen Kongreß zu Budapest 1905 angenommenen Normen, jedoch so, daß wir, in Uebereinstimmung mit den ersteren, mit einer etwas höheren Normaltemperatur betreffs der Kälber gerechnet haben.

Die Observationen über den Gesundheitszustand der Tiere nach der Impfung sind in den kurz darauffolgenden Stunden von uns selbst, später aber vom Tierbesitzer oder seinem Stellvertreter gemacht worden. Es wäre uns unmöglich gewesen, bloß dieses Zweckes wegen mehrere Tage auf dem Versuchsgut zu bleiben; und dies erfordert ja auch, da es sich hier nur darum handelte, ohne jede Untersuchung auf das Verhalten des Tieres achtzugeben, keine besondere Sachkenntnis.

v. Behring unterscheidet, wie bekannt, zwischen vier verschiedenen Graden der Reaktion nach der Impfung, nämlich:

0 = Abwesenheit aller Reaktion;

I = kurzdauerndes Fieber;

II = 2—4-tägiges anhaltendes Fieber;

III = 5—8-tägiges anhaltendes Fieber sowie andere Reaktions-symptome (Husten, Gewichtsverlust, abnehmende Freßlust, Diarrhöe u. dergl.).

Da indessen bei Massenimpfungen in der Praxis kaum Gelegenheit zu ganz zuverlässigen Beobachtungen betreffend diese verschiedenen Reaktionsgrade sein dürfte, haben wir uns eine Unterscheidung dieser nicht angelegen sein lassen, und dies um so weniger, als die Angaben über den Zustand der Impftiere nicht für jede Impfgruppe regelmäßig eingelaufen sind und dadurch eine prozentuale Berechnung über das Vorkommen des letzten Reaktionsgrades im Verhältnis zu den übrigen unmöglich wurde. Die Anweisungen aus Marburg vom Jahre 1906 führen die fraglichen Observationen nicht länger an.

Schließlich sollten, dem Versuchsplane nach, sämtliche Versuchstiere ungefähr nach Verlauf eines Jahres nach der ersten Impfung einer Probe mit Tuberkulin unterzogen werden. Dies ist jedoch bis zu etwa 1 Jahr nach der zweiten Impfung aufgeschoben worden. Aus späteren Veröffentlichungen aus Marburg¹⁾ schien nämlich hervorzugehen, daß das Tuberkulin erst dann mit Erfolg als Angeber des Impfergebnisses angewendet werden könne. Früher injiziert, setze man sich dem aus, durch den Umstand irreführt zu werden, daß das Bovovaccin, ohne Herderscheinungen hervorzurufen, bei dem Impfling eine lange zurückbleibende Ueberempfindlichkeit für das Tuberkulin im Gefolge hat. Prüft man also ein Impftier frühestens 1 Jahr nach der zweiten Impfung mit Tuberkulin und reagiert es dann, so kann man nach Römer mit Sicherheit annehmen, daß eine Lokalisation der Krankheit (ein Tuberkelherd) vorliegt²⁾.

Beinahe sämtliche Untersuchungen mit Tuberkulin haben wir selbst ausgeführt und nur in vereinzelt Fällen die Hilfe des Platztierarztes hierfür in Anspruch genommen.

Hiernach gehen wir zu einem detaillierten Bericht über die Impfversuche auf jedem einzelnen Gute über.

Versuchsgut I.

Der Viehbestand ist auf ein Hauptgehöft und zwei Vorwerke verteilt und besteht aus insgesamt etwa 200 Tieren. Jahrzehntlang hat die Tuberkulose, durch weniger gute hygienische Verhältnisse wesentlich begünstigt, unter ihnen gewütet und hat gewisse Jahre zahlreiche Opfer gefordert, in anderen Jahren milder geherrscht. Der Stamm war seit über 40 Jahren in demselben Besitz und hatte seinerzeit ein sehr gutes Renommée, es zeigte sich jedoch immer deutlicher, daß die Tuberkulose so überhand genommen hatte, daß das Wiedereintreten besserer Verhältnisse nur durch eine kräftige Bekämpfung der Krankheit denkbar

1) Beispielsweise in Römers Beiträge zur Impffrage bei den Verhandlungen auf dem VIII. internationalen tierärztlichen Kongreß. Teil I. p. 419.

2) Eber (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. Heft 5 und 6) nimmt an, daß man im vorliegenden Falle schon nach 9 Monaten eine Tuberkulinprobe wagen könne.

Bei unseren Impfungen an gegen Tuberkulose geschützten Kälbern haben wir die Beobachtung gemacht, daß die Wirkung der zweiten Impfdosis in den meisten Fällen schon nach 3 Monaten verschwunden war, da die meisten Kälber zu dieser Zeit nach der zweiten Impfung nicht auf das Tuberkulin reagieren.

erschien. Der Besitzer traute der v. Behringschen Impfmethode und stellte deshalb seinen Bestand gern für unsere Versuche zur Verfügung. Bei diesen hatten wir an dem intelligenten und interessierten Inspektor des Gutes eine wertvolle Hilfe.

Im Februar 1905 wurde der ganze Stamm mit Tuberkulin untersucht, das Resultat davon war: $\frac{11 + 2 + 154}{167} + \frac{0 + 2 + 42}{44} + \frac{8 + 1 + 5^1}{14}$
= 89,3 Proz. Reaktion.

Gruppe	1—15	1 I.E.	am 26. Okt. 1904,	5 I.E.	am 23. Jan. 1905
"	91—105	1 "	" 4. März 1905,	5 "	" 27. Mai 1905
"	169—191	1 "	" 27. Mai 1905,	5 "	" 23. Aug. 1905
"	193—201	1 "	" 23. Aug. 1905,	5 "	" 24. Nov. 1905
"	235—253	1 "	" 24. Nov. 1905,	5 "	" 21. Febr. 1906
"	255—261	1 "	" 4. Jan. 1906,	5 "	" 1. April 1906

(S. Tabelle p. 637 u. 638.)

In diesem Zusammenhange bringen wir nähere Angaben über die Obduktionsresultate.

No. 7, geschlachtet am 26. Sept. 1906, hatte nicht auf 1 I.E. und auch nicht den 21. Febr. 1906 auf Tuberkulin reagiert. Verminöse Bronchitis, frei von Tuberkulose (Stenström).

No. 11, am 15. Sept. 1905 wegen Knochenerweichung geschlachtet. Hatte weder auf 1 I.E. noch auf 5 I.E. reagiert. Frei von Tuberkulose (A. Bergstrand). Hämorrhagische Lymphdrüse mit negativem Erfolg Meerschweinchen eingepft (Stenström).

No. 13 starb am 15. Dez. 1904 an einem Digestionsleiden. Hatte auf 1 I.E. nicht reagiert. Frei von Tuberkulose (A. Bergstrand).

No. 91, geschlachtet am 27. Juni 1907. Hatte auf 1 I.E. reagiert, nicht aber den 30. Nov. 1906 auf Tuberkulin. Frei von Tuberkulose (A. Bergstrand).

No. 95, geschlachtet am 26. Sept. 1906. Hatte auf 1 I.E. reagiert (?). Fremdkörperabsceß im Zwerchfell, frei von Tuberkulose (Stenström).

No. 105 am 26. Mai 1908 infolge Aktinomykose geschlachtet. Hatte nicht auf 1 I.E., wohl aber auf Tuberkulin am 30. Nov. 1906 reagiert. Tuberkulose in den Bronchial- und Mediastinaldrüsen, ein paar erbsen-große Herde in den Lungen (Regnér).

No. 171, geschlachtet am 15. Sept. 1905 wegen Knochenerweichung. Hat auf 1 I.E. nicht reagiert. Frei von Tuberkulose (A. Bergstrand). Hämorrhagische Lymphdrüse mit negativem Resultate Meer-schweinchen eingepft (Stenström).

No. 179, geschlachtet am 20. März 1907. Hat auf 1 I.E. nicht reagiert. Frei von Tuberkulose (A. Bergstrand). Hämorrhagische Lymphdrüsen mit negativem Resultate Meer-schweinchen eingepft (Stenström).

No. 183, geschlachtet am 4. Jan. 1906 infolge Rachitis. Hat auf 1 I.E. nicht reagiert. Verkalkte Tuberkulose in einer hinteren

1) Lies: 11 nicht, 2 zweifelhaft und 154 reagierende von 167 Tieren über 2 Jahre + 2 zweifelhaft und 42 reagierend von 44 1—2 Jahre alten Tieren + 8 nicht, 1 zweifelhaft und 5 reagierend von 14 Tieren unter 1 Jahre. Diese Bezeichnungswiese wird im folgenden angewendet. Falls die eine oder andere der 3 Altersgruppen nicht mit in die Untersuchung eingeschlossen war, so wird sie gleichwohl bezeichnet und zwar folgendermaßen:

$$\frac{0 + 0 + 0}{0}$$

Impf- No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am				Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	21. Febr. 1906	30. Nov. 1906	1. Juni 1907	28. Jan. 1908	
		d. 1. Impfung		d. 2. Impfung						
1	31. Juli 04	39,3	41,1	39,4	41,3	R. 1)	—	—	—	
3	2. Aug. 04	39,0	39,3	39,5	40,5	F.	—	F.	F.	
5	24. Juli 04	38,9	40,1	39,4	40,2	"	—	"	"	
7	6. Okt. 04	39,5	39,8	39,4	40,5	"	—	—	—	26. Sept. 06 T.-frei
9	11. Aug. 04	38,9	40,6	39,5	41,1	R.	—	—	—	
11	31. " 04	39,2	39,2	39,4	39,8	—	—	—	—	15. Sept. 05 T.-frei
13	8. Okt. 04	38,7	39,2	—	—	—	—	—	—	15. Dez. 04 T.-frei
15	14. Sept. 04	39,7	39,3	39,1	39,8	R.	—	—	—	
91	27. Nov. 04	39,1	40,1	39,1	41,4	—	F.	—	—	27. Juni 07 T.-frei
93	28. " 04	39,4	40,2	39,2	40,1	—	"	F.	F.	
95	2. Dez. 04	39,6	40,1	39,2	40,7	—	—	—	—	26. Sept. 06 T.-frei
97	10. " 04	39,1	40,0	38,9	40,0	—	F.	F.	F.	
99	15. " 04	39,7	40,3	39,0	41,5	—	"	"	"	
101	17. " 04	39,2	42,0	39,0	41,1	—	R.	—	—	
103	25. Jan. 05	39,6	39,8	38,9	39,7	—	"	—	—	
105	7. Febr. 05	39,3	39,5	40,0	40,2	—	"	—	—	26. Mai 08 T.
169	22. " 05	39,8	41,5	38,5	41,5	—	"	—	—	
171	4. März 05	39,9	39,8	38,9	41,1	—	"	—	—	15. Sept. 05 T.-frei
173	9. " 05	39,4	40,0	38,9	40,7	—	R.	—	—	
175	12. " 05	40,1	39,6	38,7	40,8	—	—	—	—	
177	13. " 05	39,6	39,8	38,7	40,1	—	F.	F.	F.	
179	14. " 05	39,5	39,7	38,3	40,6	—	—	—	—	20. März 07 T.-frei
181	17. " 05	39,7	39,5	38,6	40,5	—	R.	—	—	
183	2. April 05	39,5	39,8	38,7	40,5	—	—	—	—	4. Jan. 06 T.
185	8. " 05	39,6	39,5	39,0	40,4	—	R.	—	—	
187	9. " 05	39,8	39,6	38,7	40,5	—	F.	F.	F.	
189	7. Mai 05	39,5	39,2	39,1	40,3	—	R.	—	—	26. Mai 08 T.
191	15. " 05	39,0	39,8	39,2	40,6	—	F.	F.	F.	
193	10. Juni 05	39,4	39,6	39,3	41,1	—	—	R.	—	
195	11. " 05	39,0	40,0	38,0	40,3	—	—	"	—	7. Juni 08 T.
197	23. Juli 05	38,8	39,6	39,0	40,8	—	—	"	—	
199	1. Aug. 05	39,0	39,5	38,8	41,0	—	—	"	—	
201	10. " 05	39,0	39,8	39,2	40,6	—	—	"	—	26. Mai 08 T.
235	20. " 05	39,1	40,8	39,1	41,6	—	—	"	—	
237	22. " 05	38,8	40,9	39,1	40,5	—	—	"	—	30. Okt. 07 T.
239	29. " 05	39,0	40,7	39,0	41,5	—	—	"	—	
241	26. " 05	38,8	40,7	39,0	—	—	—	"	—	1. Febr. 06 T.
243	30. " 05	39,5	41,2	39,1	40,7	—	—	R.	—	
245	17. Sept. 05	38,7	41,0	39,0	40,7	—	—	—	—	11. Juni 06 T.
247	7. Okt. 05	38,5	40,7	39,2	39,7	—	—	R.	—	
249	28. " 05	39,0	41,2	39,1	40,6	—	—	"	—	27. Juli 08 T.
251	28. " 05	39,2	40,0	39,0	40,9	—	—	"	—	
253	23. Aug. 05	38,0	40,9	38,8	40,5	—	—	—	—	11. Juni 06 T.
255	10. Nov. 05	39,3	40,9	39,5	40,4	—	—	R.	—	
257	14. " 05	39,6	39,8	39,0	40,2	—	—	"	—	
259	1. Dez. 05	39,4	39,9	39,4	40,7	—	—	"	—	
261	24. Juli 04	38,9	39,0	38,7	40,0	—	—	"	—	

1) R. = Reaktion, F. = Frei von Reaktion.

Kontrolltiere.

Kontroll- No.	Geboren	Tuberkulinprobe am				Obduktion
		21. Febr. 1906	30. Nov. 1906	1. Juni 1907	28. Jan. 1908	
2	18. Okt. 1904	—	—	—	—	8. Nov. 04 T.-frei 20. Juni 05 T.
28	20. „ 1904	— ¹⁾	—	—	—	
30	7. Nov. 1904	F. ²⁾	—	F.	F.	9. Aug. 05 T.-frei 27. Juli 08 T.
32	15. „ 1904	R. ²⁾	—	—	—	
34	18. „ 1904	F. ²⁾	—	F.	F.	
36	24. „ 1904	— ²⁾	—	—	—	
116	12. Aug. 1905	R.	—	—	—	
118	16. „ 1905	—	—	—	—	
120	29. „ 1905	—	—	—	—	

Mediastinal- und einer Mesenterialdrüse. Zwei Meerschweinchen mit positivem Resultate geimpft (Stenström).

No. 189, geschlachtet am 26. Mai 1908 wegen Unfruchtbarkeit. Hat auf 1 I.E. nicht reagiert, wohl am 30. Nov. 1906 auf Tuberkulin. Tuberkulose in den Bronchial-, Mediastinal- und Portaldrüsen (Regnér).

No. 195, geschlachtet am 7. Juni 1908 infolge akuter doppelseitiger Pleuritis. Hat auf 1 I.E. und auf Tuberkulin am 1. Juni 1907 reagiert. Tuberkulose: Ein kleiner Herd in einer Mesenterialdrüse, einige solche in den vorderen Mediastinaldrüsen und eine Menge solcher in einer Retropharyngealdrüse, die etwas größer als ein Hühnerei war. Alle Herde alten Datums (A. Bergstrand).

No. 201, geschlachtet am 26. Mai 1908 wegen Unfruchtbarkeit. Hat auf 1 I.E. nicht reagiert, aber auf Tuberkulin am 1. Juni 1907. Tuberkulose in einer Mediastinaldrüse (Regnér).

No. 237, geschlachtet am 30. Okt. 1907. Hatte auf 1 I.E. sowie auf Tuberkulin am 1. Juni 1907 reagiert. Das Tier konnte nicht den $\frac{1}{4}$ Meile langen Weg nach dem Hauptgut gehen. Es hatte längere Zeit Schwierigkeit gehabt, aufzustehen und war abgemagert. Tuberkulose: Vereinzelte Herde in beiden Lungen und in sämtlichen Drüsen der Brusthöhle; einige kleine Herde auf der Pleura costalis und in den Leberlymphdrüsen; ein taubeneigroßes Konglomerat im Rückenmarkskanal mitten vor dem vierten und ein hühnereigroßes mitten vor dem zweiten Lendenwirbel mit Anfrassung des Arcus der Wirbel; das Fleisch wurde kassiert (Regnér).

No. 241 starb 4 Stunden nach 5 I.E. an akutem Lungenödem. Hat auf 1 I.E. reagiert. Sämtliche Lymphdrüsen hämorrhagisch; verkalkte Tuberkulose in den Retropharyngealdrüsen (Stenström).

No. 245, geschlachtet am 11. Juni 1906. Hat auf 1 I.E. reagiert. Tuberkulöse Hyperplasie der Bronchial- und Mediastinaldrüsen; zwei Mesenterial- sowie die Portaldrüsen mit teilweise verkalkten Tuberkeln (Regnér).

No. 249, geschlachtet am 27. Juli 1908. Hat auf 1 I.E. reagiert und auf Tuberkulin am 1. Juni 1907. Verkalkte Tuberkulose in den retropharyngealen Drüsen; zahlreiche haselnußgroße Herde in den Lungen; ausgebreitete tuberkulöse Pleuritis; verkalkte Tuberkulose in den Brust-

1) Im Februar 1905 reagiert.

2) Im Februar 1905 nicht reagiert.

lymphdrüsen; starke tuberkulöse Beläge in der Bauchhöhle; Metritis tuberculosa; generalisierte Tuberkulose (Stenström).

No. 253, geschlachtet am 11. Juni 1906. Hat auf 1 I.E. reagiert. Die mittleren und hinteren Mediastinaldrüsen durch tuberkulöse, teilweise verkalkte Infiltration 5—6-fach vergrößert; zwei Mesenterialdrüsen teilweise tuberkulös infiltrierte, teilweise mit vereinzelt Herden; auf der einen Drüse beginnender Durchbruch nach dem Peritoneum (Regnér).

No. 2 starb am 8. Nov. 1904 an einem Digestionsleiden. Frei von Tuberkulose (A. Bergstrand).

No. 28, geschlachtet am 20. Juni 1905 infolge Krankheit. Hatte im Februar desselben Jahres auf Tuberkulin reagiert. Tuberkulose in den Bronchial- und Mediastinaldrüsen; starke tuberkulöse Beläge auf der Pleura pulmonalis und parietalis sowie auf dem Pericardium (A. Bergstrand).

No. 36, geschlachtet am 9. Aug. 1905 infolge Beckenbruches. Hat nicht auf Tuberkulin im Februar desselben Jahres reagiert. Der vordere Lappen der rechten Lunge durch kleine Knötchen verdichtet, sonst nichts (A. Bergstrand). Das Präparat mit negativem Resultat bakteriologisch untersucht (Stenström). Frei von Tuberkulose.

No. 118, geschlachtet am 27. Juli 1908. Hat reagiert auf Tuberkulin am 21. Febr. 1906. Tuberkulose in den Retropharyngealdrüsen und in der Brusthöhle wie bei No. 249; tuberkulöse Pericarditis; kleine tuberkulöse Beläge auf dem Peritoneum; Tuberkulose in den tieferen Fleischlymphdrüsen (Stenström).

Auf dem Versuchsgut I haben wir somit 45 Tiere vollständig geimpft. No. 13 bekam nur 1 I.E. und No. 241 ist auch nicht mitgerechnet, weil das Tier einige Stunden nach 5. I.E. gestorben ist. Diesen entsprechen 9 Kontrolltiere. Es haben sich gerade auf diesem Gute große Schwierigkeiten gezeigt, aus dem Kälbermaterial Kontrolltiere zu entnehmen, dieser Umstand schien uns aber nicht ein Aufhören mit den Versuchen zu motivieren, da sich gerade hier eine gute Gelegenheit darbot, das Bovovaccin einer Generalprobe zu unterziehen. Von den Impftieren war das jüngste 12 Tage, die übrigen bei der ersten Impfung, wenn man No. 261 abrechnet, das bei dieser Gelegenheit etwas über 1 Jahr und 5 Monate war, nicht über 4 Monate alt. Dies letztere ist ein im Dezember 1905 reaktionsfrei importierter Stier, der in den Pferdestall gestellt worden war. Dort blieb er, bis 3 Wochen nach der zweiten Impfung vergangen waren, und wurde dann nach dem Hauptviehstall gebracht, was, wie es scheint, zur Folge hatte, daß er sich Tuberkulose zuzog.

Versuchsgut II.

Der Viehbestand, unansehnlich und in einem alten Gebäude stehend, wurde 1898 mit Tuberkulin geprüft: $\frac{15 + 1 + 64}{80} + \frac{12 + 0 + 7}{19}$

+ $\frac{9 + 0 + 1}{10} = 66,5$ Proz. Reaktion.

Gruppe 17—31 1 I.E. am 1. Nov. 1904, 5 I.E. am 24. Jan. 1905
 „ 311—321 1 „ „ 17. Jan. 1906, 5 „ „ 11. April 1906

Impf- No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am	
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	11. April 1906	30. April 1907
		der 1. Impfung		der 2. Impfung			
17	6. Sept. 1904	39,0	39,0	38,7	41,7	R.	—
19	3. „ 1904	39,2	39,8	38,9	39,8	F.	F.
21	1. Aug. 1904	39,9	39,9	38,9	40,3	—	—
23	19. „ 1904	38,7	39,8	39,0	40,2	R.	—
25	29. „ 1904	39,1	39,5	39,1	39,5	F.	R.
27	18. Sept. 1904	39,0	40,0	38,8	41,1	R.	—
29	1. „ 1904	39,1	39,6	39,2	40,8	F.	R.
31	9. „ 1904	39,2	39,3	38,8	40,3	R.	—
311	3. „ 1905	39,2	39,7	38,3	41,0	—	R.
313	12. „ 1905	38,7	41,4	38,4	40,0	—	„
315	10. Okt. 1905	39,2	40,0	38,8	40,8	—	„
317	17. „ 1905	38,9	39,0	38,6	40,7	—	F.
319	28. „ 1905	39,1	41,0	38,6	40,2	—	R.
321	23. „ 1905	38,9	40,7	38,7	40,5	—	F.

Kontrolltiere.

Kontroll- No.	Geboren	Tuberkulinprobe am		Kontroll- No.	Geboren	Tuberkulinprobe am	
		11. April 1906	30. April 1907			11. April 1906	30. April 1907
38	—	R.	—	44	—	R.	—
40	—	„	—	140	—	—	R.
42	—	F.	F.				

Auf dem Versuchsgut II sind 14 Tiere geimpft worden, denen 5 Kontrolltiere entsprechen. Das niedrigste Alter bei der ersten Impfung war 1 Monat, das höchste $4\frac{1}{2}$ Monate. No. 21 wurde, unbekannt wohin, verkauft. Wir hatten nicht Gelegenheit, eines dieser Versuchstiere zu obduzieren. Die Impfungen hörten hier im Frühling 1906 auf, weil der Besitzer die Kälber nicht vor, während und eine geraume Zeit nach der Impfung gegen Tuberkulose schützen zu können glaubte.

Versuchsgut III.

Der Bestand ist zwischen dem Haupthof und mehreren Vorwerken verteilt und in hohem Grade tuberkulös. Im Jahre 1901 ergab eine Totaluntersuchung mit Tuberkulin das Resultat: $\frac{25 + 13 + 283}{321} + \frac{16 + 5 + 64}{85}$
 $+ \frac{26 + 2 + 15}{43} = 80,6$ Proz. Reaktion.

Gruppe 33—69 1 I.E. am 12. Dez. 1904, 5 I.E. am 9. März 1905
 „ 263—291 1 „ „ 16. Jan. 1906, 5 „ „ 10. April 1906
 (S. Tabelle p. 641.)

Obduktionsresultate.

No. 45, geschlachtet am 2. Jan. 1906 wegen Exterieurfehler. Hatte nicht auf 1 I.E., wohl aber einige Tage vor dem Geschlachtetwerden auf Tuberkulin reagiert. Tuberkulose: In einer Bronchialdrüse ein sehr kleiner Herd; in den mittleren und hinteren Mediastinaldrüsen eine reichliche Menge verkalkter Herde; in einer Portaldrüse ein verkalkter

Impf- No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am			Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	9. April 1906	2. Juni 1907	28. Jan. 1908	
		d. 1. Impfung	d. 2. Impfung						
33	29. Okt. 04	39,0	39,3	38,8	40,5	F.	—	F.	
35	27. „ 04	39,0	39,1	38,8	40,7	R.	—	—	
37	19. „ 04	39,1	39,5	39,1	41,0	F.	F.	F.	
39	13. „ 04	39,1	40,2	39,1	41,0	R.	—	—	
41	23. Sept. 04	39,4	39,3	38,8	40,7	„	—	—	
43	3. „ 04	39,1	40,0	38,8	40,1	„	—	—	
45	9. Nov. 04	39,1	39,3	39,2	40,0	—	—	—	2. Jan. 06 T.
47	16. „ 04	38,8	39,6	39,1	41,0	F.	F.	F.	
49	15. „ 04	39,2	40,6	39,0	41,1	R.	—	—	
51	25. „ 04	39,2	39,3	—	—	—	—	—	
53	12. Sept. 04	39,1	39,6	38,7	40,5	F.	F.	R.	
55	11. „ 04	39,1	39,7	39,3	41,3	R.	—	—	
57	15. Nov. 04	39,0	39,6	39,0	40,7	„	—	—	
59	7. „ 04	38,9	39,8	39,5	41,0	„	—	—	14. Nov. 07 T.-frei
61	12. Sept. 04	39,0	39,2	39,2	39,5	„	—	—	
63	12. „ 04	38,8	39,4	38,9	41,4	F.	F.	F.	
65	5. Okt. 04	39,1	39,3	39,0	41,0	R.	—	—	11. Juli 07 T.
67	6. „ 04	38,7	39,3	39,2	40,2	„	—	—	
69	19. Sept. 04	39,4	40,6	39,0	41,0	„	—	—	
263	16. Nov. 05	39,3	40,6	38,3	40,7	—	R.	—	
265	16. „ 05	39,0	39,7	38,8	39,5	—	F.	F.	
267	9. „ 05	39,0	39,4	38,9	40,2	—	R.	—	
269	4. „ 05	39,0	40,0	38,7	39,9	—	—	—	11. März 07 T.
271	12. Okt. 05	39,2	40,0	38,8	40,1	—	R.	—	
273	9. „ 05	39,2	40,5	38,9	40,4	—	„	—	
275	22. „ 05	38,6	40,0	38,9	40,2	—	„	—	
277	26. Nov. 05	39,0	39,5	38,8	40,3	—	„	—	
279	15. „ 05	39,0	39,8	39,1	40,6	—	„	—	
281	20. Okt. 05	38,0	39,4	39,0	40,2	—	„	—	
283	29. „ 05	39,7	39,7	39,0	40,7	—	F.	R.	
285	11. Nov. 05	39,5	39,7	38,8	40,3	—	„	F.	
287	14. „ 05	39,0	39,2	38,5	40,4	—	R.	—	
289	10. Dez. 05	39,5	39,6	38,8	41,0	—	„	—	
291	5. Jan. 06	39,0	39,6	39,0	40,3	—	F.	F.	

Kontrolltiere.

Kontroll- No.	Geboren	Tuberkulinprobe am			Obduktion
		9. April 1906	2. Juni 1907	28. Jan. 1908	
4	7. Dez. 1904	R.	—	—	
6	28. Nov. 1904	„	—	—	3. Aug. 1907 T.
8	4. Dez. 1904	„	—	—	
10	11. „ 1904	„	—	—	
14	19. „ 1904	„	—	—	
16	20. „ 1904	„	—	—	
18	9. „ 1904	„	—	—	
20	20. „ 1904	„	—	—	
22	25. Jan. 1905	„	—	—	3. Aug. 1908 T.
24	24. „ 1905	„	—	—	
26	21. „ 1905	„	—	—	
48	30. „ 1905	—	R.	—	
50	24. Juli 1904	—	„	—	
52	19. Dez. 1904	—	„	—	
132	11. Okt. 1905	—	„	—	
134	10. Nov. 1905	—	„	—	
136	22. Dez. 1905	—	„	—	6. Dez. 1906 T.
138	25. „ 1905	—	—	—	

Herd. Zwei Meerschweinchen wurden mit positivem Resultat geimpft (Stenström).

No. 59, geschlachtet am 14. Nov. 1907. Hatte auf 1 I.E. nicht reagiert, wohl aber im April 1906 auf Tuberkulin. Frei von Tuberkulose.

No. 65, geschlachtet am 11. Juli 1907. Hatte auf 1 I.E. nicht reagiert, wohl aber im April 1906 auf Tuberkulin. Tuberkulose in den Lungen und Bronchialdrüsen (de Ron). Das Drüsenmaterial Meerschweinchen mit positivem Resultat eingeimpft (Stenström).

No. 269, geschlachtet am 11. März 1907. Hatte auf 1 I.E. reagiert. Tuberkulose: Reichlich auf dem Brustfell, sparsam in den Lungen; die Bronchialdrüsen faustgroß (tuberkulöse Hyperplasie) (de Ron).

No. 6, geschlachtet am 3. Aug. 1907. Hatte im April 1906 auf Tuberkulin reagiert. Tuberkulose: Spärliche Herde in Lungen und Mediastinaldrüsen (Regnér).

No. 22, geschlachtet am 3. Aug. 1908. Hatte auf Tuberkulin reagiert am 9. April 1906. Verkalkte Tuberkulose in den Retropharyngealdrüsen; miliare Tuberkulose in den Lungen; tuberkulöse Pleuritis und Pericarditis; Tuberkulose in sämtlichen Drüsen der Brusthöhle; tuberkulöse Peritonitis; Milz-, Leber- und Nierentuberkulose; die Mesenterialdrüsen bilden eine zusammenhängende Geschwulstmasse (Stenström).

No. 136, geschlachtet am 6. Dez. 1906. Tuberkulose in den Bronchial-, Lenden- und Beckenlymphdrüsen (Löfgren).

Auf dem Versuchsgut III sind 33 Tiere vollständig geimpft und 18 mit Kontrollzeichen versehen worden. Von den ersteren war bei der Injektion von 1 I.E. keines unter 11 Tage oder über 3 $\frac{1}{2}$ Monate alt. No. 138 im Januar 1907 verkauft; sowohl No. 41 wie No. 132 wurden geschlachtet, ohne daß wir Gelegenheit erhielten, sie zu obduzieren¹⁾.

Dieses Versuchsgut beteiligt sich weiter an den Impfversuchen, aber mit gegen Tuberkulose geschützten Kälbern. No. 33, 37, 47 und 63, die nahezu 3 Jahre nach vollzogener Impfung noch nicht reagiert hatten, wurden am 11. Febr. 1908 in das Kälberhaus gestellt, um den Kälbern seuchenfreie Milch zu liefern und das beschwerliche Milchkothen überflüssig zu machen.

Versuchsgut IV.

Der Bestand wurde 1898 mit Tuberkulin untersucht: $\frac{0+0+63}{63}$

$+\frac{3+0+16}{19} + \frac{0+0+0}{0} = 96,3$ Proz. Reaktion.

Gruppe 71—79 1 I.E. am 13. Dez. 1904, 5 I.E. am 9. März 1905
 „ 401—409 1 „ „ 17. März 1906, 5 „ „ 14. Juni 1906

1) Die Tierbesitzer erhalten die Impfungen kostenfrei; sie haben nur für nötige Hilfe bei der Ausführung dieser sowie der Tuberkulinproben zu sorgen. Außerdem haben sie sich verpflichtet, uns, wo es geschehen kann, die Versuchstiere obduzieren zu lassen. Um sie zur Anmeldung des Schlachtens von Versuchstieren bei uns bereitwilliger zu machen, hat die Kgl. Landwirtschaftliche Direktion auf unsere Anheimstellung und nachdem die Regierung die Mittel hierzu zur Verfügung gestellt hat, beschlossen, den Besitzern von Versuchsställen für die gegebene Gelegenheit zur Obduktion von Versuchstieren bei Tieren über 2 Jahre 25 Kronen, zwischen 1—2 Jahren 15 Kronen und unter 1 Jahre 10 Kronen zu gewähren (1 Krone = 1 M. 12 Pfg.).

Impf.-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am 16. März 1906
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung		
71	9. Nov. 1904	39,1	39,4	38,7	40,8	R.
73	20. Sept. 1904	39,3	39,3	38,9	39,4	"
75	18. " 1904	39,4	39,6	39,4	39,5	"
77	26. " 1904	39,0	39,5	39,0	39,5	"
79	4. " 1904	39,5	39,4	39,2	38,8	"
401	27. Dez. 1905	38,9	40,4	38,5	40,5	—
403	5. Jan. 1906	39,3	40,5	38,8	40,4	—
405	9. " 1906	39,0	40,8	38,7	40,5	—
407	8. Febr. 1906	39,2	40,1	38,6	40,8	—
409	9. " 1906	39,4	39,5	39,2	40,6	—

Kontrolltiere.

Kontroll-No.	Geboren	Tuberkulinprobe am 16. März 1906	Kontroll-No.	Geboren	Tuberkulinprobe am 16. März 1906
12	—	R.	58	—	R.
54	—	"	170	25. Jan. 1906	—
56	—	"	172	7. Nov. 1905	—

Hier sind 10 Kälber geimpft und 6 zu Kontrolltieren genommen worden. Das niedrigste Alter bei der Injektion von 1 I.E. war etwas über 1 Monat, das höchste etwas über 3 Monate. Von diesen Impfgruppen haben wir keine Obduktionsresultate anzuführen.

Es wurden späterhin Versuche gemacht, die Kälber gegen die Ansteckung zu schützen, da viele von ihnen jedoch trotzdem auf 1 I.E. reagierten und die Schutzvorrichtungen sich außerdem als unzureichend erwiesen, schied das Gut am 17. April 1907 aus den Versuchen aus.

Versuchsgut V.

Der auf ein Hauptgut und ein Vorwerk verteilte Bestand wurde 1898 zum erstenmale mit Tuberkulin untersucht. Das Resultat des ersteren war: $\frac{11 + 1 + 89}{101} + \frac{1 + 0 + 0}{1} + \frac{0 + 0 + 0}{0} = 87,3$ Proz.

Reaktion, das des letzteren: $\frac{0 + 0 + 0}{0} + \frac{27 + 0 + 3}{31} + \frac{14 + 0 + 4}{18} = 14,6$ Proz. Reaktion. Im November 1907 wurde der Bestand umgeprüft mit dem Resultate vom Hauptgut: $\frac{31 + 3 + 82}{116} + \frac{3 + 0 + 0}{3} + \frac{17 + 0 + 1}{18} = 60,6$ Proz. Reaktion, vom Vorwerk: $\frac{0 + 0 + 0}{0}$

+ $\frac{20 + 0 + 5}{25} + \frac{6 + 0 + 4}{10} = 25,7$ Proz. Reaktion.

Gruppe 107—123: 1 I.E. am 10. März 1905, 5 I.E. am 6. Juni 1905
 " 203—211: 1 " " 14. Nov. 1905, 5 " " 16. Jan. 1906
 " 293—301: 1 " " 16. Jan. 1906, 5 " " 10. April 1906

Impf- No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe den				Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	28. Nov. 1906	28. April 1907	22. Nov. 1907	5. April 1908	
		d. 1. Impfung		d. 2. Impfung						
107	6. Dez. 04	38,7	39,6	40,1	41,9	F.	F.	—	—	28. Sept. 1905 T.-frei
109	9. Jan. 05	39,0	39,6	39,5	39,9	"	"	—	F.	
111	24. " 05	38,6	39,4	39,0	39,3	"	"	—	"	
113	27. " 05	39,0	39,5	38,8	39,8	"	"	—	"	
115	24. Dez. 04	39,1	39,9	39,5	40,3	—	—	—	—	
117	9. Jan. 05	39,4	40,4	39,5	39,7	—	F.	F.	—	
119	5. " 05	39,4	39,7	39,3	40,6	F.	"	—	F.	
121	10. Febr. 05	39,2	39,8	38,6	39,6	"	"	—	"	
123	12. " 05	39,2	39,5	38,9	39,4	"	"	—	"	
203	2. Aug. 05	38,5	39,4	39,1	40,0	—	"	F.	—	
205	13. " 05	38,8	39,5	38,8	39,7	—	"	"	—	
207	21. " 05	38,4	39,8	39,0	39,7	—	"	"	—	
209	5. Sept. 05	38,8	39,5	39,4	39,9	—	"	"	—	
211	10. " 05	38,9	39,9	39,3	39,7	—	"	"	—	
293	10. Nov. 05	39,0	39,7	38,5	40,5	—	"	"	—	
295	10. " 05	39,4	39,5	38,7	40,8	—	"	"	—	
297	8. Dez. 05	39,1	39,6	38,4	40,0	—	"	"	—	
299	21. " 05	39,3	39,5	39,0	40,2	—	"	"	—	
301	22. " 05	39,4	39,7	38,9	40,8	—	"	"	—	

Kontrolltiere:

Kontroll- No.	Geboren	Tuberkulinprobe am				Kontroll- No.	Geboren	Tuberkulinprobe am		
		28. Nov. 1906	28. April 1907	22. Nov. 1907	5. April 1908			28. Nov. 1906	28. April 1907	22. Nov. 1907
70	9. März 05	F.	F.	—	F.	102	8. Juli 05	—	F.	F.
72	26. " 05	"	"	—	R.	104	17. " 05	—	"	"
74	29. " 05	"	"	—	F.	106	1. Aug. 05	—	"	"
100	8. Juli 05	—	"	F.	—	108	13. " 05	—	"	"

Hier liegt nur ein Obduktionsresultat vor.

No. 115, geschlachtet am 28. Sept. 1905, nachdem es ein paar Tage vorher mit Tuberkulin geprüft war und nicht reagiert hatte. Frei von Tuberkulose (Stenström).

Auf dem Versuchsgut V sind 19 Tiere geimpft und 8 als Kontrolltiere gezeichnet. Das niedrigste Alter bei der Injektion von 1 I.E. war etwa 1 Monat, das höchste 3½ Monate.

Leider hörte die Impfung hier im Frühjahr 1906 auf, weil man nicht besondere Anstalten zum Schutz der Kälber gegen Tuberkulose treffen zu können glaubte. Solche erschienen zwar überflüssig, andererseits war ja aber nicht zu bestimmen, wie lange das exzeptionelle Verhältnis, daß keines der Kälber durch Tuberkulose angesteckt war, anhalten werde, und da wir seit Mitte des genannten Jahres nicht mehr impfen, falls das Kälbermaterial nicht gegen Ansteckung geschützt ist, schien die Konsequenz zu fordern, daß wir mit den Impfungen nicht fortführen. Wir verfolgen jedoch unser hiesiges Versuchsmaterial noch immer mit dem größten Interesse (Obduktionen, Tuberkulinproben).

Anlässlich des Resultates der Tuberkulinuntersuchungen bei unseren Versuchstieren und bei dem gesamten Bestande nahmen wir eine klinische Untersuchung des Kuhbestandes vor und erkundigten uns nach der Behandlung des Jungviehes. Es zeigte sich hier, daß kein Fall von Euter-

tuberkulose vorgekommen war, daß aber 5 Kühe mit Symptomen von offener Lungentuberkulose behaftet waren; eines der Tiere war durch die Krankheit in hohem Grade angegriffen. Milchproben wurden 5 Kaninchen mit negativem Resultat eingepflegt.

Kälber bleiben höchstens 2 Tage im Kuhstall und werden danach in den Ochsenstall gebracht. Die Süßmilch erhalten die Kälber unbehandelt vom Viehstall, die Magermilch aus einer Molkerei in der nahegelegenen Stadt, wo sie auf 80° pasteurisiert werden soll. Nach dem Schlusse der Milchperiode werden die Kälber nach dem Jungviehstall auf dem Vorwerk gebracht, wo sie so lange bleiben, bis sie als Färsen kalben. Als die Ursache, daß von 35 Stück Jungvieh auf dem Vorwerk 9 reagierten, ergab sich, daß eine Färse mit offener Lungentuberkulose bis zum 2. Oktober 1907 im Viehstalle gestanden hatte.

Bei der Tuberkulinprobe am 28. April 1907 stand 117, ein Stier, seit einem Jahre im Haupthof, die übrigen der Gruppe 107—123 (mit Ausnahme von 115) waren nebst den Kontrolltieren 70—74 vor kurzer Zeit dorthin gebracht worden. Diejenigen dieser Gruppe, die mit bei der erneuerten Tuberkulinprobe am 5. April 1908 waren, sowie die erwähnten Kontrolltiere hatten also über ein Jahr lang im Kuhstall gestanden.

Zu dem oben erwähnten Zeitpunkte, dem 28. April 1907, stand eben 203, ein Stier, im Hauptgeschäft. Dieser wurde im nächsten Monat an ein Gut verkauft, dessen Viehbestand im April 1905 mit Tuberkulin geprüft worden war und sich hierbei als zu 87,3 Proz. durch Tuberkulose angesteckt ergeben hatte. Hier wurde er im April 1908 von neuem mit Tuberkulin geprüft — also nach einem etwa einjährigen Aufenthalt im Viehstall — und reagierte. Das Tier war da 2 Jahre 8 Monate alt und war seit 2¼ Jahr geimpft.

Versuchsgut VI.

Der Bestand ist 1905 mit Tuberkulin geprüft: $\frac{0+1+78}{79} + \frac{0+0+31}{31} + \frac{1+0+9}{10} = 98,3$ Proz. Reaktion. Die Kälber stehen im Viehstall.

Gruppe 125—133: 1 I.E. am 10. März 1905, 5 I.E. am 6. Juni 1905
 „ 303—309: 1 „ „ 16. Jan. 1906, 5 „ „ 10. April 1906

Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am		
		vor der 1. Impfung	höchste nach	vor der 2. Impfung	höchste nach	29. Sept. 1906	28. April 1907	5. April 1908
125	29. Dez. 1904	39,2	39,4	38,8	39,4	F. ¹⁾	F.	F.
127	8. Jan. 1905	38,9	39,2	38,8	40,2	R.	—	—
129	11. „ 1905	39,3	39,6	38,5	40,2	R.	—	—
133	16. „ 1905	38,8	39,4	38,7	40,4	F.	F.	F.
303	2. Nov. 1905	39,1	39,8	38,8	39,5	—	R.	—
305	9. „ 1905	38,8	39,6	38,8	39,8	—	F.	F.
307	10. Dez. 1905	39,4	40,2	39,0	40,8	—	„	„
309	13. „ 1905	39,1	39,6	39,1	40,4	—	R.	—

1) No. 125 reagierte auch im Januar 1905, als der ganze Bestand mit Tuberkulin geprüft wurde, nicht.

