

UC-NRLF



B 3 789 177



LZ ~~C~~ENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde und
Infektionskrankheiten**

Erste Abteilung. 75. Band

Originale

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 75. Heft 1.

Ausgegeben am 29. August 1914.

Nachdruck verboten.

Bacillus s. Granulobacillus putrificus nov. sp.

Von Dr. St. Serkowski,

Vorsteher des Bakteriologischen Laboratoriums in Warschau.

Mit 8 Textfiguren.

Die mehrmals von mir isolierte, besprochene Bakterienart unterscheidet sich prinzipiell von allen anderen bekannten Arten: In morphologischer Beziehung ist sie dem *Bac. diphtheriae* analog, biologisch zeigt sie eine gewisse Aehnlichkeit mit dem *Bac. proteus vulgaris*, und ihre Kulturen endlich sind von den beiden verschieden.

Isolierungsquelle: Meistens Kot und Abflüsse in den biologischen Behältern (System von Schweder), seltener menschliche Sekretionen aus der Nase (Rhinitis, Highmoritis), von der Blase (Cystitis), von der Prostata bei Entzündungen (Prostatitis); weiter unter normalen Verhältnissen auf der Schleimhaut der Conjunctiva, in der Nase, der Mundhöhle, der Harnröhre, dem Darne; mitunter in Gestalt von Symbiose mit anderen krankheits- oder eitererregenden Bakterien, auf Schleimhäuten und in menschlichen Ausscheidungen. Da ich während einer ganzen Reihe von Jahren diese Art öfters isoliert habe, betrachtete ich dieselbe als eine ganz zufällige „Fremdflora“, die mit dem Krankheitsvorgange nichts Gemeinsames hatte. Erst die Ermittlung der genannten Bacillen in Reinkulturen bei einigen Entzündungen der Schleimhäute (Highmoritis, Prostatitis, und bei Rhinitis haemorrhagica bei Kindern) ohne Beteiligung anderer Bacillen, weiter ihre häufige Anwesenheit im normalen und pathologischen Kot, die riesige, ja mitunter überwiegende Zahl der Kolonien jener Bacillen in den biologischen Behältern von Schweder — alle diese Gründe veranlaßten mich vor 2 Jahren, eine genaue Untersuchung und Differenzierung der genannten Bacillenart einzuleiten, die in biologischer und morphologischer Beziehung eine ganze Reihe höchst charakteristischer Kennzeichen aufweist.

Morphologie. Die besprochenen Bakterien sind unbewegliche Stäbchen ohne Sporen; in den ersten Passagen im Loefflerschen Serum Nährboden, sowie unmittelbar in schleimhaltigen Stoffen sind diese Bacillen weder in bezug auf Größe und Form, noch auf ihre Anordnungsart von dem gewöhnlichen *Bac. diphtheriae* zu unterscheiden. Eine konstante Erscheinung bilden 2, seltener 3 metachromatische Ernst-Babessche Körnchen; ein- und zweiseitige, kolbenartige Anschwellungen, wie beim *Bac. diphtheriae*. In den weiteren Passagen verlieren jene Körnchen ihren Polcharakter, wogegen der ganze Bacillus in seiner gesamten Länge zergliedert, einseitig kolbenartig angeschwollen und morphologisch dem *Bac. xerosis* oder dem *Bact. septatum* analog wird.

Mit Rücksicht auf das stetige Vorhandensein einer inneren Granulation dürfen diese Bacillen als „Granulobacillus“ bezeichnet werden. Es läßt sich nicht feststellen, ob diese beständig vorhandenen Granula von derselben Beschaffenheit wie die unbeständigen Körnchen in anderen Bacillen sind (*Bac. subtilis*, Sarcinae); die Polkörnchen sind am besten in frisch isolierten Stämmen und in den ersten Passagen von

jungen Kulturen zu sehen und sie treten außer in dem Loefflerschen Serum in unseren Bacillen auch in anderen Substraten auf, und die Granulationen machen endlich in den weiteren Passagen der Segmentation Platz. Zwar kommen — wie dies auf dem Mikrobiologen-Kongreß zu Berlin im Jahre 1913 konstatiert worden ist — die Polkörperchen auch in Typhusbacillen, im *Vibr. cholerae*, in dem *Bac. mallei* und in vielen anderen, nicht krankheitserregenden Arten vor, in denen aber jene Erscheinungen unbeständig aufzutreten pflegen; dagegen zeichnet sich der *Granulobacillus* konstant, von seiner Herkunft abgesehen, durch das Vorhandensein der Polkörperchen aus. Morphologisch nähert er sich in dieser Hinsicht mehr dem *Bac. diphtheriae*, als dem *Bac. pseudodiphtheriae* und den verwandten Arten (Diphtheroide).

Färbung. Die Polkörperchen treten am besten bei der vitalistischen Färbung unfixierter Präparate mit Loefflerschem Methylenblau hervor (dasselbe darf auch mehrfach verdünnt sein); eine nicht frische, vor einigen Wochen bereitete Methylenblaulösung oder auch ein Zusatz von *Acid. aceticum glaciale* (anstatt Lauge) zum Methylenblau ist das Zweckmäßigste. Das Methylenblau eignet sich überhaupt besser, als andere basische Farbstoffe, um die Zentralkörperchen hervortreten zu lassen; auch ist die Neissersche Methode dafür geeignet, wie bei den Diphtheriepräparaten.

Der *Granulobacillus* ist weder säure-, noch alkohol-, noch laugefest; färbt sich gut mit Hilfe der Gramschen Methode (grampositiv), wobei sich jedoch auch seine Zone mitfärbt, so daß die Bacillen infolgedessen größer und dicker erscheinen (ihr Durchmesser vergrößert sich um $\frac{1}{2}$ — 1μ), als bei anderen Färbungsverfahren.

Kolonieen. Auf festen Nährböden, unter aërobischen Verhältnissen, bei einer Temperatur von 37° C entwickelt sich der *Granulobacillus* in Gestalt von weißen Kolonieen, die keine Neigung zum Zusammenfließen zeigen; die Kolonieen sind konvex, massiv, von gleichmäßigem oder leicht gezacktem Umriss; mikroskopisch untersucht, stellen sie eine dunkelbraune Masse ohne wahrnehmbare Struktur dar; nach Zerreißen einer Kolonie mittels einer Nadel nimmt man mikroskopisch kleine, „sekundäre“ Kolonieen wahr. Gelatine und Loefflersches Serum erleiden keine Verflüssigung. (Es sei hier noch erwähnt, daß der *Granulobacillus* von Russell die Gelatine rasch peptonisiert.)

Flüssige Nährböden, wie z. B. Fleisch- oder Glycerinbouillon, trüben sich gleichmäßig, obwohl nicht intensiv — im Gegensatz zu den Kulturen des *Bac. diphtheriae*, *pseudodiphtheriae* und *xerosis*, die in Bouillon charakteristische Niederschläge geben. Kein Indol und Skatol in Bouillon und im Pepton. Verdünnte, wie auch unverdünnte Milch bleibt unverändert, sogar bei längerem Stehen, trotz der sich vollziehenden Entwicklung (Temperatur 37° C).

Der *Granulobacillus*, gleich wie *Bac. proteus vulgaris*, steigert die Alkaleszenz einiger Nährböden, die leicht zerlegbare organische Substanzen enthalten. Die untenstehende Tabelle gibt den Alkaleszenzgrad der Fleischbouillons (nebst polarimetrischer Bestimmung) an, ohne Zusatz von Zucker und Glycerin, vor der Impfung, sowie auch 24 und 48 Stunden nach erfolgter Impfung (Temperatur 37° C). Zum Zwecke der Vergleichung führte ich solche Bestimmungen auch mit dem *Bac. coli commune*, dem *Pneumobacillus* von Friedländer, dem *Proteus vulgaris* und dem *Bac. fluorescens liquefaciens*, sowie auch mit Mischkulturen einer jeden dieser Arten

mit dem Granulobacillus unter identischen Verhältnissen aus (Zeit, Temperatur und Nährboden). Alkaleszenz wird in $N/_{10}$ ccm ausgedrückt; l = Drehung der Polarisationssebene nach links.

		Vor der Impfung	Nach 24 Stunden	Nach 48 Stunden
Granulobac.	{ Alkaleszenz	2,8	1,0	4,0
	{ Polarisation	l-1,4	l-1,4	l-1,0
B. coli commune	{ Alkaleszenz	3,0	2,0	1,0
	{ Polarisation	l-1,4	l-1,4	l-1,4
Granulobac.+B. coli	{ Alkaleszenz	3,0	3,0	
	{ Polarisation	l-1,4	l-1,4	
Granulobac.	{ Alkaleszenz	3,0	1,0	4,0
	{ Polarisation	l-1,4	l-1,4	l-1,4
Pneumobac.	{ Alkaleszenz	3,0	0	0
	{ Polarisation	l-1,4	l-1,4	l-1,4
Granulobac.+Pneum.	{ Alkaleszenz	3,0	2,6	
	{ Polarisation	l-1,4		
Granulobac.	{ Alkaleszenz	3,0	1,0	4,0
	{ Polarisation	l-1,4	l-1,4	l-1,0
Proteus vulgaris	{ Alkaleszenz	3,0	2,0	5,0
	{ Polarisation	l-1,4	l-1,3	l-1,2
Granulobac.+Proteus	{ Alkaleszenz	3,0	3,0	
	{ Polarisation	l-1,4	l-1,4	
Granulobac.	{ Alkaleszenz	3,0	1,0	4,0
	{ Polarisation	l-1,4	l-1,4	l-1,0
B. fluorescens liquef.	{ Alkaleszenz	3,0	2,0	2,0
	{ Polarisation	l-1,4	l-1,3	l-1,3
Granulobac.+Fluor.	{ Alkaleszenz	3,0	3,0	
	{ Polarisation	l-1,4	l-1,4	

Die Vergleichung der Bouillonkulturen in bezug auf Alkaleszenz in Gegenwart von Harnsäure und Harnstoff und ohne dieselben wird folgendermaßen ausgedrückt:

		Vor der Impfung	Nach 24 Stunden Temperatur 37° C
1) Gewöhnliche Fleischbrühe		3 ccm $N/_{10}$ HCl %	3 ccm $N/_{10}$ HCl %
2) " " + 0,1 % Harnsäure		3 " " "	9 " " "
3) " " + 1,0 % Harnstoff		3 " " "	54 " " "
4) " " + 1,0 % schwefel-saures Ammonium		3 " " "	46 " " "

Was die Reaktionsänderung der Fleischbouillon betrifft (ohne Zusatz), so habe ich unter dem Einfluß des Granulobacillus in den ersten 24 Stunden eine gewisse Schwankung des Alkaleszenzgrades wahrgenommen, die anfänglich etwas herabsinkt, jedoch nach 48 Stunden wieder normal wird und sodann während 5 Tagen unverändert bleibt.

Vergleichende Bestimmungen der Bouillonreaktion unter dem Einfluß der Entwicklung (24 Stunden bei 37° C):

- 1) Bac. diphtheriae bildet Säure i. e. entspr. 0,5 ccm $N/_{10}$ H_2SO_4
 - 2) Bac. pseudodiph. " Alkal. " " 0,1 " " $NaOH$
 - 3) Bac. xerosis " Säure " " 0,3 " " H_2SO_4
 - 4) Proteus vulgaris " Alkal. " " 0,5 " " $NaOH$
- 1*

Es sei noch bemerkt, daß, wie dies durch die letzten Forschungen von Lubenau, sowie von Berry und Banzhoff bekannt ist, die Reaktionsänderung des Nährbodens unter dem Einfluß des Bac. diphtheriae von der Zusammensetzung des Nährbodens selbst und vom Kohlehydratgehalt (Fleischderivate) abhängig ist.

Steigerung der Alkaleszenz im Zusammenhange mit der Zersetzung von Stickstoffsubstanzen; Zersetzung von Harnsäure, Harnstoff und Hippursäure. Der Granulobacillus besitzt die Fähigkeit, bei 37° C Harnsäure, Harnstoff und Hippursäure zu zersetzen. Untenstehend führe ich eine der Untersuchungen von Harnstoff enthaltenden Kloakenabwässern an. Das Abwasser von neutraler Reaktion enthält:

Organische Substanzen	640 mg pro 1 Liter
Chloride	760 „ „ 1 „
Ammoniak	1 „ „ 1 „

Die Bestimmungen wurden in einem sterilisierten Kloakenabwasser ausgeführt vor der Einimpfung des Granulobacillus und darauf alltäglich während mehrerer Tage in 24-stündigen Zwischenräumen. Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

	Abwässer steril (Kontrolle)	Nach 24 St. Temperat. 37° C	Nach 48 St., darin 24 St. im Zimmer 5° C	Nach 3 Tagen 37° C	Nach 4 Tagen 37° C	Nach Neutralisation	
						Nach 24 St. 37° C	Nach 48 St. 37° C
Reaktion	neutral	schwach alkalisch 1,5 ccm HCl ‰	alkalisch 2,2	stark alkalisch 70!	s. alkal. 90!	s. alkal. 76	s. stark alkalisch 224
Organ. Substanz (Harnstoff + Harnsäure)	640 mg ‰	270	220	211	236!	201	233,6
Chloride	760 mg ‰	760	760	760	760	760	760
Ammoniak	1 mg ‰	26	37	114	153	232	380
Nitrite	0	0	0	0	0	0	0
Nitrate	0	0	0	0	0	0	0

Die anfängliche Verminderung des Gehalts an organischen Verbindungen drückt sich durch die Zahl 56 und 20 Proz. aus; im Laufe des 3. Tages wird diese Verminderung bereits geringer und beträgt kaum noch 4 Proz.; diese Phase entspricht einer bedeutenden Zunahme des NH₃-Gehalts, von 37—114 mg ‰. Zwar beträgt die Abnahme der organischen Substanzen in der für die Oxydation verbrauchten Permanganatmenge im Laufe von 24 Stunden 56 Proz., und nach 3 Tagen 67 Proz.; da jedoch das Permanganat ebenfalls auf Ammoniak wirkt, so habe ich den letzteren mittels Destillation mit Magnesiumoxyd abgetrieben, um die Quantität der organischen Verbindungen festzustellen:

Quantität der organ. Verbindungen vor der Destillation 233,6 mg pro 1 Liter

„d. h.,“ die absolute Abnahme der organischen Teile betrug nach „ „ 134,0 „ „ 1 „ „ 79 Proz. „

Der Granulobacillus scheidet aus den Ammoniaksalzen freien Ammoniak aus; die Steigerung der Alkaleszenz der 10 Proz. schwefelsaures Ammonium enthaltenden Bouillon beträgt nach 24 Stunden (Temperatur 37° C) 3—46 ccm N₁₀-Säure pro 1 Liter. Reine Kulturen zer-

setzten Harnstoff und Harnsäure, was ich nicht nur in Harnen, sondern auch in Kulturen mit Zusatz von 0,1 Proz. Harnsäure (Merck), oder 1,0 Proz. Harnstoff (Kahlbaum) festgestellt habe. Dagegen haben die durch die Berkefeldschen Kerzen aus Bouillonkulturen erhaltenen Filtrate keine solchen Eigenschaften.

Die mehr komplizierten Stickstoffverbindungen, wie Eiweiß, Kreatinin usw., erleiden keine Spaltung unter der Wirkung des Granulobacillus, wogegen die einfacheren, wie Harnsäure und Harnstoff, bei entsprechender Temperatur (37° C) der Zersetzung unterliegen und dabei freien Ammoniak ausscheiden.

Die Zersetzungsdauer der Stickstoffverbindungen (Harnsäure und Harnstoff) ist in einem sehr hohen Grade von der Temperatur abhängig, wie dies aus folgenden Zahlen zu ersehen ist:

Alkaleszenz			
sofort nach Einimpfung	in 24 Stunden		
	bei 8° C	15° C	37° C
24 ccm $\frac{1}{10}$ N.-HCl pro 100	26	26	47

Die Zersetzung von Harnstoff und Harnsäure bei einer Temperatur unterhalb 37° C geht sehr langsam vor sich. Durchschnittszahlen von zahlreichen diesbezüglichen Forschungen und Beobachtungen beweisen, daß man gleiche oder analoge Prozente von zersetzter Harnsäure erhält bei

37° C in 48 Stunden
20° C „ 26 Tagen
8° C „ 78 „

Auf obige Angaben werde ich mich beim Ziehen meiner Schlüsse aus der gegenwärtigen Arbeit berufen.

Wirkung des Granulobacillus in Symbiose mit Anaëroben. Da in den physiologischen Abflußbehältern gleichzeitig Aërobier mit Anaërobiern kooperieren, habe ich in Nährböden mit Harnstoff- und Harnsäuregehalt simultan 2 Anaërobierarten geimpft, und zwar Paraplectrum foetidum und Clostridium foetidum nebst einem aëroben Granulobacillus. Es hat sich nun erwiesen, daß eine derartige Verbindung nicht nur keine Wirkung zur Folge hat, sondern daß im Gegenteil der Zusatz von Anaërobiern die Wirkung des Granulobacillus auf Harnsäure und Harnstoff beeinträchtigt.

Anaërobier + Granulobacillus (37° C)		
Alkaleszenz der Bouillon sofort nach Einimpfung	56 ccm N/ ₁₀ HCl pro 100	
„ mit Harnsäure nach 24 Stunden	64	„
„ mit Harnstoff „ 24 „	78	„

d. h., die Alkaleszenzsteigerung bei Harnsäurezusatz beträgt nur 14 Proz. und beim Harnstoff 39 Proz., während sie unter der Wirkung des Granulobacillus allein in denselben Verhältnissen beträgt:

Granulobacillus bei Mitwirkung von Anaërobiern		
bei Harnsäure	300 Proz.	14 Proz.
„ Harnstoff	180 „	39 „

Reduktionsfähigkeit. Der Granulobacillus besitzt starke Reduktionsfähigkeit, was lediglich durch die Bakterienkörper selbst bedingt wird; die Filtrate durch die Berkefeldschen Kerzen zeigen eine ganz minimale Reduktionsfähigkeit; die lebenden Kulturen dagegen eine sehr starke, im Vergleich mit anderen Bakterienarten. Hier sehe ich mich veranlaßt, hervorzuheben, daß nach meinen Kontrolluntersuchungen die Reduktion der Kulturen von Bac. protei und Bac. coli comm. nur indirekt von den Bacillen, direkt aber von dem in den Kulturen produzierten Schwefelwasserstoff abhängig ist, wogegen der Granulo-

bacillus keinen Schwefelwasserstoff bildet, und an und für sich reduziert. Nach der Sauerstoffzufuhr färben sich die entfärbten Farbstoffe wieder (Methylenblau, Indigo).

Der Granulobacillus reduziert Salpeterlösungen, wobei der Salpetergehalt von einer gewissen Bedeutung ist. Die Reaktion auf salpetrige Säure war

	bei 0,025 Proz. KNO ₃	0,05 Proz.	0,1 Proz.	0,2 Proz.
nach 24 Stunden	negativ	s. stark	stark	s. schwach
" 33 "	positiv			stark,

jedoch "konnte man in allen 4 Proben unzersetzte Nitate nachweisen. Den bisherigen Versuchen gemäß findet der Reduktionsprozeß am besten bei einem Salpetergehalte von 0,05 Proz. statt.