Kontrolltiere:

Kontroll-No.	Geboren	Tuberkulinprobe am		Obduktion
		29. Nov. 1906	28. April 1907	
76	—	R.	—	12. Dez. 1906
78	—	—	—	T.-frei

Obduktionsresultat.

No. 78, geschlachtet am 12. Dez. 1906, gegen 2 Jahre alt. Durch eine Timotheehäre verursachte Pneumonie. Frei von Tuberkulose (de Ron).

Von den 8 Impftieren war bei der Injektion von 1 I.E. keines unter 1 Monat oder über 2 $\frac{1}{2}$ Monate alt.

Da bei diesem Bestande ein separates Großziehen der Kälber unter hygienischen Vorsichtsmaßregeln nicht möglich war, hörten die Impfungen auf.

Versuchsgut VIII¹⁾.

Im Januar 1907 wurden 20 von den vorhandenen 47 Kühen mit Tuberkulin geprüft: 18 reagierten, die beiden übrigen waren zweifelhaft. Die Kälber sind in demselben Stalle wie die älteren Tiere.

Gruppe 81—89: 1 I.E. am 21. Febr. 1905, 5 I.E. am 17. Mai 1905

„ 333—341: 1 „ „ 29. Jan. 1906, 5 „ „ 27. April 1906

Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am 16. Jan. 1907	Obduktion
		vor der 1. Impfung	höchste nach	vor der 2. Impfung	höchste nach		
81	9. Nov. 1904	39,0	39,5	38,9	40,5	F.	
83	14. „ 1904	38,9	39,4	39,0	40,0	R.	
85	20. „ 1904	39,1	40,2	38,7	40,0	R.	
87	21. Jan. 1905	39,3	40,0	38,8	40,5	F.	
89	1. Febr. 1905	38,7	39,5	38,6	39,7	„	
333	1. Nov. 1905	39,0	39,7	39,1	39,6	—	
335	15. Jan. 1906	39,1	39,7	39,1	40,8	—	
327	13. „ 1906	39,2	39,6	39,1	40,4	—	
339	8. „ 1906	39,1	39,7	39,0	40,0	—	10. März 1906
341	8. „ 1906	39,7	40,0	—	—	—	T.-frei

Kontrolltiere:

Kontroll-No.	Geboren	Tuberkulinprobe am 16. Jan. 1907	Kontroll-No.	Geboren	Tuberkulinprobe am
80	29. Sept. 1904	R.	146	29. Sept. 1905	—
82	11. Okt. 1904	„	148	11. Okt. 1905	—

Nur 9 Tiere wurden vollständig geimpft. No. 341 wurde nämlich am 10. März 1906 wegen Aktinomykose geschlachtet. Tuberkulose war nicht nachweisbar (Stenström). Das niedrigste Alter bei 1 I.E. war 14 Tage, das höchste 3 $\frac{1}{2}$ Monate.

Dieser Bestand ist aus den Versuchen ausgeschieden.

1) Auf dem Versuchsgut VII impfen wir in der reaktionsfreien Abteilung des Viehbestandes, über welche Versuche wir später Bericht erstatten werden.

Versuchsgut IX.

Der Bestand 1898 teilweise mit Tuberkulin untersucht: $\frac{17 + 3 + 15}{35}$

+ $\frac{5 + 0 + 0}{5}$ + $\frac{5 + 0 + 0}{5}$ = 33,3 Proz. Reaktion. Die Tuberkulose

hat später offenbar eine noch größere Ausbreitung gefunden, weil man im Sommer 1905 gezwungen war, 5 Kühe infolge der Krankheit zu schlachten und zu vergraben. Der Bestand ist auf das Hauptgehöft und ein Vorwerk verteilt, und in dem ersteren befindet sich ein durch eine große Scheune vom Kuhstalle abgeschiedenes Haus für Kälber und Jungvieh.

Gruppe 149—167: 1 I.E. am 23. März 1905, 5 I.E. am 17. Juni 1905

„ 213—223: 1 „ „ 21. Okt. 1905, 5 „ „ 12. Jan. 1906

Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am		Obduktion
		vor der 1. Impfung	höchste nach	vor der 2. Impfung	höchste nach	9. Febr. 1907	17. Febr. 1908	
149	16. Jan. 1905	39,0	39,9	38,4	41,0	R.	—	
151	1. Febr. 1905	39,0	41,8	39,4	39,9	F.	F.	
153	30. Jan. 1905	38,8	40,0	38,6	40,8	R.	—	
155	22. Febr. 1905	39,0	42,2	39,3	40,1	F.	F.	
157	9. „ 1905	39,5	40,3	39,1	41,0	R.	—	
159	3. „ 1905	39,1	40,5	39,5	41,1	„	—	
161	15. Jan. 1905	39,4	39,9	38,8	41,5	F.	F.	
163	1. „ 1905	39,7	40,7	39,7	40,4	„	—	
165	12. „ 1905	38,9	39,8	39,0	40,6	R.	—	
167	4. „ 1905	38,5	39,9	39,6	41,2	„	—	
213	17. Aug. 1905	38,6	39,8	39,6	40,3	„	—	
215	10. Sept. 1905	38,3	39,8	39,7	40,8	F.	F.	
217	23. Aug. 1905	39,4	39,8	39,6	41,0	R.	—	4. März 1907
219	27. „ 1905	38,5	41,4	38,8	40,2	F.	F.	T.
221	30. Juli 1905	38,7	39,8	38,5	40,0	R.	—	
223	5. Aug. 1905	38,9	40,2	39,5	41,0	F.	F.	

Kontrolltiere:

Kontroll-No.	Geboren	Tuberkulinprobe am		Kontroll-No.	Geboren	Tuberkulinprobe am		Obduktion
		9. Febr. 1907	17. Febr. 1908			9. Febr. 1907	17. Febr. 1908	
60	5. Jan. 1905	F.	—	94	19. April 1905	F.	—	4. März 1907
62	2. Dez. 1904	„	F.	110	25. Aug. 1905	R.	—	T.-frei
64	8. „ 1904	R.	—	112	6. „ 1905	F.	—	
66	15. Nov. 1904	F.	—	122	11. Nov. 1905	„	F.	
68	3. „ 1904	„	—	124	18. „ 1905	„	„	
96	24. April 1905	„	F.	126	26. Dez. 1905	R.	—	
98	16. „ 1905	„	„	128	4. „ 1905	F.	—	
				130	26. „ 1905	„	F.	

Obduktionsergebnisse.

No. 217, geschlachtet am 4. März 1907 anlässlich des überraschenden Resultates der Tuberkulinprobe vor einem Monat. Hatte nicht auf 1 I.E. reagiert, aber ein Jahr und einen Monat nach der zweiten Impfdosis auf Tuberkulin. Tuberkulose: Ein taubeneigroßes, zum größeren

Teil verkalktes Konglomerat in einer Mesenterialdrüse; vereinzelt, erbsengroße Herde in einer nebenanliegenden Mesenterialdrüse (Regnér). Impfung bei Meerschweinchen mit positivem Resultat (Stenström).

No. 94, an demselben Tag und aus demselben Grunde geschlachtet, frei von Tuberkulose (Regnér).

Auf dem Versuchsgut IX haben wir 16 Tiere in einem Alter von frühestens einem Monat und spätestens 2 Monaten 3 Wochen geimpft. Diesen entspricht nahezu die gleiche Anzahl Kontrolltiere.

Hier sind die Impfungen noch eine Zeitlang an gegen Tuberkulose geschützten Kälbern fortgesetzt worden, da es uns aber immer unmöglich wurde, unsere Versuchstiere genügend zu identifizieren, haben wir weitere Impfungen leider aufgeben müssen. Die Tiere sind nämlich nicht nummeriert, und da die Ohrenzeichen bei einem Teil der Tiere herausgefallen sind, haben wir zwar zwischen Impf- und Kontrolltieren unterscheiden können, aber mehr nicht. Deshalb ist nur ein Teil der Tiere als am 17. Febr. 1908 mit Tuberkulin umgeprüft angegeben, nämlich diejenigen, die sich bestimmt haben identifizieren lassen.

Versuchsgut X.

Hier haben wir zwar einige Kälber geimpft, da der Besitzer jedoch sehr bald das mit ihm getroffene Uebereinkommen der Anstellung von Impfversuchen in seinem Viehstall aufhob und keine Tuberkulinproben an den Versuchstieren gestattete, so ist das Material auf diesem Gute für uns wertlos geworden.

Beobachtungen über die direkte Einwirkung des Bovovaccins auf die Impflinge.

Wie wir im vorhergehenden bemerkt haben, sind die Observationen und Temperaturmessungen an den Impftieren zum großen Teil den Tierbesitzern oder deren Stellvertretern anvertraut worden. Wenn die Zeit es irgendwie erlaubt hat, haben wir natürlich nicht versäumt, die Tiere nach der Impfung zu beobachten, was in der Regel in der Zeit unmittelbar nach der Injektion zugänglich war. Wo Tuberkulinprobe gleichzeitig mit Impfung vorzunehmen war, haben wir die Impftiere auch des Tages nachher beobachten können.

Nicht lange Zeit nach der Injektion nimmt man wahr, daß die Atmung in der Mehrzahl der Fälle beschleunigt wird, daß eine gewisse Mattigkeit eintritt und daß die am stärksten angegriffenen Tiere sich legen. In der Regel hält dieser Zustand nur einige Stunden an. Ausnahmsweise ist eine vollständige Atemnot vorhanden, die zum Ersticken und zum Tode führen kann. So starb No. 241 (I) 4 Stunden nach 5 I.E. an Lungenödem, und später haben wir auf gleiche Weise noch ein Impftier verloren. In keinem Falle hat eine infektiöse Kälberpneumonie vorgelegen, und wir haben nicht mit kalten Bacillenemulsionen gearbeitet, die, der Angabe nach, bei Impftieren sogar einen Ohnmachtsanfall hervorrufen können (Lorenz). Wahrscheinlich hat ein abnormer Zustand vorgelegen, der das Tier zur Impfung ungeeignet gemacht hat, der sich aber nicht so nach außen manifestiert hat, daß man das Impfen hätte unterlassen können.

Eine sonst sehr gewöhnliche Erscheinung nach der Impfung ist die, daß das Kalb offenen Leib und zuweilen eine intensive Diarrhøe bekommt. Dann kann man auch ein Zittern des Körpers wahrnehmen, und der Appetit ist teilweise gestört oder hat vollständig aufgehört.

Weniger häufig bemerkt man nach der Impfung Husten. Alle diese Symptome, die nach 5 I.E. öfter vorzukommen und ausgeprägter zu sein scheinen, sind bei den meisten Tieren am Tage nach der Impfung verschwunden. In einigen Fällen bleiben sie auch an diesem Tage und in vereinzelt Fällen mehrere Tage bestehen. In der Regel sind sie mit einer mehr oder weniger kräftigen Steigerung der Körpertemperatur verbunden, aber Fieber ist doch nicht mit Notwendigkeit mit selbst recht heftigen Folgeerscheinungen nach der Impfung verbunden, und wir haben auch nicht finden können, daß die Intensität und Dauer der Temperatursteigerung in einem direkten Verhältnis zu der Heftigkeit der erwähnten Symptome steht.

Anschwellung und Abszeßbildung an der Impfstelle braucht man in der Regel nicht zu befürchten. Wir erinnern uns nur zweier Fälle, wo solche erfolgt sind, und diese dürften auf einer zufälligen Verunreinigung der Impfnadel oder vielleicht eher darauf beruht haben, daß ein Teil der Emulsion außerhalb die Vene gekommen ist (Lorenz). In beiden Fällen wurde kein Schnitt durch die Haut gemacht.

Schließlich wollen wir hervorheben, daß die Allgemeinsymptome nach der Impfung im wesentlichen mit einer schon beim Impfen vorhandenen Tuberkuloseinfektion zusammenhängen. Impft man gegen die Ansteckung geschützte Kälber, so ruft der Impfstoff weniger oft und viel geringere Störungen in ihrem Allgemeinbefinden hervor.

Betrachten wir nun die in dem Vorhergehenden angegebenen Temperaturen der Impftiere nach den beiden Impfdosen, so fällt zuerst auf, daß die Temperatursteigerung bedeutend häufiger nach 5 als nach 1 I.E. vorkommt. Von 155 vollständig geimpften Tieren zeigten 53 oder 32,3 Proz. eine thermische Reaktion nach 1 I.E., während 125 oder 80,1 Proz. nach 5 I.E. reagierten.

Ferner wurde eine Reaktion nach 1 I.E., aber nicht nach 5 I.E. wahrgenommen, was jedoch nicht oft vorzukommen scheint: 247 (I), 269 (III), 117 (V) und 151 (IX). Der entgegengesetzte Fall, oder eine Reaktion nach 5 I.E., aber nicht nach 1 I.E. trifft natürlich viel häufiger ein.

Schließlich kommt es vor, daß Kälber weder nach 1 noch nach 5 I.E. reagieren. Dies ist bei 11, 15, 103 (I), 25 (II), 61, 265 (III), 73, 75, 77, 79 (IV), 109, 111, 113, 121, 123, 205, 207, 209, 211 (V), 303, 305 (VI), 89, 333 (VIII), oder in 23 Fällen von 155 der Fall.

Betrachten wir die Ursache dieser verschiedenen Temperaturverhältnisse, so müssen wir uns zuerst daran erinnern, daß das Bovovaccin dieselbe Wirkung auf ein tuberkulöses Tier hat, wie das Tuberkulin¹⁾. In dieser Beziehung wirkt es sogar noch stärker als das Tuberkulin, und zwar teils wegen seines Giftgehaltes, teils infolge der Applikationsweise. Ein tuberkulöses Kalb reagiert somit ebensowohl auf Bovovaccin, wie auf Tuberkulin, die erstere Reaktion ist aber öfter von Allgemeinerscheinungen begleitet und tritt bedeutend früher, 2—5 Stunden nach der Injektion ein. Unserer Ansicht nach beruhte daher die Temperatursteigerung bei den vorhergenannten 53 Kälbern nach 1 I.E. auf 40° und darüber darauf, daß sie tuberkulös infiziert waren. Diese Erklärung für die Reaktion nach 1 I.E. kann ja auch nicht überraschen, wenn man erwägt, daß wir in stark tuberkulösen Beständen geimpft haben, wo

1) Römer, Ueber Tuberkelkacillenstämmen verschiedener Herkunft. Marburg 1903. p. 24.

bewußt keine Maßregeln zum Schutze der Kälber gegen die Tuberkulose ergriffen worden sind. Aller Zweifel in dieser Beziehung muß im übrigen infolge unserer Erfahrung von der Impfung gegen Tuberkulose bei durch Isolierung, sterilisierte Milch usw. vor der Ansteckung geschützten Kälbern verschwinden.

Wir haben bis zum heutigen Datum 308 derartige Kälber geimpft, und hierbei nur 55 Fälle mit einer Temperatur von 40° und darüber nach 1 I.E. nachweisen können. Dies sind nicht mehr als 14,6 Proz. sämtlicher Tiere, während die gleichen Reaktionen unter den in diesem Bericht in Frage kommenden Impftieren, wie erwähnt, 32,3 Proz. betragen. Hier wiederholt sich somit dieselbe Erscheinung wie in der Tuberkulosebekämpfung mittels des Tuberkulins: in dem Maße wie die Kälber gegen die Tuberkulose geschützt werden, in demselben Maße nehmen die Reaktionen unter ihnen ab. In den erwähnten 14,6 Proz. sehen wir folglich einen Ausdruck für die mangelhafte Sorgfalt in der Desinfektion der Kälbermilch. Wir sind indessen der Ansicht, das 40° oder das eine oder andere Zehntel darüber nicht unter allen Umständen als ein Zeichen von Tuberkelansteckung beim Kalbe zu betrachten ist, weil diese Temperatur nicht so selten bei vollständig gesunden Tieren derselben Alterskategorie angetroffen wird. Andererseits muß die fragliche Temperatur als bedeutungsvoll betrachtet werden, wenn sie, wie es bei der Anwendung von Bovovaccin in der Regel der Fall ist, schon einige Stunden nach der Injektion eintritt.

Als weitere Beleuchtung des Obengesagten dienen die Verhältnisse auf dem Versuchsgute V. Es ist ganz augenscheinlich, daß wir es hier mit 3 Kälbergruppen zu tun gehabt haben, die durch verschiedene zusammenwirkende Umstände, aber ohne absichtliches Zutun seitens des Tierbesitzers, der Seuche entgangen sind. Mit Ausnahme von No. 117 ist bei den übrigen 18 Kälbern keine typische Reaktionstemperatur nach 1 I.E. zu verzeichnen. Es ist bei ihnen zwar eine Temperatur von bis zu $39,9^{\circ}$ wahrzunehmen, dies sind aber normal vorkommende Kälbertemperaturen (vergl. beispielsweise die Temperaturen vor der ersten Impfung auf dem Versuchsgute I).

Es ist jedoch offenbar, daß die erste Bovovaccindosis in vielen Fällen bei nicht tuberkulösen Tieren eine mehr oder weniger ausgeprägte Steigerung der Temperatur unter 40° , in einzelnen Fällen auch bis 40° und darüber verursacht hat. Ein Studium der Temperaturen nach 1 I.E. an unseren Impftieren auf dem Versuchsgute V überzeugt hiervon. Die fragliche Temperatursteigerung ist wohl eine natürliche Folge der direkten Einverleibung der Bacillenemulsion mit der Blutmasse, und kann von schwachen, starken, ja heftigen Allgemeinerscheinungen begleitet sein.

Was die Temperatursteigerung nach 5 I.E. betrifft, so beruht diese offenbar in erster Reihe auf der durch 1 I.E. hervorgerufenen Tuberkuloseinfektion, die zur Zeit der zweiten Impfung in der Regel nicht aufgehört hat. Man muß jedoch auch mit der Möglichkeit rechnen, daß die Steigerung gleichzeitig oder ausschließlich von einer zwischen den beiden Impfungen zugezogenen natürlichen Tuberkelansteckung herrührt.

Die Ursache wiederum, daß in 4 Fällen eine Reaktion auf 1, aber nicht auf 5 I.E. eingetreten ist, während es sonst Regel ist, daß, wenn eine solche bei der ersten Impfung eintritt, sie sich auch bei der zweiten einfindet, dürfte betreffend die Fälle 117 (V) und 151 (IX)

1) Beiträge zur experimentellen Therapie. Heft 10. 1905.

keine andere sein, als daß die erste Impfdosis eine therapeutische Wirkung gehabt hat. Eine solche Wirkung schreibt v. Behring übrigens seinem Bovovaccin zu¹⁾. Dieser Erklärungsgrund läßt sich indessen nicht auf die beiden übrigen Fälle 247 (I) und 269 (III) anwenden, ein anderer ist aber nicht schwer zu finden.

Im vorhergehenden haben wir gesagt, daß wir bezüglich der Temperaturmessungen die Anweisungen v. Behrings befolgt haben. In den meisten Fällen genügen diese Messungen, vereinzelt dürfte jedoch die für das Vorhandensein von Reaktion entscheidende Temperatur, oder Temperaturen später als um 6 Uhr abends am Impftage eintreten und vor 6 Uhr morgens am nächstfolgenden Tage auf das Normale zurückgegangen sein, um dann nicht mehr wiederzukommen. Wir haben es uns deshalb später, wo es anging, zur Regel gemacht, die Temperaturen, wie bei der Untersuchung mit Tuberkulin, auch um 8 und 10 Uhr abends des Tages, wo die Impfung stattgefunden hat und am Tage darauf eine Stunde um die andere zu messen. Auf diese Weise haben wir den Beweis erhalten, daß es nicht unwichtig ist, die Temperatur öfter, als nach der Bacilleninjektion vorgeschrieben ist, zu messen, unter anderem weil man hierdurch mit größerer Sicherheit Tiere von der zweiten Impfung ausschließen kann, die infolge der Reaktion nach 1 I.E. als von der Tuberkulose angesteckt betrachtet werden müssen. Wir halten es demnach für wahrscheinlich, daß bei 247 (I) und 269 (III) die Reaktion in der Nacht nach 5 I.E. eingetreten ist, und dies um so mehr, als die angezeichneten höchsten Temperaturen in beiden Fällen um 6 Uhr vormittags am Tage nach der Impfung erhalten sind.

Daß schließlich in 23 Fällen die Reaktion bei beiden Impfungen ausgeblieben ist, erklärt sich natürlich daraus, daß diese Impftiere weder bei der ersten, noch bei der zweiten Impfung infiziert gewesen sind, und daß die Wirkung der ersteren nicht fortbestanden hat, als die letztere stattfand.

Wir haben uns aus dem Grunde näher mit den Temperaturerscheinungen bei der Bovovaccination beschäftigt, weil sie unseres Dafürhaltens bei der Beurteilung der Impfresultate wertvolle Anhaltspunkte darbieten. Bevor wir indessen zu dieser Seite unseres Berichtes übergehen, haben wir erst noch zu untersuchen, inwieweit die Obduktionsresultate und die Tuberkulinproben die Auslegung, die wir den fraglichen Temperaturverhältnissen geben zu müssen geglaubt haben, stützen.

Im vorhergehenden ist indirekt die Ansicht vertreten, daß ein Tier, das 1 I.E. erhalten hatte, mit der größten Wahrscheinlichkeit nicht tuberkulös ist, wenn die Reaktion nicht nach dieser Impfdosis eingetreten war. Beweise hierfür sind die Resultate der Obduktionen von 7, 11, 13, 171, 179 (I), 59 (III) und 115 (V). Infolgedessen müssen 105, 183, 189, 201 (I), 45, 65 (III) und 217 (IX) die Tuberkulose zwischen 1 und 5 I.E. oder nach der letzteren Dosis erworben haben. Ein Studium der Impfprotokolle sagt uns, daß in Analogie hiermit weitere 37 Tiere, die nicht auf 1 I.E. reagiert hatten, sich als frei von Tuberkulose und 46, als damit behaftet hätten erweisen müssen, wenn sie einer Obduktion unterzogen worden wären.

Andererseits muß man bei den Tieren, die nach 1 I.E. reagiert haben, beim Schlachten Tuberkulose finden, was auch die Obduktionen von 195, 237, 241, 245, 249, 253 (I) und 269 (III) dartun. Diese Behauptung scheinen 91, 95 (I) und 341 (VIII), welche trotz der Reaktion nach

1 I.E. sich tuberkelfrei gezeigt haben, nicht zu rechtfertigen. Was das zuletzt genannte Kalb betrifft, so sagt uns ein Blick auf das Impfprotokoll, daß in diesem Falle kaum eine Reaktion vorliegt, denn 40° ist eine bei so jungen Kälbern oft vorkommende Normaltemperatur. Diese Deutung scheint uns auch betreffs 95 möglich. Dagegen dürfte 91 zurzeit von 1 I.E. infiziert gewesen sein und das Bovovaccin in diesem Falle eine therapeutische Wirkung gehabt haben. Sehen wir uns das Impfprotokoll noch einmal an, so finden wir bei einem Vergleich zwischen der Reaktion nach 1 I.E. und der Tuberkulinprobe, daß fernere 28 Tiere sich bei der Obduktion als tuberkulös, 13 aber frei von der Krankheit hätten erweisen sollen.

In dieser Erörterung der Verhältnisse zwischen einerseits den Temperaturerscheinungen bei der Bovovaccination und andererseits den Resultaten der Obduktion und der Tuberkulinprobe sind wir von der Ansicht ausgegangen, daß die letztere im vorliegenden Falle den gleichen Wert wie die Obduktion hat. Von 33 obduzierten Versuchstieren (24 Impf- und 9 Kontrolltieren) sind 19 eine längere oder kürzere Zeit vor der Obduktion einer Probe mit Tuberkulin unterzogen worden, nämlich 7, 91, 105, 189, 195, 201, 237, 249, 28, 36, 118 (I), 45, 59, 65, 6, 22 (III), 115 (V), 217, 60 (IX). In einem einzigen Falle zeigte sich keine Uebereinstimmung zwischen dem Ausfall der Tuberkulinprobe und der Obduktion, indem 59 (III) 1 Jahr und 1 Monat nach 5 I.E. auf Tuberkulin reagierte, sich aber bei der Obduktion 1 Jahr und 7 Monate nach der Tuberkulinprobe, frei von Tuberkulose erwies. Es ist hierbei jedoch nicht ganz ausgeschlossen, daß ein kleiner Herd der Aufmerksamkeit des Obduzenten entgangen sein kann. Das Tier war ein Umläufer und war aus diesem Grunde geschlachtet worden; das Obduktionsprotokoll enthält nichts über die Generationsorgane. Jedenfalls halten wir uns infolge der nahezu totalen Uebereinstimmung der Resultate der Tuberkulinprobe und der Obduktion praktisch dazu berechtigt, bei der Beurteilung der Impfergebnisse mittels des Tuberkulins die thermische Reaktion auf dieses Mittel als ein Zeichen zu deuten, daß das Impftier unter dem Einfluß einer natürlichen Tuberkuloseinfektion steht, und die Abwesenheit der Reaktion als einen Beweis dafür, daß dasselbe frei von Tuberkulose ist. Dies natürlich unter der Voraussetzung, daß die Tuberkulinprobe nicht so schnell nach 5 I.E. gekommen ist, daß diese Impfdosis möglicherweise einen Einfluß ausüben könnte. Betreffend wieder die Kontrolltiere, so ist das Berechtigte in unserer Betrachtungsweise selbstverständlich¹⁾.

Versuchsergebnisse.

Bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse lassen wir, aus bei der Prüfung der Impfprotokolle ohne weiteres hervorgehenden Gründen, 13, 171, 241, 2 (I), 51 (III) und 341 (VIII) außer Betracht. Es versteht sich außerdem von selbst, daß auch die weder einer Tuberkulinprobe noch einer Obduktion unterzogenen Versuchstiere für diesen Zweck unanwendbar sind.

Gehen wir nun unser Versuchsmaterial — das mit Tuberkulin geprüfte

1) Im Gegensatz zu einzelnen ausländischen Verfassern, die dem Tuberkulin einen relativ hohen Grad von Unzuverlässigkeit als Diagnosticum beimessen, wissen wir auf Grund vieljähriger, ja beinahe täglicher Erfahrung, daß das fragliche Mittel außerordentlich zuverlässig und nicht zu entbehren ist, wenn es gilt, die Effektivität der einen oder anderen Kampfmethod gegen die Tuberkulose festzustellen.

und obduzierte, oder nur eines von beiden — durch, so finden wir, daß dasselbe 203 Tiere, und zwar 142 geimpfte und 61 Kontrolltiere, umfaßt. Von den geimpften erwiesen sich 87 oder 61,2 Proz. als tuberkulös, von den Kontrolltieren 36 oder 59 Proz. Urteilt man nach diesen Ziffern, so ist es offenbar, daß die Impfungen nicht den geringsten Effekt gehabt haben. Man darf das vorliegende Material indessen nicht auf diese Weise benutzen. Von den geimpften 87 Tieren müssen nämlich nicht weniger als 33, die auf 1 I.E. reagiert hatten und somit unseres Dafürhaltens schon zur Zeit der ersten Injektion angesteckt waren, abgezogen werden. Dann wird das Resultat 54 tuberkulöse unter 109 geimpften, oder 49,5 Proz. tuberkulöse; aber auch dies Verhältnis kann nicht befriedigen. Man darf gleichwohl nicht übersehen, daß dieses oder jenes der 109 Impftiere, die nach dem angewendeten Verfahren bei den Temperaturmessungen nach der Bovovaccination nicht auf 1 I.E. reagiert haben, dies vielleicht getan hätte, wenn die Messungen schneller aufeinander gefolgt wären, und ebenso, daß mehrere unserer Impftiere zweifellos in der Zeit zwischen den beiden Impfungen, also vor der vollendeten Impfung, von der Tuberkulose befallen worden sind.

Wir meinen indessen, daß man durch eine Enblocbehandlung des Versuchsmaterials nicht zu einem vollkommen gerechten Urteil kommt, unter anderem deswegen, weil die Versuchstiere nicht unter gleichartigen Verhältnissen gelebt haben, da sie sich ja auf verschiedene Güter verteilen. Wir gehen deshalb zu einer Analyse des Effektes der Impfmethode auf jedem einzelnen Versuchsgut über.

Auf dem Versuchsgut I haben sich bei der Obduktion oder bei der Tuberkulinprobe oder bei beiden von 44 Impftieren (13, 171 und 241 nicht mitgerechnet)

13 als tuberkelfrei,
31 „ tuberkulös

erwiesen.

Aus der ersteren Gruppe frappieren No. 5, 91, 93, 95 (?), 97 und 99 (?), weil sie auf 1 I.E. reagiert haben. Das Bovovaccin scheint hier, wenigstens in 4 Fällen, eine therapeutische Wirkung gehabt zu haben.

Mit Bezug auf das Alter bei der Abschächtung oder bei der letzten Tuberkulinprobe waren

5	zwischen	3	und	3 $\frac{1}{2}$	Jahren
4	„	2 $\frac{1}{2}$	„	3	„
2	„	2	„	2 $\frac{1}{2}$	„
1	„	1 $\frac{1}{2}$	„	2	„ sowie
1	„	1	„	1 $\frac{1}{2}$	„

Die tuberkulöse Gruppe wiederum muß um 16 Tiere vermindert werden, die wahrscheinlich zur Zeit der ersten Impfung infiziert waren. Es bleiben also 15, welche trotz der Impfung — ob vor oder nach 5 I.E. läßt sich nicht entscheiden — die Tuberkulose erworben haben. Der Effekt der Impfungen wäre hier demnach der gewesen, daß von 28 geimpften Kälbern 13, oder 46,4 Proz. vor der Ansteckung gerettet worden wären, ein keineswegs ungünstiges Resultat, wenn man bedenkt, wie tuberkulös dieser Bestand ist, und daß nicht das geringste geschehen ist, um die Versuchstiere gegen die Ansteckung zu schützen.

Leider wird aber der günstige Eindruck in nicht geringem Maße durch die Tatsache abgeschwächt, daß von den 8 Kontrolltieren (No. 2 nicht mitgerechnet) 3, oder 37,5 Proz. sich frei von Ansteckung gehalten haben. Dies scheint uns zu beweisen, daß der etwas bessere Zustand

in betreff des Vorkommens der Tuberkulose unter den Tieren über ein Jahr, der im Januar 1908 vorhanden war (vergl. das Resultat der Tuberkulinprobe beim Gesamtbestand 1905), im wesentlichen Grade auf einem Zufall beruht hat. Dies hängt wieder zweifellos mit der Erfahrung von der Bekämpfung der Rindviehtuberkulose zusammen, daß ein durch und durch tuberkulöser Bestand den aufwachsenden Generationen im Viehstall nicht stets die gleiche Ansteckungsmöglichkeit bietet. So sehen wir beispielsweise, daß sämtliche tuberkelfreie Versuchstiere dieses Gutes vor dem Juni 1905 geboren sind; hiernach ist kein einziges Kalb der Ansteckung entgangen (der importierte Stier 261 nicht mitgerechnet). Wir sehen auch, daß verhältnismäßig zahlreiche Reaktionen nach 1 I.E. unter den letzteren Impftieren, nämlich bei 12 von 18, eingetreten sind, während vor dem erwähnten Zeitpunkt unter 28 Impftieren nur 11 Reaktionen zu verzeichnen gewesen sind.

Bei der Beurteilung des Effektes der Impfmethode auf diesem Gut kann man gleichwohl die Tatsache nicht leugnen, daß Kälber, die ohne Zweifel von der Tuberkulose angesteckt waren, durch das Bovovaccin dahin beeinflußt worden sind, daß sie später nicht reagiert haben, bezw. daß sie sich bei der Obduktion als frei von Tuberkulose erwiesen haben. Wir kennen nämlich keine bewiesene Erfahrung, die den Einwand, daß der Infektionszustand auch ohne das Bovovaccin hätte verschwinden können, unterstützt.

Auf dem Versuchsgut II befanden sich bei der letzten Tuberkulinprobe am 30. April 1907 3 reaktionsfreie und 10 tuberkulöse Impftiere. Eines der ersteren und 4 der letzteren hatten auf 1 I.E. reagiert. Nach den gleichen Berechnungsgründen, die wir oben angewendet haben, bildeten die reaktionsfreien 33,3 Proz. der Impftiere (No. 21 nicht mitgerechnet). Bei der letztvorausgegangenen Tuberkulinprobe war die Stellung günstiger. Von den 5 Kontrolltieren haben sich alle außer einem die Ansteckung zugezogen.

Die einzige augenscheinliche Wirkung des Bovovaccins in diesem Falle ist bei No. 321 zu suchen, das auf 1 I.E. reagiert hat, nicht aber auf Tuberkulin ein Jahr nach 5 I.E.

Auf dem Versuchsgut III sind von 33 vollständig geimpften Kälbern 7 später der Ansteckung entgangen. Von diesen waren bei der letzten Tuberkulinprobe 4 zwischen 3—3½ Jahren und 3 zwischen 2—2½ Jahren.

Von den 26 tuberkulösen Impftieren sind unserer Ansicht nach 9 vor der ersten Injektion angesteckt und werden deshalb nicht mit in Rechnung gezogen, es bleiben also 17 später angesteckte. Rechnet man die oben angegebenen 7 nichtangesteckten Tiere zu diesen hinzu, so machen die ansteckungsfreien in Prozent 29,2. Der Anteil des Bovovaccins an diesem Resultat ist sicher kein geringer, weil sämtliche 17 mit Tuberkulin geprüfte Kontrolltiere reagiert haben, was mit anderen Worten sagen will, daß günstigere Zufälle in diesem Falle kaum mitgespielt haben. Wir meinen somit, daß wenigstens die Mehrzahl der 7 nicht angesteckten Impftiere durch das Bovovaccin geschützt worden sind.

Das Versuchsgut IV bietet nichts von Interesse. Es ist ohne weiteres klar, daß die Impfungen hier resultatlos verlaufen sind.

Wie aus dem Impfprotokoll hervorgeht, hat sich auf dem Versuchsgut V kein einziges der 19 Impftiere infiziert gezeigt. Die 18 mit Tuberkulin geprüften hatten bei der letzten Untersuchung folgendes Alter erreicht:

6	zwischen	$3\frac{1}{2}$ —3	Jahren,
1	"	3 — $2\frac{1}{2}$	"
8	"	$2\frac{1}{2}$ —2	"
3	"	2 — $1\frac{1}{2}$	"

Von den 8 Kontrolltieren hat ein einziges reagiert. Dies war da 3 Jahre alt.

Im vorhergegangenen haben wir die beitragenden Ursachen zu dem merkwürdigen Verhältnis auf diesem Versuchsgut, daß beinahe alle Versuchstiere der Ansteckung entgangen sind, geschildert. Auch im Hauptviehstall scheinen die Infektionsmöglichkeiten begrenzt gewesen zu sein, denn die ältesten Versuchstiere hatten bei der letzten Tuberkulinprobe ein ganzes Jahr dort gestanden, ohne — bis auf 1 Kontrolltier — angesteckt worden zu sein. Hierfür spricht auch der Umstand, daß 203, als es zu einem anderen sehr tuberkulösen Bestand hingbracht wurde, bei der nächsten Tuberkulinprobe reagierte.

Es ist in diesem Falle nicht möglich, die Impfungen und den Ausfall der Tuberkulinproben bei den Impftieren in Zusammenhang miteinander zu stellen, falls man nicht etwa annehmen will, daß das Bovovaccin bei No. 117 eine therapeutische Wirkung gehabt hat.

Auf dem Versuchsgut VI reagierten 50 Proz. der 8 geimpften Tiere, von denen nur eins auf 1 I.E. reagiert hatte. Von den 4 ansteckungsfreien waren zwei 3 Jahr und 3 Monate, die beiden anderen etwa $2\frac{1}{2}$ Jahr alt.

Das Prozentverhältnis ist bei den Kontrolltieren ein gleiches. Leider ist das Material allzu klein, um in irgendwelcher Beziehung beweiskräftig zu sein, bemerkenswert ist aber, daß es, trotz einer Reaktion von beinahe 100 Proz. im Viehstall, möglich gewesen ist, 4 Rinder in demselben ein paar Jahre lang seuchenfrei zu halten. Bei No. 307 scheint das Bovovaccin eine heilende Wirkung gehabt zu haben.

Auf dem Versuchsgut VIII wurden 9 Tiere vollständig geimpft, aber nur die erste Impfgruppe sowie 2 Kontrolltiere einer Probe mit Tuberkulin unterzogen. 1 Jahr und 8 Monate nach 5 I.E. reagierten 2 von den 5 Impftieren (von den 3 ansteckungsfreien hatte das eine auf 1 I.E. reagiert) und beide Kontrolltiere. Das Resultat ist somit anscheinend günstig für das Bovovaccin das richtigste dürfte jedoch auch hier sein, das Material für zu wenig beweiskräftig zu halten.

Zuletzt haben wir noch die Resultate auf dem Versuchsgute IX zu schildern.

Hier wurden 16 Kälber geimpft, denen 15 Kontrolltiere entsprachen. Bei der ersten Probe mit Tuberkulin am 9. Febr. 1907 wurde ein den Erwartungen entgegengesetztes Resultat erzielt. Von den Impftieren befanden sich nämlich nur 7 oder 43,8 Proz. ansteckungsfrei, von den Kontrolltieren dagegen 12 oder 80 Proz. Von den reagierenden Impfungen können nur 3, als wahrscheinlich vor 1 I.E. tuberkulös, ausgeschieden werden, wodurch sich der Prozentsatz der ansteckungsfreien auf 53,8 verbessert. Da der Ausfall dieser Tuberkulinprobe uns eigentümlich erschien, wurde ein Probeschlachten eines reagierenden Impftieres und eines nicht reagierenden Kontrolltieres mit dem aus dem Impfprotokoll erhellenden Resultat vorgenommen.

Bei einer erneuerten Tuberkulinprobe am 17. Febr. 1908 konnte leider nur ein Teil der vorher reaktionsfreien Versuchstiere, nämlich derjenige, der sich mit Bestimmtheit identifizieren ließ, mit herangezogen

werden. Es zeigte sich hierbei, daß weder die 6 Impftiere noch die 6 Kontrolltiere bisher infiziert worden waren.

Hätten wir nicht frühere Erfahrungen über das Bovovaccin gehabt, so hätte die Annahme nahe gelegen, daß dieses die Ansteckung der Impftiere verursacht habe (Impftuberkulose). Jetzt mußten wir einen solchen Gedanken von der Hand weisen und das paradoxe Resultat als einen Zufall betrachten.

Auf diesem Versuchsgut gibt sich der Einfluß des Bovovaccins nur in einer Beziehung deutlich zu erkennen. Wir nehmen nämlich an, daß die Impfungen in 4 Fällen (151, 155, 219 und 223) eine kurative Wirkung gehabt haben.

Die Impfversuche, die wir hier geschildert, haben nicht dazu geführt, das Bovovaccin als eine effektive und praktische Methode im Kampfe gegen die Rindviehtuberkulose hinzustellen. Sie sprechen aber auch nicht eine so entscheidende Sprache in entgegengesetzter Richtung, daß sie von weiteren Versuchen abhalten können. Besonders hat das unserer Ueberzeugung nach bestimmte Faktum, daß das Bovovaccin in verschiedenen Fällen eine kurative Kraft besitzt, unsere Aufmerksamkeit erweckt. Diese scheint zwar so begrenzt zu sein, daß man in einem Tuberkulosekampf mit alleiniger Hilfe des Bovovaccins nicht wohl auf sie bauen kann — wir rechnen unter unseren Versuchstieren 48 zur Zeit der Injektion von 1 I.E. infizierte, von denen sich später bei der Obduktion oder bei der Tuberkulinprobe allein 15 als nicht angesteckt ergeben haben — die genannte Eigenschaft verheißt aber natürlich eine größere Leistungsfähigkeit des Bovovaccins unter anderen Verhältnissen und da als Präventivmittel.

Es ist nämlich leicht einzusehen, warum ein Teil unserer oben geschilderten Versuche keinen größeren Beitrag zu Beleuchtung der Frage betreffend die immunisatorische Kraft des Bovovaccins geliefert hat. Denn der Umstand, daß wir in stark tuberkulösen Beständen geimpft und — wenigstens nicht absichtlich — selbst während der Impfperiode nicht die geringsten Maßregeln zum Schutze unserer Versuchstiere gegen eine natürliche Tuberkuloseinfektion ergriffen haben, hat fraglos störend auf den Verlauf der Versuche eingegriffen und das Resultat entstellt. Allein wenn wir somit sozusagen rücksichtslos geimpft haben, haben wir uns nach den dem Impfstoff beiliegenden Anweisungen des Erfinders gerichtet. In dieser Beziehung enthielten dieselben, als wir unsere Impfungen begannen, folgendes: „Der Schutzimpfung sind in der Regel nur Tiere ohne äußere Krankheitserscheinungen im Alter von 3 Wochen bis zu 3 Monaten (bei der ersten Impfung) zu unterziehen. Bei gesunden Rindern in diesem Alter bedarf es einer vor der Impfung vorzunehmenden Tuberkulinprobe nicht, und zwar auch dann nicht, wenn die Tiere einem notorisch tuberkulösen Bestande angehören.“ Von unterstützenden hygienischen Maßnahmen sprechen die Anweisungen nicht, und die Ursache hierfür ist ohne Zweifel die, daß v. Behring bei den Versuchen mit der Impfmethode in der Praxis ermittelt zu sehen wünschte, inwieweit die therapeutische Kraft des Bovovaccins im Kampfe gegen die Tuberkulose unter dem Rindvieh mit in Rechnung zu ziehen sei. Hierauf deutet folgende Aeußerung von ihm in seinen Beiträgen zur experimentellen Therapie. Heft 10 (erschienen 1905). p. 12 hin: „Am angenehmsten wäre es ja sicherlich, wenn man ohne alle Rücksicht auf die in tuberkulosedurchseuchten Herden und Stallungen den Impfungen drohende Ansteckungsgefahr vorgehen und doch zu einer tuberkulosefreien Nachzucht

gelangen könnte bei recht frühzeitiger Schutzimpfung. Ob das aber möglich ist, kann nur die Erfahrung lehren.“

Wir wagen zu behaupten, das dies nicht möglich ist, und waren uns hierüber schon im Frühling 1906 im klaren. Wie vorher erwähnt, impfen wir seit dieser Zeit ausschließlich Kälber, die vor der Impfung vor der Ansteckung geschützt gewesen sind und außerdem während und eine geraume Zeit nach derselben dagegen geschützt werden.

Schlußwort.

Geben wir nun eine Zusammenstellung des im vorherigen Geschilderten, so lautet dieselbe folgendermaßen:

1) Die Bovovaccination ist eine leicht ausführbare und, soweit man nach einer 4-jährigen Erfahrung urteilen kann, ganz unschädliche Impfmethode.

2) Das Bovovaccin besitzt ohne Zweifel in gewissen Fällen eine therapeutische Kraft.

3) Die Bovovaccination ohne unterstützende hygienische Maßregeln (Isolierung, Sterilisation der Kälbermilch und dergl.) ist als Kampfmittel gegen die Rindviehtuberkulose nicht anzuraten.

4) Ob die Bovovaccination mit solchen Maßregeln befriedigende Resultate gibt oder nicht, hoffen wir durch unsere im Herbst 1906 begonnenen Versuche dartun zu können.

Nachdruck verboten.

Ueber Immunisierungsversuche gegen Tuberkulose.

[Aus dem Pathologisch-anatomischen Institut in Wien (Prof. A. Weichselbaum).]

Von

Privatdozent Dr. Julius Bartel, und
Assistenten am Institut

Dr. Wilhelm Neumann,
Assistenten an der II. medicin. Klinik
in Wien (Prof. v. Neusser).

Mit 4 Kurven.

Im folgenden wollen wir über Immunisierungsversuche gegen Tuberkulose berichten, auf welche bereits gelegentlich an anderer Stelle hingewiesen wurde (1). Die an Meerschweinchen und Kaninchen durchgeführten Experimente sind auf der von Bartel (2) genauer verfolgten Beziehung von Lymphdrüsen und Tuberkelbacillen im Fütterungsexperiment am Kaninchen aufgebaut. Als Vorstudium zu diesen Versuchen können wir unsere Veröffentlichungen über die Einwirkung von Lymphocyten (3) auf die Virulenz von Tuberkelbacillen betrachten. Wurden diese Studien an Bacillen des Typus humanus gemacht, so haben andererseits Bartel und Hartl (4) über analoge Beobachtungen bezüglich des Typus bovinus berichtet. Die Immunisierungsversuche selbst sind seit mehreren Jahren im Gange und werden zurzeit fortgeführt. Wenn wir schon jetzt eingehender über dieselben berichten, so tun wir dieses deshalb, da wir, bereits zu einem gewissen Abschluß gelangt, die Mitteilung der gewonnenen Ergebnisse für gerechtfertigt hielten. Aus unseren

verschiedenen Versuchsreihen sollen nur die prägnantesten Beispiele hervorgehoben werden, einerseits der Kürze halber, andererseits, um Wiederholungen zu vermeiden.

Allgemeine Versuchsanordnung.

Als „Versuchstiere“ dienten Meerschweinchen und Kaninchen zumeist jüngeren Alters, die durchweg gesunden Zuchten entstammten.

Als „Immunisierungsmaterial“ wählten wir

1) Tuberkelbacillen aus Kultur, die durch längere Zeit bei 37° in Organen gesunder Tiere — Milz, Mesenteriallymphdrüsen und Leber von Hunden und Kaninchen — bei Abwesenheit anderer Mikroorganismen gehalten worden waren. In den Organen, durch Injektion von den Blutgefäßen aus verteilt, gelangten die Tuberkelbacillen in den Organstückchen eingeschlossen zur subkutanen Verimpfung, welche einmal oder in Zeitintervallen wiederholt vorgenommen wurden.

2) Tuberkelbacillen aus Kultur wurden ferner längere Zeit bei 37° und Abwesenheit anderer Mikroorganismen in Lymphdrüsenedkokten suspendiert gehalten und dann von diesen Mischungen bakterienfreie Filtrate hergestellt¹⁾, welche gleichfalls zu Immunisierungsversuchen benutzt wurden.

3) Schließlich wurden Tuberkelbacillen in solchen „Filtraten“ (s. 2) wiederum längere Zeit bei 37° und bei Abwesenheit anderer Bakterien aufbewahrt und dann diese Mischungen einmal oder wiederholt verimpft. Die in solchen Filtraten eingesäten Bacillen lassen mit der Zeit einen krümeligen Zerfall und teilweisen Verlust der Säure- und Alkoholfestigkeit erkennen.

Solchergestalt „vorbehandelte“ Tiere bezeichnen wir kurz als „Immuntiere“, und zwar als IM. resp. IK., je nachdem es sich um Meerschweinchen oder Kaninchen handelte. Bezüglich solcher Immuntiere wäre zu bemerken, daß wir in zahlreichen Meerschweinchenversuchen auftretende, nach kürzerer oder längerer Zeit verschwindende Impfinfiltrate, oder aber auch keinerlei Veränderung der Impfstelle fanden.

Fast stets entwickelten sich die Tiere ungestört weiter und ließen, bei Wohlfinden getötet, fast durchweg lymphatische Hyperplasieen — Milz, Lymphdrüsen, Lungenlymphknötchen — erkennen. Selten trat bei einem „vorbehandelten“ Tier Unterentwicklung auf und verendete dasselbe an Marasmus mit brauner Atrophie der Organe ohne sonstige Veränderungen. Wurden Organstücke solcher Tiere an weitere gesunde Meerschweinchen verimpft, so blieben auch diese frei von manifester Tuberkulose und ließen auch wiederum recht häufig Hyperplasie ihres lymphatischen Gewebes erkennen.

Als „Kontrolltiere“ — KM. resp. KK., je nachdem es sich um Meerschweinchen oder Kaninchen handelte — wurden stets annähernd gleich alte und gleich starke Tiere benutzt.

Als „virulentes Infektionsmaterial“ benutzten wir:

- 1) Kulturbacillen (Glyzerinagar und Glyzerinlymphdrüsenagar),
- 2) tuberkulöse Meerschweinchenorgane,
- 3) Tuberkelbacillen aus Kulturen, die längere Zeit bei 37° und bei Abwesenheit anderer Bakterien in sauren oder alkalischen Lymphdrüsenedkokten gehalten worden waren.

1) Daß solche „Filtratstoffe“ eine kurative Wirkung entfalten können, wurde von uns an anderer Stelle (5) ausgeführt (siehe namentlich Reihe XII der entsprechenden Veröffentlichung).

„Vorbehandlung“ und „virulente Infektion“ wurden nun in mannigfacher Weise kombiniert. Die Versuchstiere selbst wurden bezüglich ihres Gewichtes kontrolliert, stets unter gleichen Bedingungen gehalten, nach Verenden oder nach der Tötung genau obduziert und gelegentlich Verimpfungen von Organstückchen an gesunden Meerschweinchen ausgeführt. Ueber histologische Untersuchungen soll eingehender später berichtet werden im Vergleiche mit Befunden bei therapeutischen Experimenten, desgleichen über biologische Reaktionen des Serums der verschiedenen Tiere.

Sowohl bei der Bereitung des Immunisierungsmateriales wie zur virulenten Infektion wurden Bacillen des Typus humanus oder bovinus in wechselnder Kombination verwendet.

Versuchsprotokolle.

Versuchsreihe V¹⁾.

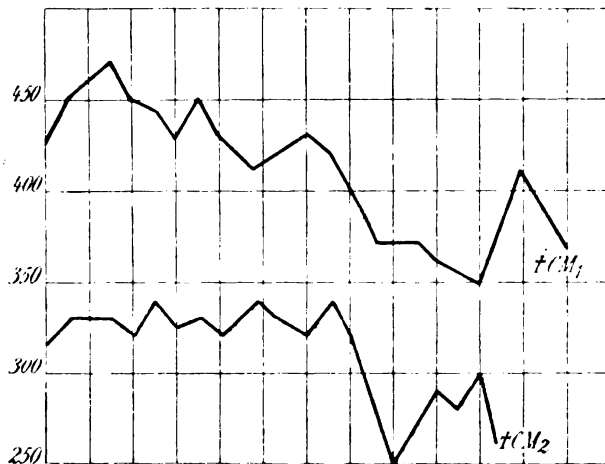
Vorbehandlung: Einmalige subkutane Einverleibung von tuberkelbacillenhaltigem Immunisierungsmaterial (Typus humanus) 13. Juni 1905 (s. 1).

Virulente Infektion: Kulturaufschwemmung von Tuberkelbacillen des Typus humanus, 22. Aug. 1905.

Kontrollmeerschweinchen.

KM₁ (KM₁) verendete am 79. (71.) Tage und hatte einen durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 0,18 (0,24) g auf 100 g. Das erreichte Höchstgewicht betrug 9,3 (7,9) Proz. über dem Ausgangsgewicht. Die Tiere hatten sich stets schlecht befunden.

Obduktionsbefund: Beide Tiere zeigten das typische Bild der Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung: Verkästes Infiltrat der Impfstelle, Tuberkulose hohen Grades der regionären wie der übrigen Lymphdrüsen, hochgradige Tuberkulose aller inneren Organe.



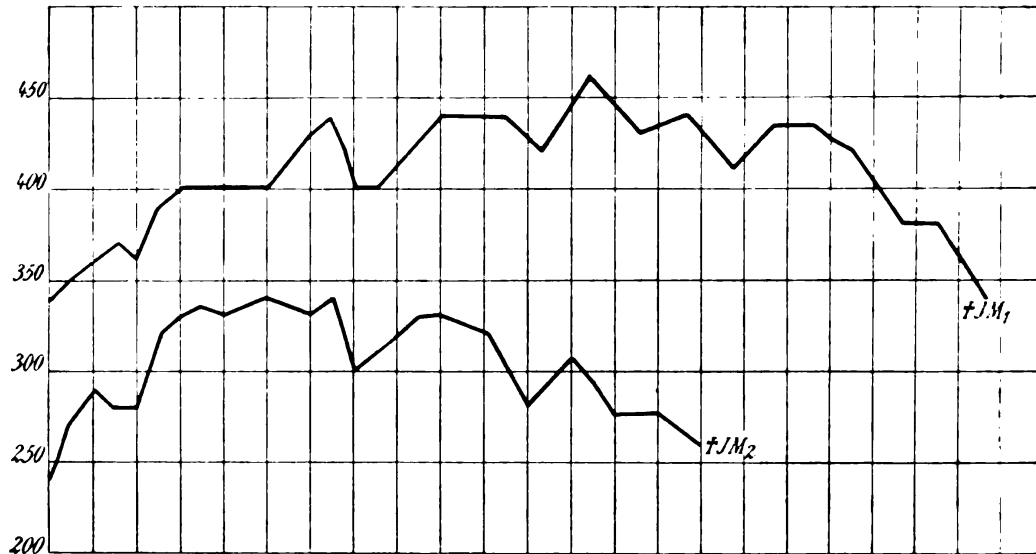
Immunmeerschweinchen.

IM₁ (IM₂) hatte vom Zeitpunkt der „Vorbehandlung“ um 79 (37) Proz. zugenommen und stets ein ungestörtes Befinden gezeigt. Das Tier verendete am 141. (105.) Tage nach der virulenten Infektion mit einer durchschnittlichen täglichen Gewichtszunahme von 0,02 (0,08) g auf 100 g und betrug das erreichte Höchstgewicht 35,3 (41,7) Proz. über dem Ausgangsgewicht. Dabei befanden sich die Tiere lange Zeit sehr wohl.

Obduktionsbefund: IM₁, granulierendes kleines Ulcus der Impfstelle, regionäre Lymphdrüsen (in inguine) klein erbsengroß, peripher schwielig, zentral mit eingesprengten

1) Die hier beschriebenen „vorbehandelten“ Tiere (Immuntier IM₁ und IM₂) sind von uns bereits an anderer Stelle (3) als für „spätere Versuche“ bestimmt bezeichnet (siehe die entsprechende Veröffentlichung, p. 528—531, Probe V nach 47 Tagen). Diese Versuchstiere wurden ferner von Bartel (6) gelegentlich eines Vortrages demonstriert.
IM₂: Befund ohne besonderen Unterschied gegenüber den Kontrolltieren.

Käseherden, Iliakaldrüsen eben sichtbar, die Bronchialdrüsen ein bohnengroßes, stark verkästes Paket, die Mesenterialdrüsen geschwollen, mit eben sichtbaren Tuberkeln, starke Schwellung der Milz, Miliartuberkulose von Milz und Leber, chronische Tuberkulose der Lungen mit Kavernen in den Unterlappen, die Kavernen mit unregelmäßig zerfallener Wand.



Versuchsreihe XIII.

Vorbehandlung: Zweimalige subkutane Einverleibung von bakterienfreiem Filtrat aus bacillenhaltigem Immunisierungsmaterial (Typus humanus) 14. und 20. Febr. 1906 (s. 2).

Virulente Infektion: Kulturaufschwemmung von Bacillen des Typus humanus 19. März 1906.

Kontrollmeerschweinchen.

$KM_{2,2}$ ($KM_{2,4}$) verendete am 48. (51.) Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 0,31 (0,44) g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 2,5 (7) Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Typische Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung (siehe auch später die diesbezüglichen Angaben bei den Kontrolltieren der Reihe V).

Immuntiere.

$IM_{3,2}$ ($IM_{2,4}$) verendete am 58. (53.) Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 0,43 (0,57) g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 7,7 (3,3) Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Tuberkulöses Infiltrat der Impfstelle, Inguinal- und Iliakalymphdrüsen (gegenüber starker Vergrößerung und Verkäsung bei den Kontrolltieren) klein, makroskopisch ohne deutliche Tuberkulose, chronische Lungen- und Bronchialdrüsentuberkulose, Tuberkel der Milz, Cirrhose der Leber mit spärlichen käsigen Stellen.

Versuchsreihe XXII.

A.

Vorbehandlung: Tuberkelbacillenhaltiges Immunisierungsmaterial einmal subkutan einverleibt, 15. Mai 1906 (s. 1).

Virulente Infektion: Intraperitoneale Impfung mit tuberkulösen Meerschweinchenorganen¹⁾.

1. Virulente Infektion. 17. Aug. 1906.

Kontrolltier.

$KM_{1,1}$ verendet am 122. Tage mit einem durchschnittlichen täglichem Gewichts-

1) Infektionsmaterial solcher Art wurde stets soeben getöteten Tieren unter sterilen Kautelen entnommen und unter Zusatz von physiologischer (0,9-proz.) Kochsalzlösung oder Ringer-Loebscher Flüssigkeit gleichmäßig verrieben und gelangte nach Filtration durch Watte zur Verimpfung.

verlust von 0,01 g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 35,7 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Typische Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, großknotige Lungentuberkulose, hochgradiger Milztumor (70:33:12 mm).

Immuntier.

IM₇₃ verendete am 26. Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverluste von 1,95 g auf 100 g.

Obduktionsbefund: Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, Lungentuberkulose miliar, Milztumor (37:18:7 mm).

2. Virulente Infektion. 8. Juni 1906.

Kontrolltier.

KM₈₃ verendete am 8. Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 6,3 g auf 100 g.

Obduktionsbefund: Tuberkulose des leicht verdickten großen Netzes, mäßige allgemeine Lymphdrüenschwellung, akute allgemeine Miliartuberkulose.

Immuntier.

IM₈₇ verendete am 48. Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 1,5 g auf 100 g.

Obduktionsbefund: Netz-tuberkulose mäßigen Grades, allgemeine Lymphdrüsentuberkulose, ziemlich gleichmäßige Tuberkulose der inneren Organe, Cirrhose der Leber.

3. Virulente Infektion. 19. Juli 1906.

Kontrolltier.

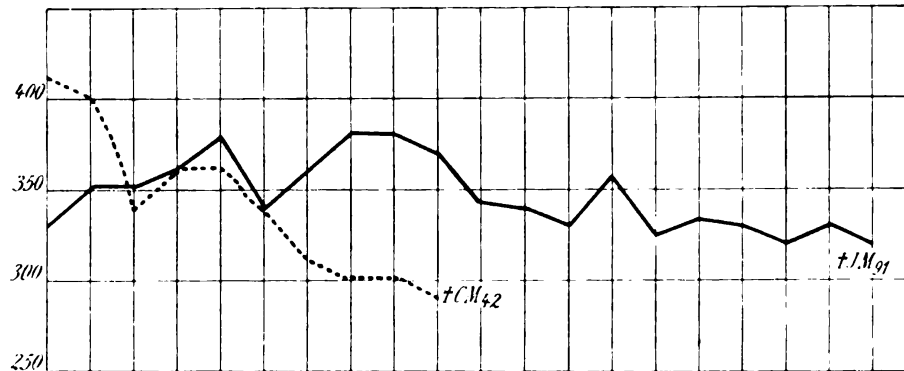
KM₄₂ verendete am 63. Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 0,66 g auf 100 g.

Obduktionsbefund: Großknotige Netz-tuberkulose, Randverkäsungen und größere rundliche Tuberkel der Leber, größere Tuberkel der angewachsenen Milz, Konglomerat-tuberkulose der Lungen, allgemeine Lymphdrüsentuberkulose.

Immuntier.

IM₉₁ verendete am 115. Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 0,02 g auf 100 g. Das erreichte Höchstgewicht betrug 15,5 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Großes Netz und Leber „anscheinend“ frei von Tuberkulose, Fettcirrhose der Leber, Tuberkulose der mesenterialen und periportalen Lymphdrüsen, die Bronchialdrüsen sehr stark vergrößert und verkäst, großknotige Tuberkulose der Milz und der Lungen.



Gewichtskurve von Kontroll- und Immuntier.

Verhalten aller Versuchstiere dieser Reihe nach ihrer Lebensdauer im Verhältnis zum entsprechenden Kontrolltier:

Immuntier		Kontrolltier	
IM ₇₃	26 Tage	KM ₁₁	122 Tage
IM ₆₉	23 "	KM ₁₃	54 "
IM ₃₀	48 "	KM ₁₉	52 "
IM ₃₁	54 "	KM ₈₄	74 "
im Mittel 37 Tage		resp. 50,5 Tage	
(Ueberempfindlichkeit)			

IM ₃₈	66 Tage	KM ₈₁	63 Tage
IM ₃₇	48 "	KM ₈₈	7 "
IM ₃₇	18 "	KM ₃₂	7 "
IM ₃₁	114 "	KM ₄₂	62 "
im Mittel 61,5 Tage		resp. 35 Tage	
(erhöhte Resistenz)			
F.			

Vorbehandlung: Tuberkelbacillenhaltiges Immunisierungsmaterial subkutan einverleibt. 3. Juni 1906 (s. 1).

Virulente Infektion: Tuberkulöse Meerschweinchenorgane. 17. Aug. 1906.

1. Virulente Infektion subkutan.

Kontrolltiere.

KM₁₄ (KM₉₉) verendete am 39. (52.) Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 1,22 (0,58) g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 4,57 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Typische Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung (auch ein größerer verkäster Herd im rechten Lungenoberlappen).

Immuntier.

IM₉₉ verendete am 85. Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 0,15 g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 4,34 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Typische Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, chronische Konglomerattuberkulose der Lungen mit konfluierenden Kavernen beider Lungenunterlappen.

2. Virulente Infektion intraperitoneal.

Kontrolltier.

s. KM₁₁, der Reihe XXII A 1, verendet am 122. Tage.

Immuntier.

IM₅₇ verendete am 38. Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 0,85 g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 5,88 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Tuberkulose des großen Netzes, Cirrhose der Leber, subakute Miliartuberkulose der Lungen und der Milz bei Anwachung der letzteren, hochgradige chronische Bronchialdrüsentuberkulose.

Verhalten aller Impftiere dieser Reihe nach ihrer Lebensdauer im Verhältnis zum entsprechenden Kontrolltier:

Immuntier		Kontrolltier	
IM ₄₈	43 Tage	KM ₄₂	62 Tage
IM ₅₇	38 "	KM ₁₁	122 "
IM ₃₂	55 "	KM ₉₄	74 "
im Mittel 47,8 Tage		resp. 83 Tage	
(Ueberempfindlichkeit)			
IM ₉₄	85 Tage	KM ₁₄	39 Tage
IM ₉₄	85 "	KM ₉₉	52 "
IM ₄₇	15 "	KM ₃₂	7 "
im Mittel 50 Tage		resp. 33 Tage	
(erhöhte Resistenz)			
H.			

Vorbehandlung: Tuberkelbacillenhaltiges Immunisierungsmaterial subkutan einverleibt. 16. Juni 1906 (s. 1).

Virulente Infektion: Subkutane Impfung mit tuberkulösen Meerschweinchenorganen. 17. Aug. 1906.

Kontrolltier.

s. KM₁₄ und KM₉₉, Reihe XXII F 1, verendet am 39. resp. 52. Tage.

Immuntier.

IM₉₅ verendete am 94. Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 0,34 g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 16 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Typische Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung, Fettleber mit Käseherden, größere Tuberkel der Milz (54 : 29 : 8 mm), mäßig reichliche kleinere und größere Konglomerattuberkel der Lunge mit beginnender Kavernenbildung.



Gewichtskurven von Kontroll- und Immuntier.

Verhalten aller Versuchstiere dieser Reihe nach ihrer Lebensdauer im Verhältnis zum entsprechenden Kontrolltier:

Immuntier		Kontrolltier	
IM ₉₅	94 Tage	KM ₁₄	39 Tage
		KM ₉₉	52 "
IM ₁₁	92 "	KM ₁₉	52 "
IM ₇₆	94 "	KM ₂₂	59 "
IM ₆	96 "	KM ₉₆	72 "
IM ₇₈	86 "	KM ₉₄	74 "
IM ₇₈	67 "	KM ₉₀	59 "
im Mittel 88 Tage		resp. 58 Tage	
(erhöhte Resistenz)			

Versuchsreihe XXVIII.

Gleichzeitige intraperitoneale Einverleibung tuberkelbacillenfreier Filtratstoffe aus Immunisierungsmaterial (s. 2) und virulente Kulturaufschwemmung.

Verhalten der Versuchstiere nach ihrer Lebensdauer im Verhältnis zum entsprechenden Kontrolltier:

IM ₄₆	61 Tage	KM ₁₀₀	109 Tage
IM ₄₉	58 "	KM ₆₈	67 "
im Mittel 59,5 Tage		88 Tage	
(Ueberempfindlichkeit)			

Obduktionsbefund: Bei Kontroll- und Immuntieren ohne merkbare Differenz.

Versuchsreihe XXIX.

Vorbehandlung: Zweimalige intraperitoneale Einverleibung von bakterienfreien Filtraten mit längerer Zeit in denselben suspendiert gehaltenen Tuberkelbacillen. 2. und 12. Aug. 1907 (s. 3).

Virulente Infektion: Intraperitoneale Infektion mit Tuberkelbacillen aus Kultur, die längere Zeit in Lymphdrüsendekokten suspendiert gehalten worden waren. 11. Mai und 1. Juni 1908.

I.

Kontrolltier.

KM 31/17 verendete am 27. Tage (5 Tage nach der zweiten virulenten Infektion) mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 1,5 g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 1,2 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Chronische Netztuberkulose mit Anwachsung am Periton. parietale, chronische Tuberkulose der Leber, subakute Miliartuberkulose in leicht geschwollener Milz, Bronchiallymphdrüsen vergrößert, derb, Marasmus.

Immuntier.

IM 19/75 verendete am 86. Tage (am 64. Tage nach der zweiten virulenten Infektion) mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 0,06 g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 3,28 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Geringgradige Netz tuberkulose, mächtiger Tumor der Milz, miliare Tuberkulose der Leber und Milz, chronische Bronchialdrüsentuberkulose, zahlreiche Konglomerattuberkel der Lungen.

II.

Kontrolltier.

KM 4/47 verendete am 82. Tage (am 62. Tage nach der zweiten virulenten Infektion) mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 0,11 g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 2,4 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Chronische Tuberkulose des Netzes, Milztumor mit Tuberkeln, infarktähnliche Verkäisungen in Cirrhose der Leber, chronische Mesenterial- und Bronchiallymphdrüsentuberkulose, einzelne miliare und einzelne Konglomerattuberkel der Lungen, Ascites, Hydrothorax.

Immuntier.

IM 28/52 verendete am 101. Tage (am 81. Tage nach der zweiten virulenten Infektion) mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverluste von 0,02 g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 2,04 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Mäßige Tuberkulose des Netzes, hochgradiger Milztumor, glatte Cirrhose der Leber, Tuberkulose der Mesenteriallymphdrüsen und Bronchialdrüsen, Konglomerattuberkel der Lungen, namentlich der Unterlappen beiderseits, Ascites.

III.

Kontrolltier.

KM 14/23 verendete am 76. Tage (am 66. Tage nach der zweiten virulenten Infektion) mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverlust von 0,19 g auf 100 g.

Obduktionsbefund: Großknollige Netz tuberkulose mit Erweichung, Milz vergrößert. Tuberkulose der Leber in glatter Cirrhose, schwierige chronische Tuberkulose der Mesenterial- und Bronchialdrüsen, subakute miliare und größere Konglomerattuberkel der Lungen.

Immuntier.

IM 59/72 verendete am 55. Tage (am 45. Tage nach der zweiten virulenten Infektion) mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverluste von 0,5 g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 1,95 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Chronische Netz tuberkulose, hochgradige Schwellung der Milz mit großen Käseherden, in der Leber ausgedehnte Nekrose, miliare Lungentuberkulose, beiderseitige Hodentuberkulose, Lymphdrüsentuberkulose.

Versuchsreihe XXX.

In dieser Reihe wurden Meerschweinchen und Kaninchen verwendet (M resp. K).

Vorbehandlung: Subkutane Einverleibung einmal wiederholt mit tuberkelbacillenhaltigem (s. 1) oder durch Filtration von denselben befreiten Immunisierungsmaterial (s. 2).

Virulente Infektion: Alkalische oder saure Lymphdrüsendekokte vom Schaf mit längere Zeit bei 37° eingesäten Tuberkelbacillen aus Kultur oder reine Kulturaufschwemmung und zwar sowohl Bacillen des Typus humanus wie bovinus.

Wir berichten über folgende Versuche:

I.

Virulente Infektion intraperitoneal mit Perlsuchtbacillen aus Kultur, die 2 Monate bei 37° in alkalischem Lymphdrüsendekokt gehalten worden waren. 2. Aug. 1907.

Kontrolltier.

KM 92/63 verendete am 131. Tage mit einem durchschnittlichen täglichen Gewichtsverluste von 0,08 g auf 100 g. Sein erreichtes Höchstgewicht betrug 20,8 Proz. über dem Ausgangsgewicht.

Obduktionsbefund: Einzelne kleine Netz tuberkel mit Verkäisung, Milztumor mit einzelnen hirsekorngroßen verkäisten Tuberkeln, zum Teil glatte Cirrhose mit Käseherden der Leber, subakute und Konglomerattuberkulose der Lungen, chronische Bronchialdrüsen- und Portaldrüsentuberkulose, Ascites.

Immuntiere.

IM 87/11 zweimal (24. Jan. und 5. Febr. 1907) subkutan mit Tuberkelbacillen enthaltendem Material (Typus humanus) vorbehandelt (s. 1).

Das Tier verendete am 155. Tage infolge einer akuten Infektion im Anschluß an Abortus.

Obduktionsbefund: Keine Zeichen von Tuberkulose, diffuse eiterige Peritonitis.

IM 79/41 zweimal (24. Jan. und 25. Febr. 1907) subkutan mit dem filtrierten bakterienfreien Immunisierungsmaterial des Tierversuches IM 81/11 vorbehandelt (s. 2).

Das Tier befand sich lange Zeit wohl. Erst einige Zeit vor der Tötung, am 6. Febr. 1908, magerte es ab. Die Tötung erfolgte am 188. Tage.

Obduktionsbefund: Frischere und ältere pneumonische Herde des rechten Ober- und Mittellappens mit Anwachsung des Oberlappens an einer zirkumskripten Stelle, leichter Marasmus, keine Zeichen von Tuberkulose.

Von diesem Tiere wurden Stückchen von veränderter Lunge, von der Milz und Leber an je ein gesundes junges Meerschweinchen verimpft. Diese Impftiere zeigten bei ihrer Tötung nach 4 Monaten keine Zeichen von Tuberkulose.

II.

Virulente Infektion intraperitoneal mit Perlsuchtbacillen aus Kultur, die 5 Wochen bei 37° in alkalischem Lymphdrüsenedekokt suspendiert gehalten worden waren. 6. Juni 1907.

Kontrolltier.

KK 63/13 nach 9 Monaten getötet. 2. April 1908.

Obduktionsbefund: Bei gutem Ernährungszustande keine Zeichen von Tuberkulose.

Immuntiere.

IK 40/60 zweimal, 24. Jan. und 5. Febr. 1907, analog IM 79/41, vorbehandelt.

Das Tier verendete nach 9 Monaten. 1. April 1908.

Obduktionsbefund: Marasmus, keine Zeichen von Tuberkulose.

IK 26/48 zweimal, 24. April und 5. Febr. 1907, analog IM 81/11, vorbehandelt.

Das Tier verendete nach 8 Monaten. 24. Febr. 1908.

Obduktionsbefund: Mit Ausnahme eines miliaren Tuberkels einer Niere die Bauchorgane (großes Netz, Peritoneum parietale und Darmserosa, sowie die Leber und das Genitale) ohne Zeichen von Tuberkulose, chronische Tuberkulose der Lungen mit sehr großen, vielfach konfluierenden Käseherden, namentlich der rechten Lunge, die fast völlig tuberkulisiert erscheint.

III.

Virulente Infektion intraperitoneal mit Perlsuchtbacillen aus Kultur, die 5 Wochen in saurem Lymphdrüsenedekokt bei 37° gehalten worden waren. 6. Juni 1908.

Kontrolltier.

KK 8/33 getötet nach 14 Monaten. 4. Aug. 1908.

Obduktionsbefund: Guter Ernährungszustand, keine Zeichen von Tuberkulose.

Immuntiere.

IK 43/75 analog vorbehandelt wie M 81/11.

Das Tier verendete nach Jahresfrist. 7. Juni 1908.

Obduktionsbefund: Marasmus, keine Zeichen von Tuberkulose.

IK 1/59 analog vorbehandelt wie M 79/41.

Das Tier verendete ebenfalls nach Jahresfrist. 1. Juni 1908.

Obduktionsbefund: Die Bauchorgane (großes Netz, Peritoneum parietale, Darmserosa, Leber, Milz und Nieren, sowie Genitale) frei von Tuberkulose, chronische Tuberkulose des rechten Mittellappens der Lunge, einzelne größere Tuberkel im linken Unterlappen, Marasmus.

IV.

Virulente Infektion intraperitoneal mit Perlsuchtkulturaufschwemmung. 6. Juni 1907.

Kontrolltier.

KK 49/94 verendet nach 4 Monaten. 10. Okt. 1907.

Obduktionsbefund: Tuberkulose des großen Netzes, zahlreiche Tuberkel des Peritoneum parietale, besonders der ileocöcalgegend (Einstichstelle), Tuberkel der Nieren und Leber, sowie aller Lymphdrüsen, dichte Aussaat von Konglomerattuberkeln in beiden Lungen, Marasmus.

Immuntiere.

IK 36/35 analog vorbehandelt wie IM 81/11.

Das Tier verendete nach 3 $\frac{1}{4}$ Monaten. 23. Sept. 1907.

Obduktionsbefund: Bauchorgane (s. oben) mit Ausnahme von einzelnen Tuberkeln der Niere frei von Tuberkulose, in den Lungen zahlreiche konfluierende verkäste Tuberkel, Marasmus.

IK 99/86 analog vorbehandelt wie IM 79/41.

Das Tier verendete nach 3 $\frac{1}{2}$ Monaten. 24. Sept. 1907.

Obduktionsbefund: Bauchorgane (s. oben) frei von Tuberkulose, ausgedehnte chronische Tuberkulose der Lungen mit konfluierenden verkästen Konglomerattuberkeln, Marasmus.

Ebenso konnten wir „vorbehandelte“ Meerschweinchen und Kaninchen gleich Kontrolltieren bei Infektion nach Art der Versuche XXX, II und III, frei von Tuberkulose finden.

Allgemeine pathologisch-anatomische Befunde der „Immuntiere“:

Tendenz zu Ausheilungsvorgängen — Cirrhose der Leber mit Milztumor und Ascites, Bindegewebsneubildung im Bereiche der Lymphdrüsen und serösen Häute —, vorherrschende chronische Tuberkulose von Bronchiallymphdrüsen und Lungen mit Kavernenbildung der letzteren, isolierte chronische Tuberkulose der Lungen bei freibleibenden entfernt gelegenen Eintrittspforten, Neigung der rechten Lunge, speziell des rechten Lungenunterlappens (resp. Zwerchfelllappens) zur tuberkulösen Erkrankung, Tuberkulose des Immuntieres bei Freibleiben des Kontrolltieres von tuberkulöser Erkrankung, Freibleiben des Immuntieres von Tuberkulose, wo das Kontrolltier an Tuberkulose erliegt.

Kontrolltiere

zeigen bei entstehender Tuberkulose das Bild des bekannten Effektes der subkutanen resp. intraperitonealen virulenten Infektion am vorher gesunden Tier.

Lebensdauer und sonstiges Verhalten von Kontroll- und Immuntieren.

Immuntiere verendeten zum Teil früher, zum Teil später als die zugehörigen Kontrolltiere, ebenso zeigten sie bezüglich des Gewichtsverhaltens oft wesentliche Differenzen, indem sie sich bald günstiger, bald schlechter beeinflusst zeigten, wie das nicht vorbehandelte virulent infizierte Tier.

Zusammenfassung.

Nach diesen Beobachtungen gehen wir nicht fehl, wenn wir zu dem Schlusse kommen, daß bei unseren „Immuntieren“ infolge der spezifischen „Vorbehandlung“ Vorgänge und Zustände einer „Immunität gegen Tuberkulose“ ausgelöst wurden. Als anatomischen, bei solchen Immuntieren fast regelmäßig gesehenen Ausdruck verzeichnen wir einen mehr oder weniger deutlichen und allgemeinen Zustand „lymphatischer Hyperplasie“. Biologisch konstatieren wir Zustände von Ueberempfindlichkeit, erhöhter Resistenz und voller Immunität gegen eine folgende virulente, das Kontrolltier sicher tötende tuberkulöse Infektion. Wir beobachten ferner Ueberempfindlichkeit des vorbehandelten Tieres gegen eine Art der Infektion, wo das Kontrolltier sich refraktär erweist. Wir sehen nämlich, daß einerseits gegenüber dem letzteren das immunisierte Tier früher oder später der virulenten Infektion erliegt, im Falle voller Immunität nach langer Zeit verendet oder getötet keine Zeichen von Tuberkulose erkennen läßt, andererseits bei bestimmter Art der Infektion ein „immunisiertes“ Tier an Tuberkulose erliegt, wo das Kontrolltier unverändert gefunden wird. Dabei sehen wir die spezielle Disposition der Bronchialdrüsen und Lungen zur manifest tuberkulösen Erkrankung im Stadium der Ueberempfindlichkeit wie der erhöhten Resistenz und bei Zuständen beider Art die Bildung der tuberkulösen Lungenkaverne deutlich hervortreten.

Demgegenüber weisen wir auf die häufig beobachtete Ausheilungstendenz, speziell in Lymphdrüsen und Leber hin. Ganz besonders wichtig und interessant erscheint uns schließlich das Freibleiben der Eintritts-

pforten und des regionären lymphatischen Apparates derselben von spezifisch tuberkulösen Veränderungen und die isolierte metastatische Erkrankung der Lungen, als des speziell disponierten Organs, infolge von Vorgängen der Immunität in Kombination mit für das Immuntier virulenter Infektion.

Kommen wir schließlich zurück auf unsere erzielten Resultate einer vollen Immunität gegen eine bestimmte Art einer für das Kontrolltier unter dem Bilde der allgemeinen tuberkulösen Erkrankung tödlichen Infektion, so kommen wir zu folgendem Schlusse:

„Wir müssen es als erwiesen betrachten, daß es gelingt, eine bestimmte Beeinflussung von Tuberkelbacillen durch Organgewebe, speziell lymphocytärer Natur, zum Ausgangspunkt eines erfolgreichen spezifischen Immunisierungsverfahrens zu machen.“

Freilich müssen wir hinzufügen, daß die relativ kleine Zahl unserer Versuche noch viele Fragen offen läßt, die wohl nur durch eingehendes weiteres Verfolgen des eingeschlagenen Weges vielleicht einer allmählichen Lösung zugeführt werden könnten. Wollen wir schon jetzt uns äußern, wie weit dieses Verfahren zur Erzielung einer Immunität gegen die Perlsucht des Rindes beitragen könnte, so können wir mit Weichselbaum¹⁾ „billigerweise nicht erwarten, daß das Ziel, welches man sich bezüglich der Immunisierung gegen Rindertuberkulose setzen muß, mit einem Male erreicht wird, sondern müssen uns zufrieden geben, wenn wir uns diesem Ziele Schritt für Schritt nähern . . .“ Gerade aus den Erfahrungen der letzten Zeit wissen wir ja, wie ungemein schwierig sich die Uebertragung solcher Bestrebungen ins praktische Leben gestaltet.

Literatur.

- 1) Weichselbaum, Bartel und Neumann, Diskussion zu einem Vortrage von Heymans (Gent) „Ueber Tuberkuloseschutzimpfung beim Rinde“. (Wiener klin. Wochenschr. 1908. No. 25.)
- 2) Bartel, Die Infektionswege bei der Fütterungstuberkulose. (Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 15; ebenda 1905. No. 7; Klin. Jahrb. 1905.)
- 3) Bartel und Neumann, Lymphocyt und Tuberkelbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. Heft 4.)
- 4) Bartel und Hartl, Zur Biologie des Perlsuchtbacillus. (Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 36.)
- 5) Bartel und Neumann, Experimentaluntersuchungen über den Einfluß von organischen Substanzen auf den Gang der Tuberkuloseinfektion beim Meerschweinchen. (Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 43 und 44.)
- 6) Bartel, Zur Tuberkulosefrage. (Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 16.)

Nachdruck verboten.

Ueber Immunisierungsversuche gegen Perlsucht.

[Aus dem pathol.-anatom. Institut in Wien (Prof. A. Weichselbaum).]

Von **J. Bartel** und **R. Hartl**.

Die vorliegenden Versuche zur gleichzeitigen Kontrolle und Nachprüfung der von Bartel und Neumann (1) unternommenen Experimente zeigten folgenden Verlauf:

Das „Immunisierungsmaterial“ zur Vorbehandlung wurde auf die gleiche Weise gewonnen, wie es Bartel und Neumann (2) seinerzeit

beschrieben und zu ihren Immunisierungsversuchen verwendet haben. Bei diesen vorliegenden Versuchen wurde nur tuberkelbacillenhaltiges Immunisierungsmaterial benutzt, das wiederholt subkutan oder intraperitoneal injiziert wurde. Bei der Herstellung desselben wurden sowohl Bacillen des Typus humanus wie des Typus bovinus benutzt, während zur „virulenten“ Infektion Aufschwemmungen aus Perlsuchtkulturen zur Anwendung kamen. Der Kürze halber bezeichnen wir Kontroll- resp. Immuntiere als KK. resp. IK.“

Wir berichten über folgende Versuche:

Versuchsreihe XXIII.

1) Virulente Infektion. Perlsuchtbacillen in Kulturaufschwemmung intraperitoneal einverleibt, 11. Okt. 1906.

Kontrolltier. KK: 96/70, verendete am 34. Tage, 14. Nov. 1906.

Obduktionsbefund: Chronische Tuberkulose des verdickten großen Netzes. Miliartuberkulose des Peritoneum parietale, der Darmserosa und der Pleura mit pleuralem Erguß, Miliartuberkulose der Lungen mit spärlichen größeren Tuberkeln, Marasmus.

Histologischer Befund: Die Tuberkel zeigen allenthalben mehr oder weniger ausgedehnte Verkäsung, in Milz, Nieren und Leber gleichfalls miliare Tuberkel nachweisbar, Tuberkelbacillen im Gewebe leicht nachweisbar.

Immuntier. IK. 18,42 (3), zweimal vorbehandelt (16. Juni und 21. Aug. 1906).

Das Tier wurde am 84. Tage bei vollkommenem Wohlbefinden getötet, 4. Jan. 1907.

Obduktionsbefund: Impfstichstelle, großes Netz, Peritoneum und Baueingeweide vollkommen unverändert, Mesenterial- und Bronchiallymphdrüsen weich, nicht vergrößert, in den Lungen 4 bis hanfkorngroße rundliche tuberkulöse Herde, von welchen 2 mit freiem Auge sichtbare käsige Einsprengungen aufweisen (der größte Herd mit Verkäsung im rechten Unterlappen resp. Zwerchfelllappen rückwärts nahe der Spitze des Lappens, der zweitgrößte im gleichen Lappen nahe dem vorderen unteren resp. unteren hinteren Rande desselben, der dritte Herd am vorderen resp. unteren Rand des rechten Mittellappens, der vierte vorn resp. unten am Rande des linken Oberlappens). Das Tier in gutem Ernährungszustande.

Histologischer Befund: Abdominalorgane frei von Tuberkulose, in einer Mesenteriallymphdrüse eine isolierte Riesenzelle, umgeben von einer größeren Zahl eosinophiler Zellen, ein untersuchter Lungenherd zeigt typische Tuberkulose mit Verkäsung und mäßig reichlichen Bacillen, in einem Lungenschnitt subpleural ein größerer Lymphocytenherd.

Resultat der Verimpfung von Organteilen dieses Tieres an gesunde Meerschweinchen: Die Impftiere aus Milz, Mesenteriallymphdrüsen und Blut zeigten, nach 2 Monaten getötet bei gutem Ernährungszustande lediglich vergrößerte Milzfollikel. Die Agglutinationsprobe des Serums dieser Impftiere auf Tuberkelbacillen war positiv. Das Impftier aus der Leber verendete nach 4 Wochen, und das aus einem tuberkulösen Lungenherd nach 8 Wochen an typischer Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung.

2) Virulente Infektion. Perlsuchtkulturaufschwemmung intraperitoneal einverleibt 25. Jan. 1907.

Kontrolltier. KK. 28/90, verendet am 61. Tage, 27. März 1907.

Obduktionsbefund: Chronische Tuberkulose des großen Netzes mit Verkäsung. Miliartuberkulose des Peritoneum, Vergrößerung der Milz mit subakuter Miliartuberkulose, spärliche subakute Miliartuberkel der Leber, sehr dicht stehende über die ganze Lunge verteilte Konglomerattuberkel namentlich in den rückwärtigen Lungenabschnitten. Marasmus.

Immuntier. IK. 88/16, viermal vorbehandelt (22. Juni, 21. Aug., 6. Nov., 12. Dez. 1906).

Das Tier verendete am 77. Tage, 11. April 1907.

Obduktionsbefund: Impfstichstelle, großes Netz und Peritoneum zart (im großen Netz zahlreiche Finnen), in Milz und Leber einzelne ca. hirsekorngroße Tuberkel, ebenso in den Nieren, in beiden Lungen, namentlich den Unterlappen resp. Zwerchfelllappen konfluierende verkäste Konglomerattuberkel, im Lungenparenchym dazwischen Tuberkel von der Größe der Herde in Milz, Leber und Nieren (die Konglomerattuberkel der Lungen bis 3 mm breit, im Unterlappen resp. Zwerchfelllappen Herde bis 10 mm Länge und 3—4 mm Breite). Marasmus.