Ebenso wie das Vorhandensein von Anaëroben die Wirkung des Granulobacillus auf Harnstoff und Harnsäure herabsetzt, schwächt auch der Granulobacillus die Eigenschaften und die Wirkung der nitrifizierenden Bakterien. Unter solchen Umständen wird Ammoniak nach 48 Stunden nicht zu salpetriger Säure oxydiert:

salpetrige Säure	Nitrifizierende Bakterien	dieselben + Granulobacillus
+	+	-

Auch auf diese Erscheinung will ich näher bei meinen allgemeinen Schlußfolgerungen eingehen.

Symbiose des Granulobacillus mit Anaëroben in den Abwässern. Wie bekannt, finden in den biologischen Behältern Erscheinungen statt, die von gleichzeitiger Mitwirkung von Aëroben und Anaëroben herrühren. Um festzustellen, welche Rolle der Granulobacillus dabei spielt oder zu spielen vermag, habe ich eine Kultur davon samt 2 Arten von Anaëroben (Clostridium und Paraplectrum foetidum) in ein vorher sterilisiertes Abwasser eingimpft:

Nach 5 Tagen im Brutofen.

	Alkal.	Chlor.	Feste Bestandteile		Ammoniak		Oxydation	N ₂ O ₅	N ₂ O ₃
	24 ccm N ¹ / ₁₀ HCl pro 100	2870 mg	organ. 13 100 mg	mineral. 3350 mg	mineral. —	organ. 4828 mg	256 mg Sauerstoff	—	—
Vor der Impfung			16 450 mg						
Granulobacillus	121 mg	2870 mg	16 450 mg		2053 mg	2775 mg	1696 mg	—	—
Granulobacillus + Anaërob.	31 "	2870 "	16 450 "		646 "	4180 "	1216 "	—	—
Anaërob.	27 "	2870 "	16 450 "		178 "	4650 "	2200 "	—	—

Die Symbiose der Anaëroben mit dem Granulobacillus hat sich auch hier für den letzteren als unzutüchtig erwiesen.

Wirkung des Granulobacillus auf Zucker. Die behufs Feststellung der Wirkung der besprochenen Bakterien auf verschiedene Zuckerarten eingeleiteten Untersuchungen haben bewiesen, daß diese Zuckerarten nur in einem sehr unbedeutenden Grade der Zersetzung unterliegen. Indem ich eine Peptonkultur mit Zuckerzusatz von 1 Gewichtsprozent von Rohr-, Malz-, Milch- oder Traubenzucker einimpfte, habe ich alle 24 Stunden den Säurezuwachs und die Verminderung des Zuckergehaltes in Prozenten bestimmt. Nach Verlauf von 5 Tagen betrug derselbe:

bei Rohrzucker	12,8 Proz.	
" Malzzucker	28,0 "	
" Milchzucker	0 "	(In Pepton mit Laktose.)
" Traubenzucker	25,0 "	

			Vor der Impfung	Nach 24 St.	Nach 48 St.	Nach 3 Tagen	Nach 8 Tagen
Pepton + 1 Proz. Traubenzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 ccm pro 100 d-1,6°	4 d-1,4°	10 d-1,4°	11 d-1,2°	11 d-1,4°
	B. coli	{Acidität Polaris.	3 d-1,6°	3 d-1,6°	15 d-1,6°	9 d-1,2°	
	B. coli + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-1,6°	11 d-1,2°			
Pepton + 1 Proz. Traubenzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-1,6°	4 d-1,4°	10 d-1,4°	11 d-1,2°	
	Pneumobac.	{Acidität Polaris.	3 d-1,6°	3 d-1,6°	4 d-1,6°	4 d-1,4°	
	Pneumobac. + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-1,6°	8 d-1,4°			
Pepton + 1 Proz. Traubenzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-1,6°	4 d-1,4°	10 d-1,4°	11 d-1,2°	11 d-1,4°
	Proteus	{Acidität Polaris.	3 d-1,6°	3 d-1,6°	4 d-1,5°	5 d-0,8°	
	Granulobac. + Proteus	{Acidität Polaris.	3 d-1,6°	10 d-1,4°			
Pepton + 1 Proz. Traubenzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-1,4°	4 d-1,4°	10 d-1,4°	11 d-1,2°	
	Bact. fluoresc.	{Acidität Polaris.	3 d-1,6°	3 d-1,6°	4 d-1,2°	2 d-1,4°	
	Bact. fluoresc. + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-1,6°	9 d-1,5°			
Pepton + 1 Proz. Malzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	8 d-2,8°	12 d-2,2°	11 d-2,4°	10 d-2,0°
	Bact. coli com.	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	5 d-2,8°	15 d-2,0°	16 d-2,9°	
	Bact. coli + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	12 d-2,3°			
Pepton + 1 Proz. Malzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	8 d-2,8°	12 d-2,2°	11 d-2,4°	10 d-2,0°
	Pneumobac.	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	5 d-2,8°	11 d-2,5°	14 d-2,2°	
	Pneumobac. + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	12 d-2,3°			
Pepton + 1 Proz. Malzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	8 d-2,8°	12 d-2,2°	11 d-2,4°	10 d-2,0°
	Proteus	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	4 d-2,8°	5 d-2,7°	4 d-2,4°	
	Proteus + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	11 d-2,4°			
Pepton + 1 Proz. Malzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	8 d-2,8°	11 d-2,2°	11 d-2,4°	10 d-2,0°
	Bact. fluoresc.	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	3 d-2,8°	3 d-2,8°	3 d-2,4°	
	B. fluoresc. + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-2,8°	8 d-2,6°			

			Vor der Impfung	Nach 24 St.	Nach 48 St.	Nach 3 Tagen	Nach 8 Tagen
Pepton + 1 Proz. Milchzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 ccm pro 100 d-0,6°	4 d-1,0°	5 d-0,6°	3 d-0,6°	3 d-0,8°
	Bac. coli	{Acidität Polaris.	3 d-0,6°	5 d-0,6°	11 d-0,5°	16 d-0,4°	
	Bac. coli + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,6°	10 d-0,5°			
Pepton + 1 Proz. Milchzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,6°	4 d-1,0°	5 d-0,6°	3 d-0,6°	3 d-0,8°
	Pneumobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,6°	3 d-0,6°	18 d-0,2°	18 d-0,2°	
	Pneumobac. + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,6°	12 d-0,5°			
Pepton + 1 Proz. Milchzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,6°	4 d-1,0°	5 d-0,6°	3 d-0,6°	3 d-0,8°
	Proteus	{Acidität Polaris.	3 d-0,6°	3 d-0,6°	3 d-0,6°	4 d-0,5°	
	Proteus + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,6°	5 d-0,6°			
Pepton + 1 Proz. Milchzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,6°	4 d-1,0°	5 d-0,6°	3 d-0,6°	3 d-0,8°
	Bact. fluoresc.	{Acidität Polaris.	3 d-0,6°	3 d-0,6°	2 d-0,6°	1 d-0,3°	
	B. fluoresc. + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,6°	3 d-0,6°			
Pepton + 1 Proz. Traubenzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	10 d-0,8°	12 d-0,8°	11 d-0,6°	10 d-0,6°
	B. coli	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	—	16 d-0,4°	16 d-0,4°	
	B. coli + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	15 d-0,8°			
Pepton + 1 Proz. Traubenzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	10 d-0,8°	12 d-0,8°	11 d-0,6°	10 d-0,6°
	Pneumobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	—	23 0	25 0	
	Pneumobac. + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	16 —			
Pepton + 1 Proz. Traubenzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	10 d-0,8°	12 d-0,8°	11 d-0,6°	10 d-0,6°
	Proteus	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	5 d-0,8°	5 d-0,7°	6 d-0,7°	
	Proteus + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	10 —			
Pepton + 1 Proz. Traubenzucker	Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	10 d-0,8°	12 d-0,8°	11 d-0,6°	10 d-0,6°
	Bact. fluoresc.	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	—	10 d-0,6°	13 d-0,6°	
	B. fluoresc. + Granulobac.	{Acidität Polaris.	3 d-0,8°	12 —			

Somit ist die Acidität bei Milchzucker unverändert geblieben, bei anderen dagegen stieg dieselbe durchschnittlich von 3—11, resp. 10 ccm N/10 Lauge pro 100. Gleichzeitig habe ich vergleichende Versuche mit dem *Bact. coli commune*, dem *Pneumobacillus Friedländeri*, *Proteus vulgaris* und *Bac. fluorescens liquefaciens*, sowie auch mit Mischkulturen einer jeder dieser Arten mit dem *Granulobacillus* ausgeführt. Sämtliche Untersuchungen fanden bei 37° C statt.

Die genaueren Einzelheiten jener Bestimmungen sind in vorstehender Tabelle zusammengestellt worden:

Die Wirkung des *Granulobacillus* auf Milch und auf Laktose im Vergleich zu anderen Bakterien und in Mischungen mit denselben wird durch folgende Versuche veranschaulicht:

		Vor der Impfung	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.	Nach 72 St.
<i>Granulobacillus</i>	{ Acidität	24 ccm	25 ccm	31 ccm	35 ccm pro N/10 Lauge d-4,4°
	{ Polaris.	d-4,8°	d-4,6°	d-4,5°	
<i>B. coli commune</i>	{ Acidität	24	52	62	
	{ Polaris.	d-4,8°	d-3,8°	d-3,1°	
<i>B. coli</i> + <i>Granulobac.</i>	{ Acidität	24	19		
	{ Polaris.	d-4,8°	d-4,8°		
<i>Granulobacillus</i>	{ Acidität	24	25	31	
	{ Polaris.	d-4,8°	d-4,6°	d-4,5°	
<i>Pneumobacillus</i>	{ Acidität	24	63	68	
	{ Polaris.	d-4,8°	d-2,8°	d-2,6°	
<i>Granulobac.</i> + <i>Pneumo- bacillus</i>	{ Acidität	24	67		
	{ Polaris.	d-4,8°	d-2,5°		
<i>Granulobacillus</i>	{ Acidität	24	25	31	
	{ Polaris.	d-4,8°	d-4,8°	d-4,5°	
<i>Proteus vulgar.</i>	{ Acidität	24	27	28	
	{ Polaris.	d-4,8°	d-4,6°	d-4,5°	
<i>Proteus</i> + <i>Granulobac.</i>	{ Acidität	24	30		
	{ Polaris.	d-4,8°	d-4,4°		
<i>Granulobacillus</i>	{ Acidität	24	25	31	
	{ Polaris.	d-4,8°	d-4,8°	d-4,5°	
<i>B. fluorescens</i>	{ Acidität	24	23	30	
	{ Polaris.	d-4,8°	d-4,6°	d-4,4°	
<i>Granulobacillus</i> + <i>B. fluorescens</i>	{ Acidität	24	43		
	{ Polaris.	d-4,8°	d-4°		

Zu Vergleichszwecken habe ich eine Reihe von Titrierbestimmungen für Bouillon mit 1 Proz. Harnstoff (als Kontrolle), sowie nach 6, 20 und 46 Stunden nach erfolgter Einimpfung mit verschiedenen Bakterienarten ausgeführt. Der Titer ist mit Hilfe der dezinormalen Säure (Indikator: Methylorange) bestimmt worden (s. folgende Tabelle).

Bei Anwendung eines eiweißfreien Nährbodens mit 1 Proz. Harnstoff anstatt Bouillon wird der Unterschied noch deutlicher wahrnehmbar.

Die weiteren Schlüsse aus obigen Bestimmungen werden im Endkapitel dieser Arbeit gezogen werden.

Entwicklung in anderen Nährböden. Der *Granulobacillus* gibt im Brutofen bei 37° C ein rasches Wachstum, das bei Zimmertemperatur langsamer vor sich geht, wobei er auf der Agar- oder

Alkalische Fleischbouillon mit 1 Proz. Harnstoff (Kahlbaum), Alkaleszenz = 43 ccm	Reaktionsänderung (Zahl der ccm N/10-Säure pro 100)		
	nach 6 St.	nach 20 St.	nach 46 St.
	Sterile Bouillon (Kontrolle)	44	45
Bac. diphtheriae	56	71!	49!
Bac. pseudodiphtheriae	45	68	80
Granulobac. putrificus n. sp.	50	64	95!
„ „ (andere Abstammung)	58	64	95!
Bac. typhi abdominalis	56	57	63
Bac. coli commune	53	56	72!
Bact. paratyphi B	50	48!	65
Bac. faecalis alcaligenes	55	59!	65
Bac. fluorescens liquefaciens	54	47!	64
Bac. pyocyaneus	58	57!	63
Bac. Proteus vulgaris	45	52	70
Pneumobac. Friedländeri	48	49	58
V. cholerae asiaticae	58	36!	57
V. berolinensis	63	45!	60
Spir. tyrogenum	47	56	62
Clostridium foetid. carnis	48	58	58
Paraplectrum foetidum } (Anaeroben)	37	59	60

Serumoberfläche bereits in 6–15 Stunden Kolonien von einem Durchmesser bis 1–1½ mm bildet; nach 24–30 Stunden entstehen große, emporrage, graulich-weiße Kolonien, die keine Neigung zum Zusammenfließen zeigen. In Zuckersubstraten werden keine Gase gebildet; keine Peptonisation in Gelatine (bei Zimmertemperatur). Die Bouillon trübt sich, ohne ein Häutchen auf der Oberfläche zu bilden; in den alten Kolonien bildet sich auf dem Boden ein geringer Niederschlag. Wachstum auf der Kartoffelfläche weiß; auf der Nadel ist keine Schleimkonsistenz zu sehen. Ein Zusatz von Glycerin oder einer der 4 erwähnten Zuckerarten ist für das Wachstum indifferent und beeinflusst die Eigenschaften der Kultur nicht. Die Kolonien geben ein sehr opulentes Wachstum auf den Nährböden von Endo und Conradi-Drigalski, besonders auf dem ersteren, wo das Wachstum und die Färbung die besprochene Bakterienart in charakteristischer Weise vom Bac. diphtheriae und pseudodiphtheriae unterscheiden lassen.

Widerstandsfähigkeit der Bakterien gegen äußere Einflüsse. Die Granulobacillus-Kulturen zeichnen sich nicht durch allzu große Widerstandsfähigkeit aus; progressiv von 40–95° C erwärmt, und bei je 5 Proz. Zunahme auf frische Nährböden abgeimpft, zeigten dieselben bei 55 und 60° C einen Stillstand, bei 65° C aber ein Absterben der Kulturen; sogar eine 2-stündige Erwärmung bis 45° C beeinflusst die Bakterienentwicklung wenig; nach 3 Stunden tritt eine schwache Wachstumshemmung ein.

Ein Ueberschuß von freiem Ammoniak tötet die Bacillen; nachdem jedoch der Nährboden mit Schwefelsäure neutralisiert und die Kultur frisch eingeimpft worden ist, dauert die Entwicklung bis zur wiederholten Ansammlung von NH₃ fort (vgl. letzte Schlußfolgerung). Die Bakterien sterben bei einer Behandlung mit 2-proz. Karbolsäure oder mit 2-prom. Sublimat während 10 Minuten ab; dagegen bleiben sie am Leben trotz einer 2-stündigen Behandlung mit 1–10-proz. Lösung von Trypsin und Pepsin.

Bei der Symbiose des Granulobacillus mit einer der Bakterienarten, und zwar dem *B. coli commune*, *Pneumobacillus Friedländeri*, *Proteus vulgaris* oder *Bac. fluorescens liquefaciens*, sowohl bei lebendigen wie auch sterilisierten Kulturen (vor der Impfung mit dem Granulobacillus) findet das opulenteste Wachstum in dem Falle statt, wo 2 antagonistische Arten zusammengebracht werden, wie z. B. Granulobacillus + *Bac. coli commune*; dasselbe ist bedeutend geringer bei einer Symbiose des Granulobacillus + *Proteus vulgaris*. Wie oben erwähnt, übt eine simultane Entwicklung zweier Anaërobenstämme (*Clostridium* und *Paraplectrum foetidum*) auf die Harnstoffzersetzung einen negativen Einfluß aus.

Allgemeine und lokale Eiter erzeugende und krankheits-erregende Eigenschaften.

Versuch I. 5. Dez. 1912. Einem Meerschweinchen von 240 g Gewicht habe ich intraperitoneal junge, 24-stündige Granulobacillus-Kulturen injiziert (Temperatur vor der Einspritzung 38,1° C). Temperaturschwankungen: 6. Dez. 38,1—38,4° C; 7. Dez. und die folgenden ohne Aenderung. Die am 18. Dez. vorgenommene Sektion hat gar keine krankhaften Alterationen ergeben.

Versuch II. 18. Dez. 1912. Subkutane Einspritzung von 1 ccm Emulsion aus einer 24-stündigen Kultur in die Hoden eines männlichen Meerschweinchen (Gewicht 750 g); nach 24 Stunden stieg die Temperatur von 38,3—38,8° C; die Schwankungen betragen am folgenden Tage und später 38,3—38,5° C. Lokal eine Orchitis; nach Verlauf von 48 Stunden dauert der große Abszeß unverändert fort während 2 Tagen bei niedriger Temperatur. Sektion des getöteten Männchens: Fehlen von Bakterien im Blute (Aussaaten aus dem Herzen); eine reine Granulobacillus-Kultur aus dem Abszeß; dasselbst reichlicher Eiter. Das Blutserum agglutiniert weder die homo-, noch die heterologen Granulobacillus-Stämme.



Photogr. 1. Granulobacillus-Kulturen auf schrägem Agar; 2 derselben sind aus einem Falle von Rhinitis, eine aus Prostatitis ($\frac{3}{4}$ d. natürl. Größe).

Versuch III. 18. Dez. 1912. Die Einimpfung einer doppelten Dose (2 ccm) einer dicken Emulsion aus einer 24-stündigen Agarkultur in das Peritoneum eines Meerschweinchens hat weder die Temperatur beeinflusst, noch irgendwelche lokale oder allgemeine Alterationen herbeigeführt.

Versuch IV. 12. Jan. 1913. Einreibung 1 Oese von *Granulobacillus*-Kultur in die Conjunctiva eines jungen Kaninchens; am 2. Tage eine leichte Röte, am 14. Jan. ein geringes Oedem; Erscheinungen schwach. Nach 4 Tagen spurlos verschwunden.

Versuch V. 12. Jan. 1913. 2 Meerschweinchen, Gewicht 330 und 510 g. Das erste erhielt eine subkutane Injektion von 1 ccm einer Bouillonkultur; das zweite 1 ccm unmittelbar ins Herz vermittelt einer Spritze. Bei beiden schwankt die Temperatur in den Normalgrenzen wie vor der Impfung (38,2–38,6° C) während einiger Tage. Weiter sind die Tiere nicht alltäglich beobachtet worden; das erste hat überhaupt nicht reagiert; das zweite ist am 15. Febr. bei gesunkenem Gewicht (490 g) gestorben; bei der Sektion wurde nur eine Hyperämie und Hypertrophie der Nieren festgestellt; die Milz und die Leber unverändert; das Blut (vom Herzen) steril.