3) Virulente Infektion: Perlsuchtbacillen in Kulturaufschwemmung intraperitoneal einverleibt, 25. Jan. 1907.

Kontrolltier. KK. 95/80, verendet am 121. Tage, 26. Mai 1907.

Obduktionsbefund: Im großen Netz neben zahlreichen Finnen, innig mit denselben verwachsen, derbe Knoten (histologisch Tuberkulose mit Verkäsung und eingesprengte

Verkalkungen), am Peritoneum spärliche miliare Tuberkel, Milz vergrößert, anscheinend frei, desgleichen die Leber, zahlreiche kleinere und größere Tuberkel der Nieren, beide Lungen gleichmäßig von dichtstehenden ausgedehnt verkästen Konglomerattuberkeln, namentlich in den hinteren Unterlappenpartieen resp. oberen Zwerchfelllappenpartieen durchsetzt, Marasmus.

Immuntier. IK. 56/31, dreimal vorbehandelt (20. Juli, 6. Nov., 12. Dez. 1906).

Das Tier wurde am 201. Tage bei vollkommenem Wohlbefinden getötet 14. Aug. 1907.

Obduktionsbefund: Finnen im großen Netz nebst dünngestielten bis erbsengroßen, meist flachen derben Knoten, Milz, Leber und Nieren frei von sichtbaren Veränderungen, Peritoneum zart, die Wand des Coecum an einzelnen bis 3 mm breiten Stellen verdickt, weißlich, im linken Lungenunterlappen resp. Zwerchfelllappen spärliche tuberkulöse Knötchen mit Verkäsung, an der Pleura diaphragmatica einzelne gestielte Knoten analog den im großen Netz vorhandenen, Tier in sehr gutem Ernährungszustand.

Histologischer Befund: Die Netz- und Pleuraknoten zeigen Tuberkulose mit Verkäsung und sind peripher schwierig beschaffen, an einzelnen Stellen Neigung zur Verkalkung, die veränderten Stellen der Darmwand sind durch tuberkulös veränderte lymphatische Einlagerungen bedingt, Milz mit vergrößerten Follikeln und wie die Leber und Nieren ohne Tuberkel, dergleichen die Mesenterialdrüsen frei von Tuberkulose.

Resultate der Verimpfung von Organteilen dieses Tieres an gesunde Meerschweinchen: Mit Milz, Mesenterialdrüsen und Leberstückchen geimpfte Tiere zeigten nach 3 Monaten getötet bei vollkommen ungestörtem Ernährungszustand namentlich im rechten Lungenunterlappen kleine graue Herde nach Art der „Lungenlymphknötchen“ (histologisch neben Auftreten von Lymphocyten zumeist in strangförmigen Infiltraten, Desquamation von Alveolarepithel), das nach der gleichen Zeit bei Wohlbefinden getötete Blutimpftier zeigte außerdem noch vergrößerte Milzfollikel und einen kleinen Nekroseherd der Leber. Ein mit einem Netzknoten geimpftes Tier verendete mit geringer Gewichtszunahme mit dem typischen Befunde nach virulenter intraperitonealer Impfung: Netzknoten mit Erweichung und allgemeine Ausbreitung der Tuberkulose (Milztumor, in der Leber auch Cirrhose).

Ergebnisse.

Diese Kontrolle und Nachprüfung bringt uns hiermit eine Bestätigung der Beobachtungen von Bartel und Neumann bezüglich des Resultates einer virulenten Infektion bei durch das beschriebene Immunisierungsverfahren künstlich erhöhter Resistenz gegen Tuberkulose. Wir sehen nämlich die Lungen, welche ja beim normalen Kaninchen schon zur tuberkulösen Erkrankung neigen, auf metastatischem Wege vorwiegend oder auch isoliert manifest tuberkulös erkrankt, wo die Eintrittspforten und deren regionärer lymphatischer Apparat in spezifisch tuberkulösem Sinne unverändert gefunden werden.

Auch hier können wir ferner eine Neigung spezieller Lungenpartieen, nämlich der rechten Lunge, besonders des rechten Unterlappens resp. Zwerchfelllappens, zur manifest tuberkulösen Erkrankung beobachten. Besonders sind es dabei die hinteren resp. oberen Lungenpartieen, welche der Sitz größerer Herde sind. Man kann dieses Verhalten bei aufmerksamer Beobachtung sehr häufig konstatieren und in jüngerer Zeit hat Bongert (4) in seinen Rattenversuchen ein analoges Verhalten beschrieben. Die hinteren resp. oberen Lungenpartieen sind es auch, welche besonders deutlich die von Uffenheimer (5) näher verfolgten „Lungenlymphknötchen“ am deutlichsten hervortreten lassen. Auch die Beobachtung der häufigeren Nierentuberkulose, die in letzter Zeit von Weber (6) betont wurde, findet in diesen Kaninchenversuchen wie in den von Bartel und Neumann ihre Bestätigung.

Die Neigung ferner zu Verkalkungsprozessen bei der Perlsucht können wir ebenfalls bei unseren Versuchen bestätigen. Von Interesse erscheinen uns auch die Resultate der Verimpfungen von Organen unserer „immunisierten“, dann virulent infizierten Kaninchen. Es ergab nämlich

die Verimpfung von nicht spezifisch tuberkulös veränderten Organen aus dem Eintrittspfortenbereich — Milz und Mesenterialdrüsen bei intraperitonealer Injektion — im Meerschweinchenversuch ein negatives Resultat. Dabei zeigten diese Meerschweinchen wiederum jene lymphatischen Schwellungen, über die Bartel und Neumann (2) bei ihren Immunisierungsversuchen berichteten, und ließ das Blutserum dieser Impftiere positive Agglutination auf Tuberkulose erkennen.

Die Ergebnisse von Hartl, Neumann und mir sind ferner ein neuerlicher Hinweis, daß bei Entstehung der manifesten Tuberkulose zum wenigsten am Tier mehr als bislang auch auf den Umstand Rücksicht genommen werden muß, daß bei gegebener Bedingung die Tuberkulose auch den Charakter einer „kryptogenetischen“ Infektion tragen kann. Wir müssen ja nicht nur das wechselnde Verhältnis von Vorgängen der Immunität und der Art der Infektion beachten, sondern auch auf die spezielle Disposition von Organen, und zwar auch bei verschiedenen Tierspecies, ja sogar bestimmter Stellen eines einzelnen Organes unser Augenmerk richten. Schließlich erscheint auch vielleicht die Provenienz des Erregers für die Lokalisation des manifest tuberkulösen Prozesses von Bedeutung.

Bezüglich der Rückschlüsse auf die Verhältnisse, wie sie unter den natürlichen Infektionsbedingungen für den Menschen gegeben sind, weisen wir auf die Ausführungen von Weichselbaum (7) und Bartel (8) gelegentlich der 6. Internationalen Tuberkulosekonferenz hin, woselbst ausführlicher auf die hier sich aufdrängenden Fragen eingegangen worden ist.

Literatur.

- 1) Bartel u. Neumann, Ueber Immunisierungsversuche gegen Tuberkulose. (Centralbl. f. Bakt. etc.).
- 2) — — Lymphocyt und Tuberkelbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. Heft 4.)
- 3) Bartel, Zur Biologie des Perlsuchtbacillus. (Wiener klin. Wochenschr. 1907. No. 6.)
- 4) Bongert, Beiträge zur Lehre von der Entstehung der Tuberkulose. (Deutsche tierärzt. Wochenschr. 15. Jahrg. No. 28 u. 29.)
- 5) Uffenheimer, Die Knötchenlunge. (Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. XL. 1907.)
- 6) Weber, Zur Frage der Infektionswege der Tuberkulose. (Bericht über die VI. Internationale Tuberkulosekonferenz. Wien 1907.)
- 7) Weichselbaum, Ueber die Infektionswege der menschlichen Tuberkulose. (Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 38.)
- 8) Bartel, Leitsätze zur Frage der Tuberkuloseentstehung. (Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 38.)

Nachdruck verboten

Pasteurisierung der Milch in Ruhe und Abtötung von Tuberkelbacillen.

Von Prof. Dr. D. A. de Jong in Leiden.

Auf dem internationalen milchwirtschaftlichen Kongresse im Haag im September 1907 habe ich einen Teil der Resultate der von mir über die Abtötung der Tuberkelbacillen bei der Milchpasteurisierung angestellten Versuche mitgeteilt. Die betreffende Versuchsreihe war damals noch nicht im ganzen abgeschlossen; jetzt kann über die Ergebnisse endgültig berichtet werden.

Ueber die Abtötung von Tuberkelbacillen mittels höherer Temperaturgrade sind mehrere Untersuchungen im Laufe der Zeit angestellt worden.

namentlich auch in bezug auf die Abtötung derselben in Milch. Die unserigen hatten einen besonderen Zweck.

Die für den menschlichen Genuß bestimmte pasteurisierte Milch entstammt in den Niederlanden meistens Apparaten, in denen die mit Milch gefüllten Flaschen in Ruhe während einer bestimmten Zeit einer bestimmten Temperatur ausgesetzt werden. Die Flaschen stehen in einem Wasserbade, das Wasser wird mittels Dampf erwärmt und auf eine bestimmte Temperatur gebracht. Ist diese erreicht, so wird dieselbe während einiger Zeit auf derselben Höhe gehalten, und am Ende wird das Bad durch schnell einströmendes Wasser rasch abgekühlt.

Zweck dieser Pasteurisierung in Ruhe ist, eine möglichst keimfreie und eine dauerhaftere Milch zu erhalten, welche jedoch weder Kochgeschmack noch Kochgeruch besitzt. Letztere Bedingungen lassen also ersehen, daß keine sehr hohen Temperaturen Anwendung finden, jedenfalls nicht viel über 72° C, weil dann die Eigenschaften der gekochten Milch nicht ausbleiben.

Es ist wohl zweifellos den Untersuchungen Forsters und seinen Schülern, van Geuns und de Man, zuzuschreiben, daß diesem Pasteurisierungsverfahren bei uns ein hoher Wert beigelegt wird, auch in bakterieller Hinsicht. Aus diesen Untersuchungen soll hervorgehen, daß die gewöhnlich in Milch gefürchteten pathogenen Mikroben, Typhus- und Coli-Bacillen, und selbst Tuberkelbacillen sicher absterben bei den Temperaturen, welche man bei der Pasteurisierung der Milch gewöhnlich anwendet. Bei einer gewissenhaften Pasteurisierung nach dem erwähnten Verfahren dauert die Vorwärmung der Milch, d. h. die Zeit, die nötig ist, um die gewünschte Temperatur zu erreichen, gewöhnlich etwa eine halbe Stunde, während diese Temperatur nachher ebenfalls etwa eine halbe Stunde beibehalten wird, in der Weise, daß man nicht unter 70—72° C pasteurisiert. Bei einer Vorwärmung von einer halben Stunde wird die Milch also während einer halben Stunde bei 70—72° C gehalten, und danach schnell abgekühlt.

Eine solche Erwärmung aber ist viel energischer, als die von van Geuns und de Man für die Abtötung verschiedener pathogener Mikroorganismen notwendig erachteten.

Forster hat dann auch, und zwar auf Grund dieser Untersuchungen, den Vorschlag gemacht, den Namen „pasteurisierte Milch“ beizubehalten für jene Milch, welche durch Vorbeiströmung an erhitzten Metallflächen erwärmt wurde, und die in der Ruhe durch Anwendung einer bestimmten Temperatur während einer bestimmten Zeit pasteurisierte Milch kurzweg als „krankheitskeimfreie Milch“ zu bezeichnen¹⁾.

Als Maßgabe sollten in letzterer Hinsicht also die Angaben von van Geuns und de Man gelten. Nach van Geuns²⁾ stirbt der

Cholera-bacillus	bei 59° C	in 1 Min.,	bei 54° C	in 5 Min.
Bacillus Finkler-Prior	„ 55°	„ „ 1 „	„ 50°	„ „ 5 „
Typhus-bacillus	„ 60°	„ „ 1 „	„ 56°	„ „ 5 „
Colibacillus (Emmerich)	„ 62 ¹ / ₂ °	„ „ 1 „	„ 59°	„ „ 5 „

De Man³⁾ fand, daß der Tuberkelbacillus getötet wird bei einer Einwirkung von:

1) Forster, Ueber die Einwirkung hoher Temperaturen auf Tuberkelbacillen. (Hyg. Rundschau. 1893. 1. Aug.)

2) Van Geuns, Archiv f. Hygiene. Bd. IX. p. 369.

3) De Man, Ueber die Einwirkung hoher Temperaturen auf Tuberkelbacillen. (Dissert.) München 1893.

55° C während 4 Stunden	80° C während 5 Minuten
60° " " 1 Stunde	90° " " 2 "
65° " " 15 Minuten	95° " " 1 "
70° " " 10 "	

Was den Tuberkelbacillus anbelangt, so sollte also nach den Untersuchungen von de Man eine Pasteurisierung bei 71—72° C während einer halben Stunde vollständig genügen, um diesen Mikroorganismus abzutöten.

Es ist nicht zu bestreiten, daß die Angaben anderer Untersucher nicht immer mit jenen von van Geuns und de Man übereinstimmen. Namentlich über Coli-, Typhus- und Tuberkelbacillen sind die Resultate verschiedener Versuche anders. Und in hygienischer Hinsicht ist diese Frage von höchstem Interesse, namentlich wenn man pasteurisierte Milch, dem alten Begriff zuwider, als krankheitskeimfrei bezeichnen will.

Noch aus einem anderen Grunde wurde die Sache, wenigstens in Holland, wichtig. Wenn Coli-Bakterien bei den Pasteurisierungstemperaturen absterben, darf pasteurisierte Milch keine Colibacillen enthalten. Sich auf diese Auffassung stützend, hat man angefangen, das Coli-Bakterium als ein Kontrollmittel für die Richtigkeit des Pasteurisierungsverfahrens in der Praxis, selbst vom polizeilichen Standpunkte aus, zu verwenden. Gelingt es, aus einer pasteurisierten Milch einen Coli-Bacillus zu züchten, so erklärt man den Milchlieferanten für schuldig. Auch andere, hier nicht näher auseinanderzusetzende Kontrollmittel hat man mit Hilfe des Coli-Bacillus erfunden. Und das alles bei einer pasteurisierten Milch, welche weder Kochgeschmack noch Kochgeruch haben darf.

Man sollte meinen, daß bei der Variabilität, welche der Coli-Bacillus in seinem Ursprung und in seinen Gruppenstämmen zeigt, in dieser Hinsicht zur Vorsicht gemahnt hätte. Jedenfalls waren daher nähere Untersuchungen über die Abtötungstemperaturen der Coli-Bacillen in Milch erwünscht, und wurden von de Graaff und mir angestellt. Diese haben ergeben, daß diese Mikroorganismen in Milch bisweilen weit höhere Temperaturen ertragen, als vorher angenommen wurde¹⁾.

Ueber das Verhalten der Tuberkelbacillen bei dem erwähnten Pasteurisierungsverfahren habe ich dann ausgebreitete Untersuchungen angestellt. Diese waren notwendig, um, wie gesagt, weiter nachzuspüren, inwieweit pasteurisierte Milch in dieser Hinsicht als krankheitsfrei zu betrachten ist. Sie können weiter dazu dienen, die verschiedenen bezüglich der Abtötung von Tuberkelbacillen durch Hitze angestellten Versuche zu vervollständigen.

Die Versuche wurden in folgender Weise gemacht:

Weil es einer Untersuchung über die Abtötung der Tuberkelbacillen bei der Milchpasteurisierung in der Praxis galt, sollten die Verhältnisse jenen der Praxis möglichst nahe kommen. Die Pasteurisierung der infizierten Milch geschah also in Halbliterflaschen, wie sie in einer uns bekannten Modelleinrichtung Anwendung finden.

Das Füllen der Flaschen geschah in der Weise, daß keine Milchtröpfchen die Flaschenwandungen über der Milchoberfläche berührten.

Die Pasteurisierung geschah in einem Ostwald-Wasserbade, welches

1) De Jong en de Graaff, De coli-contrôle der gepasteuriseerde melk. (Tijdschrift voor Veeartsenijkunde. Deel 34. No. 3. Deel 36. No. 2.)

mittels eines Toluolregulators auf der gewünschten Temperatur gehalten wurde.

Die Pasteurisierung wurde so reguliert, daß die Vorwärmung auf wenigstens etwa eine halbe Stunde bemessen wurde, während die Pasteurisierung eine halbe Stunde in Anspruch nahm.

Die Abkühlung fand in Eiswasser, resp. strömendem kalten Wasser statt.

Um nachzuforschen, inwieweit die Tuberkelbacillen abgestorben waren, wurde die Meerschweinchenimpfung angewandt, und zwar wurde dazu sowohl die nichtpasteurisierte als die pasteurisierte Milch genommen. In dieser Weise war zu erfahren, inwieweit die infektiöse rohe Milch durch das Verfahren sterilisiert worden war.

Von jeder Milchprobe wurden meistens zwei Meerschweinchen geimpft, das eine subkutan resp. intramuskulär, das andere intraperitoneal. Nach unserer Erfahrung ist das Resultat der subkutanen und intramuskulären Meerschweinchenimpfung wohl ziemlich dasselbe.

Meistens wurden aus zwei Flaschen pasteurisierter Milch Meerschweinchen geimpft, um genauer über das Resultat der Pasteurisierung orientiert zu werden. Die Meerschweinchenimpfung geschah immer in derselben Weise, und zwar so, daß 40 ccm der zu untersuchenden Milch während einer Viertelstunde in einer elektrischen Zentrifuge bei 3200 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert wurden. Rahm und Bodensatz wurden dann gemischt und mit der Magermilch zu 20 ccm angefüllt. Hiervon bekam das eine Meerschweinchen 10 ccm in das Peritoneum, das zweite 5 ccm subkutan resp. intramuskulär in jeden Hinterschenkel. Danach wurde der Tod der Tiere abgewartet, oder sie wurden nach genügender Beobachtungszeit getötet und genau obduziert. Waren zweifelhafte Läsionen anwesend, so wurde mittels neuer Impfung nachgeforscht, ob Tuberkulose im Spiele war.

Was die Auswahl der infizierten Milch selbst anbelangt, so sind nachstehende Erwägungen geltend gewesen:

Von mehreren Seiten wurde behauptet, daß das Studium der Abtötung der Tuberkelbacillen in Milch durch Hitze an dem natürlich tuberkulösen Produkt zu geschehen hat. Man hat also ursprünglich tuberkulöse Milch zu nehmen, oder man hat eine Milch zu mischen mit einem ursprünglich tuberkulösen Sekret, welches unter natürlichen Umständen die Milch zu infizieren vermag. In dieser Hinsicht ist tuberkulöses Uterussekret zu nehmen. Wir sind mit dieser Auffassung nicht ganz und gar einverstanden. Ursprünglich tuberkulöse Milch oder mit tuberkulösem Uterussekret gemischte Milch enthält meistens die Tuberkelbacillen in einem physisch und chemisch alterierten Medium. Bei der Mischmilch des Handels ist solches weniger der Fall wegen der stattgefundenen Mischung und Verdünnung. In mancher Hinsicht ist es also zu empfehlen, Milch zu nehmen, welche physisch oder chemisch nicht verändert ist, und dennoch Bacillen enthält, was durch Beimischung von Bacillen aus Reinkulturen zu erreichen ist.

Weiter ist es nötig, will man ein deutliches Resultat erhalten, bei der von uns gewählten Versuchsanordnung, wobei also nur ein Teil der verwendeten Milch experimentell auf Tuberkelbacillen zu prüfen ist, der Milch nicht zu wenig Bacillen hinzuzufügen. Von 500 ccm Milch wurden jedesmal nur 40 ccm an zwei Meerschweinchen verimpft, jedem die Hälfte. Verwendet man Milch mit zu wenigen Bacillen, dann ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß in dem verimpften Teile entweder zufällig keine

Bacillen sich befinden, oder nur abgetötete. Wir haben es daher für angezeigt erachtet, jedesmal 500 ccm Milch mit 5 mg genau abgewogenen Tuberkelbacillen so gleichmäßig wie möglich in Mörsern zu mischen. Um aber auch denjenigen entgegenzutreten, welche für derartige Versuche nur mit dem ursprünglich tuberkulösen Produkte zu arbeiten wünschen, haben wir auch Versuche damit angestellt, entweder mit natürlich tuberkulöser Milch, oder mit Milch, welche mit tuberkulösem Uterussekret gemischt worden war.

Anfänglich wurde für die zu infizierende Milch gewöhnliche Handelsmilch genommen. Dabei traten jedoch septische Todesfälle bei den geimpften Meerschweinchen auf. Später wurde daher die Milch aseptisch gemolkener Kühe verwendet. Dadurch war dieser Uebelstand genügend beseitigt.

Bei den Versuchen, wobei die Milch mit Bacillen oder mit Sekret gemischt waren, wurde auch die ursprüngliche Milch verimpft. In diesen Fällen fand also Verimpfung der rohen, nicht infizierten Milch, der rohen, infizierten Milch und der pasteurisierten Milch statt. In den anderen Fällen wurde die rohe infizierte und die pasteurisierte Milch verimpft.

Was die verwendeten Bacillen anbelangt, so ist zu bedenken, daß in der Milch die Tuberkelbacillen des Rindes gefürchtet werden. Wir sind auf Grund unserer zahlreichen Untersuchungen der Meinung, daß zwischen den Tuberkelbacillen des Menschen und der verschiedenen anderen Säugetiere keine sogenannten Artunterschiede bestehen, und daß in dieser Hinsicht auch nicht von Typen mit konstanten Merkmalen zu reden ist. Es können Virulenz- und andere bakteriologische Unterschiede bestehen, welche jedoch nicht konstant sind, und welche Menschen-, Rinder-, Pferde-, Ziegenbacillen usw. unter sich ebenso gut zeigen. Um diese Unterschiede auch bei unseren Pasteurisierungsversuchen zum Ausdruck zu bringen, haben wir nicht ausschließlich mit Rinderkulturen gearbeitet, sondern auch mit Kulturen des Menschen und der verschiedenen anderen Säugetiere, soweit diese Kulturen in unserem Laboratorium vorhanden waren.

Das Resultat der viele Zeit in Anspruch nehmenden Versuche, wobei etwa 200 Meerschweinchen verwendet wurden, ist aus den nachstehenden Tabellen (p. 675 u. 676) ersichtlich.

Die Endresultate sind in den folgenden Schlußfolgerungen zusammenzufassen:

I. Nicht nur Tuberkelbacillen aus Kulturen des Rindes, sondern auch aus jenen von Pferd, Ziege, Schaf, Mensch, Schwein und Katze können in Milch einer Pasteurisierung bei 71–72° C während einer halben Stunde bei einer Vorwärmung von wenigstens derselben Zeit widerstehen.

II. Dieselbe Resistenz zeigen die Bacillen in natürlich tuberkulöser Milch, oder in Milch, welche mit natürlich tuberkulösen Produkten des Rindes infiziert wurde.

III. Die erwähnte Pasteurisierung ist also nicht imstande, unter allen Umständen Tuberkelbacillen in der Milch abzutöten.

IV. Die in jener Weise erhitzte Kuhmilch darf nicht als krankheitskeimfrei betrachtet werden, und nicht unter diesem Namen verkauft werden.

In Band XLVI, Heft 8 dieses Centralblattes¹⁾ habe ich darauf hingewiesen, daß Milch, welche man im Hinblick auf Tuberkelbacillen als

1) de Jong, D. A., Ueber Tuberkelbacillen in der Milch tuberkulöser Tiere.

Bemerkungen: Die Zahlen sind die Nummer der Meerschweinchen.
 + = tuberkulös, - = nicht tuberkulös, † = gestorben, o = getötet.

Versuchs- No.	Tuberkel- bacillus von	Dauer der Pasteurisierung	Vorwär- mung	Rohe Milch geimpft in Bauch	Rohe Milch geimpft subkutan	Infizierte Milch ge- impft in Bauch	Infizierte Milch ge- impft subkutan	Pasteurisierte Milch geimpft in Bauch	Pasteurisierte Milch geimpft subkutan	Datum	
A. Milch mit Reinkulturen.											
I	Pferd	1/2 Std.	71-72	53 Min.	473	474	471	472	480	481	22./10.
II	"	1/4 "	71-72	53 "	o -	o +	† - ¹⁾	† - ¹⁾	o -	o -	22./10.
III	"	1/2 "	71-72	48 "	482 ¹⁾	403 ¹⁾	484 ¹⁾	485 ¹⁾	486	487	23./10.
IV	"	1/2 "	71-72	32,5 "	511	512	513	514	515	516	29./10.
V	"	1/2 "	71-72	32,5 "	o -	o -	† +	† +	o +	o +	29./10.
VI	Rind I	1/2 "	71-73 ^{1/2}	34 "	523	524	525	526	527	528	6./12.
VII	"	1/2 "	71-73 ^{1/2}	34 "	o +	o +	† +	† +	† +	† +	6./12.
VIII	Rind II	1/2 "	71-72 ^{3/4}	29,5 "	537	538	539	540	541	542	13./12.
IX	"	1/2 "	71-72	29,5 "	† +	† +	† - ²⁾	† +	o +	† +	13./12.
X	Ziege I	1/2 "	71-72	37,5 "	553	554	555	556	557	558	8./1.
XI	"	1/2 "	71-72	37,5 "	o -	o -	† +	o +	o -	o -	8./1.
XII	Ziege II	1/2 "	71-72	33,75 "	561	562	563	564	565	566	14./1.
XIII	"	1/2 "	71-72	33,75 "	o +	o -	† +	† +	o -	o +	14./1.
XIV	Schaf	1/2 "	71-72	31,5 "	572	573	574	575	576	577	28./1.
XV	"	1/2 "	71-72	31,5 "	o -	o -	† +	† +	o -	o -	28./1.
XVI	Mensch	1/2 "	71-72	39 "	580	581	582	583	584	585	4./2.
XVII	"	1/2 "	71-72	39 "	o -	o -	o +	o +	o -	o -	4./2.
XVIII	Schwein	1/2 "	71-72	31 "	*)	*)	606	607	608	609	25./3.
XIX	"	1/2 "	71-72	31 "			o +	o +	o -	o -	25./3.
XXIV	Hund	1/2 "	71-73	33 "	647	648	649	650	651	652	1./7.
XXV	"	1/2 "	71-73	33 "	o +	o +	† +	o +	o -	o -	1./7.
XXXIX	Katze	1/2 "	71-72	36 "	712	713	714	715	716	717	19./8.
					† -	o -	† +	† +	718	719	19./8.
									o -	† +	

1) Gestorben an Peritonitis septica.
 2) Gestorben an Bauchverblutung am 14. Dez.
 3) Mit roher Milch wurde nicht geimpft.

Versuchs- No.	Tuber- kelbac- illus von	Dauer der Pasteurisierung	Vor- wärm- ung	Rohe Milch geimpft in Bauch	Rohe Milch geimpft subkutan	Infizierte Milch ge- impft in Bauch	Infizierte Milch ge- impft subkutan	Pasteurisierte Milch geimpft in Bauch	Pasteurisierte Milch geimpft subkutan	Datum
XX	Rind ¹⁾	1/2 Std. 71—72	32 Min.	625	626	629	630	631	632	20.4.
				†—	o—	o+	o+	o—	o—	
XXI	„ ¹⁾	1/2 „ 71—72	32 „					633	634	20.4.
								o—	o—	
XXVI	„ ²⁾	1/2 „ 71—72	41 „	656	657			658	659	8.7.
				†+	o+			o—	o—	
XXVIII	„ ³⁾	1/2 „ 71—72	45,5 „	662	663			664	665	10.7.
				†+	o+			o—	o—	
XXIX	„ ⁴⁾	1/2 „ 71—72	31 „	666	667			668	669	15.7.
				†+	o+			o—	o—	
XXX	„ ⁵⁾	1/2 „ 71—72	34,5 „	673	674	675	676	677	678	16.7.
				o—	o—	†— ¹⁷⁾	o+	o+	o+	
								679	680	16.7.
								o+	o—	
XXXIII	„ ⁶⁾	1/2 „ 71—72	32 „	691	692			689	690	23.7.
				o+	o+			o—	o—	
XXXVI	„ ⁷⁾	1/2 „ 71—72 ^{1/2}	33 „	693	694			695	696	30.7.
				†+	†+			o—	o—	
XXXVII	„ ⁸⁾	1/2 „ 71—72 ^{1/2}	34 „	699	700			697	698	8.8.
				†+	†+			†— ¹⁸⁾	o—	
XXXVIII	„ ⁹⁾	1/2 „ 71—73	29 „	708	709			710	711	11.8.
				†+	†+			o—	o—	
XL	„ ¹⁰⁾	1/2 „ 71—72	53 „	727	728			729	730	11.11.
				†+	†+			†+	†+	
								731	732	11.11.
								†—	†—	
XLI	„ ¹¹⁾	1/2 „ 71—72	56 „	733	734			735	736	12.11.
				†+	†— ¹⁸⁾			†+	†+	
								737	738	12.11.
								†+	†+	
XLII	„ ¹²⁾	1/2 „ 71—72	47 „	739	740			741	742	13.11.
				†— ¹⁵⁾	†— ¹⁸⁾			†+	o+	
								743	746	13.11.
								†— ¹⁵⁾	†— ¹⁸⁾	
								744	747	13.11.
								o—	†— ¹⁸⁾	
								745	748	13.11.
								o—	†— ¹⁸⁾	
XLIII	„ ¹³⁾	1/2 „ 71—72	53 „	751	752			753	754	6.12.
				†+	†+			†—	†—	
								755	756	6.12.
								†—	†—	
XLIV	„ ¹⁴⁾	1/2 „ 71—72	36,5 „	759	760			761	762	24.12.
				†+	†+			o—	o—	
								763	764	24.12.
								o+	†—	

1) Milch mit tuberkulösem Gebärmuttersekret. — 2) Tuberkulöse Mastitis der Ziege von Rinderbacillen verursacht. — 3) und 4) Wie 2. — 5) Wie 1, jedoch von anderem Tier. — 6) Wie 2, jedoch andere Ziege und andere Rinderbacillen. — 7) Mischmilch der Ziegen XXVI und XXXIII. — 8) Wie 7. — 9) Wie 7. — 10) Tuberkulöse Mastitis des Rindes. — 11) Wie 10. — 12) Wie 10. — 13) Milch der Ziege XXVI. — 14) Tuberkulöse Mastitis der Kuh; anderes Tier. — 15) Peritonitis. — 16) Septikämie. — 17) Peritonitis. — 18) Peritonitis. — 19) Septikämie.

krankheitskeimfrei betrachten will, von Kühen herkommen soll, welche nicht nur klinisch vollkommen gesund sind, sondern auch auf Tuberkulin nicht reagieren. Aus den jetzt erwähnten Versuchen ist zu folgern, daß pasteurisierte Milch, wie oben gemeint, soll dieselbe keine Tuberkelbacillen enthalten, gleichfalls ursprünglich von solchen Kühen herkommen muß.

Leiden, September 1908.

Nachdruck verboten.

Die Phagocytose bei Malaria.

Von Dr. J. Cardámatís (Athen).

Mit 1 Tafel.

Bekanntlich finden wir in dem peripheren Blute der von heftigen Malariaanfällen befallenen Kranken weiße Blutkörperchen, die Pigmentkörperchen von verschiedener Größe enthalten. Dies wurde zuerst von Virchow und Frerichs, später von Kelsch wahrgenommen, welcher letzterer zu dem Schlusse kam, daß die Pigmentierung von der Zerstörung des Hämosphärins herrührt. Laveran, der später die Pigmentierung näher untersuchte, bemerkte außer den weißen Blutkörperchen mit schwarzen Körnchen noch andere Elemente, die diesen gleich waren, jedoch keinen Kern hatten. Dies waren die sphärischen Malariaparasiten, die in die Blutkörperchen eindringen und auf Kosten ihres Hämosphärins leben, welches nach der durch den Parasiten erfolgten Verdauung als Melanin, d. h. als Pigmentkörperchen, auftritt. Die weißen Blutkörperchen, deren Bestimmung es ist, jeden fremden Stoff, dem sie in dem Organismus begegnen (Bacillen oder Fremdkörperchen) zu reinigen, ergreifen die Malariaparasiten sowie die Pigmentkörperchen, indem sie sich so in melanintragende Blutkörperchen verwandeln. Und zwar sind diese melanintragenden weißen Blutkörperchen, wie Laveran¹⁾ meint, immer einkernig. Dieser Meinung können wir nicht beistimmen, da wir nicht selten in dem peripheren Blute große, vielkernige Blutkörperchen bemerkten, die mit an dem Werk der Phagocytose beteiligt waren. Uebrigens ist die Phagocytose bekanntlich bei weitem seltener in dem peripheren Blute anzutreffen, sehr häufig jedoch in den inneren Eingeweiden, und ganz besonders konnten wir sie in der Placenta konstatieren.

Den Verlauf der Phagocytose verfolgten wir zufällig, und das ist auch keineswegs eine gewöhnliche Erscheinung, denn unter dem Mikroskop bemerken wir zwar nicht selten weiße melanintragende Blutkörperchen oder Malariaparasiten umhüllende weiße Blutkörperchen, den Verlauf derselben jedoch und die Art und Weise, wie sich dieser vollzieht, beobachteten wir zum ersten Male aus Anlaß folgender Tatsache:

Wir nahmen ein Experiment vor, um festzustellen, ob in dem Blute eines von hämosphärinurischem Fieberanfall Befallenen Hämolysin oder Bakteriolyse anzutreffen ist, und haben ein Blutserum von zwei Kranken während sowie nach dem hämosphärinurischen Fieber erhalten. Dieses Serum vermischten wir in frischem Zustande sowie in

1) Laveran, loc. cit., p. 121.

verschiedenem Alter bis zu 7 Tagen zu gleichen Teilen mit dem Blut eines Malariakranken oder auch im Verhältnis 2 : 1, und bemerkten, daß außer unserem eigentlichen Zweck eine Erregung der weißen Blutkörperchen wegen des untermischten Serums bewirkt wurde. Unter dem Mikroskop verfolgten wir wiederholt die lebhaftige Tätigkeit der Phagocytose, die das beigefügte Bild in allen ihren Phasen deutlich wiedergibt.

Allmähliche Entwicklung der Phagocytose.

Indem wir die Entwicklung der Fig. 3 verfolgen, bemerken wir drei Phasen:

In der ersten Phase ist die Bewegung des Protoplasmas des Blutkörperchens sehr lebhaft, weniger stark aber die des Blutkörperchens des Malariaparasiten, dessen Bewegungen der Chromatinkörperchen sehr lebhaft sind. Das weiße Blutkörperchen schnürt den Malariaparasiten zusammen, und dieser strebt, durch die amöboiden Bewegungen zu entweichen (Fig. 4' und 5'). Die Verwandlungen der ersten Phase fanden innerhalb 8 Minuten statt.

In der zweiten Phase sind die protoplasmatischen Bewegungen des weißen Blutkörperchens äußerst lebhaft. Der umhüllte Malariaparasit bewahrt sein Volumen, jedoch sind die Bewegungen der Pigmentkörperchen in der 18. Minute seit dem Beginn der Phagocytose abgeschwächt.

Das Volumen des weißen Blutkörperchens vergrößert sich im Vergleich zu den übrigen großen, einkernigen, den freien.

In der ersten sowie in der zweiten Phase war der Kern des weißen Blutkörperchens nicht zu sehen, und man glaubte, daß er sich genau unterhalb des Malariaparasiten befestigt befände.

Nach einer halben Stunde, seit dem Beginn der Phagocytose, war die Bewegung der Chromatinkörperchen sehr abgeschwächt. Die Körnchen sind feiner und geringer an Zahl.

In der dritten Phase erscheinen, wie Fig. 15' zeigt, zwei Stücke des Kerns des weißen Blutkörperchens wie unterhalb des Malariaparasiten befindlich, und die Bewegung der feinen Körnchen ist noch mehr abgeschwächt. Der Malariaparasit ist glasig, sehr durchsichtig, und die wenigen Körnchen häufen sich an dem einen Ende an, wie Fig. 16' zeigt.

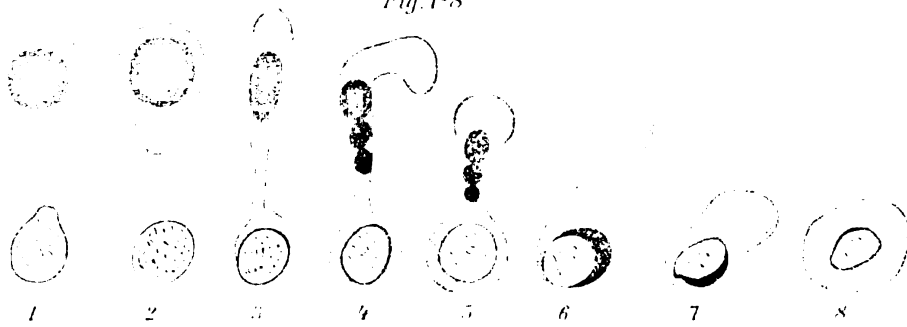
In der 45. Minute wurde der Malariaparasit so fein und farblos, daß er fast kaum noch zu sehen war, indem er sich mit dem weißen Blutkörperchen vermischte.

In der 50. Minute war er fast abgestorben, und jede Bewegung der Körnchen hörte auf.

In anderen ergriffenen Malariaparasiten trat der Tod nach 65 Minuten ein.

Vergleichshalber hatten wir unter einem anderen Mikroskop ein Präparat von frischem Blute von derselben Person, ohne Serum darunter zu mischen, und in diesem Präparat fanden wir keine Phagocytose. Ohne Zweifel bildete daher das unvermischte Serum aus dem Blute eines Kranken, der von einem hämorrhagischen Fieberanfall befallen war, eine irritierende Substanz der weißen Blutkörperchen.

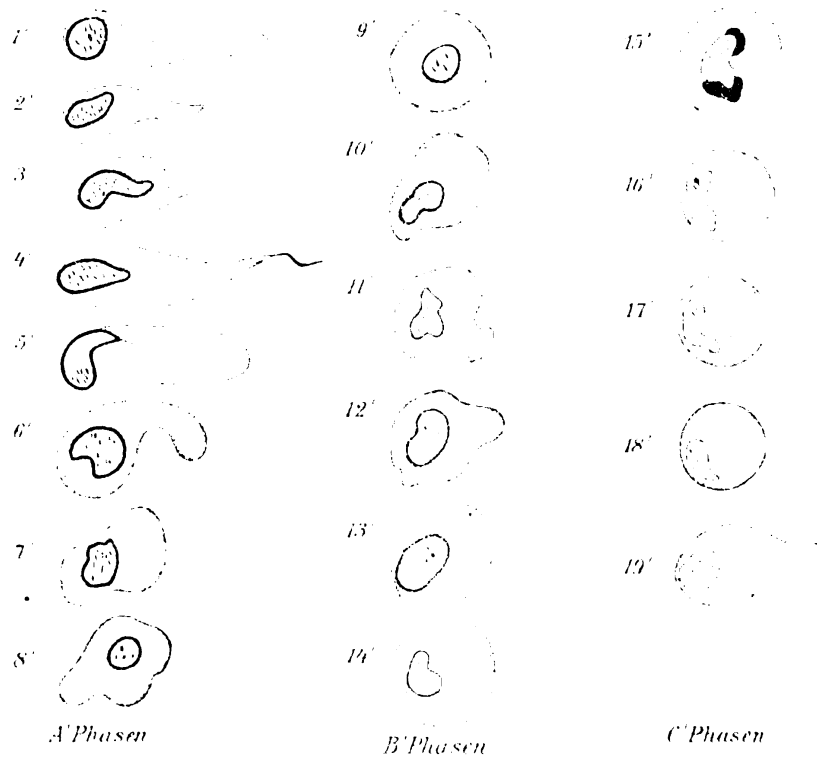
Tafel I
Fig. 1-8



Tafel II
Fig. a-f



Tafel III
Fig. 1-19'



Carl E. C. Metz

Verlag von Gustav Fischer w. Jena.

Lith. Anst. v. Lehmanns Buchh. Jena.

Nachdruck verboten.

Erwiderung auf den Aufsatz v. Liebermanns: Hämagglutination und Hämolyse.

[Aus dem staatl. serotherap. Inst. in Wien (Vorstand Prof. R. Paltauf).]

Von Dr. M. v. Eisler.

Durch die von mir veröffentlichten Untersuchungen¹⁾, ob die durch Ricin und Blutkörperchenimmunsere hervorgerufene Agglutination und Hämolyse eine Säurewirkung sei, hat sich v. Liebermann²⁾ veranlaßt gesehen, seine Auffassung dieser Prozesse neuerdings zu präzisieren. Nun scheint mir aber die von v. Liebermann in seiner letzten Publikation vertretene Auffassung doch einigermaßen von seiner früheren abzuweichen, wenigstens soweit sich dies beim Studium beider Publikationen beurteilen läßt. Ob v. Liebermann schon vorher die jetzt von ihm vertretene Anschauung hatte, kann ich natürlich nicht wissen. Dann hat er aber, wie ich finde, diesen Gedanken in seinen früheren Arbeiten nicht deutlich Ausdruck verliehen. Diesem Umstande ist das mir von v. Liebermann vorgeworfene Mißverstehen seiner Anschauung zuzuschreiben. Die von v. Liebermann jüngst veröffentlichte Auffassung der in Rede stehenden Prozesse stimmt mit der von Landsteiner vertretenen und von mir angeführten so nahe überein, daß ich zu einer weiteren Diskussion darüber keinen Anlaß finde.

Die damaligen Ausführungen v. Liebermanns mußten aber den Eindruck erwecken, daß er das Hauptgewicht auf die Säurenatur des Agglutinins und Lysins lege. Allerdings spricht v. Liebermann von einer schwachen, nicht von einer verdünnten Säure, der er die agglutinierende Wirkung des Ricins zuschreibt; dieser Umstand ist aber von ganz nebensächlicher Bedeutung, denn wie v. Liebermann neuerdings selbst mit Recht hervorhebt, ist auch nicht jede schwache Säure imstande, Agglutination bzw. Hämolyse in der Art wie Hämotoxine hervorzurufen. Derartige Agglutininwirkungen sind, abgesehen von den echten Hämotoxinen, bisher besonders bei kolloidalen Säuren beobachtet worden. Darüber aber, daß die Wirkung der Säure in erster Linie von ihrem kolloidalen Zustand abhängig sei, ist in den ersten Mitteilungen v. Liebermanns und seiner Mitarbeiter nicht ein einziges Wort zu finden. Daher war meine Ansicht, daß v. Liebermann das Hauptgewicht auf die Säurenatur der Immunkörper als solche lege, doch berechtigt. In diesem Sinne müßte doch auch zweifellos der von v. Liebermann ausgeführte Versuch über das Unwirksamwerden des hämolytischen Immunkörpers durch Zusatz von Alkali gedeutet werden. Die Unrichtigkeit dieser Auffassung gibt übrigens v. Liebermann neuerdings selbst zu, allerdings wieder mit der Bemerkung, daß er das Richtige vermutet hätte.

Eine weitere erfreuliche Uebereinstimmung zwischen v. Liebermann und mir ergibt sich insofern, als ich ausdrücklich betonen muß, daß ich niemals bestritten habe, die bei den besprochenen Prozessen beteiligten Körper könnten säureartige sein, sondern diese Möglichkeit zugegeben habe. Ein zwingender Beweis für die Säurenatur des Ricinagglutinins wurde aber durch die Versuchsanordnung v. Liebermanns, wie dieser

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVII. 1908.

2) Diese Zeitschr. Abt. I. Bd. XLVII. 1908.

selbst zugibt, nicht erbracht, da sein Versuch sich auf die Lackmusreaktion einer Ricinlösung beschränkt, dieses Ergebnis aber bei dem Umstande, daß Ricinlösungen zahlreiche andere Substanzen enthalten und verschiedene organische Säuren in erheblicher Menge in Ricinsextrakte übergehen, nicht eindeutig ist. Nach neueren Untersuchungen von Landsteiner und Pauli¹⁾ verhält sich übrigens bei Untersuchung im elektrischen Felde Ricin wie ein amphoterer Körper und zeigte keine sehr ausgesprochene Wanderung gegen die Anode, also nicht das Verhalten, welches bei einer kolloidalen Säure zu erwarten wäre. So wandert kolloidale Kieselsäure deutlich zum positiven Pol.

Ein weiterer Vorwurf von v. Liebermann betrifft meine Zumutung, er hätte seine für die Ricinagglutination gewonnenen Anschauungen auch auf hämolytische Sera zu übertragen versucht. Ich glaube, daß auch diese Zumutung nicht so unberechtigt war. Zum Beweise dafür will ich v. Liebermanns eigene Worte anführen. So z. B. wirft er die Frage auf, ob die bisher studierten Vorgänge, nämlich die Einwirkung des Ricins, der Kieselsäure und des Saponins auf rote Blutkörperchen, denjenigen entsprechen, die wir bei agglutinierenden und hämolytischen Seris beobachten und sagt darauf folgendes: Das Studium dieser Frage hat gezeigt, daß man in der Tat berechtigt ist, hier weitgehende Analogien anzunehmen. Allerdings sagt dann v. Liebermann, wie mir wohlbekannt war, daß außer diesen Prozessen noch andere wichtige Reaktionen eine Rolle spielen. Wenn man aber den Wortlaut meiner Zumutung genau beachtet, so dürfte darin wohl nicht mehr enthalten sein, als in v. Liebermanns eigenen eben zitierten Worten. Uebrigens findet sich sogar in dem gegen mich angeführten Satze v. Liebermanns folgende Stelle: Eine gewisse Aehnlichkeit zwischen dieser (nämlich Serumwirkung) und der agglutinierenden Wirkung von Ricin und Kieselsäure besteht also wahrscheinlich, aber etc.

Man sieht also, daß die Unterschiede zwischen den beiderseitigen Darstellungen wirklich geringfügig sind. Ich wollte diese Stellen anführen, um dem unparteiischen Leser ein Urteil zu ermöglichen, ob die wiederholten Vorwürfe v. Liebermanns, ich hätte ihn ganz mißverstanden, berechtigt sind.

Schließlich möchte ich bemerken, daß die in seiner letzten diesbezüglichen Publikation angeführte Anschauung v. Liebermanns, wie bereits eingangs erwähnt wurde, so weit der schon vor einigen Jahren von Landsteiner vertretenen gleicht, daß ich in den Untersuchungen des Verfassers nichts wesentlich Neues finden kann.

Bei dieser Gelegenheit sei auch noch erwähnt, daß mir die Versuche v. Liebermanns zur Reinigung von Agglutinin²⁾ nicht zu beweisen scheinen, daß diese Stoffe keine Eiweißkörper sind. Schon früher wurde nach demselben Prinzip eine sehr weitgehende Verminderung der Eiweißmenge und damit eine Reinigung von Agglutinin durch Abspaltung von den roten Blutkörperchen ausgeführt. (Landsteiner, Münch. med. Woch. 1902; Landsteiner und v. Jagić, Münch. med. Woch. 1903.) In den neuen Versuchen v. Liebermanns könnte das Fehlen der Eiweißreaktionen wohl auf einer zu großen Verdünnung der zuletzt erhaltenen gereinigten Lösungen beruhen. Der Einwand gewinnt an Wahr-

1) Wien. med. Woch. 1908.

2) Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. XLVII. 1908. p. 274.

scheinlichkeit, wenn man an die hohe Wirksamkeit gereinigter Phytotoxine denkt. Bei derartigen Präparaten dürfte es möglich sein, durch einfache Verdünnung Lösungen zu erhalten, die keine Eiweißreaktionen geben, aber noch deutlich agglutinierend wirken. Dieser Einwand müßte zuerst widerlegt werden, bevor man die Annahme der Eiweißnatur der Agglutinine ablehnt.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Zubereitung von Koagulinen auf gastrischem Wege¹⁾.

[Aus dem Institut für Hygiene der kgl. Universität Parma.
Vorst. Prof. E. Bertarelli.]

Von Prof. E. Bertarelli.

Seit langer Zeit hat man nachgewiesen, daß man durch die Ingestion von Elementen des Organismus (Hämationen) oder von bakteriischen Zellen die Bildung von Antikörpern erzielen kann.

Wenn auch hinsichtlich der Hämolyse Einwendungen gegen die Versuche von Metschnikoff erhoben worden sind — man wendet ein, daß die Bildung der Hämolyse nie stattfindet, wenn die Magenschleimhaut unverändert ist — so ist doch hinsichtlich der Agglutinine in unzweifelhafter Weise bewiesen, daß man durch die Darreichung von Bakterien die Agglutinine in einer ziemlichen Menge erhalten kann.

Durch frühere Untersuchungen habe ich festgestellt, daß man bei Säuglingen (Tiere) die Bildung von Antikörpern (Agglutinine, Hämolyse) erzielen kann, und habe einige Tatsachen festgestellt, welche für die Forschungen über diesen Weg der Immunisierung nicht ohne Interesse sind.

Meine folgenden Versuche zielten darauf hin, festzustellen, ob man auf gastrischem Wege die Bildung von Koagulinen im Kreislaufe erzielen kann.

Diese Frage ist nicht nur vom theoretisch-biologischen Standpunkte aus von Interesse. Man könnte ja meinen, es sei sehr nebensächlich, ob man auf gastrischem ebenso wie auf subkutanem Wege die Bildung von Koagulinen bewirken kann. Die Tatsache ist aber vom praktischen Gesichtspunkte sehr interessant. Es sind die Einwände allgemein bekannt, welche man gegen die Ernährung mit heterogener Milch erhoben hat. Einige dieser Einwendungen beziehen sich eben auf die Verdaulichkeit der heterologen proteischen Substanzen und auf die Möglichkeit, daß sich in den sehr zarten Organismen Antikörper — ich wende das Wort im weitesten Sinne an — gegen die heterologen proteischen Moleküle bilden.

So können wir im allgemeinen annehmen, daß die Frauenmilch vom kindlichen Organismus gut assimiliert wird, auch wenn das Verdauungsvermögen des Kindes wesentlich von demjenigen des Erwachsenen verschieden ist. Dagegen läßt sich die Frage stellen, ob eine heterologe Milch in derselben Weise verwertet wird, und ob man nicht eventuell, bei den besonderen Verhältnissen der Verdauungsfunktion des Kindes

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. K. Rühl, Turin.

und bei der besonderen histologischen Struktur der Magen- und Darm-schleimhaut desselben, der Möglichkeit entgegengelt, daß die proteischen Moleküle unverändert den Magendarmkanal passieren, und zwar in solchem Zustande, daß sie die Bildung von Antikörpern verursachen.

Deshalb habe ich, um die Reihe der vor fünf Jahren über das Durchgehen der Agglutinine beim Neugeborenen infolge der Einführung in den Magen angestellten Versuche zu vervollständigen, auch auf diesem Gebiete Untersuchungen ausgeführt.

* * *

Bildung von Koagulinen infolge der Einführung auf gastrischem Wege. — Vor allem habe ich festgestellt, ob es gelingt, auf gastrischem Wege die Bildung von Koagulinen zu erzielen.

Alle diejenigen, welche sich mit Immunitätsforschungen beschäftigen, wissen, wie schwierig es, wenigstens bei ausgewachsenen Tieren, ist, auf gastrischem Wege Antikörper zu erhalten. Man hat ja gegen die Metschnikoffsche Probe über die Erzeugung von hämolytischen Ambozeptoren durch die Ingestion von Blut gleich eine wichtige Einwendung erhoben, und zwar die, daß man die Bildung der Ambozeptoren nur in dem Falle erzielen kann, daß die Magenschleimhaut oder diejenige der Speiseröhre bei den mit der Einführung der Sonde verknüpften Handhabungen lädiert wird.

Meine Versuche über die Bildung der Koaguline wurden mit Kaninchen angestellt, und zwar mit sehr kräftigen Individuen; denselben wurde vermittlems einer weichen Gummiröhre ein gewisses Quantum Kuhmilch in den Magen eingeführt.

Bei diesen Versuchen muß man die Anwendung von harten Sonden vermeiden. Abgesehen von der Gefahr, die Sonde in den Kehlkopf einzuführen und dadurch das Tier zu opfern, kann man mit einer harten Sonde sehr leicht die Schleimhaut der Speiseröhre und des Magens verletzen, und dadurch vollständig die Richtung und die Resultate des Versuches ändern.

Meine ersten Versuche haben mich überzeugt, daß man, wenn man nicht eine wirkliche Zwangsernährung, resp. Ueberernährung ausführt, keine Koaguline erhalten kann. Durch eine übertriebene Milchfütterung — Einführung jeden 3., 4. Tag von 50 ccm frischer Kuhmilch — opfert man in kurzer Zeit zahlreiche Tiere, aber bei einigen derjenigen, welche am Leben bleiben, kann man Koaguline nachweisen.

So konnte ich unter zehn solchen Tieren zwei retten, welchen in weniger als 15 Tagen mehr als 400 ccm Kuhmilch dargereicht worden waren. Vier Tage nach der letzten Einführung von Milch in den Magen — die Schleimhaut der Speiseröhre und des Magens zeigte keine Spuren von durch die als Sonde angewendete Gummiröhre bedingten Verletzungen — wurde den Tieren vermittlems eines Aderlasses Blut entnommen; das Blutserum wurde mit abgerahmter Kuhmilch in der Weise geprüft, daß je 2 ccm Milch 0,1—1,0 ccm Serum zugesetzt wurden.

In beiden Fällen hatte man schon bei Dosen von 0,2 ccm in den Röhrchen für die Serumreaktion eine deutliche Präzipitation des Kaseins.

Damit die Probe besser ausfällt, ist es zweckmäßig, die Röhrchen wenigstens 3 Stunden bei einer Temperatur von 37° C. zu halten.

Ich kann also aus meinen Versuchen schließen, daß im Serum von mit großen Mengen Kuhmilch auf gastrischem Wege behandelten Kaninchen Koaguline für die Kuhmilch erschienen sind.

Das normale Kaninchenserum weist diese Eigenschaft nicht auf, auch wenn es im Verhältnis 1:1 mit Kuhmilch gemischt wird.

Die Quantität der gebildeten Koaguline ist jedoch eine geringe, wenn man sie mit anderen Arten von Antikörpern vergleicht.

So ist das Präzipitationsvermögen des Serums für die Milch — Moro¹⁾ hat schon 1906 die Präzipitine im Serum der Säuglinge gesucht — viel ausgesprochener als das Koagulationsvermögen. Wenn man das Serum eines der Kaninchen, in der Dosis von 0,2 ccm mit 2 ccm Kuhmilchserum — gewonnen dadurch, daß das Kasein mit Lab getrennt wurde — mischt, erhält man ein deutliches Präzipitat.

Dabei sei bemerkt, daß die Bildung von Koagulinen nur dann stattfindet, wenn das Kaninchen mit einer Zwangs- resp. Ueberernährung mit heterogener Milch behandelt wird. Wenn man diese besondere Ernährung mit langen Zwischenpausen ausführt, kann experimentell keine Bildung von Koagulinen nachgewiesen werden, auch wenn die genannte Behandlung monatelang fortgesetzt wird.

So haben Kaninchen, welche alle 8 Tage mit 50 ccm Kuhmilch gefüttert wurden, in bezug auf die Bildung von Koagulinen ein negatives Resultat ergeben.

Daraus ergibt sich, daß sich diese Substanzen nur dann bilden, wenn die normale Funktion der Verdauungsschleimhäute geschädigt resp. verändert ist.

* * *

Bilden sich bei mit heterogener Milch genährten Säuglingen Koaguline? Nachdem ich die Möglichkeit festgestellt hatte, auf gastrischem Wege, durch Darreichung von heterogener Milch, die Bildung von Koagulinen zu erzielen, tauchte spontan folgende Frage auf. Besteht bei den mit homologer Milch und besonders bei den mit heterologer Milch genährten Säuglingen nicht die Gefahr, daß sich, bei dem besonderen Zustande der Verdauungsschleimhaut und besonders bei der großen Quantität der eingeführten Milch, zirkulierende Koaguline bilden?

Um diese Frage auf experimentellem Wege zu lösen, habe ich Blut angewendet, welches ich entweder aus dem Herzen von Säuglingen unmittelbar nach ihrem Tode genommen, oder welches ich aus lebenden Säuglingen gewonnen hatte.

Dank der Freundlichkeit der Herren Kollegen Doktoren Ferrari und Cattaneo, konnte ich mir 4 Proben solchen Serums anschaffen. Zwei derselben stammten von an der Brust ernährten und zwei von mit Kuhmilch ernährten Säuglingen her.

Die mit diesem Serum angestellten Versuche fielen negativ aus, auch bei Anwendung gleicher Volumina Serum und Milch. In keinem Falle, sowohl bei Anwendung homologer wie heterologer Milch, konnte ich Koaguline nachweisen.

Daraus kann man schließen, daß in der Natur keine Gefahr vorliegt, daß sich Koaguline bilden, auch wenn den Säuglingen Kuhmilch dargereicht wird. Es sei noch hinzugefügt, daß ich in meinen Fällen auch in den Sera keine Präzipitine nachweisen konnte.

1) E. Moro, Münchener Med. Wochenschrift. 1906. p. 2383.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Diagnostik der Cholera- vibrionen. Experimentelle Beiträge zur Epidemiologie der Cholera.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des medizinischen Instituts
für Frauen. Vorstand: Prof. Dr. D. K. Zabolotny.]

Von Privatdozent **S. J. Zlatogoroff**, St. Petersburg.

Seit der Entdeckung des Cholera-vibrio durch Koch haben sich die Ansichten über die Diagnostik des letzteren allmählich geändert. Diejenigen Merkmale (morphologische und kulturelle), die früher als unumstößlich und nur für den Cholera-vibrio als typisch gegolten haben, haben sich als inkonstant erwiesen. So sind beispielsweise das Gedeihen des Cholera-vibrio auf Gelatine und die rote Reaktion (Cholera-rot) nicht mehr als streng pathognomische Merkmale zu betrachten, weil auch cholera-ähnliche Vibrionen dieselbe Reaktion geben, während ihr Wachstum auf Gelatine (sowohl bei Stich- wie bei Plattenkulturen) häufig mit demjenigen des echten Cholera-vibrio identisch ist. Ferner haben einige Autoren, namentlich Prausnitz (1), darauf hingewiesen, daß die Cholera-vibrionen niemals phosphoreszieren, und daß dieses Merkmal differentialdiagnostisch verwertet werden könne. Die Untersuchungen von Rumpel (2) und Weleminsky (2) haben diese Angabe jedoch nicht bestätigt. Beim Fahnden nach verschiedenen typischen Eigenschaften der Vibrionen glaubte man schließlich, in der Hämolyse eine Reaktion gefunden zu haben, welche zwischen den wirklichen Cholera-vibrionen und den cholera-ähnlichen Vibrionen unterscheiden läßt. Schumacher (3), Kolle und Meinicke (4), Berestnew (5) u. A. betrachten als charakteristische Eigenschaft des Cholera-vibrio im Gegensatz zu den cholera-ähnlichen Vibrionen das Fehlen von Hämolyse mit bestimmten Sorten von roten Blutkörperchen (vom Pferde, Ochsen, Kalbe). Kraus und Příbram (6), sowie auch Liefmann und Nieter (7), Mühlens und v. Raven (8) haben jedoch die Bedeutung dieser letzteren Reaktion erschüttert, da sie Cholera-vibrionen festgestellt haben, welche auf jene Erythrocytensorten hämolytisch wirkten. Man wandte sich schließlich den virulenten Eigenschaften der Vibrionen zu, aber auch hier war es bekanntlich unmöglich, etwas Konstantes für den Vibrio festzustellen. Während manche Vibrionen sehr virulent und imstande sind, ein Meerschweinchen bei intraabdominaler Injektion schon in einer Quantität von einer Agaröse zu töten, sind andere, gleichfalls zweifellose Cholera-vibrionen für Meerschweinchen überhaupt nicht pathogen. Dasselbe gilt auch für die Fähigkeit, freie Toxine zu produzieren. Viele halten es für feststehend, daß der Cholera-vibrio keine freien Toxine bildet; in der letzten Zeit ist es jedoch auch gelungen, stark toxische Vibrionen zu züchten.

Unter diesen Umständen war es natürlich, daß man sich den rein biologischen Reaktionen, welche sich bekanntlich durch hochgradige Spezifität charakterisieren, zuwenden mußte, nämlich zur Agglutination und zu dem Pfeifferschen Phänomen. Letztere Reaktionen geben nach dem augenblicklichen Stand unserer Ansichten die Möglichkeit, eine kategorische Antwort auf die Frage zu geben, ob wir einen echten Cholera-vibrio vor uns haben oder nicht. Tatsächlich werden in allen Lehrbüchern und Anleitungen der Cholera-diagnose diese Reaktionen mit Recht als die Krone einer jeden Untersuchung bezeichnet. Jedoch kann

man in der Praxis das Pfeiffersche Phänomen bei weitem nicht immer verwerten, da die Reaktion eine hochvirulente Kultur, ein stark bakterizides Serum und als *conditio sine qua non* Experimente an Tieren erfordert. Die häufigste Hemmung der Ausführung der Reaktion, selbst dort, wo das geeignete Laboratorium vorhanden ist, ist die ungenügende Virulenz der gezüchteten Kultur. Brauchen wir doch für die Reaktion eine Kultur, welche in einer Quantität von $\frac{1}{4}$ Oese (Cholera-Agarkultur) ein Meerschweinchen bei intraabdominaler Injektion zu töten vermag. Trotzdem ich bei Gelegenheit zweier Choleraepidemien gearbeitet und über verschiedene Cholera-kulturen (bis 25) verfügt habe, ist es mir nur dreimal gelungen, Kulturen von solcher Virulenz zu züchten. Für gewöhnlich töteten die Cholera-kulturen, namentlich diejenigen, welche ich im Jahre 1907 an der Wolga gezüchtet hatte, ein Meerschweinchen in einer Quantität von $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{10}$ Strich eines Agar-Reagensgläschens.

Es bleibt somit für praktische Zwecke die Agglutination übrig, welche durch ihre Zugänglichkeit und Einfachheit gewaltige Vorteile darbietet. Jeder in Reinkultur gezüchtete *Vibrio* wird gewöhnlich der Wirkung eines Choleraserums ausgesetzt, welches einen hohen agglutinierenden Titre hat. Wenn wir bei der Vornahme der Reaktion eine Reihe gewisser Vorsichtsmaßregeln befolgen, so erhalten wir durchaus bestimmte Resultate. Vor allem muß, wie es die zahlreichen Untersuchungen der verschiedenen Autoren ergeben haben, das Agglutinationsserum von sehr hohem Titre sein, nicht weniger als 1‰, und an das Maximaltitre muß man die Verdünnungen des Serums heranbringen, um die sogenannte Gruppenagglutination zu vermeiden. Außerdem ist es nach der Forderung der deutschen Autoren notwendig, die Wirkung des normalen Serums derselben Tierarten, deren Serum zur Agglutination verwendet wird, und die Wirkung der physiologischen Kochsalzlösung parallel zu vergleichen. Ferner wird die Reaktion hauptsächlich makroskopisch ausgeführt, und nach den Beobachtungen von Gaffky (9) müssen die Agarkulturen mindestens 15 Stunden alt sein, da sonst Pseudoagglutination eintreten könnte.

Indem ich in der verflorenen Epidemie von 1907 bakteriologische Untersuchungen des Wassers auf Cholera-vibrionen ausführte, prüfte ich sämtliche gezüchteten Kulturen auf Agglutination mit Serum, welches einen Titre von 1 : 20000 hatte. Die Vibrionen wurden hauptsächlich aus der Wolga in Saratow und Zaryzyn, sowie auch aus verschiedenen Brunnen und Teichen aus dem Gouvernement Saratow gezüchtet ¹⁾.

Im ganzen wurden aus dem Wasser 23 Vibrionen gezüchtet, die morphologisch und im Kulturverfahren den Cholera-vibrionen ähnlich waren, von denen aber mit agglutinierendem Serum im September 1907 (während der Untersuchung) nur wenige Agglutination gaben. Wie aus der Tabelle I zu ersehen ist, wurden nur 5 Vibrionen vom spezifischen Serum agglutiniert, und das in Verdünnungen von nicht über 1 : 5000. Die Kontrollexperimente, welche mit einer notorischen, vom Menschen gewonnenen Cholera-kultur angestellt wurden, gaben Agglutination bei derselben Verdünnung des Serums, während der *Vibrio* von Finkler und der *Vibrio* von Metschnikow Agglutination nicht gaben. Der Agglutinationstitre der Vibrionen war bedeutend niedriger als der Grenztitre des Serums, und als Cholera-vibrionen konnten nur diejenigen aus dem Wasser gezüchteten Vibrionen anerkannt werden, die Agglutination

1) Cf. meinen Aufsatz (10): Ueber die Cholera von 1907 im Gouvernement Saratow. (*Wratschebnaja Gazeta*. 1908. No. 13.)

gaben, d. h. die No. 7, 8, 20, 28 und 29. Jedoch wurde bereits im Oktober bemerkt, daß viele choleraähnliche Vibrionen (so mußte man die nicht agglutinierenden Vibrionen nennen) gerade dort gezüchtet wurden, wo Choleraherde vorhanden waren, so daß an diesen Orten der Zusammenhang zwischen den bakteriologischen Befunden und dem Gang der Epidemie sich gleichsam von selbst ergab. Jedoch ließ das Fehlen der Agglutination nicht zu, solche Vibrionen als Cholera-vibrionen anzuerkennen, und es war nicht möglich, zu einem endgültigen Schluß zu gelangen. Die gezüchteten Kulturen habe ich im Oktober nach Petersburg mitgebracht und dort einem eingehenden Studium unterzogen.

Tabelle I.

Agglutination der im September 1907 gezüchteten Cholera- und choleraähnlichen Vibrionen. Experimente vom September 1907.

No.	Bezeichnung der Vibrionen	Kontrolle der phys. Kochsalz-lösung	Agglutination mit Choleraserum		Diagnose des Mikroben
			$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{8000}$	
1	vom Patienten	—	+	+	Cholera-vibrionen
2	Finkler	—	—	—	keine Cholera-vibrionen
3	Metschnikow	—	—	—	„
7	Wasservibrio T	—	+	+	Cholera-vibrionen
8	„ T ₁	—	+	+	keine Cholera-vibrionen
9	„ T	—	—	—	„
10	„ W	—	—	—	„
11	„ K	—	—	—	„
12	„ R	—	—	—	„
13	„ S	—	—	—	„
14	„ T ₂	—	—	—	„
15	„ G ₁	—	—	—	„
16	„ B	—	—	—	„
17	„ G ₂	—	—	—	„
18	„ T ₃	—	—	—	„
19	„ Sch	—	—	—	„
20	Brunnen O	—	+	+	Cholera-vibrionen
21	Wasser E	—	—	—	keine Cholera-vibrionen
22	Abwässer B	—	—	—	„
23	Brunnen W	—	—	—	„
24	Wasser K	—	—	—	„
25	Teich L	—	—	—	„
26	Studenka	—	—	—	„
27	Zariz. B	—	—	—	„
28	„ Z	—	+	+	Cholera-vibrionen
29	„ G	—	+	+	„

Schon in der ersten Zeit, ungefähr 1 Monat nach der Züchtung der Vibrionen, begegnete ich einer Erscheinung, die ich zunächst als eine zufällige betrachtete. Manche Vibrionen, nämlich No. 14, 17, 19, haben mit Choleraserum in einer Verdünnung von 1:500 zu agglutinieren begonnen. Man muß bemerken, daß sämtliche Kulturen innerhalb eines Monats schon 3 Generationen hatten und von Agar auf Agar verpflanzt wurden, wobei sie bei einer Temperatur von 37° in 24 Stunden sich entwickelten und dann bei einer Temperatur von 16—18° C aufbewahrt wurden. Nach Feststellung der Tatsache der spontanen Agglutination mancher Kulturen habe ich es mir zur Aufgabe gemacht, zu verfolgen, wie weit die spontane Zunahme der agglutinierenden Eigenschaften der Vibrionen gehen würde, und ob meine sämtlichen Vibrionen diese Erscheinung geben können, bezw. ob man, wenn dies nicht der Fall ist, die Vibrionen nicht künstlich zwingen könnte, sich zu agglutinieren. In

bezug auf die Typhusbacillen wissen wir, daß sie, selbst wenn sie bei der Züchtung aus dem Organismus oder aus dem Wasser auch schwache agglutinierende Eigenschaften besitzen, durch Ueberimpfungen intensive agglutinierende Eigenschaften erlangen [Bancel (11), Remy (12), Nicolle und Trenel (13)]; in manchen Fällen geht die Zunahme der agglutinierenden Eigenschaft langsam (bis zu einem Zeitraum von 11 Monaten, Bancel), in anderen rasch vor sich.

Nach Hirschberg (14) zeigten Typhuskulturen, welche bei Zimmertemperatur längere Zeit standen, stärkere agglutinierende Eigenschaften. Jedoch bringt derselbe Autor Beispiele von Verlust der Agglutinationsfähigkeit bei alten Kulturen, während er in einem Falle raschen Verlust der Agglutination bei einer Typhuskultur beobachtete, welche mittels Peptonlösung gewaschen und wiederholt überimpft wurde. Bereits Malvoz (15) hat im Jahre 1907 letztere Erscheinung bei Typhusbacillen beobachtet, welchen er durch wiederholte Waschung der betreffenden Kultur die agglutinierenden Eigenschaften zu nehmen vermocht hat. Die Ursache dieser Erscheinung erblickt Hirschberg in den Erscheinungen der Osmose, und glaubt, daß die Agglutinogene aus den Körpern der Bakterien wahrscheinlich durch die Spülfüssigkeit ausgelaugt werde. Wassermann ist der Meinung, daß das Auftreten von Präzipitinen in alten flüssigen Kulturen, welche, je älter sie sind, desto stärkere Präzipitation geben, wahrscheinlich gleichfalls sich dadurch erklären lasse. Dieser Zusammenhang wird vom Standpunkte der Autoren, welche die Agglutination und Präzipitation als verschiedene Phasen ein und derselben Erscheinung betrachten, verständlich sein. Hirschberg nimmt sogar an, daß die Typhusbacillen im Wasser überhaupt ihr Agglutinationsvermögen rasch einbüßen, daß sich aber dasselbe auf künstlichen Nährmedien wiederherstellte, welche man bei der Züchtung der Typhusbacillen anwenden muß, so daß schon nach den ersten Generationen die Agglutination wiederhergestellt ist. Derselbe Autor hat für die Typhusbacillen verschiedene Methoden angewendet, um deren Agglutinationsvermögen herabzusetzen, was ihm nicht selten auch gelungen ist.

Bei verschiedenen Mikrobenarten wurden jedoch verschiedene Resultate erzielt. Im Bestreben, das Agglutinationsvermögen der Mikroben auf natürlichem Wege zu steigern, unterzog ich diejenigen Kulturen, die sich spontan veränderten, energischen Ueberimpfungen, und schon nach der 54. Generation wurden die Kulturen No. 7, 8, 14, 20, 17, 19, 28 und 29 durch Choleraserum bei Verdünnung von 1:10 000 und selbst von 1:20 000 (Kultur No. 28) agglutiniert. Die Aussaaten wurden auf schwach alkalischem Fleischpeptonagar einen Tag um den anderen gemacht, dann blieb die Kultur 24 Stunden lang im Brutschrank bei 37° C und wieder 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur liegen. Andere Kulturen, welche gleichfalls überimpft wurden, erlangten entweder Agglutinationsvermögen überhaupt nicht (9, 11, 18), oder wurden nur bei der Verdünnung des Serums von 1:200 und 1:400 sehr schwach agglutiniert. Indem ich die Virulenz meiner Kulturen durch intraabdominale Infektion von Meerschweinchen prüfte, gelang es mir in einem Falle (15), wahrzunehmen, daß nach der Durchführung durch den tierischen Organismus der Vibrio zu agglutinieren begann, während er vor dieser Durchführung keine Spur von Agglutinationsvermögen aufwies. Ich beschloß sodann, diese Methode der Durchführung durch Tiere zu benutzen, und habe sogleich bemerkt, daß die vielfache Durchführung durch den Körper eines Meerschweinchens die Agglutination des Vibrio nur dann steigert, wenn mit derselben vielfache Ueberpflanzungen auf künstliche Nährmedien

kombiniert werden. Ohne dies letztere Moment nimmt die Agglutination nur in geringem Grade zu. Jedoch bin ich bei den Experimenten mit der Durchführung durch den Körper von Meerschweinchen einer großen Schwierigkeit begegnet, nämlich der schwachen Virulenz der Vibrionen. Wie ich oben bereits gesagt habe, war die Virulenz der Vibrionen eine derartige, daß manche Kulturen, wie beispielsweise die No. 1 und 7, ein Meerschweinchen nur in der Quantität von $\frac{1}{3}$ eines Agar-Reagensgläschens töteten, während die Kulturen No. 8 und 17 nur bei der Einführung eines ganzen Agar-Reagensgläschens tödlich wirkten, und die No. 11 das Versuchstier überhaupt nicht tötete, sondern nur eine leichte Erkrankung desselben zur Folge hatte. Ich mußte zur Steigerung der Virulenz der Vibrionen zu verschiedenen Methoden greifen. So tötete in No. 11 (Vibrio von sehr schwacher Virulenz) die gleichzeitige Injektion des Vibrio und einer abgetöteten Typhusbacillenkultur in die Bauchhöhle das Tier in 3 Tagen, und es gelang auf diese Weise, die Virulenz des Vibrio bis $\frac{1}{10}$ Reagensgläschen zu steigern. In anderen Fällen (8) tötete die gleichzeitige Injektion von Vibrionen und von lebenden Streptokokken in die Bauchhöhle das Tier bedeutend eher und bei geringeren Vibrionemengen, als bei der Infektion mit dem Vibrio allein. Schließlich wurde in der 3. Reihe von Fällen (22), wo der Vibrio in die Bauchhöhle ohne fremdartige Mikroben eingeführt wurde, 6—10 Stunden nach der Infektion mit der Pasteurschen Pipette das Exsudat aufgenommen, auf Agar übertragen, worauf die Kultur nach 24 Stunden einem anderen Meerschweinchen wiederum in die Bauchhöhle injiziert wurde.

Sämtliche Kulturen (bis auf die No. 10, welche zugrunde ging, und die No. 7, 8, 20, 28 und 29) wurden durch Tiere geleitet und häufig überpflanzt. Vollständig avirulent (Meerschweinchen gegenüber) trotz sämtlicher Experimente blieben die Kulturen No. 9 und 12, 13, 16, 18, 23 und 25.

Die Anordnung der Experimente war folgende¹⁾:

Versuch No. 4. Die Kultur No. 15 wurde aus einer Schlucht in Saratow gezüchtet. Sie tötete im November in der 6. Generation in der Quantität von $\frac{1}{5}$ Agar-Reagensgläschen. Vor dem Experiment betrug die Agglutination am 6. November 0. Am 6. November bekam ein Meerschweinchen von 320 g Körpergewicht $\frac{1}{3}$ Agar-Reagensgläschen in die Bauchhöhle eingespritzt. Es ging am 9. November zugrunde. Anlegung einer Kultur aus dem Exsudat der Bauchhöhle auf Agar. 10. November: Die Agarkultur wird vom Serum bei einer Verdünnung von 1:200 agglutiniert. Dieselbe Kultur wurde einem anderen Meerschweinchen in einer Quantität von $\frac{1}{20}$ des Inhalts eines Agar-Reagensgläschens injiziert. Nach 2 Tagen ging das Meerschweinchen zugrunde. Aus der Bauchhöhle wurde eine Kultur gezüchtet, Agglutination $\frac{1}{200}$. Dieselbe Kultur, welche nach dem ersten Meerschweinchen zweimal überimpft wurde (d. h. die 8. Generation), wurde vom Serum in einer Verdünnung von 1:400 agglutiniert. Die Kultur wurde durch 4 Meerschweinchen unmittelbar hintereinander durchgeführt, Agglutination $\frac{1}{100}$. Bei der Durchführung durch 3 Meerschweinchen mit Zwischenüberimpfungen innerhalb 3 Monate Agglutination $\frac{1}{5000}$. Dieselbe Kultur, welche 3 Monate lang überimpft wurde, ohne Durchführung durch den tierischen Organismus, wurde vom Serum bei einer Verdünnung von 1:200 agglutiniert.

1) Als Beispiele zitiere ich 2 Experimente: Das eine, in dem es gelungen ist, die Agglutination mit Ueberpflanzungen, kombiniert mit einfacher Durchführung durch den Tierkörper zu steigern, das andere, indem man mit künstlicher Steigerung die Virulenz kombinieren mußte.

Versuch No. 7. Kultur No. 11, gezüchtet zu Saratow aus der Wolga an der Landungsstelle der Reederei „Kaukasus und Merkur“. Am 18. November wurde die 7. Generation nicht agglutiniert, die Pathogenität für Meerschweinchen betrug $1\frac{1}{2}$ Agar-Reagensgläschen. In die Bauchhöhle eines Meerschweinchen wurde $\frac{1}{2}$ Agar-Reagensgläschen (in $\frac{1}{2}$ ccm physiologischer Kochsalzlösung) + 2 ccm abgetöteter fünftägiger Coli-Bacillenkultur injiziert. Am 20. November ging das Meerschweinchen zugrunde. Die Agglutination der gezüchteten Kultur betrug 1:40, die Virulenz $\frac{1}{8}$ Agar-Reagensgläschen. In einem Zeitraum von 4 Monaten wurde die Kultur durch 5 Meerschweinchen geführt und 31mal überimpft, worauf der Agglutinationstiter $\frac{1}{5000}$ betrug; bei der Kontrollkultur, welche nicht durch Tiere geführt wurde, war die Agglutination negativ. Auf der Tabelle II sind die Resultate der Untersuchung der Vibrionenkulturen dargestellt, die 5—6 Monate lang Ueberimpfungen und Durchführungen durch Tiere in oben geschilderter Weise unterzogen wurden.

Tabelle II.

Agglutination derselben Vibrionen (cf. Tabelle I) 5—6 Monate nach der Ausscheidung.

No.	Bezeichnung der Kulturen	Agglutination mit Serum								Diagnose
		Norm.-Pferdeserum				Choleraserum				
		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{10000}$	$\frac{1}{20000}$	
1	Vibrionen von Menschen	+	+	—	+	+	+	+	+	Cholera-vibrionen
2	Finkler	+	—	—	—	—	—	—	—	Keine Cholera-vibrionen
3	Metschnikow	—	—	—	—	—	—	—	—	dgl.
4	Miller	+	+	—	—	—	—	—	—	dgl.
5	Chol.	+	+	—	+	+	+	+	—	Cholera-vibrionen
6	„	+	+	—	+	+	+	—	—	„
7	Wasservibrio	+	+	—	+	+	+	+	—	„
8	„	+	—	—	+	+	—	+	—	„
9	„	+	—	—	—	—	—	—	—	Keine Cholera-vibrionen
10	„	Die Kultur ging zugrunde								Cholera-vibrionen
11	„	+	+	—	+	+	+	—	—	Cholera-vibrionen
12	„	+	—	—	+	+	+	—	—	„
13	„	—	—	—	—	—	—	—	—	Keine Cholera-vibrionen
14	„	+	—	—	+	+	+	—	—	Cholera-vibrionen
15	„	+	—	—	+	+	+	—	—	„
16	„	+	—	—	—	—	—	—	—	Keine Cholera-vibrionen
17	„	+	—	—	+	+	+	—	—	Cholera-vibrionen
18	„	—	—	—	—	—	—	—	—	Keine Cholera-vibrionen
19	„	+	—	—	+	+	+	—	—	Cholera-vibrionen
20	„	+	+	—	+	+	+	+	+	„
21	„	+	—	—	+	+	+	—	—	„
22	„	+	—	—	+	+	+	—	—	„
23	„	+	—	—	+	+	+	—	—	„
24	„	+	—	—	—	—	—	—	—	Keine Cholera-vibrionen
25	„	—	—	—	—	—	—	—	—	dgl.
26	„	+	—	—	—	—	—	—	—	dgl.
27	„	+	+	—	+	+	+	—	—	Cholera-vibrionen
28	„	+	—	—	+	+	+	+	+	„
29	„	+	—	—	+	+	+	+	—	„

Aus der Tabelle II geht hervor, daß von den 18 Vibrionen, welche nicht sofort agglutinierten, 10 in der Folge die Agglutinationsfähigkeit erlangt haben, während 7 so geblieben sind, wie sie früher waren (eine Kultur ging zugrunde). Wenn wir nun auf Grund der Agglutination einen Schluß in bezug auf diese Vibrionen ziehen sollen, müssen alle, die nach der Tabelle II agglutinieren, als Choleravibrionen anerkannt werden.

Das Pfeiffersche Phänomen konnte nur einmal an der Kultur No. 15 als der virulentesten geprüft werden, wobei dasselbe die Natur des aus der Glebutschewschlucht gezüchteten Vibrios voll und ganz bestätigt hat. Mit den übrigen Vibrionen, die wenig virulent waren, konnte die Reaktion nicht angestellt werden.

Aus diesen Experimenten geht somit mit voller Bestimmtheit hervor, daß Vibrionen, welche aus dem Wasser zu Cholerazeiten gezüchtet werden und ursprünglich nicht agglutinieren, in der Folge Agglutinationsfähigkeit erlangen. Können nun solche Vibrionen als Choleravibrionen im bakteriologischen Sinne gelten? Meine weiteren Beobachtungen, welche ich mit diesen Vibrionen angestellt habe, überzeugen mich davon, daß die Vibrionen, welche nachträglich agglutinieren, als Choleravibrionen anerkannt werden müssen, da auch die übrigen biologischen Reaktionen ihre spezifische Natur bestätigten. Ich bediente mich der Reaktion der Fixation der Komplemente nach Bordet und Gengou (16) zur Bestätigung meines Gedankens. Die bezeichneten Autoren haben bekanntlich gefunden, daß spezifische Sera (bakterizide, hämolytische) eine Substanz (Substance sensibilisatrice) enthalten, welche, sich am entsprechenden Mikroorganismus oder an der entsprechenden Zelle fixierend, die Fähigkeit besitzt, die andere Substanz (Komplement) zu binden, welche sich in jedem Serum befindet und durch Erwärmung leicht zerstört werden kann. Auch in dem Falle, wenn in der Mischung hämolytische Substanzen und rote Blutkörperchen vorhanden sind, werden letztere nicht gelöst, wenn das für die Hämolyse erforderliche Komplement durch die sensibilisierten Elemente gebunden ist. Die Bindung des Komplements vollzieht sich bei strenger Spezifität des Serums, d. h. mit anderen Worten: das Typhusserum bindet das Komplement im Beisein von Typhusbacillen, aber nicht im Beisein von Cholerabacillen; und umgekehrt das Cholera-serum bindet das Komplement nur im Beisein von Choleravibrionen. Bekanntlich hat Wassermann sich dieser Reaktion zur Diagnose der Syphilis bedient, und heutzutage verwendet man diese Reaktion zu diagnostischen Zwecken bei einer ganzen Reihe von Erkrankungen, wie bei Meningitis cerebrospinalis, gonorrhöischen Erkrankungen, Abdominaltyphus.

Schon aus den Beobachtungen von Ballner und Reibmayr (17) wissen wir, daß man mit Hilfe der Bordetschen Reaktion auch Mikroben diagnostizieren kann, wenn man die entsprechenden Sera hat.

Als ich mit dieser Reaktion bei Abdominaltyphus arbeitete, untersuchte ich nebenbei meine sämtlichen Vibrionen. Die Technik der Reaktion war folgende: Als hämolytisches Serum verwendete ich das Serum des Hausschweines, die roten Blutkörperchen wurden vom Hammel, das Komplement vom Meerschweinchen entnommen. Das Choleraheilserum wurde bei 56° C 30 Minuten lang inaktiviert. Als Antigen wurden nur 24 Stunden alte Agarkulturen, welche bei 60° abgetötet worden waren, und 5 Tage lang in physiologischer Kochsalzlösung gestanden hatten, oder aber 10 Tage alte Filtrate von Bouillonkulturen verwendet. Die Reaktion wurde nach Wassermann angestellt und die gesamte Mischung wurde mittels physiologischer Kochsalzlösung

bis zu einem Umfange von 5 ccm gebracht. Zu 0,05 ccm Antigen wurde $\frac{1}{10000}$ Serum (inaktiviertes) und 0,1 Komplement (Serum vom Meer-schweinchen) hinzugefügt. Die Mischung wurde für eine Stunde in den Brutschrank bei 36° gebracht, hierauf mit 0,5—0,6 hämolytischem Schweineserum und 0,05 ausgewaschenen roten Blutkörperchen vom Hammel versetzt. Die ganze Mischung wurde dann für 2—3 Stunden in den Brutschrank gebracht, dann 8—12 Stunden lang in Kälte stehen gelassen. Jedesmal wurden sämtliche Fehlerquellen, auch von seiten des Antigens, des Komplements sowie des hämolytischen Systems kontrolliert und die Resultate mit normalen Sera und mit Mikroben, die keine Cholera-vibrionen waren, verglichen.