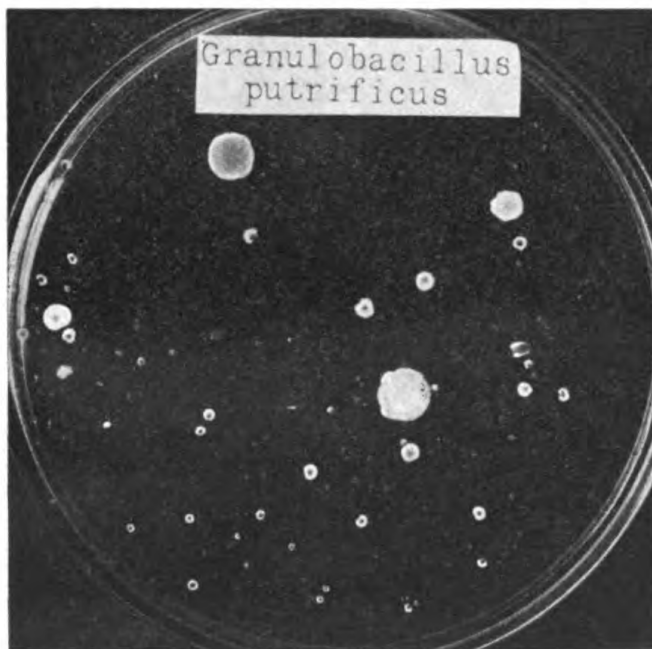
Versuch VI. 12. Jan. 1913. Einem kleinen Meerschweinchen (190 g) habe ich subkutan in die Halstasche 2 Oesen einer 18-stündigen Agarkultur eingeführt.

Temperatur vor der Impfung 38,5° C, in den folgenden Tagen 38,2° C, 38,5° C, 38,6° C, 38,3° C; weder lokale, noch allgemeine Symptome.

Versuch VII. 22. Sept. 1913. In die vordere Augenkammer (nach vorheriger Anästhesierung des Augapfels mit Kokain) eines großen Kaninchens von 1680 g Gewicht habe ich 1 Tropfen Bouillonkultur eingespritzt. 1 Tag darauf ist die Hornhaut trübe und schwach infiltriert; am 3. Tage Infiltration intensiver; Hyperämie der Augapfelgefäße und der Bindehaut; nach 7 Tagen sind diese Erscheinungen verschwunden, und es blieb nur ein kleiner Fleck von Erbsengröße zurück, der bis heute andauert (4. Dez.).

In die Conjunctiva des 2. Auges bei demselben Kaninchen habe ich einen Teil der Kultur kräftig eingegeben: Rötung, Oedem

Photogr. 2. Kolonien zerstreut auf Agar, makr. (natürl. Größe).



und Absonderung einer schleimig-eiterigen Flüssigkeit dauerten 8 Tage an; später sind die lokalen Erscheinungen nach und nach verschwunden. Temperatur unverändert.

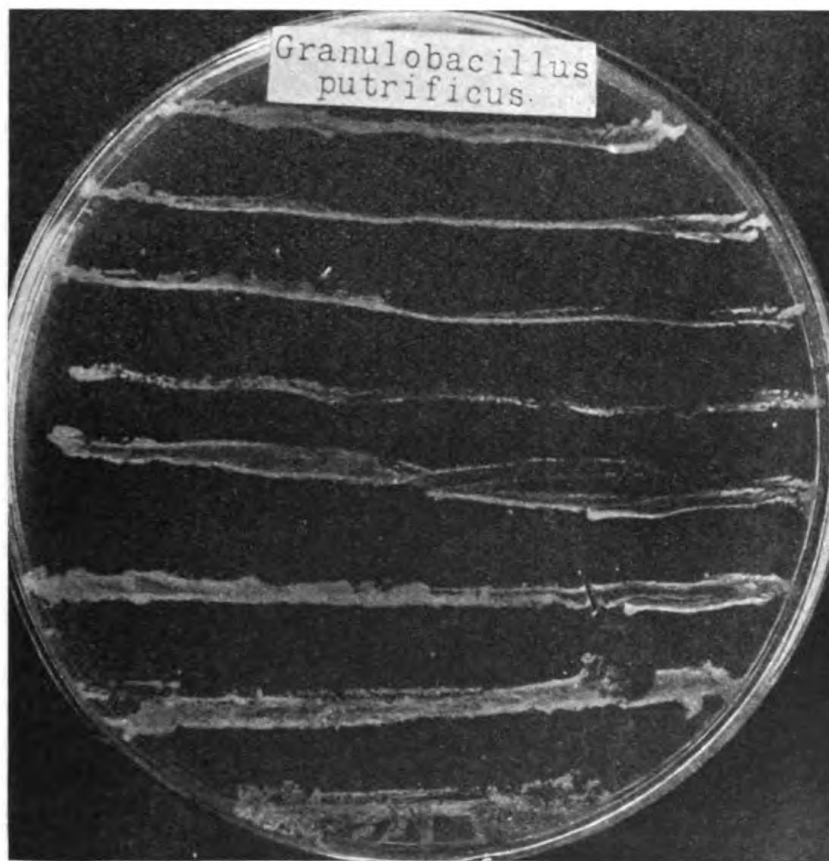
Versuch VIII. 28. Okt. 1913. Einem männlichen Meerschweinchen habe ich mittels einer Spritze 2 ccm Bouillon von einer 2-tägigen Kultur in die Blase eingespritzt. Nach 24 und 48 Stunden Temperatur unverändert (38,2° C). Nach 48 Stunden hat die Sektion deutliche Symptome einer Schleimhautentzündung ermittelt (Hyperämie, Schleim und Eiter): Ungeheure Mengen des *Granulobacillus* sind in einer Eiterkultur aus der Harnröhre gebildet worden, dagegen ist das Herzblut steril.

Versuch IX. 2. Dez. 1913. Ich führte wiederholt den Versuch mit der Einspritzung von 2 Tropfen *Granulobacillus*-Kultur in die vordere Augenkammer eines großen Kaninchens von 1620 g Gewicht aus. Bereits nach 18 Stunden trat eine parenchymatöse Infiltration ein mit Trübung der Hornhaut und starker Hyperämie der Gefäße; in der Regenbogenhaut zahlreiche neugebildete Gefäße; die Ränder der Pupillae sind an die Linse angeklebt (sogenannte Synechiae posteriores). Am 4. Dez. habe ich dieses Kaninchen während eines Referates bei einer Sitzung der II. Sektion der Wissenschaftlichen Gesellschaft zu Warschau demonstriert und füge die Photographie bei. Das Blutserum besitzt keine Agglutinationseigenschaften.

Um endlich festzustellen, ob der einem Meerschweinchen intraperitoneal eingeführte Granulobacillus samt anderen Bacillen seine Virulenz steigert oder vermindert, habe ich folgenden Versuch ausgeführt:

Versuch X. 1. Dez. 1913. Einem Meerschweinchen von 250 g Gewicht ist subkutan eine Emulsion vom Pneumobacillus Friedländeri eingespritzt worden; Temperatur vor der Impfung 37,9° C; 6 Stunden nach derselben 39,9° C; Tod in 18 Stunden. Die Sektion hat eine Herzbeutel-, Milz- und Nebennierenhyperämie ermittelt; mikroskopisch eine große Ansammlung von Bacillen in den Zonen (gramnegativ) sämtlicher Organe; in den Aussaaten aus dem Herz-, Leber- und Nierenblute habe ich überall Reinkulturen des Pneumobacillus Friedländeri erhalten.

1. Dez. 1913. Gleichzeitig habe ich ein zweites Meerschweinchen (Gewicht 250 g) mit der gleichen Emulsion und in der gleichen Quantität (0,75 ccm) geimpft und dabei intraperitoneal 1 ccm der Granulobacillus-Emulsion eingeführt; Temperatur vor



Photogr. 3. Strichkultur auf Endos Nährboden, in Wirklichkeit von blaß-rosa Färbung.

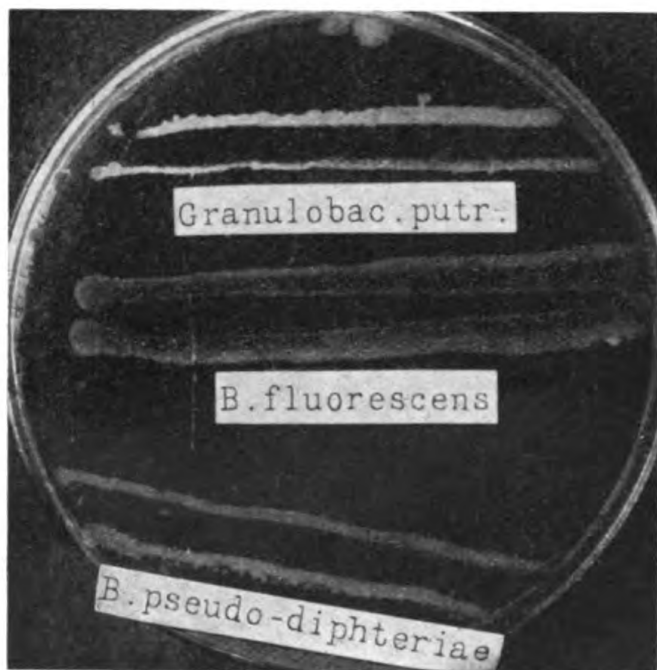
der Impfung 38,0° C; nach 6 Stunden 39,0° C; in 24 Stunden 40,0° C; am 2. Tage 39,9° C; am 4. Tage 40,0° C; am 5. Tage Temperatur normal (38,0° C). Die Sektion dieses Meerschweinchens ergab das Fehlen derjenigen Erscheinungen, die bei dem vorherigen Meerschweinchen festgestellt worden waren; auch sind die Aussaaten aus dem Blute vom Herz und anderen Organen steril geblieben; in den Präparaten von Milz und Blut ist ebenfalls keine Flora zu sehen!

Versuch XI. Am 3. Febr. 1914 impfte ich einem Kaninchen in die Haut auf dem Bauche einige Tropfen einer Bouillonkultur (nach der Methode von Kasahava, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1914. p. 540) und ebensoviel in das Kniegelenk (nach Dreyer, Ibid. Bd. 67. 1912. p. 106). Beide Reaktionen waren ausgesprochen positiv, was wieder den eitererzeugenden Charakter des „Granulobacillus“ beweist.

Soweit aus diesem einzelnen Versuche Schlüsse zu ziehen sind, ist der Granulobacillus sowohl im tierischen Organismus wie auch in

Symbiose in Kulturen der Entwicklung des *Bac. Friedländeri* ungünstig, sowie auch vice versa einige Eigenschaften des ersteren unter der Wirkung der Anaëroben, *Clostridium foetidum* und *Paraplectrum*, eine Abschwächung erleiden.

Da ich keine Möglichkeit hatte, an Menschen Versuche anzustellen und mich von den an Tieren festgestellten eitererregenden Eigenschaften zu überzeugen, bin ich gezwungen, mich mit der Feststellung der Tatsache zu begnügen, daß sich der *Granulobacillus* öfters ohne jeglichen Zusatz von anderen Bakterien bei Blasen- und Prostata-drüsenentzündungen bei Männern, sowie bei eiterigen Entzündungen des Anthrum Highmori und in Symbiose mit anderen Mikroorganismen bei



Photogr. 4. *Granulobacillus*-Kulturen zum Vergleich mit *Bac. fluorescens* und *Bac. pseudodiphtheriae* von Hoffmann-Wellenhof auf Endos Nährboden ($\frac{3}{4}$ natürl. Größe); der Färbungsunterschied tritt auf der photographischen Aufnahme nicht hervor.

Die biologische Untersuchung des Blutserums bei Menschen und Tieren in bezug auf den *Granulobacillus putrificus* ergibt negative Resultate (Reaktion von Abderhalden, Reaktion von Bordet-Gengou, Agglutination), wahrscheinlich weil der *Granulobacillus* lediglich lokale Erscheinungen auf den Schleimhäuten erzeugt; nur einmal habe ich mit Kaninchenserum in der Verdünnung von 1:30 Agglutination erhalten. Das Fehlen von biologischen Eigenschaften pflegt auch analog bei anderen, nur lokale Alterationen erzeugenden Mikroorganismen vorzukommen.

Die Differentialdiagnose muß hauptsächlich den *Bac. diphtheriae* und die Gruppe der *Pseudodiphtheriae* berücksichtigen. Der *Bacillus* seu *Granulobacillus putrificus* unterscheidet sich prinzipiell von dieser gesamten Gruppe: 1) in bezug auf die eitererzeugenden Eigenschaften auf Schleimhäuten; 2) er zersetzt bei einer

Nasenentzündungen (Rhinitis) und Halsentzündungen (Angina) vorgefunden hat, was bei der bakterioskopischen Untersuchung im ersten Augenblick gar leicht zu einer falschen

Diphtheriediagnose verleiten könnte; daher ist eine Kontrolle auf Endos Nährböden unentbehrlich. Es bot sich mir dreifache Gelegenheit, den *Granulobacillus* zu isolieren bei Rhinitis haemorrhagica bei Kindern, zweimal in Symbiose mit Mikrokokken (darin sind einmal auch Pneumokokken gewesen) und einmal in Reinkultur ohne jegliche Beimischung.

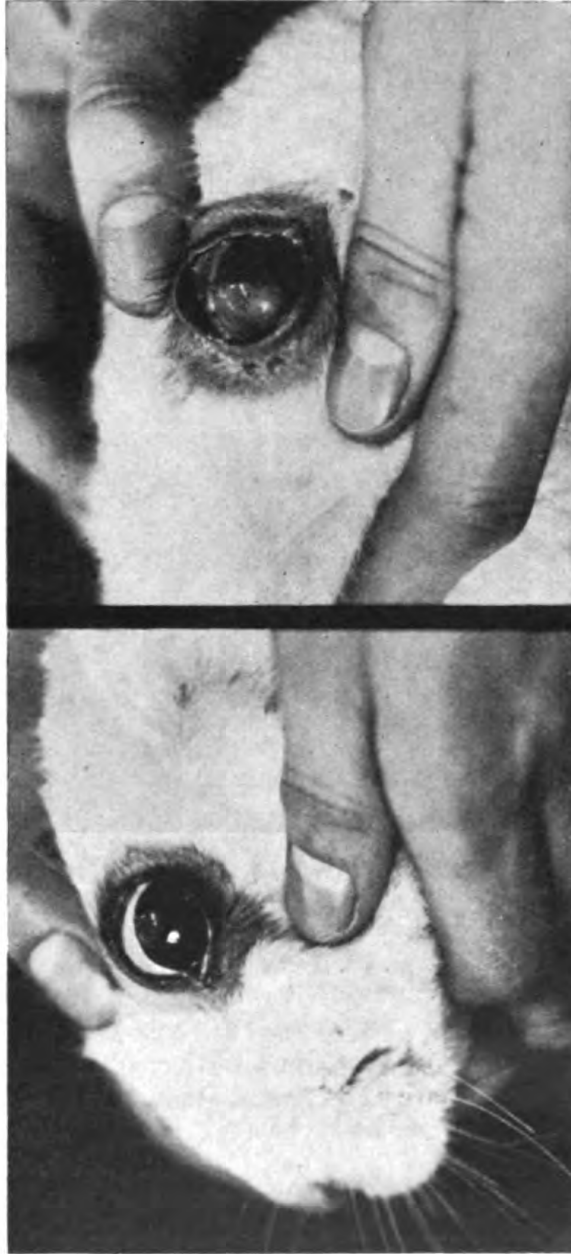
Die biologische Untersuchung des

Temperatur von 37° C Harnstoff, Harn- und Hippursäure, indem er Ammoniak, sowohl aus organischen, wie auch aus anorganischen Verbindungen, frei macht und dabei eine stark alkalische Reaktion gibt; 3) er besitzt Reduktionseigenschaften (reduziert Salpetersäure); 4) produziert in den ersten 15 Stunden auf Zuckernährböden mit Indikatoren (Endo) eine schwachsaure Reaktion, wobei sich die Kolonien leicht rosig färben (der Nährboden bleibt farblos), und diese Färbung nicht steigen lassen mit der weiteren Entwicklung. Beim Züchten der besprochenen Bacillen in Bouillon mit Zusatz von 1 Proz. Harnstoff (Kahlbaum), oder mit 10 Proz. schwefelsaurem Ammonium treten Unterschiede hervor.

Außer den obigen, für den Granulobacillus charakteristischen und den Bakterien der Diphtheriengruppe fehlenden Kennzeichen haben die letzteren andere positive differentielle Merkmale, wie:

Bac. diphtheriae: Spezifische Eigenschaften: Wachstum ausschließlich bei 37° C und auf speziellen Nährböden. **Bac. pseudodiphtheriae** von Hoffmann-Wellenhof: Fehlen oder seltenes Vorkommen von Pol- und Zentralkörperchen; starker Bodensatz in Bouillonkulturen, Mangel an jeglichen krankheits-erregenden und eiter-erzeugenden Eigenschaften. „Diphtheroide“:

Die Beschreibungen dieser Bacillen unterscheiden sich stark von einander. Nach Marcinowsky (Zeitschr. f. Hyg. 1913. p. 185) bilden sie Säure, sind sehr klein („diphthérie en miniature“). **Bac. xerosis** von Neisser: Kurze, den **Bac. diphtheriae** wenig ähnliche Stäbchen; Bouillon klar; wirkt auf Tiere nicht ein. **Bac. septatus** von Gelpke: Kurze Stäbchen, wie die vorigen, ohne Granulation. Bouillon klar; erzeugt Rhinitis

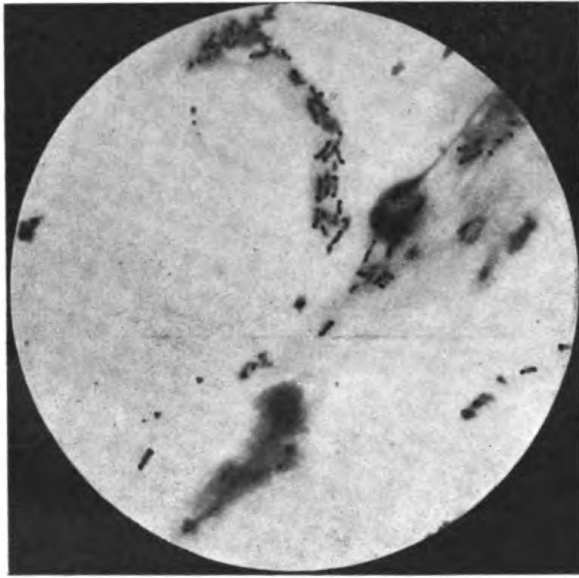


Photogr. 5. Vergleichende Aufnahmen ($\frac{1}{4}$ natürl. Größe); der Augapfel eines Kaninchens (Versuch VII), der rechte mit Granulobacillus-Implung der vorderen Augenkammer, der linke ungeimpft.

epidemica; andere Eigenschaften unbekannt. *Bac. striatus albus* von Besser: wahrscheinlich mit dem *Bac. pseudodiphtheriae* identisch oder sehr analog; entwickelt sich auch bei Zimmertemperatur; Bouillon trübt sich nicht; besitzt weder krankheitserregende, noch eitererzeugende Eigenschaften. *Bac. nodosus parvus* von Lustgarten: Dem *Bac. diphtheriae* analog; pathologische und sonstige Eigenschaften fast unbekannt. *Bac. pseudotuberculosis murium* von Kutscher: Auf Agar-Agar gelbe Kolonien; pathogen nur für Mäuse. *Bac. pseudotuberculosis ovis* von Preisz-Guinard: Stäbchen kürzer als bei *Bac. diphtheriae*; auf Serum Kulturen von Orangefarbe, krankheitserzeugend für Kaninchen, Schafe, Meerschweinchen (*Pseudotuberculosis*). *Bac. pyogenes soli* von Bolton: Morphologisch und in Kulturen dem *Bac. pseudotuberculosis murium* ähnlich. *Bac. granulosus* von Russell:

Stäbchenbacillen mit Granulation in Form von langen Fäden; rasche Peptonisierung von Gelatine; schleimartiges Wachstum auf Kartoffeln.

Von den Bacillen anderer, morphologisch dem *Granulobacillus* nicht analogen Gruppen waren nur diejenigen zu differenzieren, welche keine Sporen besitzen, unbeweglich sind, die Gelatine nicht peptonisieren und sich nach der Gramschen Methode färben (+); jedoch weichen die Beschreibungen jener Bacillen so sehr vom *Granulobacillus* ab, daß ich auf deren genauere Aufzählung verzichte (es sind hierher zu rechnen: *Bac. villosus* Koch, *Bac.*



Photogr. 6.

Photogr. 6—8. Mikroskopische Präparate; 6 direkt aus dem Nasenschleim (Vergr. ca. 1200), 7—8 aus der Kultur (Vergr. ca. 1000).

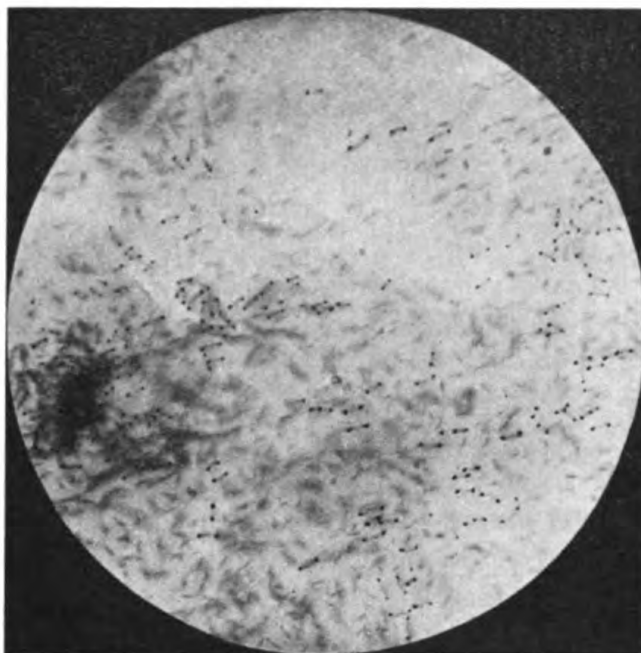
halans Zimm., *Bac. polymorph.* Frankland, *Bac. bullescens* Zimm., *Bac. tenuis* Zimm., *Bac. constrictus* Zimm., *Bac. fuscus* Flügge, *Bac. loculosum* Clauss, *Bac. lactis brevis* Kozai, *Bac. lacticus* Kruze, *Bac. lactis longus* Troili-Petersson, *Bac. colloides* Lafar, *Bac. cocciformis* Severin, *Bac. mucilaginosus* Schütz, *Bac. capsulatus septicus* Bord.-Uffred., *Bac. salivarius septicus* Biondi, *Bac. vulgaris* Kramer, *Bac. spiniferus* Unna-Tommasoli, *Bac. cavatus* Kern, *Bac. Winkleri*.)

Unter den Beschreibungen der in biologischen Abwässern tätigen Mikroorganismen finde ich ebenfalls keinen, dessen Eigenschaften denjenigen des *Gran. putrif.* analog sind. [Vide A. Kossowicz, Einführung in die Mykologie der Gebrauchs- und Abwässer. 1913. — F. Fischer, Das Wasser. 1914. (Erschienen im November 1913.) — Scheffler, Bakteriologisch-chemische Untersuchungen. (Zeitschr. f. wissensch. Landwirtsch. 1912. p. 430 ff.) — Dunbar, Leitfaden für die

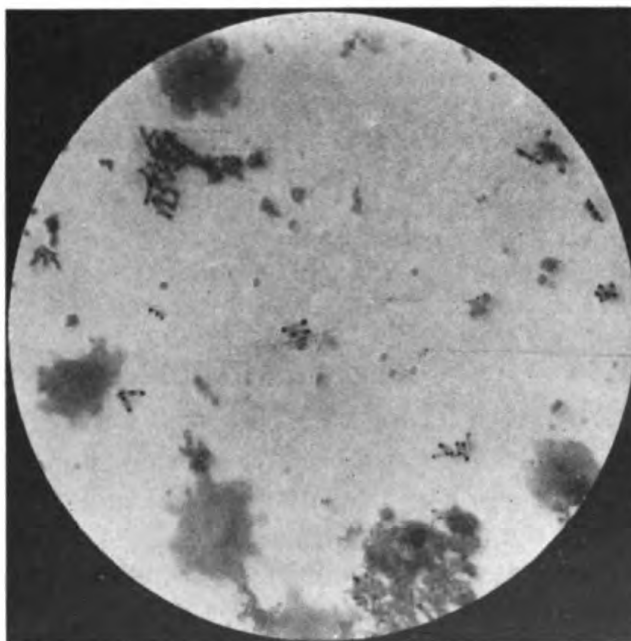
Abwässerreinigungsfrage. 2. Aufl. 1912. p. 183 ff. — Rolants, Revue d'Hyg. T. 33. 1911. p. 949.]

Allgemeine Charakteristik des Bac. putrificus. Die besprochenen Bakterien erzeugen bei Tieren Entzündungen von Schleimhäuten (Cystitis, Rhinitis, Conjunctivitis, Infiltratio parenchymatosa corneae), und, da dieselben auch in menschlichen eitrigen Sekretionen zu finden sind (Rhinitis epidemica, Rhinitis haemorrhagica bei Kindern, Prostatitis, Cystitis), mitunter in reiner Kultur, ohne jegliche Beimischung; es wäre somit die Behauptung begründet, daß die besprochenen Bakterien die ätiologische Ursache jener Entzündungen sind oder zu sein vermögen; daher die Benennung „putrificus“. Da diese Mikroorganismen auch im Nasen- und Rachenschleime, unter normalen und pathologischen Verhältnissen, gleich wie die Pneumokokken, vorzukommen pflegen, und in morphologischer Beziehung eine große Ähnlichkeit mit den Bac. diphtheriae zeigen, so können dieselben zu schweren diagnostischen Fehlern verleiten.

Die besprochenen Bakterien stellen unbewegliche Stäbchen ohne



Photogr. 7.



Photogr. 8.

- 1) Knaut, Tabellen zur Bestimmung der Trinkwasserbakterien. 1911.
- 2) Matzushita, Bakteriologische Diagnostik. 1902.
- 3) Serkowski, Handbuch für bakteriologische Diagnostik. 1898.

Erste Abt. Orig. Bd. 75.

Heft 1.

2

Sporen dar; in direkten Präparaten aus dem Eiter und in jungen Kulturen zeigen sie stets sich mit der Neisserschen Methode färbende Zentralkörperchen vom Neisserschen Typus (daher die Benennung „Granulobacillus“), und in weiteren Generationen besitzen sie kolbenartige, in bezug auf Form, Größe und Anordnung vom Bac. diphtherie nicht im geringsten abweichende Gebilde. Sie färben sich nach Gram.

Von Bac. diphtheriae und von sämtlichen morphologisch verwandten Arten, die mit der Allgemeinbenennung von „Diphtheriae“ und „Diphtheroiden“ umfaßt sind, weicht der Granulobacillus prinzipiell ab: 1) in bezug auf die eitererzeugenden Eigenschaften auf Schleimhäuten; 2) er zersetzt bei 37° C Harnstoff, Harn- und Hippursäure, sowohl aus organischen, wie auch aus anorganischen Verbindungen, Ammoniak frei machend und dabei eine stark alkalische Reaktion gebend; 3) er besitzt Reduktionseigenschaften, woran sich die Bakterienkörper selbst, und nicht die Filtrate durch Berkefeldsche Kerzen beteiligen; 4) er bildet auf Zuckersubstraten mit Indikatoren im Laufe der ersten 15 Stunden (Nährboden von Endo) zunächst eine schwach-saure Reaktion: dabei färben sich die Kolonien leicht rosig und behalten diese Farbe, ohne daß dieselbe mit der weiteren Entwicklung intensiver wird.

In Symbiose mit nitrifizierenden Bakterien und Anaëroben (Clostridium et Paraplectrum foetidum) erleiden die biologischen Eigenschaften eine Herabsetzung, wobei sich eine derartige Symbiose als beiderseits unzutraglich erweist.

Der intraperitoneal oder subkutan eingepflichte Granulobacillus erzeugt weder allgemeine, noch lokale Erscheinungen; in solchen Verhältnissen setzt er bei gleichzeitiger Impfung mit einem stark virulenten Friedländerschen Pneumobacillus-Stamm die Wirkung des letzteren herab.

Die in die Conjunctiva eingepflichten Kulturen des Granulobacillus putrificus erzeugten Conjunctivitis und Oedem.

Außer den obigen 4 prinzipiell differentiellen Kennzeichen, die den Granulobacillus von der Diphtheriae-Gruppe unterscheiden, empfehle ich für diagnostische Zwecke die Bestimmung der Alkaleszenz resp. die Abnahme des Harnstoffprozents in einem aus Bouillon mit 1 Proz. Harnstoff bestehenden Nährboden anzuwenden (bisher ist zu diesem Zwecke Bouillon oder Fleischwasser gebraucht worden).

Schlußfolgerungen.

Der Granulobacillus seu Bacillus putrificus gehört zu den eitererzeugenden Bakterienarten und vermag lokale Schleimhautentzündungen herbeizuführen (unabhängig von der Lokalisation); dagegen bei subkutaner oder intraperitonealer Einführung ruft er keinerlei Alterationen hervor; bei lokalen Erscheinungen erzeugt er im Blute keine biologisch nachweisbare Alterationen (Abderhalden, Bordet-Gengou, Agglutination).

2) Mit eitererzeugenden Eigenschaften ausgestattet und gleichzeitig Harnstoff und Harnsäure mit Ammoniakentwicklung zersetzend, ruft der Granulobac. putrif. bei Blasenentzündungen alkalische Fermentation hervor (wie der Proteus vulgaris).

3) In bezug auf Morphologie und Färbbarkeit ist er dem *Bac. diphtheriae* stark analog, besitzt beständig metachromatische Körnchen, und in weiteren Generationen kolbenartige Involutionsformen; angesichts dessen ist es unmöglich, auf Grund von bakterioskopischen Präparaten den *Granulobac. putrif.* vom *Bac. diphtheriae* zu unterscheiden; der erstere färbt sich ebenfalls nach der Gramschen Methode (+); auch sind diese zwei Bakterienarten in Kulturen auf Loefflerschem Nährboden und in Präparaten von diesen Kulturen nicht zu unterscheiden. Jedoch gibt er bei 37° C ein rasches Wachstum, sowohl auf gewöhnlichem Agar-Agar, wie auch auf dem Endoschen Nährboden, wobei sich in dem letzteren die Kolonien rasch blaß-rosa färben und diese Färbung ungeändert bleibt, ohne mit der Zeit intensiver zu werden.

4) Die Differenzierung vom *Bac. pseudodiphtheriae* wird dadurch ermöglicht, daß der *Granulobacillus* stets Polkörperchen besitzt, auf Endos Nährboden sich in oben beschriebener Weise verhält, und in Harnstoff oder Harnsäure, oder endlich schwefelsaures Ammon enthaltenden Nährböden rasch eine stark alkalische Reaktion herbeiführt; dabei zeigt er eitererzeugende Eigenschaften, die der *Bac. diphtheriae* nicht besitzt.

5) Für Titerbestimmungen und Reaktionsänderungen in Nährböden ist ein spezieller, aus Bouillon (oder eiweißlos) mit Zusatz von 1 Proz. Harnstoff oder 10 Proz. schwefelsaurem Ammon (leicht zersetzbar Verbindungen) bestehender Nährboden ganz besonders geeignet, während die Fleischbouillon als solche Eigenschaften besitzt, die jene Versuche schwer ausführbar machen, und zwar: 1) schwer zersetzbar organische Verbindungen (Eiweiß); 2) vom Fleischsaft herrührenden Zuckergehalt; Zucker ruft eine saure Reaktion sogar in den Fällen hervor, wo eine Kultur von *Proteus vulgaris* oder *Granulobacillus* eingepflanzt worden ist.

6) Unsere bisherigen Kenntnisse über das Vorkommen des *Bac. diphtheriae* in der Mund- und Nasenhöhle von normalen Menschen und im Harn und Speichel von Rekonvaleszenten (Genesenden), sollten noch kontrolliert werden, angesichts dessen, daß sie auf Forschungen gestützt waren (bakterioskopisch und von Kulturen in Loefflerschem Serum), welche die verwandte Flora nicht berücksichtigt haben.

7) Auf die irrtümliche Benennung „*Bac. pseudodiphtheriae*“ sollte verzichtet werden, dafür aber, den gegenwärtig akzeptierten Bezeichnungen von „Paratuberculosis“ (bakterielle Form) und „Pseudotuberculosis“ (klinische Form) analog, die der Diphtherie nahestehenden, jedoch durch andere Mikroorganismen erzeugten Formen als „*pseudodiphtheriae*“ zu benennen, wogegen die Bacillenform von Hoffmann-Wellenhof (der frühere *Bac. pseudodiphtheriae*) mit „*Bac. paradiphtheriae*“ zu bezeichnen wären; man bedient sich ja auch

nicht der Bezeichnung „Bac. pseudocoli“, sondern nennt ihn „Bac. paracoli“.

8) Zersetzen die septischen biologischen Behälter (septic tank treatment) sowie auch die kleineren „fosses septiques“ die organischen Verunreinigungen in einem zu schwachen Grade [wie dies durch Beobachtungen zahlreicher Autoren festgestellt worden ist¹⁾], und würde deren intensivere Zersetzung eine zu lange Zeit in Anspruch nehmen (s. Roth und Bertschinger, Korrespondenzbl. f. schweiz. Aerzte. Bd. 30. 1900. p. 729), so ersehe ich, auf Grund eigener Versuche, die Ursache jenes Uebels: 1) In einer nicht entsprechenden und von atmosphärischen Einflüssen zu sehr abhängigen Temperatur; 2) in der Simultantätigkeit von heterogenen, einander hemmenden und abschwächenden Mikroorganismen in einem und demselben Behälter; 3) in der Kasualität (Zufälligkeit) der bakteriellen Flora²⁾; 4) in der hyperalkalischen, die Zersetzungs Vorgänge begleitenden und für den Bakterienwuchs unzuträglichen Reaktion.

Die oben angeführten Versuche mit Abwässern und mit Zersetzung von Harnstoff, unter der Wirkung von Aëroben (*Granulobacillus putrificus*), oder auch bei Mitwirkung derselben mit Anaëroben bei verschiedener Temperatur liefern einen Beweis dafür, daß: 1) die Temperatur der Abwässer in den Behältern eine konstante sein muß (37° C); 2) daß nicht sämtliche Gärungsvorgänge in einem und demselben Behälter parallel stattfinden können; 3) daß die Flora der einzelnen Gärungsvorgänge eine zweckmäßige, zielbewußt angewandte sein muß, und 4) daß im Verlauf der besprochenen Vorgänge die hyperalkalische Reaktion neutralisiert werden muß.

Dies wären nun die allgemeinen Postulate, deren Auseinandersetzung nebst genauer Charakteristik eines jeden derselben die Aufgabe einer Reihe von speziellen, von mir und meinen Mitarbeitern eingeleiteten Arbeiten bildet.

1) S. Dzierzowski, *Gesundh.-Ingen.* Bd. 30. 1907. p. 1, 261; Dzierzowski und Predtjetschensky, *Arch. d. biolog. Wissensch.* Bd. 16. 1910. I. p. 67–104; Guth und Spillner, *Gesundh.-Ingen.* 1911. p. 153; Dunbar, *Leitfaden f. d. Abwässerreinigungsfrage.* 2. Aufl. 1912. p. 206; Rolants, *Revue d'Hygiène.* Bd. 33. 1911. p. 949; Kossowicz, *Mykologie der Gebrauchs- und Abwässer.* 1913. p. 82 u. folg.; Fischer, F., *Das Wasser.* 1914. p. 325 u. folg.

2) Die Flora der einzelnen Vorgänge ist beschrieben worden von: Kossowicz, Söhngen, de Kruijff, Lieske, Fred, Caron, Scheffler, Wollmann, Bonjean und And.

Nachdruck verboten.

Remarks upon the paper by P. H. Hadley, R. Bryant and M. Elkins on capsule-formation in bacteria of the septicaemia-haemorrhagica group¹).

[From the Quick Laboratory, Cambridge.]

By Dr. L. Gózony.

In a paper which I published last year²), I demonstrated that bacteria belonging to the septicaemia-haemorrhagica group possess a capsule. The capsule is very difficult to stain, but is easily demonstrated by the Chinese ink method.

The authors above cited report that they failed to find the capsule, but they discovered capsulated bacteria which they found were present in the ink they used. They therefore assert that I was led into error by similar bacteria present in the ink I used, or else that my cultures contained pathogenic bacteria of some other kind than those belonging to the septicaemia-haemorrhagica group.

I would state that all my specimens were prepared with sterilized "Pelikan" Chinese ink (Grübler) which did not contain capsulated bacteria. My cultures were partly obtained from Professor Hutyra, of the Surgical Department, Budapest, and possessed all the well-known characters of bacteria belonging to the septicaemia-haemorrhagica group in respect to pathogenicity and bipolar staining reactions.

In addition, I have examined cultures of *Bacillus avisepicus*, *B. suisepicus* and *B. cuniculicida* obtained from the Institut Pasteur, Paris, and in every case capsules could easily be demonstrated.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über milzbrandähnliche Bacillen.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag.

(Vorstand: Prof. Bail.)]

Von Dr. H. Uémura.