Tabelle III.

Ausführung der Reaktion der Komplementbindung nach Bordet mit gezüchteten (nach 5 Monaten) mit Choleraserum bearbeiteten Mikroben.

No.	Bezeichnung der Kulturen	Endhämolyse bei Reaktion mit nicht agglutinierender Abart	Endhämolyse bei Reaktion mit agglutinierenden Mikroben	Diagnostik der Kultur auf Grund der Reaktion
1	Chol. S.	volle Hämolyse	vollständige Retention	Cholera-kultur
2	Finkler	" "		
3	Metschnikow	" "		
4	Miller	" "		
6	Chol. alt.		auffallende Retention	"
7			dgl.	"
8			deutliche Retention	"
9				"
11		deutliche Retention	" "	"
12		schwache Retention	" "	"
13		volle Hämolyse	" "	"
14		? ¹⁾	" "	"
15		? ¹⁾	" "	"
16		volle Hämolyse	" "	"
17		? ¹⁾	" "	"
18		volle Hämolyse	" "	"
20			vollständige Retention	"
21		? ¹⁾	deutliche (jedoch schwache) Retention	unbestimmt
24		volle Hämolyse		
25		Hämolyse		
28			Fast vollständige Hämolyse mit kaum bemerkbarer Retention	"

Auf der Tabelle III sind die Resultate der Experimente mit den gezüchteten Kulturen dargestellt. Im ganzen wurden 16 Wasservibrionen, 2 Cholera-vibrionen vom Menschen und 3 cholera-ähnliche Vibrionen (von Finkler, Metschnikoff und Miller) untersucht. Von den 16 untersuchten Wasservibrionen wurden 10 auf Grund der Agglutination als Cholera-vibrionen (vergl. Tab. II), 6 als nicht Cholera-vibrionen (No. 9, 13, 16, 18, 24, 25) anerkannt. Wie aus der Tabelle III zu ersehen ist,

1) Das ? ist gesetzt, weil die nicht agglutinierenden Vibrionen bis zu Ende der Reaktion nicht erhalten geblieben sind.

wurde bei 8 von den 10 Vibrionen, welche nach der Agglutination als Choleravibrionen angesprochen wurden, eine stark ausgesprochene Retention der Hämolyse, bei einem (No. 21) schwache Retention derselben und bei einem (No. 28) vollständige Hämolyse erzielt; bei wirklichen Choleravibrionen ist die Reaktion intensiv. Bei den 6 Vibrionen, welche nach der Agglutination als nicht Choleravibrionen angesprochen wurden, wurde kein einziges Mal Retention der Hämolyse, sondern in allen Fällen Hämolyse beobachtet, desgleichen bei den choleraähnlichen Vibrionen (No. 2, 3, 4). In 2 Fällen (No. 11 und 12) gelang es, die Reaktion mit ein und demselben Vibrio anzustellen, der verschiedene Agglutinationskraft hatte, und in beiden Fällen erwies sich der Vibrio nach der Reaktion von Bordet als Choleravibrio, trotz des Fehlens von Agglutination in der ersten Rasse.

Das positive Resultat der Reaktion hat somit in 8 Fällen (von 10) die Choleranatur des Vibrios bestätigt. Ein negatives Resultat wurde nur 2mal bei Choleravibrionen (nach der Agglutination) und bei sämtlichen nicht agglutinierenden Vibrionen, welche nachträglich nach der Agglutination als nicht Choleravibrionen anerkannt wurden, erzielt.

Besonders interessant sind die No. 11 und 12, welche darauf hinweisen, daß die Reaktion von Bordet in manchen Fällen empfindlicher als die Agglutination ist und bei nicht agglutinierenden Vibrionen zustande kommt und dadurch auf deren spezifische Natur hinweist. Leider erfordert die Reaktion ein gut eingerichtetes Laboratorium und ist dermaßen kompliziert, daß sie für die tägliche Praxis kaum in Betracht kommt.

Wenn ich die im vorstehenden mitgeteilten Beobachtungen zusammenfasse, glaube ich sagen zu müssen, daß aus dem Wasser der Wolga und den verschiedenen Quellen Vibrionen gezüchtet wurden, welche in 3 Gruppen eingeteilt werden können. Zu der ersten Gruppe gehören die Vibrionen, welche ursprünglich nicht agglutinierten, dann aber die Agglutinationsfähigkeit auf natürlichem oder künstlichem Wege wiedererlangt haben; die Choleranatur dieses Vibrio wurde teilweise durch die Reaktion Pfeiffers und durch diejenige von Bordet und Gengou festgestellt. Zu der zweiten Gruppe gehören die Vibrionen, welche sofort bei hohem Serumtitre Agglutination gaben und deren Choleranatur sofort außer Zweifel war. Zu der dritten Gruppe gehören schließlich diejenigen Vibrionen, welche überhaupt nicht agglutinierten und die Bordetsche Reaktion nicht gaben. In der dritten Gruppe waren Vibrionen, welche für das Meerschweinchen sogar virulenter waren als die Vibrionen der ersten beiden Gruppen, welche auch vollkommen avirulente Vibrionen aufwiesen. Ueberhaupt war die Virulenz der Vibrionen, welche im Gouvernement Saratow während der Epidemie 1907 gezüchtet wurden, wie oben bereits angedeutet, eine ziemlich schwache. Fügt man noch die schwachen agglutinierenden Eigenschaften derselben hinzu, so kann man sagen, daß wir es augenscheinlich mit Choleravibrionen zu tun hatten, welche den saprophyten Arten nahestanden. In der Tat haben sich einige Vibrionen, welche sich nachträglich durch ihre biologischen Eigenschaften als Choleravibrionen erwiesen haben, im Augenblick der Züchtung aus dem Wasser von den übrigen Wasservibrionen, welche auch nachträglich ihre ursprünglichen Eigenschaften behalten haben, in keiner Weise unterschieden. Sie waren vollständig avirulent und wurden vom spezifischen Choleraserum nicht agglutiniert, von ihrem Wachstum auf Nährmedien, von den übrigen Reaktionen, wie die Nitroso-Indolreaktion, oder von den hämolytischen Eigenschaften den Blutmedien gegenüber schon ganz abgesehen.

Tabelle IV.

No. der Vibrionen	Wo und wann erhalten?	Größe in Mikron	Beweglichkeit	Zahl der Schwänze
9	5. Sept. in Saratow zwischen den Ufern der Tarchanka und der städtischen Wasserleitung	Länge 2,0 μ , Breite 0,3 μ	auffallend beweglich	ein Schwanz, gefärbt am 18. Sept.
12	7. Sept. in Saratow aus der Wolga am Quai der Rjasan-Ural-Eisenbahn	Länge 2,0 μ , Breite 0,4 μ	stark beweglich	desgl.

No. der Vibrionen	Wachstum auf Gelatine	Aussehen der Kultur auf Agar	Indolreaktion	Wachstum auf Blutagar	Virulenz
9	Bläschen, langsame Verflüssigung	runde, durchsichtige, hyaline Kolonien	schwach	Fehlen von Hämolyse	fehlt
12	desgl.	desgl.	stark ausgesprochen	desgl.	desgl.

No. der Vibrionen	Agglutination mit Choleraserum bei Züchtung	Reaktion der Komplementbindung nach Bordet	Diagnose	
			im Sept. 08	im Febr. 08
9	negativ	negativ 12. Febr. 08	keine Cholervibrionen	keine Cholervibrionen
12	desgl.	desgl.	desgl.	Cholervibrionen

Aus der Tabelle IV kann man ersehen, wie nahe die Cholervibrionen und die saprophyten¹⁾ Wasservibrionen einander stehen. Zum Zwecke des Vergleiches wurden 2 Vibrionen, und zwar die No. 9 und 12, genommen (vergl. Tab. I). No. 9 wurde am 5. Sept. zu Saratow aus dem Wasser der Tarchanka, eines Nebenflusses der Wolga, in der Nähe eines Eisenbahnbollwerks, gezüchtet. Beide Vibrionen habe ich in Saratow als nicht Cholervibrionen gedeutet, am 6. Febr. 1908 war aber No. 12 bereits ein echter Cholervibrio, während No. 9 unverändert blieb.

Aus diesen Beobachtungen geht natürlich hervor, daß im Wasser während einer Choleraepidemie außer typischen Cholervibrionen auch atypische Cholervibrionen vorhanden sein können, welche gewisse biologische Eigenschaften eingebüßt haben, wobei letztere mit der Zeit (unter gewissen künstlichen Bedingungen) sich wiederherstellen und der Vibrio, der ursprünglich einem Saprophyten nahestand, sämtliche Merkmale eines typischen Cholervibrio erlangt. Ist dies der Fall, so muß man annehmen, daß der Cholervibrio im Wasser sein Agglutinationsvermögen leicht einbüßt und sich in eine Abart verwandeln kann, die den Saprophyten nahesteht.

Es fragt sich nun, ob wir irgendwelche Momente haben, welche den soeben ausgesprochenen Gedanken zu bestätigen vermöchten. In bezug auf den Typhus wissen wir, daß die Veränderungen, welche der Typhusbacillus im Wasser erleidet, der Verlust der Agglutinationsfähigkeit und die Wiederherstellung dieser Fähigkeit durch eine ganze Reihe epidemiologischer und experimenteller Tatsachen erwiesen sind (Hirschberg, Malvoz, Nicolle und Trenel, Rémy). Nach Analogie mit dem

1) Ich muß sie so nennen, da es mir durch Experimente an Tieren nicht gelungen ist (Meerschweinchen, junge Kaninchen, Mäuse und Tauben), Erkrankungen der letzteren zu erzeugen bzw. biologische Reaktionen zu erhalten.

Typhusbacillus könnte man dieselben Resultate auch bei der Untersuchung der Cholera-vibrionen erwarten, und dies wurde durch meine weiteren Experimente auch bestätigt. Bereits im Jahre 1898 haben Ransom und Kitashima (18) nachgewiesen, daß der Cholera-vibrio sein Agglutinationsvermögen einbüßen kann, wenn er in Bouillon mit einer Beimischung von Choleraheilserum gezüchtet wird. Ich habe diese Experimente wiederholt und kann die Tatsache der hochgradigen Verringerung des Agglutinationsvermögens des Cholera-vibrio unter dem Einflusse des Cholera-serums vollkommen bestätigen.

Für meine Experimente verwendete ich eine Kultur von Cholera-vibrionen, die aus den Faeces eines Cholera-kranken gezüchtet wurden. Diese Kultur gab deutliche Agglutination bei einer Verdünnung des Serums von 1:10 000. Zur Bouillon wurden verschiedene Serumquanta mit der Berechnung hinzugesetzt, Serumverdünnungen von 1:100 bis 1:10 000 zu haben.

In dieser Bouillon wurden die Cholera-vibrionen mehrere Tage lang gezüchtet, dann in Serumbouillon von stärkerer Konzentration übertragen, bis die Verdünnung von 1:100 erreicht wurde. Nach einer ganzen Reihe von Ueberimpfungen (in einem Falle nach der 15., im anderen Falle nach der 18. Ueberimpfung) wurden die Cholera-vibrionen schon bei einer Verdünnung des Serums von nur 1:100 agglutiniert. Solche Kulturen erlangten ihre Agglutinationsfähigkeit rasch wieder, sobald ich sie auf Agar übertrug und durch 10—12 Generationen züchtete.

Um möglichst an die in der Natur herrschenden Bedingungen heranzukommen, habe ich den Versuch gemacht, Cholera-vibrionen im nicht filtrierten Newawasser zu züchten.

Zu diesem Zwecke füllte ich am 16. Dez. ein flaches Gefäß mit 5 l Newawasser¹⁾ von 3° C, und dann wurde $\frac{1}{10}$ einer 24-stündigen Agarkultur von Cholera-vibrionen hinzugesetzt. Agglutination vor dem Experiment $\frac{1}{10000}$. Das Gefäß blieb bei einer Temperatur von 10—12° C stehen. Nach 3, 5 und 7 Tagen wurde mittels Peptonkultur ein Vibrio gezüchtet, der bei einer Verdünnung von 1:5000 agglutinierte. Wiederum wurde der Vibrio in Newawasser übertragen und nach 7 Tagen ein Vibrio gezüchtet, der bei der Serumverdünnung von 1:1000 agglutinierte. Nach der 5. Uebertragung in Newawasser wurde der Vibrio schon bei einer Serumverdünnung von 1:400 agglutiniert. Eine weitere Herabsetzung der Agglutination hat sich als unmöglich erwiesen. Die Uebertragung der letzten Kultur auf Agar gab bereits nach 4 Generationen einen Vibrio, der bei einer Serumverdünnung von 1:2000 agglutiniert wurde, und bei weiteren Uebertragungen trat Agglutination bei einer Serumverdünnung von 1:5000 ein.

Bei dem anderen, am 8. Jan. ausgeführten Experiment wurde der Cholera-vibrio in Newawasser gebracht und nach 12 Tagen aus diesem gezüchtet, wobei das Agglutinationsvermögen von $\frac{1}{1000}$ vor dem Versuch auf $\frac{1}{5000}$ nach dem Versuch gesunken ist. Am 22. Jan. wurde der Vibrio wieder in Newawasser gebracht und nach 12 Tagen in Peptonwasser übertragen. Agglutination des Vibrio $\frac{1}{1000}$. Am 4. Febr. 3. Uebertragung in Newawasser, und am 14. Febr. wurde ein Vibrio gezüchtet, der von Serum bei einer Verdünnung von 1:200 agglutiniert wurde. Bei diesem Experiment wurde das Wasser mit den Vibrionen bei einer Temperatur von 12—14° C gehalten. Weitere Beobachtungen

1) Vor jedem Experiment wurde das Newawasser auf seinen Vibrionengehalt geprüft, und die Vibrionen wurden in nicht sterilisiertes Wasser gebracht.

über Herabsetzung der Agglutination konnten nicht gemacht werden, da der Vibrio 10 Tage nach der 4. Uebertragung in Newawasser nicht mehr gezüchtet werden konnte. Zur Wiederherstellung der eingebüßten Fähigkeit wurde der aus der 3. Uebertragung gezüchtete Vibrio auf Agar verpflanzt und alle 8 Tage überpflanzt. Nach 2 Monaten (am 15. April) wurde der Vibrio bei einer Serumverdünnung von 1:5000 agglutiniert.

Aus diesen Experimenten geht hervor, daß der Cholervibrio im Wasser sein Agglutinationsvermögen einbüßen kann, und zwar desto eher, je länger er der Einwirkung des Wassers ausgesetzt bleibt. Natürlich wird ein derartiger Einfluß des Wassers nicht in allen Fällen wahrgenommen (in einem meiner Experimente mit einem bei Gelegenheit der persischen Choleraepidemie im Jahre 1904 gezüchteten Vibrio gelang es, das Agglutinationsvermögen nur sehr wenig herabzusetzen), und die biologischen Eigenschaften des Vibrio stehen einerseits mit den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Flora des Wassers, andererseits mit der Stabilität des Vibrio selbst in Zusammenhang. Ist doch die Zusammensetzung des Wassers an verschiedenen Stellen sehr verschiedenartig, und wir haben es außer der chemischen Wirkung, welche das Wasser auf den Vibrio durch Verletzung seiner Hülle ausüben kann, zweifellos mit Erscheinungen von Auslaugung des Agglutinogens zu tun, was für Typhusbacillen bereits erwiesen ist.

Um mich zu überzeugen, welche Rolle die Auslaugung durch das Wasser beim Verlust des Agglutinationsvermögens spielt, habe ich folgende Experimente angestellt: Eine 24-stündige Agarkultur des Vibrio wurde mit destilliertem Wasser abgespült und die Suspension 7 Tage lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Suspension wurde zentrifugiert und mehrere Male mit destilliertem Wasser gewaschen. Die gewaschenen Mikroben wurden bei einer Serumverdünnung von 1:1000 agglutiniert, während sie früher bei einer solchen von 1:5000 agglutiniert wurden. Der Vibrio wurde auf Agar übertragen und zum zweiten Male emulgiert. Nach 7 Tagen trat Agglutination nach wiederholten Waschungen bei einer Serumverdünnung von 1:200 ein. Die Abgußflüssigkeit aus der zentrifugierten Emulsion gab einen Niederschlag mit Choleraserum. Wir haben es hier also mit zweifellosem Uebergang des Agglutinogens aus dem Körper der Bakterie in die Lösung, also mit einer rein physikalischen Erscheinung zu tun, und dieses Experiment kann vielleicht gewissermaßen das erklären, was wir in der Natur im großen Maßstabe vorfinden. In Saratow wurde am 5. Sept. aus der Tarchanka ein Cholervibrio (No. 8), nach 8 Tagen, also am 13. Sept., an derselben Stelle ein anderer Cholervibrio gezüchtet (No. 14), der nicht agglutinierte, später aber sich als Cholervibrio erwiesen hatte. Es ist natürlich schwer, eine kategorische Antwort auf die Frage zu geben, ob der Vibrio No. 14 mit dem Vibrio No. 8 identisch war; seine Auffindung an derselben Stelle und das nachträgliche Verschwinden der Vibrionen, welches hier konstatiert wurde, lassen unwillkürlich annehmen, daß der Cholervibrio No. 8, nachdem er ins Wasser geraten ist, hier eine gewisse Zeit sich zu halten vermochte (an jener Stelle ist die Strömung relativ gering) und sein Agglutinationsvermögen eingebüßt hat. Daß Cholervibrionen, die ins Wasser geraten, ihre Agglutinationsfähigkeit teilweise einbüßen, bestätigen auch die Beobachtungen, welche Remlinger und Nouri im Januar 1908 in Konstantinopel bei Gelegenheit einer kleinen Choleraepidemie gemacht haben. Die Autoren

haben in verschiedenen Teilen der Stadt das Wasser untersucht und Vibrionen gezüchtet, welche schwach agglutinierten, und welche sie als Cholera-vibrionen zu deuten geneigt sind. Vielleicht hat die Epidemie in Konstantinopel teilweise aus dem Grunde keine großen Dimensionen angenommen, weil die Vibrionen hinsichtlich ihrer biologischen Eigenschaften sich rasch veränderten. Man könnte vielleicht auch während der Epidemie in Saratow von 1907 die Schwäche derselben mit rascher Degeneration des Cholera-vibrio in Zusammenhang bringen. Alle diese Fragen erheischen weiteres Studium. Jedenfalls habe ich sowohl die Eigenschaft des Cholera-vibrio, seine Agglutinationsfähigkeit einzubüßen, wie auch die Umwandlung eines saprophytischen Vibrio in einen Cholera-vibrio experimentell nachgewiesen.

Ist dies der Fall, so müssen wir annehmen, daß der typische Cholera-vibrio sich auch in der Natur in eine atypische Abart verwandeln kann, welche der saprophytischen nahesteht, wodurch die Erhaltung des Vibrio außerhalb des menschlichen Organismus während längerer Zeit erleichtert wird. Die Experimente von Christian (19), welche nachgewiesen haben, daß der Cholera-vibrio im Wasser überwintern kann, bestätigen meine Annahme. Sobald der Cholera-vibrio saprophytische Form annehmen kann, so wird er leicht überwintern und unter geeigneten Bedingungen später wieder seine charakteristischen biologischen Eigenschaften erlangen; vielleicht lassen sich auf diese Weise die Aufflackerungen von Cholera erklären, welche anscheinend von nirgends verschleppt worden ist, aber in der betreffenden Gegend, bezw. in der Nachbarschaft, ein Jahr früher geherrscht hat.

Dem saprophytischen Zustand des Cholera-vibrio hat man bis jetzt wenig Aufmerksamkeit entgegengebracht, und die Cholera-epidemie von 1907 hat uns für die Epidemiologie der Cholera viel Neues geliefert. Die an vielen Orten vorgenommenen Wasseruntersuchungen haben das Vorhandensein von Vibrionen ergeben, welche sich häufig als saprophytische Abarten des Cholera-vibrio erwiesen haben. Daraus ergibt sich die erste praktische Schlußfolgerung, daß man während einer Cholera-epidemie systematische Wasseruntersuchungen ausführen kann, wobei jeder dem Cholera-vibrio nahestehende Vibrio als Zeichen beachtet werden muß, welches auf eine mögliche Infektionsquelle hinweist. Außerdem spricht das Fehlen von Agglutination noch keineswegs gegen die Cholera-natur des Vibrio, der sich im Wasser in eine saprophytische Abart leicht verwandeln und seine Agglutinationsfähigkeit einbüßen kann.

Literatur.

- 1) Prausnitz, Moderne Cholera-diagnose. 1905.
- 2) Rumpler und Weleminsky, zitiert bei Prausnitz.
- 3) Schumacher, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIV.
- 4) Kollé und Meinicke, Klin. Jahrb. Bd. XV.
- 5) Berestnew, Russki Wratsch. 1905. No. 12.
- 6) Kraus und Pribram, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI.
- 7) Liefmann und Nieter, Med. Klinik. Jahrg. II.
- 8) Mühlens und v. Raven, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XV.
- 9) Gaffky, Klin. Jahrb. Bd. XVI.
- 10) Zlatogoroff, Wratschebnaja Gazeta. 1908. No. 13.
- 11) Bancel, Journ. de physiol. et pathol. génér. T. IV.
- 12) Rémy, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901.
- 13) Nicolle und Trenel, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902.

- 14) Hirschberg, Arch. f. Hygiene. Bd. LVI. 1906.
- 15) Malvoz, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897.
- 16) Bordet und Gengou, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901.
- 17) Ballner und Reibmayr, Arch. f. Hygiene. 1908.
- 18) Ransom und Kitashima, Deutsche med. Wochenschr. 1898.
- 19) Christian, Arch. f. Hygiene. 1907.

Nachdruck verboten.

Ein neues Verfahren zur Nervenzellenfärbung.

Von

Dr. Emil Savini, **und** **Dr. Therese Savini,**
 Volontärassistent d. II. med. Klinik Volontärassistentin d. Kinderklinik
 der Kgl. Charité zu Berlin.

Ein jeder, der sich mit histologischen Studien des normalen und pathologischen Zentralnervensystems befassen will, hat in erster Linie für die Nervenzellenfärbung die Nisslsche Methode anzuwenden. Will man sich selbst die Färbelösung herstellen, so sind vor allen Dingen die dazu nötigen Substanzen ganz genau abzuwägen und, was am unangenehmsten empfunden wird, die Lösung mindestens ein Vierteljahr stehen zu lassen, bevor dieselbe gebrauchsfähig ist. Kann man aber diese Zeit nicht einhalten, so ist die fertige Farblösung von irgendeiner Firma zu beziehen, wobei man jedoch vielmals Gefahr läuft, unbrauchbare Lösungen zu erhalten. Das kommt wahrscheinlich davon, weil entweder die Herstellungsweise oder die Substanzen nicht tadellos waren, oder aber, was meistens der Fall ist, weil die Farblösung nicht alt genug, also noch nicht reif für den Färbeprozess ist. Nissl (1) selbst betont ausdrücklich, daß mit einem Filtrat seiner Farblösung sehr viele Schnitte unter gewissen Kautelen (möglichst wenig Alkohol mit den Schnitten hineinzubringen und die Farblösung nicht zu stark verdunsten lassen) hintereinander behandelt werden können; mit einer solchen unreifen aber haben wir stets nur einen bis höchstens zwei Schnitte färben können, wovon der zweite meistens schlecht gefärbt und daher unbrauchbar war. Um nun diese tatsächlich vorhandenen Schwierigkeiten zu beheben, haben wir versucht, bei unseren pathologisch-anatomischen Arbeiten die Nisslsche Farblösung durch eine andere zu ersetzen, welche sich leichter herstellen läßt und sofort oder in möglichst kurzer Zeit reif für die Färbung sei, ohne daß das Resultat der Färbung dadurch irgend die geringste Inferiorität gegenüber der Nisslschen aufweist. Diesen Zweck haben wir nun nicht nur erreicht, sondern es scheint uns fast, als ob die mit unserem Verfahren erzielten Resultate manchmal noch bessere seien. Bevor wir jedoch auf dasselbe näher eingehen, wollen wir noch kurz folgende dazu gehörige Erläuterungen geben.

Die anfänglich unvollkommene, mit Hilfe eines Methylenblau-Eosin-gemisches ausgeführte Romanowsky-Färbungsmethode hat sich besonders große Verdienste für die Chromatinfärbung der Zellen erworben, ist aber nachher vielfach von verschiedenen Seiten (Ziemann, Nocht, Zettnow, Michaelis, Reuter etc.) modifiziert und verbessert worden, bis sie zuletzt von Giemsa zu ihrer größten, wenigsten bis jetzt erreichten, Vervollkommnung gebracht wurde.

Hierbei waren zwei Schwierigkeiten zu überwinden, und zwar die eine, das Methylenblau und das Eosin in geeigneten Mengen zusammenzubringen, damit eine gute Färbung erzielt wird, was leichter durch Ver-

suche zu beseitigen war; — die andere aber, nämlich dem Methylenblau die spezielle Wirksamkeit, das Chromatin zu färben, zu verleihen, war bedeutend schwieriger und ist von den obengenannten Autoren in mehrfacher Weise gelöst worden, indem sie sich verschiedener Hilfsmittel bedienten, wie Alkalizusatz, Erwärmen, längeres Stehenlassen an der Luft oder an einem warmen Orte, oder wieder die Wirkung zweier oder mehrerer dieser Faktoren gleichzeitig angewandt haben. Trotzdem müssen wenigstens einige Tage abgewartet werden, bis die erhoffte Wirkung erzielt wird.

In sehr zweckmäßiger Weise hat aber Prof. Dr. G. Proca in Bukarest diese Schwierigkeit beseitigt und die Wirkung der genannten Faktoren in einer Weise ausgenutzt, womit man sehr schnell und sicher zu einem sehr guten Resultat kommt. Diese Procasche Modifikation der Romanowskyschen Methode, wenn auch von ihrem Autor und auch von uns schon seit langen Jahren besonders für die Blutuntersuchung mit stetem Erfolg gebraucht, ist unseres Wissens bis jetzt, außer in einer Publikation eines von uns (2), noch ziemlich wenig bekannt geworden.

Proca bedient sich bei der Bereitung der Methylenblaulösung zwar auch des Alkalizusatzes (Borax nach dem Beispiele Ziemanns) und der Wärme, wie Nocht, aber in anderer Weise, und zwar folgendermaßen: Man nimmt eine ca. 200–250 ccm fassende, mit nicht zu dünnen Wänden versehene Flasche einer solchen Glassorte, welche beim plötzlichen Ueberbringen aus heißem in kaltes Wasser und umgekehrt nicht platzt, wozu sich am besten Jenaer Glas eignet; der Stopfen aus Kork oder Kautschuk muß sehr gut schließen. Man gießt 1 g Methylenblau med. pur. der Höchster Farbwerke, 4 g Borax puriss. cryst. (man vermeide alten verdorbenen Borax, nur gute Kristalle sind anzuwenden) und 100 ccm destilliertes Wasser hinein; die Flasche wird ohne Stopfen in ein Wasserbad hineingestellt, welches dann allmählich zum Sieden gebracht wird, und verbleibt dort etwa eine halbe Stunde; dann und wann (je alle 5–10 Minuten) wird sie zurückgenommen, verschlossen und unter einem kalten Wasserstrahl fortwährend und kräftig geschüttelt, bis der Inhalt erkaltet ist, aber inzwischen wird der Stopfen öfters abgehoben, damit die Luft frei hinzutreten kann, danach von neuem in das siedende Wasserbad hineingelegt. Die Gesamtzeit des Verbleibens im Wasserbade soll etwa 30–40 Minuten betragen. Die anfänglich gut blaue und verhältnismäßig dünne Farbflüssigkeit erhält nun allmählich eine violette Nuance und nimmt einen gewissen Viskositätsgrad an, was beides bei einiger Uebung leicht durch Schütteln erkannt wird. Um nun diese auf ihre Brauchbarkeit zu prüfen, färbt man, wie weiter unten angegeben wird, ein Blutpräparat, wobei das Chromatin der Leukocytenkerne schön rotviolett erscheinen muß. Wenn das nicht erreicht wird, dann muß die Farblösung wieder ein paar Minuten (5–10) in derselben Weise wie oben behandelt werden.

Während des Erwärmens entweicht zwar die Luft aus der Flüssigkeitsmasse, durch das nachträgliche Erkalten unter kräftigem fortwährenden Schütteln wird dieselbe aber von der Farbflüssigkeit sehr gierig wieder aufgenommen, und an diesem Aufsaugen der Luft von der sich erkaltenden, aber immer noch warmen Flüssigkeit erkennen wir die Stärke des stattfindenden Oxydationsprozesses, welcher uns gestattet, in kurzer Zeit eine reife Farblösung zu bekommen. Der Oxydationsprozeß darf aber durchaus nicht so weit fortgesetzt werden, bis die Lösung eine stark rötliche oder sogar rote Farbe annimmt; dann ist nämlich

die Grenze schon längst überschritten und die Farblösung überhaupt nicht mehr brauchbar. Hier handelt es sich also nur um eine im Werden begriffene Oxydationsstufe. Der Grad derselben, bei welchem eine gute Farblösung zu bekommen ist, ist sehr leicht festzustellen, und es entsteht dadurch gar keine Schwierigkeit bei der Herstellung. In der Weise wird die Oxydation am zweckmäßigsten vorgenommen, und man erzielt das von Nocht genannte „Rot aus Methylenblau“, dessen Vorhandensein sich durch Schütteln mit Chloroform leicht feststellen läßt, wobei das sich absetzende Chloroform sehr intensiv rotviolett erscheint. Es bildet sich zwar aus Methylenblau durch Oxydation auch eine gewisse Menge von Methylviolett, welches für die Färbungszwecke ungeeignet ist, aber dabei auch eine beträchtliche Menge von Azur, worauf eben die Chromatinfärbung beruht.

Die Farblösung muß immer vor dem Gebrauch filtriert werden. Sie besitzt eine starke Färbekraft, indem dieselbe in sehr kurzer Zeit Bakterien und tierische Zellen recht gut und präzis färbt und schöne, klare Bilder ergibt.

Jetzt kommen wir wieder zur Nissl-Färbung der Nervenzellen. Nach Versuchen mit zahlreichen verschiedenen anderen Farblösungen haben wir unsere Aufmerksamkeit auf diese Boraxmethylenblaulösung zum Zwecke der Nissl-Färbung gerichtet und sehr schöne Resultate damit erzielt, viel schöner, als wir zuerst annahmen. Wir verfahren bei der Färbung im allgemeinen ungefähr nach den Angaben Nissls, nur ziehen wir vor, die Stücke in Celloidin einzubetten. Unser näher beschriebenes Verfahren ist folgendes: Die einzelnen Schnitte werden gleich nach dem Schneiden auf nummerierten Papierblättern¹⁾ aufgefangen und vor der Färbung kurze Zeit in 96-proz. Alkohol aufbewahrt. Bei der Herausnahme aus dem Alkohol wird das Papierblatt samt Schnitt senkrecht gehalten und der Alkoholüberschuß am unteren Rand desselben schnell durch Fließpapier aufgesaugt, ohne aber den Schnitt im geringsten austrocknen zu lassen. Dieser wird sofort an die Oberfläche der Farblösung gebracht, und zwar derart, daß der Schnitt auf der Oberfläche schwimmt und das Papier durch sanftes Drücken untersinkt. Wir wenden die Boraxmethylenblaulösung zu diesem Zwecke meistens halbverdünnt (Farblösung + destilliertes Wasser $\bar{a}\bar{a}$) an, da dies scheinbar die besten Resultate lieferte. Wir erwärmen das Färbebad nicht so stark, wie Nissl es empfiehlt, sondern nur bis zur deutlichen Dampfentwicklung während etwa 2 Minuten. Die Differenzierung in Anilinalkohol geht hier etwas langsamer vor sich, wir möchten aber davor warnen, bei dieser, wie überhaupt bei jeder Differenzierung sich auf die Angabe von Minuten oder Sekunden zu verlassen; das einzig sichere und zuverlässige Mittel ist die Ueberwachung der Differenzierung unter dem Mikroskop.

1) Bei der Auswahl des Papiers haben wir festgestellt, daß die verschiedenen Sorten von Klosettpapier, welches von einigen Seiten so warm empfohlen wurde, nicht den Erwartungen entsprachen, da dieselben zu dünn sind und leicht das Wasser aufnehmen, mithin schlapp werden. Mit den weiter angewandten pergamentartigen Papieren, worunter in erster Linie das sogenannte Palmetto-Papier zu nennen ist, haben wir recht gute Erfolge erzielt, da dasselbe genügend stark ist und die Flüssigkeit sehr schlecht aufnimmt, so daß es entsprechend steif bleibt und schwer zerreißt. Dadurch wird die Handhabung besonders bei größeren Schnitten sehr erleichtert und die Integrität derselben, das Ausbreiten, etc. gesichert. Jetzt behandeln wir auf diese Weise auch die kleineren Schnitte und sogar auch die des Rückenmarks, und zwar stets mit Vorteil. Schließlich sind auch die guten Pergamentpapiere, welche in mehreren Stärken zu haben sind, brauchbar, da diese alle nötigen Eigenschaften im höchsten Maße besitzen, jedoch erfüllt Palmetto-Papier alle Anforderungen.

Sobald dieselbe den gewünschten Grad erreicht hat, wird das Präparat mit Fließpapier abgetrocknet, mit Cajeputöl aufgehellt, dann mit Benzin wiederholt gewaschen und endlich in Benzinkolophonium eingeschlossen.

Selbstverständlich haben wir stets Parallelversuche mit dem klassischen Nissl-Verfahren und dem Boraxmethylenblau zum Vergleich angestellt und dabei gefunden, daß bei den mit dem letzteren Farbstoff gefärbten Präparaten der Kontrast zwischen dem sehr blaßblauen Grund und den sehr scharf und kräftig gefärbten chromophilen Elementen der Nervenzellen ein sehr prägnanter war, manchmal sogar noch besser, als dies bei der Nissl-Färbung hervortritt. Sehr schöne und auch dauerhafte Präparate haben wir auch mit Hilfe des Rosin'schen (3) Verfahrens mittels gesättigter Neutralrotlösung erhalten. Jetzt bedienen wir uns stets und mit bestem Erfolge der drei Verfahren: Nissl, Boraxmethylenblau und Neutralrot.

Falls aber der Schnitt zu stark überfärbt ist und die Differenzierung zu langsam und schwer vor sich geht, haben wir es als sehr zweckmäßig gefunden, folgendermaßen zu verfahren: Der Schnitt wird aus dem Differenzierungsbad auf den Objektträger gebracht, gut ausgebreitet, mit Fließpapier abgetrocknet, dann mit Cajeputöl übergossen, wieder abgetrocknet und von neuem mit Anilinalkohol behandelt. Dieses Abwechseln des Anilinalkohols mit Cajeputöl auf dem Objektträger, welches im Notfall wiederholt werden kann, befördert die Differenzierung sehr. Dann wird das Präparat in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt.

Eine sehr gute Differenzierung erzielt man auch ohne Erwärmen einfach dadurch, daß man die Schnitte in der mit der 2—3-fachen Menge destillierten Wassers verdünnten Boraxmethylenblaulösung mehrere Stunden (über Nacht) stehen läßt. Dabei hat dies noch den Vorteil, daß viele Schnitte in demselben Färbebad auf einmal gefärbt werden können. Die stark überfärbten Schnitte werden nachher differenziert, am besten in der schon oben angegebenen Weise durch abwechselnde Behandlung mit Anilinalkohol und Cajeputöl; die Färbung ist sehr kontrastreich.

Die Nissl'schen Körperchen lassen sich auch mit Boraxmethylenblau immer nur rein blau, niemals etwa metachromatisch tingieren. Die Färbung gelingt nur mit in Alkohol fixiertem Material; das in Chrom fixierte, wie z. B. das für die Weigert'sche Markscheidenfärbung, läßt sich zwar färben, aber die Differenzierung gelingt immer schlecht, indem die chromophilen Elemente keinen stärkeren Widerstand dem Entfärbungsprozeß, als das übrige Gewebe zu leisten vermögen; die Färbung ist also keine elektive.

Daß die Verbindung des Methylenblaus mit dem Borax etwa eine Kombination oder einen physikalischen Zustand darstellt, welcher kolloidale (4) Eigenschaften und ein spezielles festes Anhaften an die chromophilen Elemente der Nervenzellen besitzt, ist ebenfalls, wie auch beim Nissl'schen Farbstoff, wohl anzunehmen.

Will man nun das Boraxmethylenblau zur Romanowsky-Färbung nach Proca anwenden, so muß man gleichzeitig auch eine 1‰ Eosinlösung haben. Am besten haben sich die wasserlöslichen Eosine BA und AG, besonders das erstere, der Höchster Farbwerke von allerbesten Qualität als geeignet bewährt; da aber die 1‰ Eosinlösungen nicht lange haltbar sind, so verwende man am besten eine 1-proz. Lösung (Vorratslösung) in destilliertem Wasser, von welcher sich eine 1‰ für den Gebrauch einiger Tage vorher herstellen läßt. Wir haben meistens nur Eosin BA angewandt. Man gießt in ein 10 ccm haltendes Meßglas zuerst 8 ccm der 1‰ Eosinlösung und setzt mit Hilfe einer Pipette

genau 2 ccm von der frisch filtrierten Boraxmethylenblaulösung zu, gießt die Mischung sofort in ein kleines Erl en m e y e r - K ö l b c h e n, schüttelt sie gut um und gießt dieselbe in eine Uhrschale; alles das muß sehr schnell geschehen. Die mit absolutem Aethyl- oder Methylalkohol fixierten und dann getrockneten Deckglaspräparate läßt man während 10 Minuten auf der Oberfläche der Farblösung mit der Blutschicht nach unten schwimmen, nachdem man zuerst das metallische Häutchen des Farbgemisches mit Fließpapier entfernt hat. Für Blutpräparate genügen 10 Minuten, für Bakterienfärbung, wenn es sich darum handelt, für ihre feinere Struktur eine befriedigende Färbung zu erzielen, muß das Präparat 15—20 Minuten lang im Färbebad bleiben. Befindet sich das Präparat nicht auf dem Deckglas, sondern auf einem Objektträger, so gießt man die Farblösung einfach darauf. Dann wird das Präparat aus dem Färbebad herausgenommen, sehr schnell mit 2—4‰ Essigsäure und ebensoschnell mit 96-proz. oder absolutem Alkohol zum Zweck der Differenzierung und Entfernung der Niederschläge ab- und endlich gut mit destilliertem Wasser nachgespült, mit Fließpapier abgetrocknet und in neutralem Kanadabalsam oder in dickem Zedernöl eingebettet. Die Präparate sind sehr klar und schön; das Chromatin der Zellen und der Blutparasiten erscheint schön rotviolett tingiert. Diese Färbung eignet sich sehr gut für Blut bei verschiedenen Krankheiten desselben, für Blutparasiten wie bei Malaria, Trypanosomiasen, etc. Es sei nur bemerkt, daß das Ektoplasma der Bakterien immer ungefärbt bleibt, wie dies bei allen anderen Modifikationen der Romanowsky-Methode sonst der Fall ist.

Der Niederschlag, welcher beim Mischen der Boraxmethylenblau- und der Eosinlösung entsteht, erscheint hier später, ist spärlicher und wird durch das Nachspülen mit Essigsäure und Alkohol sehr gut entfernt. Das Gemisch muß aber nur ganz kurze Zeit, am besten unmittelbar vor dem Gebrauch, hergestellt werden.

Die Eosin- sowie insbesondere die Boraxmethylenblaulösung müssen in hermetisch verschlossenen Flaschen im Dunkeln an einem kühlen Orte und vor sauren Dämpfen geschützt aufbewahrt werden; auf diese Weise bleiben sie lange Zeit brauchbar.

Literatur.

- 1) Encyklopädie der mikroskopischen Technik. 1903.
- 2) Savini, E., Untersuchungen über den z-Bacillus. [Inaug.-Diss.] Jassy 1905. [Rumänisch.]
- 3) Rosin, H., Zur Färbung und Histologie der Nervenzellen. (D. med. Wochenschr. 1898.)
- 4) Preuner, G., Ueber die Bedeutung kolloidaler Salze für den Färbeprozess. [Inaug.-Diss.] Heidelberg 1898.

Nachdruck verboten.

Ueber intravenöse Injektion und Aderlass durch Hohladeln mit Stilet.

Von Dr. Bugge, Kiel.

Mit 5 Figuren.

Beim Anstechen der Venen von Versuchstieren mit gebräuchlichen Hohladeln zum Zwecke der intravenösen Injektion von Bakterienaufschwemmungen und anderen Präparaten oder zum Zwecke der Blut-

entnahme fließt aus den eingeführten Hohladeln recht häufig Blut überhaupt nicht ab, oder es sickert nur ganz allmählich aus den Kanülen hervor, um nach einigem Warten zu gerinnen. Im ersteren Falle wird die vorgeschobene Hohladel etwas zurückgezogen, und es wird von neuem versucht, die prallgefüllte Vene zu treffen. Im zweiten Falle wird eine Drehung der Hohladel vorgenommen, um eine etwaige Verlegung ihrer Oeffnung durch die Venenwand zu lösen. Trotzdem gelingt es häufig nicht, einen kräftigen Blutstrahl aus der Kanüle zu erhalten. Nach Wiederholung derartiger Experimente zieht man in der Annahme, daß die Vene ungenügend oder überhaupt nicht getroffen ist, die Kanüle aus der Wunde und versucht sein Glück von neuem.

Meist sind schon nach dem ersten Versuch größere und kleinere Blutungen in der Umgebung der Einstichstelle an der Vene entstanden. Damit ist der Beweis erbracht, daß die Vene getroffen war, und nur aus der verstopften Kanüle kein Blut abfließen konnte. Wird nunmehr die Kanüle auf ihre Durchgängigkeit geprüft, so ist sie durch Haut- und Gewebsspröpfe, die das ganze Lumen ausfüllen, oder teils durch geronnenes Blut, in dem sich an den Spitzenöffnung der Kanüle ein kleines Gewebstück vorfindet, verstopft.