Die Frage nach den Beziehungen anerkannt pathogener, infektiöser Bakterien zu solchen, die ihnen morphologisch, kulturell und biologisch mehr oder minder ähnlich sind, dabei aber niemals im parasitischen Zustande gefunden wurden, hat von jeher Beachtung gefunden und verdient solche heute in noch gesteigertem Grade. Wir wissen, daß sehr viele kulturelle und biologische Eigenschaften schwankend und modifizierbar sind, wissen aber auch weiter, daß innerhalb eines anscheinend einheitlichen Bakterienstammes sich sehr voneinander abweichende Rassen

1) *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1914. p. 478—480.*2) *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. p. 594—596.*

vorfinden oder gelegentlich als Mutation ausbilden können. Es ist noch nicht vollständig abzusehen, wohin die Bemühungen, die Methoden der modernen exakten Erbllichkeitsforschung, namentlich das gesonderte Studium der „reinen Linien“ in der Bakteriologie führen werden, ob überhaupt die bisherige bakteriologische Technik, die ausschließlich mit Massenkulturen, mit Populationen, arbeitet, ausreichend ist. Die Versuche von Preisz mit kapselbildenden und virulenten „Rassen“ des Milzbrandbacillus, die von Eisenberg über Sporenbildungsvermögen zeigen, daß wir in bezug auf Bakterieneigenschaften, die für das Auftreten und für die Verbreitung von Infektionen von höchster Bedeutung sind, noch sehr am Anfange unserer Kenntnisse stehen. Immerhin wird noch auf längere Zeit hinaus das Arbeiten mit Massenkulturen notwendig sein, von denen in den folgenden Untersuchungen über Pseudomilzbrandbacillen meist die Rede sein soll.

Bekanntlich ist die Zahl und die Verbreitung von Bakterien, welche dem echten infektiösen Milzbrande nahe stehen, eine sehr große, doch sind systematische Untersuchungen nur in geringer Zahl und erst in neuerer Zeit angestellt worden. Als sehr milzbrandähnlich ist der lange bekannte *Bacillus alvei* anzusprechen. Weitere Beschreibungen derartiger Bakterien stammen von Burri (Hygien. Rundsch. 1907. p. 339), Käsewurm (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1907. p. 137), Ottolenghi, Baas u. Hoppe (zitiert nach Jarmai, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. p. 80). Hueppe und Wood fanden einen *Bacillus* auf, der, sehr milzbrandähnlich wachsend, die besondere Eigenschaft zeigte, Tiere bei entsprechender Vorbehandlung gegen Infektion mit echtem Milzbrand zu schützen. Aus neuerer Zeit sind insbesondere zwei Untersuchungen hervorzuheben. Die Arbeit von Pfeiler und Drescher¹⁾, deren Stämme uns durch Herrn Dr. Pfeiler in liebenswürdigster Weise überlassen wurden, befaßte sich mit der Präzipitation von Milzbrand und Pseudomilzbrandbacillenextrakten durch spezifisches Milzbrandserum. Es stellte sich heraus, daß durch Präzipitation (Ringprobe) eine Differenzierung von Anthrax und Pseudoanthrax nicht möglich ist, indem Extrakte von Pseudoanthrax mit Milzbrandserum zum Teil noch stärkere Präzipitation als mit solchen von Milzbrandbacillen ergaben. Auch Erschöpfungsversuche an präzipitierenden Seren ergaben ein negatives Resultat. Jarmai (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. Heft 1/2) fand einen wesentlichen Unterschied zwischen Anthrax und anthraxähnlichen Bacillen bei der Hämolyse, indem die Pseudoanthraxbacillen besonders schön auf Kaninchenblut-Agarplatten stark, echte infektiöse Milzbrandbacillen aber gar nicht oder nur minimal nach längerer Zeit hämolysierten. Einen prinzipiellen Unterschied macht aber dieses differente Verhalten nicht aus, da das Ausbleiben der Hämolyse wesentlich nur durch die Kapselbildung der infektiösen Milzbrandbacillen bedingt ist. Rein gewonnene Kapselsubstanz verhindert auch die durch Pseudoanthrax erzeugte Hämolyse, während kapsellos wachsende, abgeschwächte, echte Milzbrandbacillen ebenfalls hämolysieren.

Die folgenden Versuche wurden mit den gleichen Stämmen, die auch Pfeiler und Drescher benutzt hatten, angestellt. Sie bezogen sich außer auf das Studium der morphologischen und kulturellen Eigenschaften, bezüglich dessen den Angaben der genannten Autoren nichts Wesentliches hinzuzufügen ist, auf das Studium der Kapselbildung, des

1) Zeitschr. f. Hyg. d. Haustiere. Bd. 13. Heft 7.

Verhaltens in bakteriziden Plattenversuchen, Verhaltens im Tierversuche an Meerschweinchen und der Hämolyse. Ueber die Herkunft der Stämme finden sich in der Arbeit von Pfeiler und Drescher die näheren Angaben.

Im allgemeinen ist zu bemerken, daß Bouillonkulturen sehr häufig ein gutes differentialdiagnostisches Merkmal zwischen Milzbrand und Pseudomilzbrand geben, indem erstere am Grunde der klarbleibenden Bouillon wachsen, während letztere mehr oder weniger trübe werden oder auch ausgesprochene Hautbildung zeigen. Es ist aber zu bemerken, daß auch echte Milzbrandstämme gewisse Abweichungen in ihrem Wachstum zeigen und andererseits Pseudomilzbrand genau so wie echter wachsen kann. So zeigten die beiden in folgenden Versuchen benutzten Milzbrandstämme Buchner und Fleissen eine so bemerkenswerte Differenz, daß Bouillonkulturen derselben sofort unterscheidbar waren. Das Wachstum am Grunde der klaren Bouillon war bei Buchner ein sehr lockeres, so daß schon geringes Schütteln zu einer gleichmäßigen, lange bestehenden Trübung führte; im Gegensatz dazu wuchs „Fleissen“ in dicht zusammenhängenden, fädigen Flocken, die überhaupt nicht vollständig zu verteilen waren.

Das Wachstum der untersuchten Pseudomilzbrandstämme sei möglichst kurz angeführt:

Anthracoïdes Hueppe und Wood, auf Agarplatte ganz milzbrandähnlich, Kolonie nur etwas dicker und transparenter. Auf Gelatineplatten ähnlich wie Milzbrandkolonien, mehr rund, weniger Ausläufer, langsame Verflüssigung. Auf Bouillon wolkige Satzbildung bei leichter Trübung der obenstehenden Bouillon. Aeltere Bouillonkulturen werden vollständig klar. Auf Traubenzucker weder in Stich- noch in Schüttelkultur Gasbildung.

Anthracoïdes Hoppe A, auf Agarplatte und in Agarstrich vollständig milzbrandähnlich, ebenso auf der ziemlich rasch verflüssigten Gelatine. Frische Bouillonkulturen sind trüb, mit mäßigem Bodensatz, klären sich aber bald unter Bildung einer Haut am Glasrande. Auf Traubenzuckeragar wurde keine Gasbildung beobachtet. Pfeiler und Drescher geben Milchgerinnung an.

Anthracoïdes Hoppe B. Auf Agarplatte und in Agarstrichkulturen sehr milzbrandähnlich. die Kolonien mehr rund. Die Gelatineplattenkolonien milzbrandähnlich verflüssigt. Bouillonwachstum wie bei Hoppe A. Gasbildung wurde nicht beobachtet. Pfeiler und Drescher fanden auch bei diesem Stamm Milchgerinnung.

Anthracoïdes Wahrlich. Auf der Agarplatte dicke, trockene Kolonien mit unregelmäßigen Ausläufern, milzbrandähnlich. Eine besondere schleimige Eigenschaft, die Pfeiler und Drescher angeben, trat bei unserem Versuche nicht hervor. Der Agarstrich ist dicker als bei Milzbrand entwickelt. Bouillonwachstum wie bei beiden vorigen. Keine Gasbildung aus Traubenzucker.

Anthracoïdes 50. Kolonien auf Agarplatte ganz milzbrandähnlich, ebenso Agarstrichkultur. Auf Gelatine milzbrandähnliche Verflüssigung. Bouillonwachstum wie die vorigen. Keine Gasbildung auf Zuckeragar.

Anthracoïdes 2731. Die Kolonien auf Agarplatte sind milzbrandähnlich, aber etwas feuchter. Agarstriche ganz milzbrandähnlich. Gelatine milzbrandähnlich mit Verflüssigung. Bouillonwachstum am Grunde, spurenweise Trübung der obenstehenden Flüssigkeit, die sich bald vollständig klärt. Aeltere Bouillonkulturen bilden Häute. Traubenzuckeragar ohne Gasbildung.

Bacillus mesentericus. Agarplatten mehr feuchte, rundlichere Kolonie, mit weniger ausgesprochener Fadenbildung. In Gelatine trockene, rundliche, ziemlich scharf begrenzte Kolonien, Verflüssigung. Die Bouillonkultur ist im frischen Zustande klar mit Satzbildung, auf alten Kulturen bildet sich eine dünne Haut. Gasbildung auf Traubenzucker nicht beobachtet.

Pseudomilzbrand Prag, gefunden als Luftverunreinigung von Dr. Matsui. Auf Agarplatte und Agarstrich sehr milzbrandähnlich, ebenso auf der ziemlich rasch verflüssigten Gelatine. Frische Bouillonkulturen gleichmäßig trüb mit wenigem Bodensatz. Gasbildung wird nicht beobachtet. Grampositiv.

Gewisse Abweichungen gegenüber den von Pfeiler und Drescher kurz beschriebenen Wachstumsmerkmalen dürften auf Verschiedenheiten

der Nährböden (in Agar ist namentlich der Feuchtigkeitsgehalt von großer Bedeutung) zurückzuführen sein. Sie sind übrigens nicht bedeutend. Was die Hautbildung auf Bouillon betrifft, so fehlt dieselbe in länger gestandenen Milzbrandkulturen ebenfalls nicht, kann also nicht als durchgreifendes Unterscheidungsmerkmal dienen. Nur die Hautbildung des *Bacillus mesentericus* wich durch dünnere, faltige Beschaffenheit im hohen Grade ab.

Zunächst wurde untersucht, ob sich die erwähnten Pseudomilzbrandstämme in ihrem Verhalten gegen die Körperschutzkräfte von echtem Milzbrand unterscheiden lassen. Bekanntlich unterliegt dieser der bakteriziden Wirkung des Kaninchenserums in kurzer Zeit, wobei das auf 56° erhitze Serum seine Wirkung nur zum Teil verliert. Besonders dieses letztere Verhalten sollte geprüft werden.

Tabelle I.

Aus frischer Bouillonkultur wurden je 2 Tropfen in sterile Bouillon gebracht und von dieser Verdünnung wieder je 1 Tropfen in einem Röhrchen, welches 1 ccm aktives, eventuell inaktives Kaninchenserum enthält, verteilt. Nach 1/2 Stunde und nach 3 Stunden bei 37° wurde der Gesamtinhalt je eines Röhrchens zur Platte verarbeitet.

	Einsaat	Nach 1/2 Stunde	Nach 3 Stunden
Milzbrand Buchner	47	0	0
" " " " " " " " " "	157	0	0
" " " " " " " " " "	352	10	0
" " " " " " " " " "	3285	5	0
" " " " " " " " " "	2428	4	0
" " " " " " " " " "	4857	224	12
" " " " " " " " " "	2571	9	3
" " " " " " " " " "	2731	19	2
" " " " " " " " " "	856	19	2
Bacillus mesentericus	544	22	16
Anthracoides Prag	4400	0	0

Man kann aus dem Versuche ersehen, daß echter und Pseudomilzbrand von aktivem Kaninchenserum in genau gleichem Grade beeinflusst werden.

Tabelle II.

Versuch mit inaktivem Kaninchenserum. Die Versuchsanordnung ist genau dieselbe wie in Tabelle I.

	Einsaat	Nach 1/2 Stunde	Nach 3 Stunden
Milzbrand Buchner	47	14	0
" " " " " " " " " "	157	12	0
" " " " " " " " " "	352	68	2
" " " " " " " " " "	3285	12	1
" " " " " " " " " "	2428	15	7
" " " " " " " " " "	4857	192	210
" " " " " " " " " "	2571	14	46
" " " " " " " " " "	2731	80	18
" " " " " " " " " "	856	80	18
Bacillus mesentericus	544	106	46
Anthracoides Prag	4400	5	0

Man sieht aus der Tabelle, daß inaktives Kaninchenserum auf Pseudomilzbrand ebenso wie auf Milzbrand noch stark entwicklungshemmend einwirkt.

Weiter wurde untersucht, wie sich die Bakterien in anderen Seren, welche nicht die energische Bakterizidie des Kaninchenserums haben, verhalten.

Tabelle III.

Versuche mit aktivem Rinderserum. Die Versuchsanordnung ist genau die gleiche wie mit Kaninchenserum.

Je 1 ccm Rinderserum aktiv	Einsaat	Sofort	Nach 1 Stunde	Nach 3 Stunden
Milzbrand Buchner	352	308	196	144
„ Fleissen	571	714	857	571
Anthracoïdes Hueppe u. Wood	550	1334	777	550
„ Hoppe A	3828	5285	4 428	3 420
„ Hoppe B	3420	4842	3 714	2 428
„ Wahrlich	3144	3288	2 000	1 285
„ 50	3000	4000	3 285	1 842
„ 2731	2712	1282	859	714
Bac. mesentericus	1144	571	428	114
Anthracoïdes Prag	5400	—	23 500	14 400

Man ersieht daraus ein vollständig analoges Verhalten von Milzbrand und Pseudomilzbrand; die Wirkung des verwendeten Rinderserums äußert sich gleichmäßig als Entwicklungshemmung.

Tabelle IV.

Versuche mit Meerschweinchenserum.

Je 1 ccm Meerschweinchenserum aktiv	Einsaat	Sofort	Nach 1 Stunde	Nach 3 Stunden
Milzbrand Buchner	—	3360	1528	2658
„ Fleissen	—	2370	1700	2500
Anthracoïdes Hueppe u. Wood	—	1312	920	376
„ Hoppe A	1870	3712	2428	2248
„ Hoppe B	2857	3571	2142	2000
„ Wahrlich	3285	2857	3142	2857
„ 50	—	710	200	400
„ 2731	3570	2851	1871	1570
Bac. mesentericus	1870	2857	3285	1871
Anthracoïdes Prag	3200	2500	2810	2300

Es hat sich also bezüglich des Verhaltens gegen bakterizide Serumwirkung kein irgend durchgreifender Unterschied zwischen echtem und Pseudomilzbrand feststellen lassen.

Im folgenden wurde dann noch geprüft, ob die Wirkung von Meerschweinchenleukocyten eine Differenz im Verhalten der Bakterien ergeben würde (s. Tabelle V).

Man ersieht aus der Tabelle, daß gegen den echten Milzbrand Fleissen und Buchner eine Entwicklungshemmung durch aktives und inaktives Meerschweinchenserum ausgeübt wurde, welche sich nach Zusatz von Leukocyten, die auch in Kochsalzlösung sehr wirksam sind, zu mehr oder minder starker Keimvernichtung steigerte. Im Prinzip ganz ähnlich verhalten sich die damit verglichenen Pseudomilzbrandstämme, nur daß bei Anthracoïdes Wahrlich und 2731 die Leukocytenwirkung weniger, namentlich in Kochsalzlösung, deutlich hervortritt (s. Tabelle VI).

Obwohl sich im Versuch einige Unregelmäßigkeiten geltend machen, ist doch im ganzen die prinzipielle Uebereinstimmung der Milzbrand- und Pseudomilzbrandbacillen im Verhalten gegen die Keimvernichtung durch Meerschweinchenserum und Zellen zu ersehen.

Es war somit nicht gelungen, auf diesem Wege der Untersuchung der Wirkung von Körperschutzkräften eine Differenz zwischen Milzbrand und Pseudomilzbrand ausfindig zu machen. Aehnlich wie Pfeiler und

Drecher für die Präzipitation gefunden hatten, geht auf diesem Wege nur die große Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Bakterien hervor.

Tabelle V.

Die Leukocyten wurden von einem großen Meerschweinchen durch intraperitoneale Punktionspunktion gewonnen und nach zweimaliger Waschung in der Menge von je 0,1 g Gesees gezogen, in jedes Röhrchen verteilt. Nach Zusatz der Aufschwemmungsflüssigkeit wurde in jedes Röhrchen 1 Tropfen verdünnter Bouillonkultur gebracht, dessen Keimzahl durch eine Agarplatte ermittelt wurde. Nach 5 Stunden wurde der ganze Inhalt jedes Röhrchens zu Platten verarbeitet.

	Milzbrand Buchner	Milzbrand Fleissen	Anthracoïden Hueppe u. Wood	Anthracoïden Hoppe A	Anthracoïden Hoppe B	Anthracoïden Wahrlich	Anthracoïden 50	Anthracoïden 2731	Bac. mes- entericus	Anthracoïden Prag
Einsaat	488	568	3000	8000		872	2000	600	4000	3900
1) 0,5 ccm Serum aktiv	332	308	5000	10800	44000	4000	2400	1361	3700	2356
2) 0,5 " " + Leukocyten	51	8	1	536	76	1	7	12	1	12
3) 0,5 ccm Serum inaktiv	1360	1408	1200	5300	72000	2000	8000	2900	3000	12100
4) 0,5 " " + Leukocyten	110	100	144	1300	308	228	180	50	56	124
5) 0,5 ccm NaCl	2384	3840	792	16000	101000	3000	41000	2080	7242	44100
6) 0,5 " " + Leukocyten	496	192	184	496	5000	5000	1056	2628	64	8600

Tabelle VI.

Versuchsordnung wie Tabelle V. Außer den daselbst erwähnten Proben wurden auch noch solche untersucht, bei denen die Leukocyten durch 3maliges Gefrierenlassen in einer Kältemischung abgetötet worden waren.

	Milzbrand Buchner	Milzbrand Fleissen	Anthracoïden Hueppe u. Wood	Anthracoïden Hoppe A	Anthracoïden Hoppe B	Anthracoïden Wahrlich	Anthracoïden 50	Anthracoïden 2731	Bac. mes- entericus	Anthracoïden Prag
Einsaat	488	568	3000	8000	8000	872	2000	600	4000	3900
1) 0,5 ccm Serum aktiv	322	308	5000	10800	44000	4000	2400	1361	3700	2356
2) 0,5 " " + Leukocyten	51	8	1	536	76	1	7	12	1	12
3) (0,5 ccm Serum aktiv + Leukocyten) gefr.	3	31	12	5000	1696	132	204	58	22	105
4) 0,5 ccm Serum inaktiv	136	1408	1200	53000	72000	2000	8000	2922	3000	12100
5) 0,5 " " + Leukocyten	110	100	144	1300	308	228	180	50	56	124
6) (0,5 ccm Serum inaktiv + Leukocyten) gefr.	196	160	176	9200	1280	1400	672	336	400	600
7) 0,5 ccm NaCl	2384	3840	792	51	101000	3000	41000	208	7242	44100
8) 0,5 " " + Leukocyten	496	192	184	496	5000	5000	1056	2628	64	8600
9) (0,5 ccm NaCl + Leukocyten) gefr.	3248	1136	2400	9600	5000	7000	14400	3100	3800	13100

Weitere Untersuchungen befaßten sich mit der Fähigkeit der Bakterien, im Serum bei Wachstum außerhalb des Tierkörpers Kapseln zu

bilden. Bekanntlich bildet echter Milzbrand solche sehr leicht und in schöner Weise aus. Zu den Versuchen wurde sowohl Rinderserum, Schweineserum als auch Kaninchenserum verwendet. Die Resultate, von denen hier ein kurzes Resumé genügt, waren insofern von hohem Interesse, als sich ergab, daß die beiden zum Vergleich verwendeten Milzbrandstämme in allen Seren sofort kapselhaltig wuchsen, wobei allerdings bei Kaninchenserum dessen starke bakterizide Kraft durch sehr hohe Einsaat überwunden werden mußte. Bei sämtlichen Pseudomilzbrandstämmen wurde niemals Kapselbildung gefunden, mit Ausnahme des Bacillus Hoppe B, wo die Kapselbildung der des echten Milzbrandes vollständig glich.