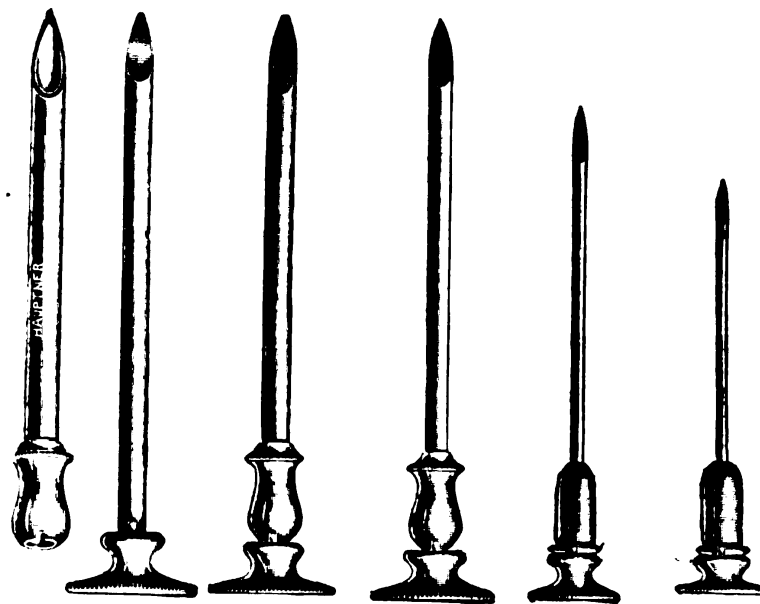
Es haben die scharfen Ränder an der Spitze der Kanüle ein Hautstück oder ein Stück von dem unter der Haut befindlichen Gewebe wie mit einem Locheisen herausgestanzt, und diese Teile haben sich im Anfangsteile der Kanüle festgeklemmt. Man kann daher bei den größeren Hohladeln von Dieckerhoff und Casper in der starken Haut unserer größeren Haustiere an der Einstichstelle runde Löcher beobachten, aus denen recht bedeutende Mengen Blut abfließen.

Diese Gründe veranlaßten mich, für die intravenöse Impfung und für den Aderlaß Impf- und Hohladeln zu konstruieren, bei denen das Herausreißen von Gewebstücken aus der Haut und Muskulatur usw. und dadurch eine Verstopfung der Kanüle ausgeschlossen ist. Es wurde in die Kanüle ein Stilet eingeffügt, das entsprechend dem oberen Ende der Kanüle angeschliffen war, und das am unteren Ende eine Daumenplatte trug. Die Aderlaßhohladeln enden in eine Olive, die zur Befestigung eines Schlauches für die sterile Entnahme größerer Blutmengen dient. An dem Konus oder der Olive befindet sich gegenüber dem Anschliff der Hohladel eine kleine Vertiefung, in welche eine Nase von der Daumenplatte eingreift. Durch das Eingreifen der Nase in die Vertiefung ist Sicherheit geboten, daß der Anschliff der Hohladel und des Stiletts übereinstimmt.

Dieses Instrument teilt auf Druck das Gewebe keilartig auseinander. Es erzeugt nur Gewebstrennungen. Mit den offenen Kanülen werden dagegen Gewebszerreißen hervorgerufen, die das Eindringen der Kanülen in die Haut und das darunter befindliche Gewebe zuweilen sehr erschweren. Bei den großen Haustieren mit ihrer derben Haut genügt oft nicht der Druck mit dem Daumen um die offenen Kanülen durch die Haut zu treiben. Es muß die Handfläche zur Unterstützung herangezogen werden. Durch das Zerreißen von Gewebs- und Nervenfasern und durch den starken Druck entstehen dem Tiere beim Einführen der offenen Kanülen recht erhebliche Schmerzen. Die Kanülen mit Stilet gleiten dagegen leicht durch die Haut. Die intravenöse Injektion oder der Aderlaß läßt sich daher meist ohne besondere Bremsvorrichtung an den Tieren vornehmen. Selbst Serumtiere, bei denen fast in jeder Woche Injektionen ausgeführt werden, stehen ohne Bremse. Ochsen habe ich ohne Aderlaßschnur nur bei der Kompression der

Jugularis mit der Hand und Festhalten im Ringe Blut durch eine 1½ mm starke Kanüle entnommen. Nach dem Herausziehen der Hohladel aus dem Stichkanal schließen die Ränder vollständig aneinander. Nachblutungen, wie sie bei den offenen Hohladeln wegen der Substanzdefekte in der Haut, Unterhaut und Venenwand vorkommen, sind ausgeschlossen.

Bei der Herstellung brauchte die Kanülenwand des Rohres bei weitem nicht so stark genommen zu werden, wie es bei den offenen Kanülen der Fall sein muß. Die Verringerung der Wandstärke bedingt bei gleichen Querdurchmessern ein größeres Lumen, und deshalb sind schon mit kleinen Kanülen recht beträchtliche Blutmengen in kurzer Zeit zu entnehmen. Natürlich muß der Aufbewahrung derartiger Kanülen und Hohladeln einige Aufmerksamkeit geschenkt werden. Es dürfen in keinem Falle Kanüle und Stilett nach der Blutentnahme ineinander geschoben werden und in diesem Zustande bis zur nächsten Injektion be-



lassen werden. Nach jeder Injektion ist die Kanüle mit desinfizierenden Flüssigkeiten auszuspülen und mit einem Stückchen Watte auszuschieben. Da die Spitze des Stiletts dem Anschliff der Kanüle entspricht, so ist der in die Kanüle eingeführte Wattedropf nicht mit dem Stilett durch die Kanüle zu drücken. Hierbei tritt eine Zusammenschiebung des Wattedropfes ein, und er klemmt sich zwischen der abgeschrägten Spitze des Stiletts und der Kanülenwand fest. Man hat deshalb das Wattestück unter andauernder Drehung des Stiletts um seine Längsachse durchzuschieben. In dieser Weise gelingt es leicht, die Kanüle mit Watte zu reinigen. Die Kanüle wird darauf nachgetrocknet und mit Vaseline eingerieben. Bei einer derartigen Behandlung werden die Instrumente sich stets in gebrauchsfähigem Zustande befinden. Sie können durch Auskochen in Wasser oder noch leichter durch Erhitzen in Paraffinöl bei einer Temperatur von 150° C sterilisiert und mit einer die Blutgerinnung verhindernden Oelschicht versehen werden.

Von der Instrumentenfabrik H. Hauptner, Berlin NW. 6, Louisenstraße 56, der die Anfertigung und der Vertrieb dieser Injektionskanülen für Spritzen und der Aderlaßhohladeln mit Stilett übertragen

ist, werden 3 Größen von Aderlaßhohlnadeln und 2 von Kanülen zurzeit in den Handel gebracht. Die ersteren haben folgende Außen- und Innenmaße:

Aderlaßhohlnadeln	1.	außen	5,5 mm,	Lumen	4,8 mm
"	2.	"	4,8 "	"	4,0 "
"	3.	"	4,0 "	"	3,4 "
Kanülen	1.	"	2,5 "	"	1,8 "
"	2.	"	2,0 "	"	1,5 "

Zusatz

zu Dr. Jägerskiölds „Kleine Beiträge zur Kenntnis der Vogeltrematoden“ in Heft 3. Bd. XLVIII dieses Centralbl. p. 310 soll stehen: „Unter anderen Sammlungen, die er heimbrachte, waren auch einige wenige der Gattung *Maritrema* angehörige Würmer aus *Tringa maritima*“.

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.

- Amako, T.**, Ueber die Schwankungen der opsonischen, agglutinierenden und bakteriolytischen Kraft des Serums im Verlaufe der Cholera und über die Entstehung des Cholera typhoids, p. 602.
- Babes, V.**, Bemerkungen über einige Angaben in der Arbeit „Lipschütz, Ueber mikroskopisch sichtbare, filtrierbare Virusarten“, p. 596.
- Bartel, Julius und Neumann, Wilhelm**, Ueber Immunisierungsversuche gegen Tuberkulose, p. 657.
- — und **Hartl, E.**, Ueber Immunisierungsversuche gegen Perlsucht, p. 667.
- Bertarelli, E.**, Untersuchungen über die Zubereitung von Koagulinen auf gastrischem Wege, p. 681.
- de Bonis, V. und Pietroforte, V.**, Ueber die Wirkung der toxischen Produkte der Pestbacillen auf die Atmung, p. 529.
- Bugge**, Ueber intravenöse Injektion und Aderlaß durch Hohlnadeln mit Stilet, p. 701.
- Cardámatís, J.**, Die Phagocytose bei Malaria, p. 677.
- v. Eisler, M.**, Erwiderung auf den Aufsatz v. Liebermanns: Hämagglutination und Hämolyse, p. 679.
- Hausser, Albert**, Bakteriologische Untersuchungen über Gellügeldiphtherie, p. 535.
- de Jong, D. A.**, Pasteurisierung der Milch in Ruhe und Abtötung von Tuberkelbacillen, p. 670.
- Laitinen, Taav.**, Ueber die Beeinflussung der Resistenz der roten Blutkörperchen des Kaninchens gegen ein heterogenes Serum durch Alkohol, p. 600.
- Mayer, Georg**, Untersuchungen bei der Brustseuche der Pferde, p. 589.
- Regné, Gustaf und Stenström, Olof**, Versuche mit v. Behrings Bovovaccin, p. 628.
- Repetto, Romolo**, Ueber die Uebertragung der Tollwut durch die Nasenschleimhaut, p. 595.
- Savini, Emil und Savini, Therese**, Ein neues Verfahren zur Nervenzellenfärbung, p. 697.
- Sieber**, Beiträge zur Biologie des Milzbrandbacillus. I., p. 583.
- Siegel, J.**, Uebertragung der Syphilis auf Mäuse, p. 599.
- Truff, M.**, Ueber die Uebertragung eines menschlichen syphilitischen Primäraffektes auf die Haut des Kaninchens, p. 597.
- Zlatogoroff, S. J.**, Zur Frage der Diagnostik der Choleravibrionen, p. 684.
- Zusatz zu Dr. Jägerskiölds „Kleine Beiträge zur Kenntnis der Vogeltrematoden“**, p. 704.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XLVIII enthaltenen Arbeiten.

- Almquist, Ernst**, Studien über das Verhalten einiger pathogener Mikroorganismen bei niedriger Temperatur. 175
- Altana, Giuseppe**, Ueber einen vom Meer-schweinchen isolierten Tetragenus. 42
- Amako, T.**, Ueber die Schwankungen der opsonischen, agglutinierenden und bakteriolytischen Kraft des Serums im Verlaufe der Cholera und über die Entstehung des Cholera-typhoids. 602
- Amato, Alessandro**, Ueber die feine Struktur der Bakterien. 385
- Babes, V.**, Bemerkungen über einige Angaben in der Arbeit „Lipschütz, Ueber mikroskopisch sichtbare, filtrierbare Virusarten“. 596
- Bail, Oskar und Tsuda, K.**, Das Verhalten der Choleraimmunkörper bei der Bakteriolyse. 194
- Bartel, Julius und Hartl, R.**, Ueber Immunisierungsversuche gegen Perlsucht. 667
- und **Neumann, Wilhelm**, Ueber Immunisierungsversuche gegen Tuberkulose. 657
- Bau, Arminius**, Die Identität der Oestridentgattungen *Gyrostigma* und *Spathicera*. 164
- Belutker**, Ueber das Verhalten der Bordetschen Reaktion bei Variola. 500
- v. Benzur, Gyula**, Kleiner Beitrag zur Frage der Identität des Typhus- und Colibacillus. 275
- Berghaus, W.**, Ueber die Beziehungen des Antitoxingehaltes des Diphtherieserums zu seinem Heilwert. (I. Mitteilung.) 450
- Bertarelli, E.**, Ueber die Immunisierung des gesunden Menschen mit Kochschem Tuberkulin. (Vorl. Mitteilung.) 353
- , Untersuchungen über die Zubereitung von Koagulinen auf gastrischem Wege. 681
- Bezzola, Carlo**, Ueber die sogenannten „tierischen Bacillen“ (Bail). 36
- Bouis, V. de und Pietroforte, V.**, Ueber die Wirkung der toxischen Produkte der Pestbacillen auf die Atmung. 529
- Brons, C.**, Weitere Mitteilungen über gram-negative Diplokokken der Bindehaut, besonders über einen Fall von echten Weichselbaumschen Meningokokken. 141
- Bugge**, Ueber intravenöse Injektion und Aderlaß durch Hohnnadeln mit Stilet. 701
- Cardámatis, J.**, Die Phagocytose bei Malaria. 677
- Chatterjee, G. C.**, On a new test for differentiation of the bacilli of the typhoid group. 246
- Dahm** siehe **Mühlens**.
- Daniélopou, D.** siehe **Slatinéanu, A.**
- de Jong** siehe **Jong, de**.
- Eisenberg, Philipp**, Ueber elastikotropische Erscheinungen beim Wachstum des *Bac. anthracis* und verwandter Bacillen auf Serumnährböden. 125
- , Ueber Fetteinschlüsse bei Bakterien. Farbchemische Untersuchungen. 257
- , Ueber die Thermoresistenz der vegetativen Formen der aeroben Sporenbildner. 187
- v. Eisler, M.**, Erwiderung auf den Aufsatz v. Liebermanns: Hämagglutination und Hämolyse. 679
- Elmassian, M.**, Contribution à l'étude microscopique de la cornée vaccinée chez le lapin. Corpuscules de la vaccine, „Initialkörper“, Chlamydozoa etc. 207
- Fehrs und Sachs-Mücke**, Beitrag zur Züchtung und Isolierung von Anaërobiern. 122
- Fermi, Claudio**, Immunisierende und lyssizide Wirkung des Cholesterins, Lecithins und verschiedener Lecithin enthaltender tierischer Teile. 357
- , Ueber die lyssizide und immunisierende Wirkung der Cerebrospinalflüssigkeit gesunder, wutkranker und immunisierter Tiere. (Vorl. Mitteilung.) 216
- , Ueber den sonderbaren Unterschied, der zwischen der antirabischen Wirkung der Hirnsubstanz in toto und jener der weißen und der grauen Substanz getrennt besteht. 378
- Fornet, W. und Porter, A. E.**, Ueber den Bau der Opsonine. II. Mitt.: Paratyphusopsonine. 461
- Fürst** siehe **Mühlens**.
- Fuhrmann, O.**, Das Genus *Anonchotaenia* und *Biuterina*. II. Das Genus *Biuterina* Fuhrmann. 412
- Gachtgens, Walter**, Ueber die Typhusantigene und ihre Antikörper. 223
- Galli-Valerio, B. und Rochaz de Jongh, J.**, Zur Frage der Eier von *Culex cantans*. Antwort an Dr. A. Eysell. 91

- Gelisse**, Ueber den Wert von Typhusbacillen-Mischbouillon zur Serodiagnose des Typhus. 517
- Ghon, Anton und Sachs, Milan**, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. VII. Zur Aetiologie der Schaumorgane. 396
- Grünspan, Th.**, Ueber den Einfluß von Chininlösungen auf die Phagocytose. 444
- Guyot, G.**, Ueber die Agglutinabilität der mit Formalin fixierten roten Blutkörperchen und der Blutkörperchenstromata: Beitrag zum Studium der Hämagglutination. 330
- Hartl, B.** siehe **Bartel, J.**
- Hata, S.**, Ueber die Anwendbarkeit des Rossischen Kolloid-Trennungsverfahrens zur Konzentrierung der wirksamen Substanzen im Serum. 203
- Hausser, Albert**, Bakteriologische Untersuchungen über Geflügeldiphtherie. 535
- Hüne**, Die begünstigende Reizwirkung kleinster Mengen von Bakteriengiften auf die Bakterienvermehrung. 135
- Huguenin, B.**, Nachweis von Tuberkelbacillen im Blute eines Fötus. 394
- Jägerskiöld, L. A.**, Kleine Beiträge zur Kenntnis der Vogeltrematoden. 302. 704
- Jong, D. A. de**, Pasteurisierung der Milch in Ruhe und Abtötung von Tuberkelbacillen. 670
- Jorio, C.**, Einige histologische Untersuchungen über die Geschwülste und ihre Metastasen in den Lymphdrüsen. Ausgeführt unter der Leitung von L. Panichi. 151
- Kemp**, Ueber Versuche, aus Gärungstühen den *Granulobacillus saccharobutyricus* zu züchten. 54
- Kindborg, Erich**, Ueber die Einwirkung von Fibrin auf die bakteriziden und hämolytischen Eigenschaften des Serums. 335
- Klimenko, W. N.**, Die Aetiologie des Keuchstusens. 64
- Körmöczl, Emil**, Beiträge zu den Malaria-verhältnissen in Budapest und zur Lehre der Frühjahrs malaria. 406
- Konrich**, Ueber den Einfluß von Wärme und Zeit auf den Ablauf der Agglutination. 92
- Laitinen, Taav.**, Ueber die Beeinflussung der Resistenz der roten Blutkörperchen des Kaninchens gegen ein heterogenes Serum durch Alkohol. Erwiderung an die Herren E. Friedberger u. H. Doepner. 600
- Lipschütz, B.**, Ueber mikroskopisch sichtbare filtrierbare Virusarten. (Ueber *Strongyloplasma*.) 77
- Lösener**, Zur Aetiologie der in Ostpreußen heimischen Ruhr. 285
- Lühe, Max**, Zur Systematik und Faunistik der Distomen. I. Die Gattung *Metorchis* Looss, nebst Bemerkungen über die Familie *Opisthorchiidae*. 428
- Marchildon, J. W.** siehe **Thompson, R. L.**
- Marx, E.**, Ueber eine Paratyphus B-Epidemie beim Infanterieregiment Hessen-Homburg No. 166, nebst Bemerkungen über das Jacobsthalsche Serumpapier (Merck). 29
- Mayer, Georg**, Untersuchungen bei der Brustseuche der Pferde. 589
- Miessner**, Die Schnellagglutination und ihre Verwendung bei der Serodiagnose des Rotzes. 249
- Mühlens, P.**, Ueber Züchtung von anaëroben Mikroorganismen der Mundhöhle (u. a. *Spirillum sputigenum*). 523
- , **Dahm und Fürst**, Untersuchungen über Bakterien der Enteritis-Gruppe (Typus Gärtner und Typus Flügge), insbesondere über die sogenannten „Fleischvergiftungserreger“ und die sogenannten „Rattenschädlinge“. 1
- Neumann, Wilhelm** siehe **Bartel, Julius**.
- Pietroforte, V.** siehe **Bonis, V. de**.
- Porter, A. E.** siehe **Fornet, W.**
- Pricolo, Antonio**, Sur une propriété d'un sérum préparé avec des exsudats streptococciques. 109
- Raskin, Marie**, Experimentelle Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit des Komplementbindungsphänomen für die Typhusdiagnose. 508
- Raubitschek, Hugo und Russ, Viktor, K.**, Zur Kenntnis der bakteriziden Eigenschaften der Pyocyanase. 114
- Regné, Gustav und Stenström, Olof**, Versuche mit v. Behrings Bovovaccin. 628
- Repetto, Romulo**, Ueber die Uebertragung der Tollwut durch die Nasenschleimhaut. 595
- Rochaz de Jongh, J.** siehe **Galli-Valerio, B.**
- Ruata, Guldo, Q.**, Der Ursprung der Pneumokoniosen. 44
- Russ, Viktor, K.** siehe **Raubitschek, Hugo**.
- Sachs, Milan** siehe **Ghon, Anton**.
- Sachs-Mücke** siehe **Fehrs**.
- Savini, Emil und Savini, Therese**, Ein neues Verfahren zur Nervenzellenfärbung. 697
- Savini, Therese** siehe **Savini, Emil**.
- Schürmann, W.**, Ueber eine durch Milben hervorgerufene Erkrankung der Ratten. 167
- Sieber**, Beiträge zur Biologie des Milzbrandbacillus. I. 583
- Siegel, J.**, Uebertragung der Syphilis auf Mäuse. (Vorl. Mitteilung.) 599
- Slatinéanu, A. et Daniélopou, D.**, Sur la présence d'anticorps spécifiques dans le

- sérum des malades atteints de lèpre. (Note préliminaire.) 480
- Splendore, A.**, Ueber das Virus myxomatosum der Kaninchen. (Vorl. Mitteilung.) 300
- Stenström, Olof** siehe **Regnér, Gustav.**
- Stokvis, C. S.**, Alkohol- und Essigsäuretoleranz der Bakterien. 436
- Sullma**, Ueber den Einfluß der Fiebertemperaturen auf die Mikroben und die Schutzkräfte des Organismus. (I. Mitteilung.) 318
- Tedeschi, E.**, Erwiderung auf „Kritische Bemerkungen“ des Dr. Weichardt über meinen Artikel „Weiteres über die sogenannten nicht bakteriellen Aggressine“. 193
- Thompson, R. L. und Marchildon, J. W.**, Ueber Anaphylaxie beim Kaninchen unter besonderer Berücksichtigung des „Arthus-schen Phänomens“. 484
- Toyosumi, H.**, Ueber den Mechanismus der Komplementabsorption durch Bakterienextrakte. 325
- Trolli-Petersson, Gerda**, Fortgesetzte Studien über das Wachstum einiger pathogener Bakterien in sterilisierten und nichtsterilisierten Abfallstoffen. 129
- Truffl, M.**, Ueber die Uebertragung eines menschlichen syphilitischen Primäraffektes auf die Haut des Kaninchens. 597
- Tsuda, K.** siehe auch **Ball, Oskar.**
- Tsuda, K.**, Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. IV. Weitere Versuche mit Typhusbacillen. 277
- Weichardt, Wolfgang**, Die Kenopräzipitinreaktion und ihre Beziehung zur Kenotoxinforschung. 496
- White, Benjamin**, Eine kleine Kugelmühle. 254
- Wladimiroff, A.** siehe **Wrublewski, K. J.**
- Wolff-Eisner, A.**, Bemerkung zu meiner Arbeit: Die Bindungsverhältnisse der Organgewebe gegenüber Toxinen und ihre klinische Bedeutung für Inkubation und natürliche Immunität in Bd. XLVII. Heft 1 u. 2 dieser Zeitschr. 191
- Wrublewski, K. J.**, Ein Trypanosoma des Wisent von Bielowesch. [Nebst] Bemerkung von A. Wladimiroff und W. Yakimoff. 162
- Yakimoff, W.** siehe **Wrublewski, K. J.**
- Yamamoto, J.**, Ueber das Verhalten des Milzbrandbacillus bei der Silberimprägnation. 253
- Zirolla, G.**, Ueber einen neuen Apparat für Versuche über das Saugen der Insekten. 173
- Zlatogoroff, S. J.**, Zur Frage der Diagnostik der Cholera vibriionen. Experimentelle Beiträge zur Epidemiologie der Cholera. 684

II. Sachverzeichnis.

- Abfallstoffe, sterilisierte, Wachstum pathogener Bakterien in denselben. 129
- , Wachstum pathogener Bakterien in denselben. 129
- Absorption, Komplement- siehe Komplement-Absorption.
- Actitis hypoleucos, Wirt von *Maritrema subdolum*. 313
- Aderlaß durch Hohnadeln mit Stilet. 701
- Affe, Empfänglichkeit für *Bac. Danysz.* 25
- , — für den Keuchhustenbacillus. 69
- Agglutination siehe auch Agglutinin.
- der Blutkörperchenstromata. 333
- bei Cholera, Schwankungen derselben in ihrem Verlaufe. 602. 607
- des Cholera vibrio. 686
- , Häm- siehe Hämagglutination.
- , Schnell-, zur Rotzdiagnose. 249
- zur Typhusdiagnose, Wert der Typhusbacillen-Mischbouillon. 517
- , Wirkung von Wärme und Zeit auf deren Ablauf. 92
- Agglutinin siehe auch Agglutination.
- , Konzentrierung desselben. 205
- bei Typhus, Auftreten. 227
- —, Identität mit Präzipitin. 231
- Agglutinen bei Typhus, Untersuchungen. 227
- Aggressin, nichtbakterielles, Untersuchungen. 193
- des Nikotins, Untersuchungen. 193
- Alauda arvensis*, Wirt von *Biuterina passerina*. 426
- Alkohol-Toleranz der Bakterien. 436
- Alkohol, Wirkung auf *Bac. coli com.* 441
- , — auf *Bac. paratyphi.* 442
- , — auf *Bac. prodigiosus.* 442
- , — auf *Bac. typhi.* 441
- , — auf Bakterien. 440
- , — auf Kaninchen. 485
- , — auf die Resistenz der Erythrocyten gegenüber hämolytischen Seris. 600
- , Wirkung auf *Vibrio cholerae.* 442
- Anaeroben, Kultur und Isolierung. 122
- des Menschen, Untersuchungen. 396
- der Mundhöhle, Kultur. 523
- , Ursache der Schaumorgane. 396
- Anaphylaxie siehe Ueberempfindlichkeit.
- Anonchotaenia, Untersuchung. 412
- Anopheles claviger siehe *Anopheles maculipennis.*

- Anopheles maculipennis, Vorkommen in Budapest. 409
- Anthrakose, Lungen-, Untersuchungen. 44
- Antigene, Typhus- und ihre Antikörper. 223
- Antikörper, spezifische, im Serum Lepröser. 480
- , Typhus-, Untersuchungen. 223
- Antitoxin-Gehalt des Diphtherieserums, Beziehung zu seinem Heilwert. 450
- Arthussches Phänomen bei Kaninchen, Untersuchung. 484
- Ascitesflüssigkeit, Wirkung auf Kaninchen. 486
- Aspergillus flavescens, Wirkung der Temperatur. 319
- niger, Wirkung der Temperatur. 319
- Atmung, Wirkung der Toxine des Pestbacillus. 529
- Auge, Conjunctiva siehe Conjunctiva.
- , Cornea siehe Cornea.
- Bacillen, tierische siehe Bacillus typhi, tierische Bacillen.
- Bacillus acidificans, Wirkung der Temperatur. 320
- aërogenes aërophilus agilis, Ursache der Schaumorgane. 397
- — capsulatus, Ursache der Schaumorgane. 396
- anthracis, Biologie. 583
- —, elastikotropische Wachstumserscheinungen auf Serumnährböden. 125
- —, Fetteinschlüsse. 258
- —, Granula. 258
- —, Verhalten bei der Silberimprägation. 253
- —, Wirkung der Galle. 583
- —, — der Temperatur. 189. 319
- anthracoides, Wirkung der Temperatur. 320
- , Buttersäure-, Untersuchungen. 57
- butyricus, Wirkung der Temperatur. 319
- cadaveris butyricus, Ursache der Schaumorgane. 397
- clavatus, Sporen, zur Untersuchung der Pneumokoniosis. 49
- coli siehe auch Bacterium coli.
- —, Fetteinschlüsse. 272
- —, Granula. 272
- —, Identität mit Bac. typhi. 275
- — communis, Wirkung des Alkohols. 441
- — —, — der Essigsäure. 443
- Danysz, Pathogenität für Affen. 25
- —, Untersuchung. 20
- diphtheriae, Fetteinschlüsse. 272
- —, Granula. 272
- —, Wirkung der Temperatur. 319
- dysenteriae, Agglutinationsablauf, Wirkung von Wärme und Zeit. 94
- —, Kugelbildung. 182
- — (Shiga-Kruse), Rolle bei der Dysenterie. 286. 292
- —, Wachstum in sterilen und nicht-sterilen Abfallstoffen. 130
- —, Wirkung von Giften in kleinsten Mengen. 139
- Bacillus dysenteriae, Wirkung der Temperatur. 182. 319
- Ellenbachensis, elastikotropische Wachstumserscheinungen. 126
- enteritidis, Agglutinationsablauf, Wirkung von Wärme und Zeit. 94
- —, Pathogenität für Ratten. 27
- —, Wirkung der Temperatur. 319
- enteritidis-Gruppe, Untersuchungen. 1
- erythrogenes, Wirkung der Temperatur. 320
- erythrosporus, Wirkung der Temperatur. 320
- faecalis alcaligenes, Wirkung der Temperatur. 319. 320
- ferrugineus, Wirkung der Temperatur. 320
- ficianus, Wirkung der Temperatur. 320
- fluorescens liquefaciens, Wirkung der Temperatur. 320
- — non liquefaciens, Wirkung der Temperatur. 320
- — putidus, Wirkung der Temperatur. 320
- fusiformis, Beziehung zu Spirillum sputigenum. 525
- , Geißel-, anaërober, der Mundhöhle, Kultur. 526
- granulobutyricus mobilis, Identität mit Granulobac. saccharobutyricus. 62
- indicus, Wirkung der Temperatur. 319
- isaricus ruber, Wirkung der Temperatur. 319. 320
- , Kapsel-, Wirkung der Temperatur. 319
- , Kartoffel- siehe auch Bacillus mesentericus.
- —, Sporenbildung. 359
- —, Struktur. 388
- , Keuchhusten- (Bordet-Gengou), morphologische und kulturelle Eigenschaften. 65
- — —, Pathogenität für Affen. 69
- — —, — für Hunde. 71
- lactis sapon., Wirkung der Temperatur. 320
- megatherium, Wirkung der Temperatur. 319
- mesentericus siehe auch Bacillus, Kartoffel-.
- —, Wirkung der Temperatur. 319
- metatyphi, Wirkung der Temperatur. 319
- muripestifer, Wirkung der Temperatur. 319
- mycoides, elastikotropische Wachstumserscheinungen. 126
- —, Sporenbildung. 389
- —, Struktur. 389
- necroticus, Vorkommen bei der Geflügeldiphtherie. 539
- paratyphi, Agglutinationsablauf, Wirkung von Wärme und Zeit. 94
- —, Kugelbildung. 183
- —, Untersuchungen. 1
- —, Wachstum in sterilen und nicht-sterilen Abfallstoffen. 131
- —, Wirkung des Alkohols. 442
- —, — der Essigsäure. 443
- —, — der Temperatur. 183. 319

- Bacillus pestis, Filtrat, Wirkung auf die Atmung. 530
 — —, Nukleoproteid, Wirkung auf die Atmung. 532
 — —, Toxin, Wirkung auf die Atmung. 529
 — phlegmonis emphysematosae, Ursache der Schaumorgane. 396
 — pneumoniae, Wirkung der Temperatur. 319
 — praepolens, Wirkung der Temperatur. 319
 — prodigosus, Agglutinationsablauf, Wirkung von Wärme und Zeit. 94
 — —, Wirkung des Alkohols. 442
 — —, — der Essigsäure. 443
 — —, — der Temperatur. 320
 — pseudodysenteriae, Agglutinationsablauf, Wirkung von Wärme und Zeit. 94
 — — Königsberg, kulturelle Eigenschaften. 295
 — —, Wachstum bei Anwesenheit von Wasserbakterien. 133
 — —, Wachstum in sterilen und nicht-sterilen Abfallstoffen. 131
 — —, Wirkung der Temperatur. 320
 — psittacosis, Untersuchung. 1
 — —, Wirkung der Temperatur. 320
 — pyocyaneus, Agglutinationsablauf, Wirkung von Wärme und Zeit. 94
 — —, Fetteinschlüsse. 272
 — —, Granula. 272
 — —, Infektion von Hühnern. 577
 — —, kulturelle Eigenschaften. 570
 — —, Vorkommen in Geflügeldiphtheriebelägen. 540
 — —, Wirkung der Temperatur. 319
 — —, — der Temperatur auf die Farbstoffbildung. 320
 — rhinoscleromatis, Wirkung der Temperatur. 319
 —, Roup-, Infektion von Huhn und Taube. 577
 — —, kulturelle Eigenschaften. 569
 — —, Vorkommen bei der Geflügeldiphtherie. 557
 — ruminatus, elastikotropische Wachstumserscheinungen. 126
 — subtilis, Sporenbildung. 389
 — —, Struktur. 389
 — —, Wirkung der Temperatur. 319
 — suipestifer, Untersuchungen. 1
 — —, Wirkung der Temperatur. 319
 — tetani, Wirkung der Temperatur. 320
 — tuberculosis zur Immunisierung gegen Tuberkulose. 628. 657. 667
 — — in Milch, Wirkung des Pasteurisierens. 670
 — —, Nachweis im Blute des Fötus. 394
 — —, Wirkung der Temperatur. 319
 — — avium, Wirkung der Temperatur. 320
 — tumescens Zopf, elastikotropische Wachstumserscheinungen. 126
 — — —, Fetteinschlüsse. 265
 — — —, Granula. 265
 — typhi, Agglutinationsablauf, Wirkung von Wärme und Zeit. 94
 — —, Differentialdiagnose. 246
 Bacillus typhi, Fetteinschlüsse. 272
 — —, Formveränderungen in Serumkulturen. 277
 — —, Granula. 272
 — —, Identität mit Bac. coli. 275
 — —, Kugelbildung. 178
 — —, im Serum gewachsen, Eigenschaften. 277
 — —, tierischer, Untersuchungen. 36. 277
 — —, Untersuchungen. 277
 — —, Veränderungen in Serumkulturen. 277
 — —, — im Tierkörper. 36. 277
 — —, Wachstum in sterilen und nicht-sterilen Abfallstoffen. 130
 — —, Wirkung des Alkohols. 441
 — —, — der Essigsäure. 443
 — —, — von Giften in kleinsten Mengen. 139
 — —, — des Serums. 277
 — —, — der Temperatur. 178. 318
 — typhi-Gruppe, Differenzierung. 246
 — typhi exanthematici, Wirkung der Temperatur. 319
 — — murium, Untersuchung. 1
 — — —, Wirkung der Temperatur. 319
 Bacterium aceti, Wirkung der Essigsäure. 444
 — coli siehe auch Bacillus coli.
 — —, Wirkung von Giften in kleinsten Mengen. 139
 — — commune, Agglutinationsablauf, Wirkung von Wärme und Zeit. 94
 — — —, Ursache der Schaumorgane. 397
 — — —, Wachstum in sterilen und nicht-sterilen Abfallstoffen. 132
 — — —, Wirkung der Temperatur. 319
 — helvolum, Wirkung der Temperatur. 320
 — intestinale gallinarum, Vorkommen bei Geflügeldiphtherie. 551
 — kiliense, Wirkung der Temperatur. 320
 — Zopfii, elastikotropische Wachstumserscheinungen. 126
 Bakterien, Alkoholtoleranz. 436
 —, anaërobe, Kultur und Isolierung. 122
 — —, des Menschen, Untersuchungen. 396
 — —, der Mundhöhle, Kultur. 523
 — —, Ursache der Schaumorgane. 396
 —, chemische Untersuchungen. 257
 —, elastikotropische Wachstumserscheinungen. 125
 —, Essigsäuretoleranz. 436
 Bakterien-Extrakte, Komplementabsorption durch dieselben. 325
 —, Komplementbindung durch dieselben. 325
 Bakterien, Färbung. 257
 —, farbchemische Untersuchungen. 257
 —, Farbstoffbildung, Wirkung der Temperatur. 320
 —, Fetteinschlüsse. 257
 —, Fleischvergiftungs-, Untersuchungen. 1
 —, Fruktifikation. 175
 —, Geflügelcholera-, kulturelle Eigenschaften. 571
 —, Gifte, Wirkung auf die Bakterienvermehrung. 135

- Bakterien, Granula. 257
 —, Hühnercholera-, Vorkommen in Geflügeldiphtheriebelägen. 558
 —, Kern. 385
 —, Konidienbildung. 175
 —, Kugelbildung. 175
 —, pathogene, Wachstum in sterilisierten und nichtsterilen Abfallstoffen. 129
 —, —, Wirkung niedriger Temperatur. 175
 —, zur Rattenbekämpfung. 20
 —, Schweinerotlauf-, Infektion von Tauben. 575
 —, —, kulturelle Eigenschaften. 571
 —, —, Vorkommen in Geflügeldiphtheriebelägen. 558
 —, Sporenbildung. 388
 —, Struktur. 385
 —, Thermoresistenz. 187
 —, Toxinbildung, Wirkung der Temperatur. 320
 —, Ursache der Geflügeldiphtherie. 538
 —, Veränderungen im Tierkörper. 36. 277
 —, Vermehrung, Wirkung von Giften in kleinsten Mengen. 135
 —, Vorkommen im Blute bei Brustseuche der Pferde. 591
 —, — in Faeces. 54
 —, — bei der Geflügeldiphtherie. 549
 —, Wasser-, Wirkung auf das Wachstum von Choleravibrien und Pseudodysenteriebakterien. 133
 —, Wirkung des Alkohols. 440
 —, — von Giften in kleinsten Mengen auf ihre Vermehrung. 135
 —, — von Lezithin. 373
 —, — der Lipoide. 373
 —, — der Pyocyanase. 114
 —, — der Temperatur. 175. 187. 318. 675
 Bakteriolyse, Beziehung zu den Opsoninen. 463
 — bei Cholera, Schwankung derselben in ihrem Verlaufe. 602. 607
 — durch Serum, Beziehung zur Phagozytose befördernden Wirkung desselben. 463
 —, Verhalten der Choleraimmunkörper bei derselben. 194
 Bakterizidie durch Serum, Wirkung von Fibrin. 335. 337
 Bindehaut siehe Conjunctiva.
 Bioplastin, immunisierende Wirkung gegenüber Wut. 363
 Biuterina, Untersuchung, Vorkommen bei Vögeln. 412
 — *campanulata*, Anatomie, Verbreitung, Wirt. 425
 — *clavula*, Anatomie, Verbreitung, Wirt. 414
 — *cylindrica* n. sp., Anatomie, Verbreitung, Wirt. 422
 — *distincta* n. sp., Anatomie, Verbreitung, Wirt. 421
 — *globosa* n. sp., Anatomie, Verbreitung, Wirt. 418
 — *lobata* n. sp., Anatomie, Verbreitung, Wirt. 419
Biuterina longiceps, Anatomie, Verbreitung, Wirt. 424
 — *meropina*, Anatomie, Verbreitung, Wirt. 422
 — — nov. var. *macrancistrota*, Anatomie, Verbreitung, Wirt. 423
 — *motacilla* n. sp., Anatomie, Verbreitung, Wirt. 417
 — *paradisea* siehe *Biuterina clavula*.
 — *passerina* n. sp., Anatomie, Verbreitung, Wirt. 426
 — *planirostris*, Untersuchung. 428
 — *rectangula* n. sp., Anatomie, Verbreitung, Wirt. 416
 — *trapezoides* n. sp., Anatomie, Verbreitung, Wirt. 420
 — *triangularia*, Anatomie, Verbreitung, Wirt. 419
 — *trigonacantha* n. sp., Anatomie, Verbreitung, Wirt. 418
 Blut bei Brustseuche der Pferde, bakteriologische Untersuchung. 591
 —, Tuberkelbacillennachweis im fötalen Blute. 394
 Blutkörperchen, rote, mit Formalin fixierte, Agglutinabilität. 330
 —, —, Stromata, Agglutinabilität. 333
 —, —, Wirkung des Alkohols auf ihre Resistenz gegenüber hämolytischen Seris. 600
 Bovovaccin zur Immunisierung gegen Tuberkulose (der Rinder). 628
 —, Wirkung auf die Impflinge. 648
 Brustseuche der Pferde, bakteriologische Untersuchung des Blutes. 589
Caprimulgus, Wirt von *Biuterina trapezoides*. 420
Cassicus affinis, Wirt von *Biuterina longiceps*. 424
 Cerebrospinalflüssigkeit, immunisierende Wirkung gegenüber Wut. 221
 —, lyssizide Wirkung. 216
 —, Neutralisierung des Wutvirus. 216
 Chinin, Wirkung auf die Phagozytose. 444
 Chlamydozoen, Beziehung zu den Initialkörpern. 213
 —, Rolle bei Hühnerpest. 84
 —, — bei *Molluscum contagiosum*. 84
 —, — bei Scharlach. 84
 —, — bei der Taubenpocke. 84
 —, — beim Trachom. 84
 —, — bei der Vaccine. 84. 213
 —, — bei Wut. 84
 —, Untersuchungen. 213
 Cholera, Agglutination, Schwankungen derselben in ihrem Verlaufe. 602. 607
 —, Bakteriolyse durch Serum, Schwankung derselben in ihrem Verlaufe. 602. 607
 —, Epidemiologie, experimentelle Beiträge. 684
 —, Hühner- siehe Hühnercholera.
 —, Immunkörper, Verhalten bei der Bakteriolyse. 194
 —, opsonischer Index, Schwankungen derselben in ihrem Verlaufe. 602. 607
 Cholera typhoid, Entstehung. 619

- Cholesterin, immunisierende Wirkung gegenüber Wut. 360
 —, lyssizide Wirkung. 368
 Clostridien, Faeces-, Untersuchungen. 54
 Conjunctiva, Vorkommen gramnegativer Diplokokken. 141
 —, — des Meningococcus. 141
 —, — des Micrococcus catarrhalis. 141. 149
 —, — des Pneumococcus. 142
 Coracias garrulus, Wirt von Biuterina rectangula. 416
 Cornea, Vaccineinfektion beim Kaninchen. 207
 Cottus scorpius, Wirt von Galactosomum lacteum. 316
 Culex cantans, Eier. 91
 Cyclorchis amphileucus, Anatomie. 432
 Cytorrhycles vaccinia, Rolle bei der Vaccine. 210
 Dacnis cayana, Wirt von Biuterina motacilla. 417
 Diphtherie, Geflügel- siehe Geflügeldiphtherie.
 — des Menschen, Beziehung zur Geflügeldiphtherie. 539
 — Serum, Antitoxingehalt, Beziehung desselben zum Heilwert. 450
 Diplococcus lanceolatus, kulturelle Eigenschaften, Pathogenität. 592
 — —, Vorkommen im Blute bei Brustseuche der Pferde. 591
 Diplokokken, Vorkommen auf der Conjunctiva. 141
 —, gramnegative, Vorkommen auf der Conjunctiva. 141
 Distomen, Systematik und Faunistik. 428
 Distomum amphileucum siehe Cyclorchis amphileucus.
 — erinaceum, Vergleich mit Galactosomum lacteum. 317
 — truncatum siehe Pseudamphistomum truncatum.
 Dysenterie, Aetiologie der in Ostpreußen vorkommenden. 285
 —, Pseudo- siehe Pseudodysenterie. 286. 292
 —, Rolle des Bac. dysenteriae (Shiga-Kruse). 295
 —, Rolle des Bac. pseudodysenteriae Königsberg. 295
 —, — der Entamoeba histolytica. 285
 —, — der Entamoeba tetragena. 285
 —, Vorkommen in Ostpreußen, Aetiologie. 285
 Eiderente, Wirt von Spelophallus primas. 302
 —, — von Spelotrema pygmaea. 302
 Eidotter, immunisierende Wirkung gegenüber Wut. 361. 362
 Eier von Culex cantans. 91
 Eiweiß, immunisierende Wirkung gegenüber Wut. 361. 362
 —, Wirkung auf die Phagozytose. 446
 Elastikotropie bei Bac. anthracis. 125
 — bei Bac. Ellenbachensis. 126
 — bei Bac. mycoides. 126
 — bei Bac. ruminatus. 126
 Elastikotropie bei Bac. tumescens. 126
 — bei Bact. Zopfii. 126
 — bei Proteus mirabilis. 126
 — bei Proteus Zenkeri. 126
 Emberiza, Wirt von Biuterina trapezoides. 420
 Entamoeba africana siehe Entamoeba tetragena.
 — histolytica, Rolle bei der Dysenterie. 285
 — quadrigena siehe Entamoeba tetragena.
 — tetragena, Rolle bei der Dysenterie. 285
 Ente, Eider- siehe Eiderente.
 Epithelioma contagiosum der Tauben, Rolle der Chlamydozoen. 84
 — — der Tauben und Hühner, Virus, Untersuchung. 80. 86
 Essigsäure-Toleranz der Bakterien. 436
 Essigsäure, Wirkung auf Bac. coli com. 443
 —, — auf Bac. paratyphi. 443
 —, — auf Bac. prodigiosus. 443
 —, — auf Bac. typhi. 443
 —, — auf Bact. aceti. 444
 —, — auf Vibrio cholerae. 443
 Extrakte, Bakterien- siehe Bakterien-Extrakte.
 Faeces, Gärungs-, Züchtung des Granulobac. saccharobutyricus aus denselben. 54
 —, Vorkommen von Bakterien. 54
 Färbung der Nervenzellen. 697
 Farbstoffbildung durch Bakterien, Wirkung der Temperatur. 320
 Fettschlüsse bei Bakterien. 257
 Fibrin, Wirkung auf die Hämolyse durch Serum. 347
 —, — auf des Serums bakterizide Eigenschaft. 335. 337
 —, — auf des Serums hämolytische Eigenschaft. 347
 Fiebertemperatur, Wirkung auf Bakterien. 318
 —, — auf die Phagozytose. 320
 —, — auf die Schutzkräfte des Körpers. 318
 Fleischvergiftung, Erreger, Untersuchungen. 1
 —, Untersuchungen. 1
 Flüssigkeit, Cerebrospinal- siehe Cerebrospinalflüssigkeit.
 Fötus, Tuberkelbacillennachweis im Blute desselben. 394
 Gänsebrust, bakteriologische Untersuchung. 3
 Gärungsstuhl, Züchtung des Granulobac. saccharobutyricus aus demselben. 54
 Galactosomum lacteum, Morphologie, Vorkommen. 316
 — —, Vergleich mit Distomum erinaceum. 317
 — —, Verwandtschaft mit Monostomum senifusum. 316
 Galerita cristata, Wirt von Biuterina passerina. 426
 Galle, Wirkung auf Bac. anthracis. 583
 Geflügeldiphtherie, Aetiologie. 537
 —, bakteriologische Untersuchungen. 535. 549