Tabelle VII.

Versuch der Kapselbildung der Milzbrand- und Pseudomilzbrandbacillen nach 16-stündigem Wachstum bei 37°.

	Rinder- serum		Schweine- serum		Kaninchen- serum		Meer- schweinchen- serum
	aktiv	in- aktiv	aktiv	in- aktiv	aktiv	in- aktiv	aktiv
Milzbrand Buchner	+	+	+	+	+	+	+
„ Fleissen	+	+	+	+	+	+	+
Anthracoïdes Hueppe u. Wood	—	—	—	—	—	—	—
„ Hoppe A	—	—	—	—	—	—	—
„ Hoppe B	+	+	+	+	+	+	±
„ Wahrlich	—	—	—	—	—	—	—
„ 50	—	—	—	—	—	—	—
„ 2731	—	—	—	—	—	—	—
Bac. mesentericus	—	—	—	—	—	—	—
Bac. Prag	—	—	—	—	—	—	—

Zeichenerklärung: + Wachstum überwiegend oder ausschließlich mit Kapseln; ± in den Kulturen fanden sich neben kapselhaltigen auch kapselfreie Formen; — ohne Kapselbildung.

Tabelle VIII.

Kapselbildung von Anthrax und Pseudoanthrax in aktivem und inaktivem Schweineserum, ununterbrochen durch 12 Generationen fortgezüchtet.

	Generationen											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Milzbrand Buchner	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Fleissen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anthracoïdes Hueppe u. Wood	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Hoppe A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Hoppe B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Wahrlich	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 2731	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bac. mesentericus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bac. Prag	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Bereits Pfeiler und Drescher geben für den Pseudomilzbrand Hoppe B, welcher aus dem hygienischen Institut der tierärztlichen Hochschule stammt, den Befund von Kapseln im Tierkörper an. Die Beobachtung des vollständig regelmäßigen Auftretens von Kapseln in Serumkulturen des Bacillus Hoppe B, im Gegensatz zu allen anderen Pseudomilzbrandstämmen, ließ bereits die Vermutung entstehen, daß es sich um einen echten Milzbrand handeln könne, was dann durch Tierversuche weiter bestätigt wurde.

Allerdings muß hier sofort bemerkt werden, daß weder der Tierversuch, noch das Wachstum außerhalb des Tierkörpers an sich eine sichere Entscheidung darüber zulassen, ob ein Bacillus Milzbrand ist oder nicht. Auch der echte Milzbrandbacillus

kann nach einer der bekannten Methoden vollständig seiner Infektiosität beraubt werden, und es ist das besondere Verdienst von Preisz, wie auch von Gruber und Futaki, darauf hingewiesen zu haben, daß derart nicht mehr infektiöser Milzbrand auch die Kapselbildung im Serum für immer aufgegeben hat. Wie im folgenden zu zeigen sein wird, hat aber der Tierversuch am Meerschweinchen doch differentialdiagnostisch brauchbare Merkmale ergeben.

Der Verlauf der intraperitonealen Milzbrandinfektion ist durch Versuche von Deutsch, Bail und anderen genau bekannt. Die injizierten Kulturbacillen, vorausgesetzt, daß sie nicht in übermäßig großer Menge verwendet werden, verschwinden nach einiger Zeit, deren Dauer von der Schwere der Infektion abhängt, vollständig aus dem Peritoneum und erscheinen dann in kapseltragender Form wieder, um sich ohne Hemmung zu vermehren. Diesen Verlauf nehmen die im Impfversuche mit den hier verwendeten beiden Kontrollstämmen Buchner und Fleissen, sowie ganz analog teilweise auch mit der als Pseudomilzbrand Hoppe B bezeichneten Kultur; dabei ist es wichtig, hervorzuheben, daß der Verlauf der Infektion mindestens 24 Stunden lang (bei schwerster Infektion) dauerte, und daß erst kurz vor dem Tode Krankheitszustände zu beobachten waren, in Mattigkeit, gestäubten Haaren bestehend. Druckempfindlichkeit des Bauches, auf Peritonitis hindeutend, ist nicht zu bemerken gewesen. Einen anderen Verlauf nahmen die Impfversuche mit größeren Mengen der Pseudomilzbrandstämme.

Meerschweinchen, 220 g, erhält 5 ccm frischer Bouillonkultur von *Anthracoïdes Hoppe A* intraperitoneal. Eine sofort gemachte Kapillarentnahme zeigt sehr zahlreiche Bacillen, oft in langen Ketten; nach 10 Minuten zeigt das deutlich kranke Tier, das lebhaft Schmerzäußerungen, besonders beim Berühren des Bauches gibt, den gleichen Befund. Nach 1 Stunde zeigt die Kapillarentnahme bei dem schwer erkrankten Tiere eine deutliche Verminderung der durchaus kapsellosen Bacillen. Leukocyten sind sehr spärlich, hingegen massenhaft abgestoßene Endothelien. Nach 1½ Stunden starb das Tier; in der Bauchhöhle geringe Menge stark blutigen Exsudates, Serosa in ganzer Ausdehnung stark injiziert, düsterrot, an vielen Stellen Blutungen. Im Peritonealexsudat zahlreiche, ziemlich dicke Bacillen, einzeln oder in Ketten, ohne Kapsel. In Leber, Milz und Herzblut ließen sich spärliche, kurze Bacillen nachweisen. Die Kulturen auf Agar waren aus Leber, Milz, Herzblut und Peritonealexsudat positiv.

Meerschweinchen, 250 g, erhält 5 ccm frischer Bouillonkultur von *Anthracoïdes Wahrlich* intraperitoneal. Die sofortige Kapillarentnahme zeigt sehr viele Ketten. Schon nach 10 und 30 Minuten, wo das Tier deutlich krank war, verminderte sich ihre Zahl, um nach 1 Stunde wieder etwas zuzunehmen. Nach ungefähr 1½ Stunden erfolgt Tod mit wesentlich gleichem Sektionsbefunde wie bei Hoppe A. Bacillen waren außer im Peritonealexsudat in der Milz zahlreich, in Leber und Herzblut spärlich aufzufinden. Sie waren kurz und dick, ohne Spur von Kapselbildung.

Meerschweinchen, 220 g, erhält 5 ccm frischer Bouillonkultur von *Anthracoïdes 50* intraperitoneal. Die sofortige Entnahme des Exsudates zeigt sehr zahlreiche Bacillen meist einzeln, selten lange oder kürzere Ketten, hier und da Sporen. Nach 1 Stunde waren im bereits schwerkranken Tier die Bacillen vermindert. Nach 2 Stunden erfolgte der Tod. Der Sektionsbefund glich vollständig dem bei den bisherigen Tieren. Bacillen wurden im Exsudat in Form von kurzen, dicken Stäbchen ziemlich zahlreich, in Milz und Leber spärlich, im Herzblut nicht gefunden.

Meerschweinchen, 290 g, erhält 5 ccm Bouillonkultur von *Anthracoïdes 2731* intraperitoneal; sofort zahlreiche Bacillen, relativ schlank, ohne Sporen, meist in langen Ketten. Nach 30 Minuten ist das Tier bereits schwer krank, die Bacillenzahl vermindert. Hier und da finden sich aufgequollene Bacillen. Der Tod tritt nach 1 Stunde ein, bei gleichem Sektionsbefund wie bei dem vorhergehenden Tiere. Bacillen wurden im Peritonealexsudat zahlreich, in Leber und Milz spärlich, im Herzblut nicht gefunden, kulturell ergab 1 Oese Herzblut 2 Kolonien.

Meerschweinchen, 200 g, erhält 5 ccm Bouillonkultur von *Bacillus mesentericus* intraperitoneal. Die sofortige Entnahme liefert ein zellfreies Exsudat mit zahlreichen Ketten der gewöhnlichen Kulturform; schon nach 10 Minuten macht das Tier einen schwerer kranken Eindruck; der Bauch ist aufgetrieben und schmerzhaft. Im Exsudate ist bei sehr wenigen Leukocyten die Bacillenmenge vermindert. Nach 30 Minuten ließ sich geringe Phagocytose der spärlichen Leukocyten beobachten. Die Entnahme nach 1 Stunde ergab bei dem schwerkranken Tiere eine weitere Verminde-

rung der teils in Ketten geordneten, teils einzelnen, etwas verdickten Bacillen. Der Tod erfolgte nach $1\frac{1}{2}$ Stunden mit dem gewöhnlichen Befund schwerster hämorrhagischer Peritonitis. Die Bacillen zeigten keine Spur von Kapselbildung. Leukocyten fanden sich in geringer Zahl, reichliche Endothelien, die hier und da Phagocytose zeigten. In der Milz wurden sehr vereinzelt Bacillen gefunden; in Leber und Herzblut waren sie nur durch Kultur in geringer Zahl nachweisbar.

Meerschweinchen, 200 g, erhielt 5 ccm frischer Bouillonkultur von *Anthracoïdes Hueppe* und Wood intraperitoneal. Die sofortige Entnahme ergab sehr zahlreiche, meist in Ketten angeordnete Bacillen von der gewöhnlichen Kulturform. Nach 10 Minuten erschien das Tier bereits krank. Das Exsudat war leicht blutig. Die nicht sehr reichlichen Bacillen erschienen etwas dicker und bildeten lange Ketten; nach 30 Minuten war der Bauch des kranken Tieres aufgetrieben und schmerzhaft, die Bacillen waren vermindert und erschienen dick. Nach 1 Stunde wesentlich der gleiche Befund. Nach 2 Stunden erwies sich das Tier als schwer krank; die Bacillen waren etwas zahlreicher geworden, dick, meist einzeln, Leukocyten fanden sich nur sehr spärlich, dagegen reichlich abgestoßene Endothelien (mit eingeschlossenen Bacillen). Bei der Sektion des nach $3\frac{1}{2}$ Stunden gestorbenen Tieres enthielt die Bauchhöhle blutiges Exsudat, mit mäßig zahlreichen, meist in kurzen Ketten geordneten Bacillen ohne jede Spur von Kapsel. Die Serosa überall stark hyperämisch, mit vielen Blutungen. In Leber und Milz fanden sich Bacillen spärlich; das Herzblut war auch kulturell steril.

Meerschweinchen, 250 g, erhält eine Oese frischer Agarkultur von *Anthracoïdes Hueppe* und Wood, welche aus dem Peritonealexsudat eines gestorbenen Tieres gezüchtet war, intraperitoneal. Nach 30 Minuten hat die Bacillenzahl abgenommen und vermindert sich weiter nach 1 Stunde, wo das Tier bereits krank erschien. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden enthält das Exsudat des schwer kranken Tieres spärliche Bacillen und Leukocyten, die hier und da Phagocytose zeigen. Nach $5\frac{1}{2}$ Stunden war das Tier in der Agonie; die Bacillen hatten sich vermehrt, ohne wesentliche Formveränderung, Leukocyten hatten zugenommen. Der Sektionsbefund des nach 6 Stunden gestorbenen Tieres stimmt mit den bisher angegebenen vollständig überein.

Es ist somit aus den Meerschweinchenversuchen mit aller Sicherheit eine sehr hochgradige Giftwirkung der Pseudomilzbrandstämme festgestellt, wie sie echten Milzbrandstämmen vollständig fehlt. Die Pseudomilzbrandbacillen übertreffen in dieser Hinsicht noch den *Bacillus subtilis*, bei welchem nach den Untersuchungen von Weil eine ähnliche Giftwirkung besteht; dabei ist von einer wirklichen Vermehrung, zu welcher allerdings die Zeit sehr kurz ist, keine Rede. Im Peritonealexsudat wurden stets die meisten Bacillen unmittelbar nach der Infektion aufgefunden; sie verminderten sich dann mehr oder minder rasch und stark.

Der ganze Befund läßt von vornherein auf eine hohe Giftigkeit der Leibessubstanz der Bakterien schließen, was noch durch folgende Versuche mit *Anthracoïdes Hueppe* und Wood deutlich gemacht wurde.

Meerschweinchen, 200 g, erhält eine Oese *Anthracoïdes Hueppe* und Wood, in 5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 1 Stunde auf 70° C erhitzt. Das Tier war nach 3 Stunden schwer krank, starb nach 6 Stunden und wies den gewöhnlichen Befund schwerer hämorrhagischer Peritonitis auf. Die mikroskopische Untersuchung ergab aber die Anwesenheit von Bakterien, welche offenbar aus den überlebenden Sporen ausgewachsen waren.

In diesem Versuche, wie auch in einigen anderen, war die Abtötung der Bakterien nicht vollständig gelungen. Diese erfolgte erst, als die Aufschwemmung der Agarkultur 1 Stunde lang auf 95° C erhitzt wurde.

Meerschweinchen, 200 g, erhielt 1 Stunde lang bei 95° C gehaltene Aufschwemmung einer Oese ganz frischer Agarkultur von *Anthracoïdes Hueppe* und Wood in 5 ccm Kochsalzlösung intraperitoneal. 3 Stunden später sah das Tier krank aus und war nach 5 Stunden schwer krank. In der Bauchhöhlenflüssigkeit waren mikroskopisch keine Bacillen, aber ziemlich zahlreiche Leukocyten nachzuweisen; später erholte sich das Tier vollständig.

Meerschweinchen, 200 g, erhielt intraperitoneal 2 ccm eines Extraktes, der durch 1-stündiges Erhitzen einer frischen Agarkultur *Hueppe* und Wood mit 5 ccm Kochsalzlösung auf 65° C erhalten und vollständig klar zentrifugiert worden war. Das Tier zeigte keine besonderen Krankheitserscheinungen und überlebte.

Meerschweinchen, 200 g, erhielt 5 ccm eines auf die gleiche Weise bereiteten Extraktes und überlebte ohne besondere Krankheitserscheinung. Ein Meerschweinchen,

welches den nach der Extraktion zurückgebliebenen Bakteriensatz erhalten hatte, starb nach 6 Stunden mit gewöhnlichem Sektionsbefunde und zahlreichen Bacillen im Exsudat.

Aus den Versuchen geht das eine klar hervor, daß die giftige Substanz aus Kulturen des *Bacillus Hueppe* und *Wood* jedenfalls nur schwierig in Lösung zu bringen ist, da selbst eine Agarkultur kein wirksames Extrakt gab. Die bis fast zum Siedepunkt erhitzten und dadurch sicher abgetöteten Bakterienleiber enthalten, wie der diesbezügliche Meerschweinchenversuch zeigt, das Gift noch, aber in abgeschwächter Form. Leider gelang es nicht, durch schonende Methoden eine vollständige Abtötung der Bacillen herbeizuführen, offenbar, weil selbst in jungen Bouillonkulturen schon Sporen gebildet sind, wenn sie auch der mikroskopischen Untersuchung entgehen.

Auch in ältere Bouillonkulturen geht die giftige Substanz der Pseudomilzbrandbacillen über; es genügt, zum Nachweise etwa 7-tägige, üppige Bouillonkulturen energisch bei hoher Drehzahl zu zentrifugieren. Die geringe Zahl der im Zentrifugate etwa noch enthaltenen Bakterien stört den Versuchsverlauf nicht, so daß man Filtrieren durch Ton oder Porzellan vermeiden kann. Die Versuche wurden hauptsächlich mit Pseudomilzbrand *Hueppe* und *Wood* angestellt.

Meerschweinchen, 200 g, erhält 5 ccm klar zentrifugierter, 7-tägiger Bouillonkultur von Pseudomilzbrand *Hueppe* und *Wood* intraperitoneal. Schon nach 10 Minuten erschien das Tier krank; der Bauch war aufgetrieben, im Exsudate waren spärliche Leukocyten, aber keine Bacillen zu sehen. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde war das Tier sehr schwer krank und blieb so, anscheinend dem Tode nahe, matt und kühl bis 4 Stunden nach der Injektion, wobei sich die Zahl der Leukocyten in der Bauchhöhle vermehrte; Bacillen waren nicht nachweisbar. Nach 8 Stunden trat Erholung ein; das Exsudat war eitrig. Am nächsten Tage war das Tier munter.

Die hohe Giftigkeit der milzbrandähnlichen Bakterien, welche in wenigen Stunden Meerschweinchen bei intraperitonealer Injektion unter den schwersten Krankheitserscheinungen töteten, bildet einen vollständigen Unterschied gegenüber dem Verhalten echter Milzbrandbacillen, denen diese Giftigkeit unter keinen Umständen zukommt. Dabei muß nochmals darauf aufmerksam gemacht werden, daß eine wirkliche Vermehrung und das Eintreten einer Bakteriämie, wie diese für Milzbrand so charakteristisch ist, nicht zu beobachten war. Wurden nur geringe Mengen von Bakterien subkutan oder intraperitoneal an Meerschweinchen verimpft, so blieb jeder Erfolg der Impfung aus, wie dies schon Pfeiler und Drescher beobachten konnten. Ueber die Tierversuche mit Pseudomilzbrand *Hoppe B* wird weiter unten zu sprechen sein.

Es sollen hier noch kurz die Untersuchungen über Hämolyse mitgeteilt werden:

Dieselben wurden zunächst ausschließlich auf Agarblutplatten angestellt. Das zu prüfende Blut (Menschen-, Meerschweinchen-, Kaninchen-, Schafblut) wurde dem auf 45° C abgekühlten Agar entweder als defibriertes Blut zugefügt oder als Aufschwemmung von gewaschenen Blutkörperchen, um den Serumgehalt zu vermeiden.

Das Ergebnis stimmt im ganzen mit der Angabe von *Jarmai* überein. Die Impfstriche mit sämtlichen milzbrandähnlichen Stämmen (*Hoppe B* ausgenommen) zeigten schon nach 16 Stunden bei 37° C schöne, breite, hämolytische Höfe, gleichgültig, welches Blut dabei angewendet worden war. Hingegen waren um diese Zeit die Impfstriche der beiden echten Milzbrandstämmen ohne jede Blutlösung. Nur insofern wichen unsere Ergebnisse von denen von *Jarmai* ab, als nach längerer Zeit (48 Stunden) auch an den Impfstriichen von Milzbrand Hämolyse auftrat, und zwar auch dann, wenn reines defibriertes Blut verwendet

wurde, also ein Wachstum auf Serumagar erfolgte. Der durch die Hämolyse gegebene differentialdiagnostische Unterschied zwischen Milzbrand und Pseudomilzbrand ist also sehr prägnant und brauchbar, aber nur eine gewisse Zeit hindurch.

Tabelle IX.

Versuch über Hämolyse.

Zu je 5 ccm Bouillon wurden je 3 Tropfen Hammelblut zugesetzt, dann erfolgte die Einsaat; das Resultat ist nach 24-stündigem Aufenthalte bei 37° notiert. Der Versuch wurde durch 5 Generationen fortgesetzt.