- Geflügeldiphtherie, Beziehung zur Diphtherie des Menschen. 539
 —, Infektionsversuche. 559. 573
 —, Protozoen als Ursache. 537
 Geißelbacillus siehe Bacillus, Geißel-.
 Geschwülste, Lymphdrüsenmetastasen. 151
 —, Untersuchungen. 151
 Gewebe, Bindung von Tetanustoxin. 192
 —, Toxinbindung und deren Bedeutung für Inkubation und Immunität. 191
 Gifte, Bakterien-, Wirkung auf die Bakterienvermehrung. 135
 Gonokokken siehe Micrococcus gonococcus.
 Gracula, Wirt von *Biuterina distincta*. 421
 Granula bei Bakterien. 257
 Granulobacillus saccharobutyricus, Identität mit *Bac. granulobutyricus mobilis*. 57
 — —, Züchtung aus Gärungstühlen. 54
 Gyrostigma, Identität mit *Spathicera*. 164
 Hämagglutination, Beziehung zur Hämolyse. 680
 —, durch Ricin verursacht, Wirkungsart. 679
 —, Säurenatur des Ricinagglutinins. 679
 —, Untersuchungen. 330
 Hämolyse, Beziehung zur Hämagglutination. 680
 —, durch Ricin verursacht, Wesen. 679
 —, Säurenatur der hämolytischen Immunkörper. 679
 — durch Serum, Wirkung von Fibrin. 347
 —, Wirkung des Alkohols auf die Resistenz der Erythrocyten gegenüber derselben. 600
 Haut des Kaninchens, Uebertragung eines syphilitischen Primäraffektes. 597
 Heilwert des Diphtherieserums, Beziehung des Antitoxingehaltes zu demselben. 450
 Hirnsubstanz zur Immunisierung gegen Wut. 358. 378
 — zur Immunisierung gegen Wut, Unterschied zwischen grauer und weißer. 378
 Hohladel mit Stilet zu intravenöser Injektion und Aderlaß. 701
 Holometra, systematische Stellung. 434
 — *aegyptiaca* n. sp., Anatomie. 434
 — *exigua*, Anatomie. 434
 Hühnercholeraarten siehe Bakterien, Hühnercholera-.
 Hühnerpest, Erreger. 85
 —, Rolle der Chlamydozoen. 84
 Hund, Empfänglichkeit für den Keuchhustenbacillus. 71
 Hydrocelenflüssigkeit, Wirkung auf Kaninchen. 486
 Immunisierung des gesunden Menschen mit Kochs Tuberkulin. 353
 — gegen Tuberkulose mit Bovovaccin. 628
 — — — der Rinder. 667
 — — — mittels Tuberkelbacillen. 628. 657. 667
 — — — mittels Tuberkelbacillenfiltrate. 658
 — — Wut mit Bioplastin. 363
 — — — mit Cholesterin. 360
 — — — mit Eidotter. 361. 362
 — — — mit Eiweiß. 361. 362
 Immunisierung gegen Wut mit Hirnsubstanz. 358. 378
 — — — mit Lezithin. 359
 — — — mit Lipoidstoffen. 358. 365
 — — — mit Serum. 365. 381
 Immunität, natürliche, Bedeutung der Toxinbindung durch Gewebe für dieselbe. 191
 Immunkörper, Cholera-, Verhalten bei der Bakteriolyse. 194
 Imprägnation, Silber-, Verhalten des *Bac. anthracis*. 253
 Index, opsonischer, Schwankung im Verlaufe der Cholera. 602. 607
 Injektion, intravenöse, durch Hohladeln mit Stilet. 701
 Initialkörper, Beziehung zu Chlamydozoen. 213
 —, — zu den Guarnierischen. 210
 —, — zu Vaccinekörperchen. 210
 —, Rolle bei der Vaccine. 210
 Inkubation, Bedeutung der Toxinbindung durch Gewebe für dieselbe. 191
 Insekten, Saugversuche, Apparat für dieselben. 173
 Kaninchen, Arthussches Phänomen. 484
 —, myxomatöses Virus. 300
 —, Syphilis, Uebertragung eines Primäraffektes auf die Haut desselben. 597
 —, Ueberempfindlichkeit gegenüber Pferdeserum. 484
 —, Vaccineinfektion der Hornhaut. 207
 Kartoffelbacillus s. Bacillus, Kartoffel-.
 Kenopräzipitinreaktion, Beziehung zur Kenotoxinforschung. 496
 —, Untersuchungen. 496
 Kenotoxinforschung, Beziehung der Kenopräzipitinreaktion zu derselben. 496
 Kern der Bakterien. 385
 Keuchhusten, Aetiologie. 64
 —, experimenteller. 69
 Koaguline, Bildung auf gastrischem Wege. 681
 Körper, Guarnierische, Beziehung zu den Initialkörpern. 210
 —, —, Färbung. 158
 —, —, Rolle bei der Vaccine. 209
 —, Initial- s. Initialkörper.
 —, Negrische, Färbung. 158
 —, —, Nachweis bei Wut. 84. 596
 —, Russelsche, Färbung. 158
 —, —, Vorkommen in Geschwülsten. 157
 —, Vaccine- s. Vaccinekörperchen.
 Kolloidtrennungsv erfahren Rossis zur Konzentrierung der wirksamen Serumsubstanzen. 203
 Komplement-Absorption durch Bakterienextrakte, Mechanismus. 325
 Komplement-Bindung durch Bakterienextrakte, Mechanismus. 325
 — zur Differentialdiagnose des *Vibrio cholerae*. 691
 — bei Lepra. 480
 — zur Typhusdiagnose. 508
 — bei Variola. 500
 Komplement, Konzentrierung. 204

- Konidienbildung bei Bakterien.** 175
Kugelmühle, Beschreibung. 254
Kugeln, Bildung bei Bakterien. 175
Larus argentatus, Wirt von Spelotrema excellens. 307
Leptra, Serumkomplementbindung. 480
 —, Serum, Lezithinausflockung. 481
 —, —, Vorkommen spezifischer Antikörper in demselben. 480
Leukine, bakterizide Wirkung, Wirkung der Temperatur. 322
Lezithin-Ausflockung durch lepröses Serum. 481
Lezithin, immunisierende Wirkung gegenüber Wut. 359
 —, lyssizide Wirkung. 368
 —, Wirkung auf Bakterien. 373
Lipide, immunisierende Wirkung gegenüber Wut. 358. 365
 —, lyssizide Wirkung. 368
 —, Wirkung auf Bakterien. 373
Lunge, Anthrakose, Untersuchung. 44
Lymphdrüsen, Geschwulstmetastasen. 151
Malaria, Frühjahrs-, Vorkommen in Budapest. 406
 —, Phagozytose bei derselben. 677
 —, Vorkommen in Budapest, Untersuchung. 406
Manucodia chalybata, Wirt von Biuterina clavula. 414
Maritrema linguilla n. sp., Morphologie. 310
 — subdolum n. sp., Morphologie, Vorkommen bei Actitis hypoleucos. 313
Maus, Syphilis, Uebertragung auf dieselbe. 599
Meerschweinchen, durch Tetragenus tardissimus erkrankt. 42
Melitophagus albifrons, Wirt von Biuterina meropina nov. var. macrancistrota. 423
Meningococcus, Agglutinationsablauf. 94
 —, Vorkommen auf der Bindehaut. 141
Merops-Arten, Wirte von Biuterina meropina. 422. 423
Metorchis Looss, Untersuchung. 428
Micrococcus catarrhalis, Vorkommen auf der Bindehaut. 141. 149
 — cereus, Wirkung der Temperatur. 319
 — flavus, Wirkung der Temperatur. 319
 — gonococcus, Wirkung der Temperatur. 320
 — intracellularis meningitidis, Agglutinationsablauf, Wirkung von Wärme und Zeit. 94
 — tetragenus s. a. Tetragenus.
 — —, Wirkung der Temperatur. 319
Mikroorganismen, anaërober, der Mundhöhle, Kultur. 523
Milbe s. a. Sarcoptes.
 —, Ursache einer Rattenerkrankung. 167
Milch, Koaguline, Bildung auf gastrischem Wege. 681
 —, Pasteurisierung in Ruhe, Wirkung auf Tuberkelbacillen. 670
Milzbrand s. a. Bacillus anthracis.
Molluscum contagiosum des Menschen, Virus, Untersuchung. 82. 86
 — —, Rolle der Chlamydozoen. 84
 — —, Uebertragung durch Phthirus pubis. 87
Molothrus peconis, Wirt von Biuterina trapezoides. 420
Monostomum lacteum s. Galactosomum lacteum.
 — semifuscum, Verwandtschaft mit Galactosomum lacteum. 316
Mühle, Kugel-, Beschreibung. 254
Mundhöhle, anaërober Bakterien derselben, Kultur. 523
Muscicapa-Arten, Wirte von Biuterina campanulata. 425
Myxom, Virus myxomatosum der Kaninchen. 300
Nasenschleimhaut, Wutübertragung durch dieselbe. 595
Nervensubstanz, immunisierende Wirkung gegen Wut. 358. 378
Nervenzellen, Färbung. 697
Nikotin, Aggressin desselben. 193
Nukleoproteid des Bac. pestis, Wirkung auf die Atmung. 532
Oidium albicans, Wirkung der Temperatur. 319
 — lactis, Wirkung der Temperatur. 320
Opisthorchiidae, Bemerkungen, Diagnose. 428. 433
Opsonine s. a. Phagozytose.
 —, Bau. 461
 —, Beziehung zur Bakteriolyse. 463
 —, Index, Schwankung im Verlaufe der Cholera. 602. 607
 —, Konzentrierung. 205
 —, Paratyphus-, Bau. 461
 —, Schwankung im Verlaufe der Cholera. 602. 607
Organgewebe, Bindung von Tetanustoxin. 192
 —, Toxinbindung und deren Bedeutung für Inkubation und Immunität. 191
Ostinops decumanus, Wirt von Biuterina longiceps. 424
Pachytrema calculus, systematische Stellung. 435
Papier, Serum- s. Serumpapier.
Paradisea raggiana, Wirt von Biuterina clavula. 414
Paratyphus B, Epidemie im Inf.-Reg. No. 166. 29
 — -Opsonine, Bau. 461
Pasteurisieren der Milch in Ruhe, Wirkung auf Tuberkelbacillen. 670
Peripneumonie der Rinder, Virus, Untersuchung. 79. 86
Perlsucht s. Tuberkulose, Rinder-.
Pest siehe auch Bacillus pestis.
 — Hühner- siehe Hühnerpest.
Pferde, Brustseuche, bakteriologische Untersuchung. 589
Phänomen, Arthussches, bei Kaninchen. 484
Phagozytose siehe auch Opsonine.

- Phagozytose bei Malaria. 677
 —, Wirkung von Chininlösungen. 444
 —, Wirkung von Eiweiß. 446
 —, Wirkung der Fiebertemperatur. 320
 Phthirius pubis, Uebertragung des Molluscum contagiosum. 87
 Plakanthrakozidine, bakterizide Wirkung, Wirkung der Temperatur. 323
 Plasmodium vivax, Ursache der Malaria in Budapest. 407
 Pleuraflüssigkeit, Wirkung auf Kaninchen. 486
 Pneumococcus, Vorkommen auf der Bindehaut. 142
 —, Wirkung der Temperatur. 319
 Pneumokoniosen, Erforschung mittels Bac. clavatus-Sporen. 49
 —, Ursprung. 44
 Pneumonie, Peri- siehe Peripneumonie.
 Pocke, Tauben- siehe Epithelioma contagiosum der Tauben.
 Präzipitin, Keno- siehe Kenopräzipitin.
 — bei Typhus, Auftreten. 227
 — bei Typhus, Identität mit Agglutinin. 231
 Präzipitinogen bei Typhus, Untersuchungen. 227
 Proteus, Wirkung der Temperatur. 319
 — mirabilis, elastikotropische Wachstumserscheinungen. 126
 — —, Wirkung der Temperatur. 319
 — Zenkeri, elastikotropische Wachstumserscheinungen. 126
 Protozoen als Ursache der Geflügeldiphtherie. 537
 Pseudamphistomum truncatum, Anatomie. 429
 Pseudodysenterie, Untersuchungen. 295
 Ptilorhis Alberti, Wirt von Biuterina clavula. 414
 Pyocyanase, bakterizide Eigenschaften (Natur des wirksamen Körpers). 114
 —, Wirkung auf Bakterien. 114
 Ratin, Untersuchungen. 20
 Ratte, Bekämpfung durch Bakterien. 20
 —, Empfänglichkeit für Bac. enteritidis. 27
 —, durch Milben erkrankt. 167
 —, Wut, Uebertragung durch die Nasenschleimhaut. 595
 Rattenschädlinge, Untersuchungen. 20
 Rind, Tuberkulose, Immunisierung mit Bovovaccin. 628
 Rotz, Diagnose mittels Schnellagglutination. 249
 Roupbacillus siehe Bacillus, Roup-
 Ruhr siehe Dysenterie.
 Russelsche Körper siehe Körper, Russelsche.
 Saccharomyces cerevisiae, Wirkung der Temperatur. 319
 Sarcina alba, Wirkung der Temperatur. 319
 — aurantiaca, Wirkung der Temperatur. 319
 Sarcoptes, Ursache einer Rattenerkrankung. 167
 Saugen der Insekten, Apparat für Versuche. 173
 Scharlach, Rolle der Chlamydozoen. 84
 Schaumorgane, Aetiologie. 396
 Schinken, bakteriologische Untersuchung. 3
 Schleimhaut, Nasen- siehe Nasenschleimhaut.
 Schutzkräfte des Körpers, Wirkung der Fiebertemperatur. 318
 Schweinerotlaufbakterien siehe Bakterien, Schweinerotlauf-
 Serum, Agglutination, Schwankung im Verlaufe der Cholera. 602. 607
 —, —, Wirkung der Wärme und Zeit auf deren Ablauf. 92
 —, —, Konzentrierung desselben. 205
 —, Bakteriolyse, Beziehung zur Phagozytose befördernden Wirkung. 463
 —, —, Schwankung im Verlaufe der Cholera. 602. 607
 —, Bakterizidie, Wirkung von Fibrin. 335. 337
 —, —, Wirkung der Temperatur. 322
 —, Diphtherie-, Antitoxingehalt, Beziehung desselben zum Heilwert. 450
 —, hämolytische Eigenschaft, Wirkung von Fibrin. 347
 —, hämolytisches, Wirkung des Alkohols auf die Resistenz der Erythrocyten gegenüber demselben. 600
 — zur Immunisierung gegen Wut. 365. 381
 —, Koaguline für Milch, Bildung auf gastrischem Wege. 681
 —, Komplement, Konzentrierung desselben. 204
 —, Komplementbindung siehe Komplementbindung.
 — Lepröser, Lezithinausflockung. 481
 — —, Vorkommen spezifischer Antikörper. 480
 —, Opsonine siehe Opsonine.
 —, Pferde-, Wirkung auf Kaninchen. 484
 —, Phagozytose befördernde Wirkung, Beziehung zur bakteriolytischen. 463
 —, mit Streptokokkenexsudaten hergestellt, Eigenschaft. 109
 —, Ueberempfindlichkeit. 484
 —, wirksame Substanzen, Kolloidtrennungsv erfahren zur Konzentrierung derselben. 203
 —, Wirkung auf Bac. typhi. 277
 Serumdiagnose des Rotzes mittels Schnellagglutination. 249
 Serumpapier, Jakobsthalsches, Brauchbarkeit. 34
 Seuche, Brust- siehe Brustseuche.
 Silberimprägnation, Verhalten des Bac. anthracis. 253
 Spathicera, Identität mit Gyrostigma. 164
 — conjungens, Vorkommen beim Nashorne. 166
 — meruensis, Vorkommen beim Nashorne. 166
 — pavesii, Vorkommen beim Nashorne. 166
 — rhinocerotis bicornis, Vorkommen beim Nashorne. 166
 — sumatrensis, Vorkommen beim Nashorne. 166
 Spelophallus primas n. g. n. sp., Morphologie, in der Eiderente. 302

- Spelotrema excellens* Nicoll, Morphologie. 307
 — — —, Vorkommen in *Larus argentatus*. 307
 — *pygmaea*, Vorkommen in der Eiderente. 302
Spirillum, Käse-, Wirkung der Temperatur. 320
 — *sputigenum*, Beziehung zu *Bac. fusiformis*. 525
 — —, Kultur. 524
 — —, Morphologie. 524
 — *volutans*, Fetteinschlüsse. 272
 — —, Granula. 272
 — —, Sporenbildung. 390
 — —, Struktur. 390
Spirochaete pallida, Nachweis bei Syphilis. 598
 Sporenbildung bei Bakterien. 388
Staphylococcus pyogenes albus, Vorkommen bei Brustseuche im Blute. 591
 — — —, Wirkung der Temperatur. 319
 — — *aureus*, Vorkommen bei Brustseuche im Blute. 591
 — — —, Wirkung der Temperatur. 319
 — — *citreus*, Wirkung der Temperatur. 319
Streptococcus equi, Serum mittels durch denselben erzeugter Exsudate hergestellt. 109
Stromata, Blutkörperchen-, Agglutination. 333
Strongyloplasma siehe Virus, filtrierbare, mikroskopisch sichtbare.
Strongylosomen siehe *Strongyloplasma*.
 Struktur der Bakterien. 385
 Stuhl siehe Faeces.
Synallaxis phryganophila, Wirt von *Biuterina trigonacantha*. 418
 Syphilis, Nachweis der *Spirochaete pallida*. 598
 —, Uebertragung auf Mäuse. 599
 —, Uebertragung eines menschlichen Primäraffektes auf die Haut des Kaninchens. 597
Tachyphonus-Arten, Wirte von *Biuterina cylindrica*. 422
Taenia motacilla cayanae siehe *Biuterina motacilla*.
 Tänen, Vorkommen bei Vögeln. 412
Taenioptera velata, Wirt von *Biuterina campanulata*. 425
 Taubenpocke siehe *Epithelioma contagiosum* der Taube.
 Temperatur, Wirkung auf den Agglutinationsablauf. 92
 —, — auf *Aspergillus flavescens*. 319
 —, — auf *Asp. niger*. 319
 —, — auf *Bac. acidificans*. 320
 —, — auf *Bac. anthracis*. 189. 319
 —, — auf *Bac. anthracoides*. 320
 —, — auf *Bac. butyricus*. 319
 —, — auf *Bac. diphtheriae*. 319
 —, — auf *Bac. dysenteriae*. 182. 319
 —, — auf *Bac. enteritidis*. 319
 —, — auf *Bac. erythrogenes*. 320
 —, — auf *Bac. erythrosporus*. 320
 Temperatur, Wirkung auf *Bac. faecal alcaligenes*. 319. 320
 —, — auf *Bac. ferrugineus*. 320
 —, — auf *Bac. ficianus*. 320
 —, — auf *Bac. fluorescens liquefac.* 320
 —, — auf *Bac. fluoreacens non liquefac.* 320
 —, — auf *Bac. fluorescens putidus*. 320
 —, — auf *Bac. indicus*. 319
 —, — auf *Bac. isaricus ruber*. 319. 320
 —, — auf *Bac. lactis sapon.* 320
 —, — auf *Bac. megatherium*. 319
 —, — auf *Bac. mesentericus*. 319
 —, — auf *Bac. metatyphi*. 319
 —, — auf *Bac. muripestifer*. 319
 —, — auf *Bac. paratyphi*. 183. 319
 —, — auf *Bac. pneumoniae*. 319
 —, — auf *Bac. praepolens*. 319
 —, — auf *Bac. prodigiosus*. 320
 —, — auf *Bac. pseudodysenteriae*. 320
 —, — auf *Bac. psittacosis*. 320
 —, — auf *Bac. pyocyaneus*. 319
 —, — auf *Bac. pyocyaneus* (Farbstoffbildung). 320
 —, — auf *Bac. rhinoscleromatis*. 319
 —, — auf *Bac. subtilis*. 319
 —, — auf *Bac. suispestifer*. 319
 —, — auf *Bac. tetani*. 320
 —, — auf *Bac. tuberculosis*. 319
 —, — auf *Bac. tuberculosis avium*. 320
 —, — auf *Bac. typhi*. 178. 318
 —, — auf *Bac. typhi exanthematici*. 319
 —, — auf *Bac. typhi murium*. 319
 —, — auf *Bact. coli commune*. 319
 —, — auf *Bact. helvolum*. 320
 —, — auf *Bact. kiliense*. 320
 —, — auf Bakterien. 175. 187. 318. 675
 —, — auf die Bakterizidie durch Leukine. 322
 —, — auf die Bakterizidie durch Plankthrazokozidine. 323
 —, — auf die Bakterizidie durch Serum. 322
 —, — auf Gonokokken. 320
 —, — auf Käsespirillum. 320
 —, — auf den Kapselbacillus. 319
 —, — auf *Micrococcus cereus*. 319
 —, — auf *Micrococcus flavus*. 319
 —, — auf *Micrococcus tetragenus*. 319
 —, — auf *Oidium albicans*. 319
 —, — auf *Oidium lactis*. 320
 —, niedere, Wirkung auf pathogene Bakterien. 175
 —, Wirkung auf die Phagozytose. 320
 —, — auf *Pneumococcus*. 319
 —, — auf *Proteus*. 319
 —, — auf *Proteus mirabilis*. 319
 —, — auf *Saccharomyces cerevisiae*. 319
 —, — auf *Sarcina alba*. 319
 —, — auf *Sarcina aurantiaca*. 319
 —, — auf die Schutzkräfte des Körpers. 320
 —, — auf *Staphylococcus pyogenes albus*. 319
 —, — auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. 319

- Temperatur, Wirkung auf *Staphylococcus pyogenes citreus*. 319
 —, — auf *Torula aurantica*. 319
 —, — auf die Toxinbildung durch Bakterien. 320
 —, — auf *Vibrio cholerae*. 176
 —, — auf *Vibrio danubicus*. 319
 —, — auf *Vibrio Dunbar*. 319
 —, — auf *Vibrio Finkler-Prior*. 319
 —, — auf *Vibrio Massauah*. 319
 —, — auf *Vibrio Metschnikowi*. 320
 —, — auf *Vibrio Nasik*. 319
 Tetanustoxin, Bindung durch Organewebe. 192
Tetragenus tardissimus n. sp., morphologische und kulturelle Eigenschaften. 42
 — n. sp., Pathogenität für Meerschweinchen. 42
Thamnophilus sulfuratus, Wirt von *Biuterina campanulata*. 425
 Thermoresistenz der vegetativen Formen der aeroben Sporenbildner. 187
Tityra semifasciata, Wirt von *Biuterina globosa*. 418
Torula aurantiaca, Wirkung der Temperatur. 319
 Toxin des *Bac. pestis*, Wirkung auf die Atmung. 529
 —, Bildung durch Bakterien, Wirkung der Temperatur. 320
 —, Bindung durch Organewebe und deren Bedeutung für Inkubation und Immunität. 191
 —, Keno- siehe Kenotoxin.
 Trachom, Rolle der Chlamydozoen. 84
 Trematoden, Vogel-, Beiträge. 302
 Trennungsvorverfahren, Kolloid- zur Konzentrierung der wirksamen Serumsabstanzen. 203
Trypanosoma Wrublewskii n. sp., Morphol., Vorkommen im Wiesent. 162. 164
 Tuberkulin Kochs, Immunisierung des gesunden Menschen. 353
 Tuberkulose, Immunisierung mittels Tuberkelbacillen. 628. 657. 667
 —, — Tuberkelbacillenfiltrate. 658
 —, Nachweis von *Bac. tub.* im Blute des Fötus. 394
 —, Rinder-, Immunisierung. 667
 —, — mit *Bovovaccin*. 628
Turdusarten, Wirt von *Biuterina triangularia*. 419
 Typhoid, Cholera- siehe Cholera-typhoid.
 Typhus abdominalis, Agglutinin, Auftreten desselben. 227
 —, —, Identität mit Präzipitin. 231
 —, —, Agglutino-gen, Untersuchungen. 227
 — abdominalis-Antigene und ihre Antikörper. 223
 —, —, Diagnose mittels Agglutination, Wert von Typhusbacillen-Mischbouillon. 517
 —, —, Diagnose mittels Komplementbindung. 508
 —, —, Präzipitin, Auftreten desselben. 227
 —, —, Präzipitin, Identität mit Agglutinin. 231
 Typhus abdominalis, Präzipitinogen, Untersuchungen. 227
 —, —, Serodiagnose, Wert der Typhusbacillen-Mischbouillon. 517
Upupa epops, Wirt von *Biuterina lobata*. 419
 Vaccin, Bovo- siehe *Bovovaccin*.
 Vaccine, Erreger. 84
 —, Hornhautinfektion beim Kaninchen. 207
 Vaccine-Körperchen, Beziehung zu Initialkörperchen. 210
 —, Untersuchungen. 207
 Vaccine, Rolle der Chlamydozoen. 84. 213
 —, Rolle der Guarnierischen Körperchen. 209
 —, Rolle der Initialkörperchen. 210
 Variola, Komplementbindung. 500
Vibrio siehe auch *Vibrionen*.
Vibrio cholerae, Agglutination. 94. 686
 —, —, Agglutinationsablauf, Wirkung von Wärme und Zeit. 94
 —, —, Differentialdiagnose. 684
 —, —, Komplementbindung zur Differentialdiagnose. 691
 —, —, Kugelbildung. 176
 —, —, saprophytischer Zustand im Wasser. 695
 —, —, Wachstum bei Anwesenheit von Wasserbakterien. 133
 —, —, Wachstum in sterilen und nichtsterilen Abfallstoffen. 130
 —, —, Wirkung des Alkohols. 442
 —, —, Wirkung der Essigsäure. 443
 —, —, Wirkung von Giften in kleinsten Mengen. 139
 —, —, Wirkung niederer Temperatur. 176
 — *danubicus*, Wirkung der Temperatur. 319
 — *Dunbar*, Wirkung der Temperatur. 319
 — *Finkler-Prior*, Wirkung der Temperatur. 319
 — *Massauah*, Wirkung der Temperatur. 319
 — *Metschnikoff*, Agglutinationsablauf, Wirkung von Wärme und Zeit. 94
 — *Metschnikoff*, Wirkung der Temperatur. 320
 — *Nasik*, Wirkung der Temperatur. 319
Vibriolyse siehe auch *Bakteriolyse*.
Vibrionen, anaerobe, der Mundhöhle, Kultur. 526
 Virus des Epithelioma contagiosum der Tauben und Hühner, Untersuchung. 80. 86
 —, filtrierbare, mikroskopisch sichtbare (*Strongyloplasmen*). 77. 506
 — des *Molluscum contagiosum* des Menschen, Untersuchung. 82. 86
 — *myxomatosa* der Kaninchen. 300
 — der Peripneumonie der Rinder, Untersuchung. 79. 86
 Vogeltänien, Untersuchungen. 412
 Vogeltrematoden, Beiträge. 302
 Wachstum, elastikotropisches, bei Bakterien. 125
 Wärme, Wirkung auf den Agglutinationsablauf. 92
 Wasserbakterien siehe *Bakterien*, Wasser-

Wasser, Vorkommen und Veränderungen des <i>Vibrio cholerae</i> in demselben.	693	Wut, Immunisierung mit Serum.	365. 381
Widalreaktion siehe Agglutinationsreaktion.		—, Negrische Körper, Nachweis.	84. 596
Wiesent, Wirt von <i>Trypanosoma Wrublewskii</i> .	162. 164	—, Rolle der Chlamydozoen.	84
Wut, Erreger.	84	— der Ratte, Uebertragung durch die Nasenschleimhaut.	595
—, Immunisierung mit Bioplastin.	363	—, Uebertragung durch die Nasenschleimhaut.	595
—, — mit Cerebrospinalflüssigkeit.	220	Wut-Virus, Neutralisierung durch Cerebrospinalflüssigkeit.	216
—, — mit Cholesterin.	360	— —, Untersuchung.	84. 87
—, — mit Eidotter.	361. 362	— —, Wirkung des Cholesterins.	365
—, — mit Eiweiß.	361. 362	— —, — des Lezithins.	368
—, — mit der Hirnsubstanz.	358. 378	— —, — der Lipoide.	368
—, — mit Hirnsubstanz, Unterschied zwischen grauer und weißer.	378	— —, — von Serum.	372
—, — mit Lezithin.	359	Zeit, Wirkung auf den Agglutinationsablauf.	92
—, — mit Lipoidstoffen.	358. 365		

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Anaëroben siehe Bakterien, anaërobe.		<i>Biuterina motacilla</i> n. sp., Haken.	417
Apparat zu Versuchen über das Saugen der Insekten.	174	— <i>passerina</i> n. sp.	427
<i>Bacillus</i> , Kartoffel-, Struktur. (Taf. I, Fig. 1—24.)	392	— <i>rectangula</i> n. sp.	417
— <i>anthracis</i> , elastikotropische Erscheinungen beim Wachstum.	127	— <i>trapezoides</i> n. sp.	420
— —, Fetteinschlüsse. (Taf. I, II.)	274	— <i>triangularia</i> , Haken.	419
— —, Granula. (Taf. I, II.)	274	— <i>trigonacantha</i> n. sp.	418
— —, Sporen. (Taf. I.)	274	—, Uterus und Paruterinorgane.	413
— <i>botulinus</i> , Kultur.	123	Guarnierische Körper siehe Körper, Guarnierische.	
— <i>dysenteriae</i> , Kugelbildung.	182	Granulobakterien siehe Bakterien, Granulo-.	
— —, Wirkung niedriger Temperatur.	182	Hohlnadel mit Stilet zur intravenösen Injektion und Aderlaß.	703
— <i>fusiformis</i> . (Taf., Fig. 10.)	528	<i>Holometra exigua</i> .	434
— —, Mischkultur mit <i>Spirillum sputigenum</i> . (Taf., Fig. 7.)	528	Hornhaut, Vaccine, Schnitte. (Taf.)	216
— <i>mycoides</i> , Struktur. (Taf. II, Fig. 1—20.)	392	Insekten, Saugen, Apparat zu Versuchen hierüber.	174
— <i>paratyphi</i> , Kugelbildung.	184	Kaninchen, Syphilis der Haut.	598
— —, Wirkung niedriger Temperatur.	184	Kartoffelbacillus siehe <i>Bacillus</i> , Kartoffel-Körper, Guarnierische, in mit Vaccine geimpfter Hornhaut. (Taf.)	216
— <i>subtilis</i> , Struktur. (Taf. I, Fig. 25—39.)	392	Kugelbildung bei <i>Bac. dysenteriae</i> .	182
— —, Kultur.	124	— bei <i>Bac. paratyphi</i> .	184
— <i>tumescens</i> , Fetteinschlüsse, Granula. (Taf. I, Fig. 5.)	274	— bei <i>Bac. typhi</i> .	179. 180
— <i>typhi</i> , Kugelbildung.	179. 180	— bei <i>Vibrio cholerae</i> .	176. 177
— —, Wirkung niedriger Temperatur.	180	Kugelmühle.	255
Bakterien, anaërobe, Geißel-. (Taf., Fig. 1—6.)	528	Malaria, Phagozytose. (Taf.)	678
—, —, Kultur- und Isolierungsmethoden.	123—125	<i>Maritrema linguilla</i> , Gesamtbild.	311
—, —, aus Schaumorganen. (Taf.)	405	— <i>subdolum</i> n. sp., Gesamtbild.	313
—, Granulo-, Kulturen.	59—61	<i>Micrococcus tetragenus tardissimus</i> n. sp., Agar- und Bouillonkultur.	42
<i>Biuterina campanulata</i> .	426	Milbe siehe <i>Sarcoptes</i> .	
— <i>clavula</i> , Proglottis, Flächenschnitt.	415	Mühle, Kugel-.	255
— —, Querschnitt.	415	Ohr, Ratten-, Milbengänge.	167
— <i>cylindrica</i> n. sp.	422	Phagozytose bei Malaria. (Taf.)	678
— <i>distincta</i> n. sp.	421	<i>Pseudamphistomum truncatum</i> .	430. 431
— <i>globosa</i> n. sp., Haken.	418	Ratte, Erkrankung durch Milben.	168—171
— <i>lobata</i> n. sp.	419	<i>Sarcoptes</i> , Ei.	171
— <i>longiceps</i> .	424	—, Rattenerkrankung durch dieselben.	168—171
— <i>meropina</i> nov. var. <i>macrancistrota</i> .	423	—, Weibchen.	170. 171
		Saugen der Insekten, Apparat zu Versuchen hierüber.	174

Schaumorgane, Bakterien aus denselben. (Taf.)	405	Syphilis, Kaninchen, Uebertragung auf daselbe.	598
Schwanz, Ratten-, durch Milben erkrankt.	170	Tetragenus tardissimus n. sp., Agar- und Bouillonkultur.	42
Spelophallus primas, Gesamtbild.	304	Trypanosoma Wrublewskii n. sp., Morphologie. (Taf.)	162
— —, Quer- und Längsschnitt.	305	Vaccine der Hornhaut, Schnitte. (Taf.)	216
Spelotrema excellens, Gesamtbild.	308	Vibrio, anaërober, der Mundhöhle. (Taf., Fig. 8.)	528
— —, Querschnitt.	309	— cholerae, Kugelbildung.	176. 177
Spirillum sputigenum. (Taf., Fig. 9.)	528	— —, Wirkung niedriger Temperatur.	176. 177
— —, Mischkultur mit Bac. fusiformis. (Taf., Fig. 7.)	528		
— volutans, Struktur. (Taf. II, Fig. 21—35.)	392		

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung:

Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde

Originale

in Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler,
Greifswald

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. M. Braun
Königsberg i. Pr.

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 15, Hohenzollerndamm 4II

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XLVIII. Bd.

Jena, den 9. März 1909.

Heft 6.

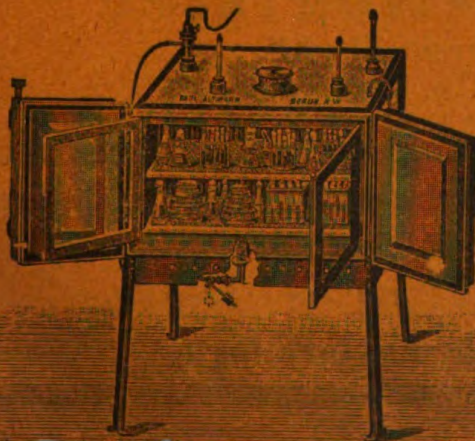
Preis für den Band (50 Bogen) 15 Mark. Schwierige Tafeln werden einem Bogen gleich gerechnet. — Die Nummern erscheinen zwanglos je nach dem vorliegenden Stoffe.
Bei Einzelverkauf Preis für einen einfachen Druckbogen 40 Pfg., für eine Tafel 60 Pfg.

Paul Altmann

Luisen-Strasse 47 Berlin N.W., Luisen-Strasse 47
Ecke Schumannstrasse. Ecke Schumannstrasse.

Fabrik und Lager

aller Apparate und Utensilien für Chemie, Bakteriologie,
Mikroskopie und Hygiene.



Vollständige Einrichtungen
von
bakteriolog.-mikroskop. Laboratorien,
sowie
hygienisch-chemischen Arbeitsstätten.

Dampf-Desinfektionsapparate.
Neue Wasseruntersuchungsapparate.

Spezialität: Brutschränke
in dauerhafter, zweckmässiger Aus-
führung und jeder Grösse.

Serodiagnostische Apparate.

Schüttelapparate — Centrifugen.

Gefrierapparate.

Ansüfhrliche illustrierOriginal from
an Interessenten gratis und franko

Vereinigte Fabriken für Laboratoriumsbedarf

G. m. b. H.

Berlin N., Scharnhorststr. 22.

Vorteilhafteste Bezugsquelle

für vollständige Ausstattungen von Laboratorien, sowie Ergänzung einzelner Apparate.

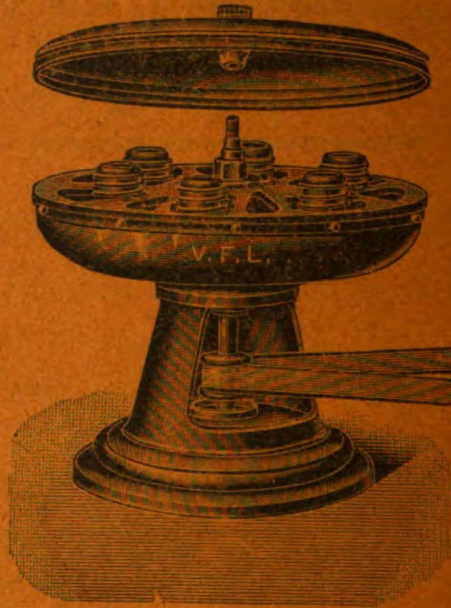


Besichtigung des neuen Fabrik-Etablissement der

V. F. L.

mit

Mechan. Werkstätten,
Apparate-Bauanstalt
Metallschleiferei,
Galvan. Anstalt,
Glasbläserei,
Glasschleiferei,
Glasgraviererei,
Schlosserei,
Tischlerei,
Versuchs-Laboratorium,
Demonstrationssaal,
Ausstellungsräumen
erbeten.



**Hauptpreisliste
No. 54**

über

bakteriologische,
mikroskopische
physiologische
und medicin.-chem.
Apparate
auf Verlangen
gratis u. franko.

Spezialprospekt
für die nebenstehende
Zentrifuge zur
Verfügung.

Zentrifuge für elektrischen Antrieb zum Ausschleudern von Bakterien, Serum etc. für 4000—5000 Touren pro Minute. Inhalt der Schleudergefäße bis 2000 ccm.

— Ruhiger Gang. — Ohne Fundament überall aufstellbar. —

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie,
Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

General-Register

für die Bände XI—XX.

Bearbeitet von Dr. Kurt Tautz.

Preis 6 Mk.

Institut für Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation

Berlin N. 65, Seestrasse.

Praktikanten-Laboratorium

für angewandte Bakteriologie.

SPEYER & PETERS

Spezialbuchhandlung für Medizin

== Berlin N.W.7, Unter den Linden 43 ==

bieten in wohlerhaltenen, garantiert vollständigen
Exemplaren an:

Annales de Dermatologie. Bd. 1—32. 1869—1901. Meist ungeb.	500.—
Annales d. Maladies des organes génito-urinaires. Jahrg. 1—22. 1882—1904. Geb.	700.—
Archiv f. mikrosk. Anatomie. Bd. 1—67, Heft 2. 1865—1905. (3135.30). Geb.	1750.—
Archiv f. Dermatologie. Bd. 1—74. 1869—1905. (1517.—). Ungeb.	750.—
Carswell, Pathological anatomy. 1838. Geb.	90.—
Centralblatt f. d. gesamte Medizin. Bd. 1883—1901. (950.—). Ungeb.	250.—
Hirsch, Handb. d. histor.-geogr. Pathologie. 2. Bearb. 3 Bde. 1881—86. (38.—) Geb.	25.—
Journal de l'anatomie et de la physiologie. Jahrg. 1—38. 1864—1902. Meist ungeb.	750.—
Karg u. Schmorl, Atlas d. pathol. Gewebelehre. 1893. (50.—). Geb.	25.—
Ponfick, Topogr. Atlas d. medicin.-chirurg. Diagnostik. 1901—05. (80.—). Ungeb.	50.—
Rundschau, Hygien. Jahrg. 1—15. 1891—1905. (408.—). Meist ungeb.	200.—
Virchow, Die krankhaften Geschwülste. I—III. 1863—65. Geb.	50.—
Zeitschrift f. Hygiene. Bd. 1—58. 1886—1908. (1148.—). Ungeb.	700.—
Zeitschrift f. diätet. u. phys. Therapie. Bd. 1—11. 1898—1907. (124.—). Ungeb.	80.—
Zeitschrift f. Tuberkulose. Bd. 1—11. 1900—07. (220.—). Meist ungeb.	135.—

Wir suchen zu kaufen

vollständige Serien und einzelne Bände von:

- Archiv f. klin. Medizin. Bd. 52—89.
- Archiv f. experim. Pathologie.
- Virchows Archiv. Bd. 1—12.
- Deutsche Zeitschrift f. Tiermedizin.

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 angegebenen
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. *W.B.*

BIOLOGICAL LIBRARY
COLUMBIA UNIVERSITY

BUTLER