	Generationen				
	1	2	3	4	5
Milzbrand Buchner	—	—	—	—	—
„ Fleissen	—	—	—	—	—
Pseudomilzbrand Hueppe u. Wood	+	+	+	+	+
„ Hoppe A	+	+	+	+	+
„ Hoppe B	—	—	—	—	—
„ Wahrlich	+	+	+	+	+
„ 50	+	+	+	+	+
„ 2731	+	+	+	+	+
Bacillus mesentericus	+	+	+	+	+

Die Ergebnisse stimmen also mit denen auf der Agarblutplatte überein.

Bemerkte muß noch werden, daß zwischen der raschen Hämolyse der Pseudomilzbrandstämme und der sehr langsamen des echten Milzbrandes auch insofern ein Unterschied bestand, als die Hämolyse der letzteren mehr diffus verlief und nicht zur Ausbildung so scharf begrenzter, durchsichtiger Höfe um die Impfstriche wie bei Pseudomilzbrand führte.

Von größtem Interesse war die Untersuchung des Stammes Hoppe B, bei dem bereits Pfeiler und Drescher Pathogenität für Meerschweinchen und Mäuse sowie Kapselbildung angegeben hatten.

Es ist bereits oben bemerkt worden, daß auch wir bei der Kultur von Hoppe B die Bildung von Kapseln im Serum beobachtet hatten. Nachstehend sei diesbezüglich eine Tabelle angeführt, welche mit Kulturen von verschiedenen Milzbrand- und Pseudomilzbrandstämmen angelegt und durch 25 Generationen fortgeführt war.

Tabelle X.

Kapselbildung von Anthrax und Pseudoanthrax in aktivem Rinderserum durch mehrere Generationen.

	Generationen																									
	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	
Milzbrand Buchner	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Milzbrand Fleissen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pseudomilzbrand Hueppe u. Wood	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pseudomilzbrand Hoppe A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pseudomilzbrand Hoppe B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pseudomilzbrand Wahrlich	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pseudomilzbrand 50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 2731	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bac. mesent.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Man ersieht daraus, daß eine durch 25 Generationen fortgeführte Züchtung auf aktivem Rinderserum das Vermögen, bzw. Unvermögen der Bakterien, Kapseln zu bilden, ganz unverändert gelassen hat. Die Eigenschaft der Kapselbildung bei dem echten Milzbrandstamm und Hoppe B ist also ebenso konstant wie das Kapsellosbleiben der Pseudomilzbrandbacillen.

Das eigentümliche Verhalten des *Bacillus Hoppe B*, welches ganz mit dem der echten Milzbrandbacillen übereinstimmt, ließ bereits die Vermutung gerechtfertigt erscheinen, daß es sich hier um einen echten Milzbrandstamm handeln könne, was durch Meerschweinchenversuche noch bekräftigt wurde.

Meerschweinchen, 200 g, erhielt $1\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur Hoppe B. Nach 5 Minuten sehr zahlreiche kapsellose Formen, mäßig viele Leukocyten ohne Phagocytose. Nach 10 und 30 Minuten vermindert sich die Zahl der Bacillen, nach 1 Stunde ist das Tier merkbar krank; Leukocytenzahl gering; Andeutung von Kapselbildung vorhanden. Nach 4 Stunden hat das Tier schwere Peritonitis; es finden sich teils blasse, teils tief gefärbte, kurze, dicke Bacillen ohne Kapsel, wenig Leukocyten. Nach 7 Stunden sind die Bacillen spärlich, öfters Phagocytose. Das Tier starb in der Nacht. Die Sektion ergab Hyperämie in der Umgebung der Injektionsstelle, starkes sulziges Oedem der Bauchwand; Peritoneum stark hyperämisch, stellenweise subseröse Blutungen. In dem serös-hämorrhagischen Exsudate fanden sich zahlreiche Leukocyten und Endothelien, sowie viele Bacillen, sämtlich mit schöner Kapsel. Aus dem Exsudate, Milz, Leber und Herzblut, ergaben sich reichliche Kulturen.

Der Verlauf dieses Versuches ist ein sehr eigentümlicher. Das verhältnismäßig rasche Einsetzen peritonitischer Symptome stimmt mit den Erfahrungen an Pseudomilzbrandstämmen überein. Zu einer Kapselbildung war es in den ersten 7 Stunden der Infektion, während welcher Zeit eine Zunahme der Bakterien nicht erfolgte, nicht gekommen, hingegen entsprach der Sektionsbefund vollständig dem echten Milzbrand.

Meerschweinchen, 200 g, erhielt $2\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur (abgeimpft aus der Originalkultur) intraperitoneal. Schon nach 10 Minuten sah das Tier krank aus, ebenso nach $\frac{1}{2}$ Stunde; die Zahl der Bacillen war nicht besonders groß. Kapselbildung war nicht zu sehen. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunde war das Tier schwer krank, kühl, enthielt im Exsudat wenig Leukocyten, aber sehr viele Endothelien und mäßig zahlreiche Bacillen ohne Kapsel. Der Tod erfolgt nach 2 Stunden mit dem typischen Befunde schwerster hämorrhagischer Peritonitis. Die Bacillen waren ziemlich dick, hatten aber keine Kapsel. Aus Exsudat, Leber und Milz wurden reichliche Kulturen erhalten, aus Herzblut gingen nur 2 Kolonien auf.

Meerschweinchen, 200 g, erhielt $2\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur, im aktiven Schweineserum gezüchtet (Abimpfung aus der Originalkultur), intraperitoneal. Nach 1 Stunde war noch keine besondere Krankheit zu sehen. Bacillen fanden sich im Exsudate in mäßiger Zahl mit deutlicher Kapsel; auch nach $3\frac{1}{2}$ Stunden erschien das Tier nicht krank. Im sehr reichlichen, leukocytenreichen Exsudate waren viele Bacillen mit Kapseln aufzufinden; keine Phagocytose. Nach 20 Stunden war das Exsudat eiterig; Bacillen sämtlich mit schönen Kapseln, sehr zahlreich. Das nach $24\frac{1}{2}$ Stunden gestorbene Tier bot vollkommen den Befund einer echten Milzbrandinfektion mit zahlreichen, kapselhaltigen Bacillen im Exsudate, dem Blute und allen Organen.

Ein mit Kultur aus diesem Tier geimpftes frisches Meerschweinchen lebte 48 Stunden und wies wieder den Befund echter Milzbrandinfektion auf. Doch zeigte das Tier schon nach 1 und 2 Stunden starke peritonitische Erscheinungen, welche nach 5 Stunden wieder verschwunden waren.

Meerschweinchen, 200 g, erhielt 5 ccm Bouillonkultur Hoppe B, angelegt aus einer Kultur, welche aus dem Herzblute eines nach intraperitonealer Injektion mit einer Oese von originalem Hoppe B gestorbenen Meerschweinchens auf Agar gezüchtet und schon 39 Tage alt war und auf der Blutagarplatte deutliche Hämolyse zeigte. Die sofortige Entnahme liefert zahlreiche Bacillen in Form langer Ketten und der gewöhnlichen Kulturform. Nach 5 Minuten Bacillen zahlreich, mehr dick und kurz, nach 10 Minuten zeigt das Tier leichte Krankheitserscheinungen, die Bacillen verminderten sich. Nach 30 Minuten wurde die Bacillenzahl geringer, die Individuen waren dick und kurz, meist in kurzen Ketten oder zerstreut; wenige Leukocyten mit spärlicher Phagocytose. Nach 2 Stunden sah das Tier schwer krank aus mit peritonitischen Erscheinungen; die Bacillen waren meist kapselhaltig; die Leukocyten ver-

mehrten sich stark. Nach 4 Stunden hat sich das Tier erholt; Bacillen zahlreich, sämtlich mit schöner Kapsel. Nach 8 Stunden Tier munter, Exsudat trüb mit zahlreichen, kapselhaltigen Bacillen. Nach 24 Stunden wurde das Tier wieder krank mit gleichen Befunden. Die Sektion des nach 25 Stunden gestorbenen Tieres ergab die typischen Befunde der echten Milzbrandinfektion. Aus Exsudat, Leber, Milz und Herzblut ergaben sich reichliche Kulturen, welche auf Blutagarplatten keine Spur von Hämolyse zeigten.

Auch andere Versuche mit diesem Stamme hatten verschiedenen Erfolg, indem das eine Mal die Symptome der Pseudomilzbrandinfektion ganz in den Vordergrund traten, mit schwerer, binnen einigen Stunden tödlicher Vergiftung, das andere Mal der Verlauf typisch milzbrandähnlich war oder eine Kombination beider Symptomenreihen beobachtet wurde.

Ganz ebenso wechselnd und unklar waren die Ergebnisse der Hämolyse mit Hoppe B. Es kam vor, daß Impfstrieche auf der Blutagarplatte schon nach 12 Stunden breite, helle Höfe hatten, während in anderen Versuchen um diese Zeit noch keine Spur einer Auflösung der Blutkörperchen zu sehen war. Im allgemeinen schien es, als ob Serumkultur nicht, serumfreie Kulturen hingegen stark hämolytisch wirkten, doch ließ sich eine vollständige Konstanz nicht feststellen. Aus dem serologischen Verhalten, welches in den Tabellen I bis VI bereits mitgeteilt ist, war kein Aufschluß über diesen sonderbaren Befund zu erhalten. Es schien, als ob der Stamm Hoppe B einen eigentümlichen Uebergang zwischen Milzbrand und Pseudomilzbrand bildete, womit aber nicht übereinstimmt, daß gelegentlich das Verhalten des Milzbrandes ohne Uebergang ganz rein hervortrat. Auch genaueste mikroskopische Untersuchung sowie das Aussehen der Kolonien auf Agar- und Gelatineplatte ließen den Verdacht einer Mischkultur nicht aufkommen. Daß aber eine solche gleichwohl vorhanden war, ließ sich schließlich in folgender Weise feststellen:

Von der Originalfortführung des Stammes wurden Kulturen in Bouillon und aktivem Rinderserum angelegt und von diesen Kulturen auf Agarplatten aufgestrichen. Von jeder der beiden Platten wurden je 20 Kolonien, die sich mikroskopisch und makroskopisch vollständig gleich verhielten, einerseits in Bouillon, andererseits in Serum verimpft. Die mikroskopische Untersuchung der Serumkultur ergab nach 24 Stunden in einigen Eproutetten rein kapsellose, in einigen vorwiegend kapselhaltige, in den meisten gemischte Bacillen. Eine kapselhaltige Serumkultur No. 12 und eine rein kapsellose Kultur No. 8 wurden neuerlich auf Agarplatten ausgestrichen und davon je 10 Kolonien auf Serum übergeimpft. Die von No. 8 erhaltenen 10 Serumkulturen waren sämtlich kapsellos, die von No. 12 vorwiegend kapselhaltig oder gemischt. Nuncmehr wurde diese Serumkultur auf Blutagarplatten ausgestrichen. Die kapsellosen Abkömmlinge von No. 8 bewirkten typische hämolytische Höfe nach 12 Stunden. Von den 10 Blutagarstrichen der Abkömmlinge von No. 12 hämolysierten 8, während 2 keine Hämolyse zeigten. Sie wuchsen dann auf Serum rein kapselhaltig. Die kapselhaltigen, dabei nicht hämolytischen Nachkommen von No. 12 wurden isoliert und weiter gezüchtet und zum Tierversuche verwendet:

Meerschweinchen, 200 g, erhielt eine Oese Serumkultur des kapselhaltigen, nicht hämolytischen Stammes aus No. 12 subkutan in eine Tasche der Bauchhaut. Eine Entnahme von der Impfstelle ergab nach 4 Stunden zahlreiche Kapselbacillen, nach 8 Stunden hatte sich deutliches Oedem mit Kapselbacillen gebildet. Nach 24 Stunden war das Oedem ausgedehnt und enthielt weit überwiegend kapselhaltige Bacillen neben wenigen langen, schlanken Ketten. Die Sektion des nach 31 Stunden gestorbenen Tieres ergab typischen mikroskopischen und kulturellen Milzbrand.

Meerschweinchen, 200 g, erhielt eine Oese Serumkultur des kapselfreien, hämolytischen Stammes aus No. 8 subkutan in eine Tasche der Bauchhaut. Nach 4 Stunden fanden sich in der Impfstelle zahlreiche Leukocyten mit starker Phagocytose und wenige freie, durchaus kapsellose Stäbchen. Nach 8 Stunden waren die Leukocyten der Impfstelle sehr zahlreich, mit lebhafter Phagocytose. Extracelluläre, kapsellose Bacillen fanden sich ganz vereinzelt. Nach 24 Stunden war keine besondere Reaktion an der Impfstelle zu bemerken. Eine Entnahme davon ließ keine Bacillen mehr auffinden. Das Tier blieb munter.

Meerschweinchen, 200 g, erhielt 5 ccm Bouillonkultur vom Stamm No. 12 intraperitoneal. Nach 5 Minuten sehr zahlreiche, kapsellose Formen, spärliche Leukocyten ohne Phagocytose. Nach 10 und 30 Minuten verminderte sich die Zahl der Bacillen; nach 1 Stunde ist das Tier nicht krank, die Zahl der Bacillen zeigt starke Verminderung. Nach 1½ Stunde vermehrten sich die Bacillen; sie waren vorwiegend kapselhaltig. Nach 2 Stunden sehr zahlreiche Bacillen, sämtlich mit schönen Kapseln; Leukocyten vermehrten sich stark, das Tier sah leicht krank aus. Nach 4 Stunden hat das Tier sich erholt, das Exsudat war getrübt, mit massenhaften kapselhaltigen Bacillen. Nach 6 und 8 Stunden war das Tier munter, mit gleichen mikroskopischen Befunden. Das Tier starb in der Nacht. Die Sektion ergab typischen Milzbrand.

Meerschweinchen, 200 g, erhielt 5 ccm Bouillonkultur vom Stamm No. 8 intraperitoneal. Nach 5 Minuten zahlreiche kapsellose Formen, spärliche Leukocyten ohne Phagocytose. Nach 30 Minuten ist das Tier merkbar krank und es vermindert sich die Zahl der Bacillen. Nach 1½ Stunde hatte das Tier schwere Peritonitis; das entnommene Exsudat leicht getrübt, mit zahlreichen Bacillen ohne Kapsel; Endothelien massenhaft, hier und da Phagocytose. Der Tod erfolgt nach 2 Stunden mit dem gewöhnlichen Befunde schwerster hämorrhagischer Peritonitis. Die Bacillen zeigten keine Spur von Kapselbildung. Aus Exsudat, Leber und Milz ließen sich reichliche Kulturen erhalten; das Herzblut war auch kulturell steril.

Die weitere Züchtung der beiden isolierten Stämme ergab vollkommene Konstanz. Die Nachkommen von No. 12 verhielten sich wie echter Milzbrand, hämolysierten nach 24 Stunden Kaninchenblut nicht und bildeten regelmäßig auf Serum Kapseln, während die Nachkommen von No. 8 kapsellos wuchsen, stark hämolysierten und als Pseudomilzbrand angesprochen werden mußten.

Der bakterizide Versuch mit verschiedenen Seren und Leukocyten ergab keinen prägnanten Unterschied zwischen den beiden Abkömmlingen des *Bacillus Hoppe B.*

Tabelle XI.

Aus einer frischen Bouillonkultur wurden je 2 Tropfen in sterile Bouillon gebracht und von dieser Verdünnung je 2 Tropfen in je 1 ccm Kaninchenserum (aktives und inaktives) verimpft. Die Kolonienzahl wird durch Agarplatten ermittelt.

	Einsaat	Nach 1½, Stunde		Nach 3 Stunden	
		aktiv	inaktiv	aktiv	inaktiv
Hoppe B No. 12	4400	0	0	0	0
Hoppe B No. 8	3700	0	1	0	0

Tabelle XII.

Der Versuch mit aktiven Rinderserum wird genau wie beim vorherstehenden Versuche mit Kaninchenserum vorgenommen.

	Einsaat	Nach ½, Stunde	Nach 3 Stunden
Hoppe B No. 12	4400	6700	4000
Hoppe B No. 8	3700	7300	3700

Tabelle XIII.

Die Versuche mit Meerschweinchenserum mit und ohne Leukocyten ergaben (nach 6 Stunden wurden die Versuchsröhrchen zu Platten verarbeitet):

Einsatz		Hoppe B No. 12	Hoppe B No. 8
1)	0,5 ccm Serum aktiv	1800	2 000
2)	0,5 " " + Leukocyten	25	510
3)	0,5 " " + ") gefroren	1	51
4)	0,5 " " inaktiv) gefroren	26	194
5)	0,5 " " + Leukocyten	3000	11 000
6)	0,5 " " + ") gefroren	48	396
7)	0,5 " NaCl	840	808
8)	0,5 " " + Leukocyten	5200	31 000
9)	0,5 " " + ") gefroren	1240	12 200
		864	14 000

Es unterliegt also keinem Zweifel, daß in dem Originalstamm von Pfeiler und Drescher eine Mischkultur von Milzbrand und Pseudomilzbrand vorlag und je nach den Umständen in den Kulturen wie im Tierversuche bald der Pseudomilzbrand, bald der echte Milzbrand die Oberhand gewann. Es ist sehr wahrscheinlich, daß auch zahlreiche isolierte Kolonien, die sich von Agarplatten gewinnen ließen, aus beiden Stämmen bestanden. Nur so ist es zu erklären, daß von 10 Kolonien des Stammes No. 12 nur 2 als reiner Milzbrand ohne Hämolyse nach 12 Stunden wuchsen und weiterhin dann konstant blieben. Auch Pfeiler und Drescher hatten bereits den Stamm Hoppe B als in manchen Punkten, so namentlich in bezug auf die Kapselbildung, als milzbrandähnlich erkannt. Sie erwähnen ausdrücklich, daß ihre Stämme Wahrlich, Hoppe B und IV den Milzbrandbacillen verwandtschaftlich außerordentlich nahestehen und daß die bei den Stämmen Hoppe B und IV beobachtete Pathogenität ein gewisses Interesse beanspruche. Den Stamm IV zu prüfen, war nicht möglich, hingegen dürfte die Pathogenität von Hoppe B durch die Konstatierung einer sehr hartnäckigen und innigen Symbiose von Milzbrand und Pseudomilzbrand aufgeklärt sein. Die anderen Pseudomilzbrandstämme lassen sich zwar durch mikroskopisches Aussehen und Kultur nicht sicher von Milzbrand unterscheiden. Hingegen gibt die Beobachtung der Kapselbildung auf Serumkulturen und die der nach kurzer Zeit schon eintretenden Hämolyse auf Blutagarplatten Anhaltspunkte zur Differenzierung.

Allerdings muß man hier noch berücksichtigen, daß die Kapselbildung aufhört und nach Jarmai auch rasche Hämolyse eintritt, sobald echter Milzbrand bis zum Verluste seiner Infektiosität abgeschwächt wird. In diesem Falle bleibt nur die Konstanz der hohen Giftigkeit der Pseudomilzbrandstämme bei intraperitonealer Meerschweincheninjektion als Unterscheidungsmerkmal übrig. Im serologischen Verhalten gegenüber der Wirkung von normalem Serum und Leukocyten, sowie nach Pfeiler und Drescher im Verhalten gegen die Präzipitation durch Milzbrandimmenserum besteht zwischen Milzbrand und Pseudomilzbrand kein irgendwie durchgreifender Unterschied.

Nachdruck verboten.

Le bacille de la pasteurellose des lièvres.

[Travail fait à l'Institut de bactériologie de Louvain (Directeur le Prof. J. Denys).]

Par le Prof. **B. Bruynoghe.**

Le groupe des pasteurella comprend un grand nombre de germes. En effet, on a signalé des cocco-bacilles pathogènes pour la plupart des espèces animales. Ces divers microbes sont considérés d'après leur provenance, comme des entités plus ou moins distinctes. Il n'est pas possible de préciser la valeur de cette classification vu que nous ignorons le rôle de l'adaptation dans la genèse de ces variétés.

Récemment, nous avons isolé des organes de lièvres morts, une bactérie ovoïde présentant assez bien les divers caractères des pasteurella. Ce microbe n'étant pas décrit dans les ouvrages et les revues que nous avons consultés à ce sujet, nous avons cru utile d'en donner ici sommairement les principaux caractères.

Morphologie. La pasteurella des lièvres se présente sous l'aspect d'un petit batonnet dont la longueur varie de 0,4 à 1,5 μ et la largeur de 0,3 à 0,5 μ .

Dans les cultures, ces petits bacilles sont généralement réunis en amas lorsque dans les frottis d'organes ils sont plutôt isolés et situés en dehors des leucocytes.

Ils sont immobiles, gram négatifs et dépourvus de spores. Colorés au bleu de méthylène, ils présentent la coloration bipolaire dans les cultures comme dans les frottis d'organes. Leurs extrémités sont nettement arrondies.

Caractères de culture. Le bacille de la pasteurellose des lièvres est aéro-anaérobie: il pousse aussi bien dans les milieux privés d'air qu'en présence d'oxygène. Son développement se fait lentement à la température ordinaire; entre 35° et 38° on a la température optima de culture.

La culture réussit sur tous les milieux.

Dans le bouillon, il se produit un léger trouble et après 24 à 48 heures, on voit apparaître à la surface du liquide, un mince voile qui s'épaissit dans la suite et peut persister plus ou moins longtemps suivant que les cultures sont à l'abri des secousses ou non. Pendant ce temps, le trouble du bouillon diminue et finalement il n'est plus que fort peu marqué. Si on ensemence le bouillon avec une parcelle de voile, le développement peut se faire exclusivement à la surface et le liquide nutritif peut rester à peu près complètement clair.

Les cultures dégagent une odeur spéciale rappelant un peu celle des cultures du choléra (vibron de Koch) et elles renferment de l'indol. A ce titre, notre microbe ne pourrait pas rentrer, d'après Lignières¹⁾, dans le groupe des pasteurella. Nous ne croyons pas que l'absence de production d'indol soit un caractère absolu de ce groupe et nous considérons la bactérie ovoïde isolée des lièvres comme une variété de pasteurella. Soit dit en passant, le bacille du choléra

1) Lignières, Les septicémies hémorragiques. Buenos Aires 1900.

des poules produit également de l'indol¹⁾. Il en était ainsi pour les deux souches que nous avons examinées; l'une isolée par nous, l'autre obligeamment remise par l'Institut Pasteur de Paris.

Sur gélatine, il se forme tardivement le long de la piqûre de fines colonies isolées, grosses comme une tête d'épingle. Il n'y a pas de liquéfaction. Celle-ci ne se présente pas davantage dans les cultures placées à l'étuve pour favoriser le développement et portées ultérieurement à la température ordinaire.

Sur gélose, on obtient des colonies rondes, d'abord légèrement bleuâtres et transparentes, devenant dans la suite grisâtres ou blanchâtres et plus opaques. Leur volume est assez variable; au début, elles sont larges de 1 à 2 millimètres, ultérieurement, elles peuvent mesurer plusieurs millimètres surtout quand elles sont assez distantes les unes des autres. Leur centre est toujours légèrement surélevé par rapport à la périphérie. La culture devient rapidement assez sèche et elle adhère à la gélose du point qu'il n'est pas possible de l'émulsionner convenablement pour les essais d'agglutination.

La *pasteurella* des lièvres ne coagule pas le lait et n'en change pas la réaction.

Enfin, sur pomme de terre, il ne se produit pas de culture visible. Microscopiquement nous avons observé un peu de développement sur le premier tube mais lesensemencements ultérieurs n'en fournissaient plus.

Propriétés biologiques. Le microbe que nous avons isolé est relativement fragile et il périt rapidement dans les cultures maintenues à 37°. Après un mois de séjour à l'étuve, celles-ci ont habituellement perdu leur vitalité tant en milieux liquides que sur milieux solides. Après quinze jours, elles sont encore en vie. A la température ordinaire, elles conservent beaucoup plus longtemps la vitalité. En ce qui concerne leur virulence, celle-ci reste intacte tant que la vie y est conservée. Ainsi des cultures sur gélatine, maintenues durant deux mois à la température ordinaire, ne présentaient aucune atténuation et l'inoculation de quantités minimales ($\frac{1}{100}$ ^{ème} et $\frac{1}{1000}$ ^{ème} de c. c.) amenait les mêmes résultats que l'injection de quantités correspondantes des cultures régulièrement réensemencées.

Par un chauffage à 60° durant une demi-heure les cultures sont complètement stérilisées.

Action pathogène. Le microbe en question est pathogène pour les lièvres, les lapins, les cobayes et les souris. Inoculé aux oiseaux (poules et pigeons) il ne produit aucun trouble.

Lièvres. Nous n'avons pas pu établir ici expérimentalement l'action pathogène mais le fait d'avoir isolé ce microbe de leurs organes nous permet de l'admettre. Nous avons eu l'occasion d'autopsier deux animaux morts depuis peu d'heures. L'un d'eux était légèrement amaigri tandis que l'autre était dans un parfait état de nutrition. L'autopsie ne révéla aucune lésion sauf une congestion très nette des deux poumons avec hépatisation. Le foie et la rate avaient leur volume normal. L'examen microscopique des frottis d'organes y montra des petits bacilles à extrémités arrondies et présentant nettement la coloration bipolaire.

Lapins. Nous avons injecté plusieurs animaux avec des quantités variables de cultures âgées de 12 à 24 heures.

1) Kitt, Ch., Handb. d. pathog. Mikroorganism. v. Kolle u. Wassermann. 1913. — Lehmann u. Neumann, Bakteriologische Diagnostik. München 1912.

Le lapin I (poids 2250 g) reçoit 1,5 c. c. de culture en bouillon par voie intraveineuse. Il meurt après 12 heures.

Le lapin II (poids 1250 g) reçoit 0,5 c. c. de culture en bouillon par voie intraveineuse. Mort après 12 heures.

Le lapin III (poids 2300 g) reçoit 0,001 c. c. de culture en bouillon par voie intraveineuse. Mort après 48 heures.

Le lapin IV (poids 1500 g) reçoit 0,00001 c. c. de culture en bouillon par voie intraveineuse. Mort le 6^e jour.

Le lapin V (poids 1600 g) reçoit 0,01 c. c. de culture en bouillon par voie sous-cutanée dans l'oreille. Il se produit un érysipèle marqué au niveau de l'organe inoculé qui devient fortement enflammé. L'animal meurt au bout de 3 jours.

Le lapin VI reçoit de la culture par voie buccale. Il meurt quatre jours après ce repas.

Le lapin VII reçoit de la culture par voie buccale. Mort le 5^e jour.

Comme lésions, tous ces animaux présentaient de la congestion pulmonaire avec un certain degré d'hépatisation du tissu. Chez quelques uns, il y avait des foyers hémorragiques à la surface des plèvres; et ceux qui avaient été inoculés avec les fortes doses de culture avaient en outre un peu d'épanchement dans le péricarde et les plèvres. Le foie et la rate étaient normaux. Dans tous les organes, on trouvait le microbe ovoïde inoculé. Il existait également dans l'urine de ces animaux.

Cobayes. Nous avons administré de la culture par voies sous-cutanée et buccale.

Le cobaye No. 1 reçoit 1 c. c. de culture en bouillon sous la peau. Mort après 12 heures.

Le cobaye No. 2 reçoit 0,01 c. c. de culture en bouillon sous la peau. Il meurt sept jours après l'inoculation.

Les cobayes No. 3 et 4 reçoivent de la culture par voie buccale, ce qui ne produit chez eux pas le moindre trouble.

En ce qui concerne la réceptivité, il y a donc une différence entre le lapin et le cobaye; ce dernier n'étant pas infecté par voie buccale. Nous ne savons pas si l'infection opérée dans ces conditions chez le lapin est la conséquence de l'ingestion du microbe ou de sa pénétration dans les voies respiratoires.

L'autopsie des cobayes montrait des lésions identiques à celles du lapin.

Souris. Elles succombent en un ou deux jours à l'inoculation sous-cutanée de petites quantités de culture $\frac{1}{10}$ ^{ème} à $\frac{1}{1000}$ ^{ème} de c. c. Les résultats de l'ingestion sont variables: tantôt les souris survivent, tantôt elles meurent. Les lésions atteignent aussi chez ces animaux de préférence les poumons. Celles-ci sont nulles ou insignifiantes au niveau du foie et de la rate.

Rats. Les résultats ont été ici moins concondants. Un animal inoculé avec 2 c. c. de culture est resté en vie alors que deux autres rats plus jeunes, injectés avec 1 c. c. de culture, sont morts au bout de 24 heures. Leur autopsie révéla des lésions analogues à celles des autres animaux avec ceci de spécial que dans les frottis des organes, les microbes étaient relativement peu nombreux.

L'infection de ces animaux ne réussit pas par voie buccale.

Enfin nous avons inoculé de fortes quantités de culture à des poules des pigeons et à un chien sans produire chez eux de manifestations bien évidentes. Le chien a présenté, à la suite de l'injection une élévation thermique passagère (39,5°); il n'y a pas eu de suppuration à l'endroit de l'inoculation.

Le microbe de la septicémie des lièvres présente beaucoup d'analogies avec d'autres pasteurella, notamment avec celles des lapins.

Il se distingue des variétés décrites par les caractères indiqués dans les tableaux ci-dessous.

Pasteurella des lièvres	Microcoque de la septicémie des lapins décrit par Eucet ¹⁾
1° Se développe sur gélatine	1° Pas de développement sur gélatine
2° Produit sur gélose des colonies bleuâtres ou grisâtres transparentes ultérieurement devenant un peu opaques et sèches	2° Produit sur gélose un enduit blanc, visqueux et épais
3° Conserve bien toute sa virulence	3° Subit rapidement une atténuation considérable de sa virulence
4° Les lésions produites sont pour ainsi dire exclusivement pulmonaires	4° Les lésions atteignent principalement le foie et la rate. Les poumons ne sont guère altérés.
Pasteurella des lièvres	Le bacille décrit par R. Volk ²⁾
1° Aéro-anaérobie	1° Aérobie strict
2° Produit de l'indol.	2° Absence d'indol.
3° Dans le bouillon, production d'un trouble uniforme et d'un voile épais à la surface	3° Dans le bouillon il se forme outre le trouble uniforme, un dépôt abondant au fond du tube et un mince voile à la surface du liquide
4° Les lésions pulmonaires prédominent	4° Les lésions siègent surtout dans le foie et la rate; les lésions pulmonaires sont peu importantes
Pasteurella des lièvres	Le bacille décrit par Selter ³⁾
1° Longueur moyenne: 0,4 à 1,5 μ	1° Longueur moyenne: 3 à 5 μ
2° Dans le bouillon, production d'un trouble uniforme et d'un voile épais à la surface	2° Produit dans le bouillon un certain trouble sans former de voile à la surface du liquide
3° Pathogène pour le cobaye	3° Pas pathogène pour le cobaye

Enfin les microbes décrits par Sùdmersen⁴⁾ se distinguent totalement de la pasteurella des lièvres puisque par leur caractères morphologiques et culturaux, ils se rapprochent des colibacilles.

Nous avons examiné deux cultures qui par leur provenance (provenant de léporidés morts d'infection naturelle) pouvaient avoir certaines accointances avec notre microbe. Ces deux cultures nous avaient été obligeamment remises par l'Institut Pasteur de Paris. Nous donnons dans les deux tableaux ci-dessous quelques particularités qui nous permettent de considérer notre pasteurella des lièvres comme totalement distincte des cultures reçues (cf. le suivant tableau).

Ajoutons que les réactions biologiques indiquent également que ces divers microbes sont bien différents les uns des autres. Nous avons examiné leur agglutinabilité avec trois sérums spécifiques: l'un provenant d'un lapin vacciné avec du choléra des poules, les deux autres prélevés

1) Lucet, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1889.

2) Volk, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 31. p. 177.

3) Selter, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. p. 432.

4) Sùdmersen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. p. 343 et 591.

Pasteurella des lièvres isolée par nous	Microbe pathogène pour les lièvres reçu de l'Institut Pasteur
1° Bacille très court	1° Bacille relativement long
2° Bacille immobile	2° Bacille mobile
3° Dans le bouillon, production d'un léger trouble uniforme et formation d'un voile à la surface	3° Dans le bouillon, la culture a l'aspect du coli. Il y a fermentation des sucres
4° Pas de développement sur pomme de terre	4° Développement sur pomme de terre

Pasteurella des lièvres	Bacille de la septicémie des lapins
1° Bacille très court	1° Bacille un peu plus gros et plus long
2° Dans les vieilles cultures peu ou pas de polymorphisme	2° Dans les vieilles cultures, on trouve de courtes et de très longues formes
3° Pousse lentement sur gélatine	3° Se cultive bien sur gélatine
4° Dans le bouillon, production d'un trouble uniforme et d'un voile	4° Dans le bouillon, il se forme un trouble uniforme. Les cultures ne présentent pas de voile

chez des animaux injectés avec des cultures tuées de la pasteurella des lièvres.

Voici les résultats de cet essai.

Culture employée	Sérum provenant de l'animal injecté avec le choléra des poules					Sérums provenant d'animaux injectés avec la pasteurella des lièvres									
						Sérum I					Sérum II				
	Doses														
	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400
Choléra des poules	++	+	+	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pasteurella des lièvres	-	-	-	-	-	++	++	++	++	+	++	++	++	+	+
Lièvres (Institut Pasteur)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Septicémie des lapins	-	-	-	-	-	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Les sérums, agglutinant la pasteurella des lièvres, n'exerçaient donc aucune action ni sur le microbe du choléra des poules ni sur les deux cultures reçues de l'Institut Pasteur. L'agglutination de la pasteurella des lièvres se produisait lentement et elle n'était bien évidente qu'après 6 à 12 heures. Il en était de même de celle du choléra des poules

*Nachdruck verboten.***Beitrag zur Bakteriologie der Meningitis.**

[Aus dem Staatlich Hygienischen Institut der freien und Hansestadt Hamburg. Direktor: Prof. Dr. Dunbar. Abt. f. hygienisch-bakteriol. Untersuchungen: Prof. Dr. Kister.]

Von Dr. W. Gaeltgens.

Die Meningitis kann bei vielen Infektionen sekundär auftreten (Typhus, Pest, Rotz, Influenza etc.) und demnach durch verschiedene Mikroparasiten erzeugt werden. Aber auch die primäre Form der Krankheit entspringt durchaus nicht immer derselben Ursache, sondern kann ebenfalls von verschiedenen Mikroben hervorgerufen werden. Der gewöhnliche spezifische Erreger der primären epidemischen Genickstarre ist unzweifelhaft der *Diplococcus intracellularis* Weichselbaum. Neben diesem Mikroorganismus dürfen aber auch andere Arten, unter ihnen besonders die Pneumokokken, nicht unberücksichtigt bleiben, da in nicht wenigen Fällen die Meningitis, auch wenn sie die epidemische Form angenommen hat, ihre Entstehung der Wirksamkeit eines dieser Keime verdankt.

Eine umfangreiche, die in- und ausländische Literatur bis zum Jahre 1903 berücksichtigende Zusammenstellung über die bakteriologische Aetiology der Meningitis cerebrospinalis epidemica verdanken wir Marchal (1). Unter 513 untersuchten Erkrankungsfällen wurden als Krankheitserreger festgestellt:

355mal	=	69,2	Proz.	Weichselbaumsche	Diplokokken
107	„	=	20,8	„	der <i>Diplococcus lanceolatus</i>
51	„	=	10,08	„	andere Bakterien, zum Teil mehrere Arten gleichzeitig

Nach den Untersuchungen von Costa (2) erwiesen sich von 129 Lumbalpunktaten bei Cerebrospinalmeningitis 53 als trübe mit ausgesprochener Polynukleose. Unter diesen 53 Proben enthielten:

2	Streptokokken	(Ausstrich und Kultur)
1	Pneumobacillen	„ „ „
2	Pneumokokken	„ „ „
9	Meningokokken	„ „ „
23	„	(nur Ausstrich, Kultur negativ)
16	waren	keimfrei

Angesichts dieser mannigfachen Befunde erschien es nicht ohne Interesse, auch die an dem Staatlichen Hygienischen Institut zu Hamburg gesammelten Erfahrungen einer Sichtung zu unterziehen. Die folgende Zusammenstellung gibt die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung von 40 Lumbalpunktaten wieder, die im Laufe der letzten 4 Jahre dem Institut zugeschickt worden waren. Sämtliche Proben stammten von Patienten, die unter meningitischen Erscheinungen erkrankt waren. In 13 Fällen führte der klinische Verlauf zur Annahme einer tuberkulösen Meningitis, ein Verdacht, der sich 6mal durch das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung bestätigen ließ. Von den genannten 40 Proben waren im einzelnen:

6	positiv für	Tuberkelbacillen	(2 durch Ausstrich und Tierversuch, 4 nur durch den Tierversuch)
4	„	„	Pneumokokken
3	„	„	Meningokokken

2	positiv für	Influenza- bzw. influenzaähnliche Bakterien
1	„	„ Staphylokokken
1	„	„ Streptokokken
1	„	„ Pyocyaneus-Bakterien
22	keimfrei	

Wie aus dieser Zusammenstellung hervorgeht, erwies sich über die Hälfte der untersuchten Flüssigkeiten als frei von Keimen, während bei den übrigen die verschiedenartigsten Bakterien angetroffen wurden und als Krankheitserreger angesprochen werden mußten. Am häufigsten ließen sich Tuberkelbacillen nachweisen, und zwar durch die direkte mikroskopische Untersuchung des ausgeschleuderten Bodensatzes nur zweimal, während der Tierversuch bemerkenswerterweise noch in 4 weiteren Fällen die tuberkulöse Aetiologie der Erkrankung festzustellen ermöglichte.

Sehen wir von den 13 als tuberkuloseverdächtig eingesandten Proben ab, so ergibt sich, daß bei den übrigen 12mal pathogene Bakterien nachgewiesen wurden. Am häufigsten (4mal) wurden Pneumokokken gefunden, 3mal Meningokokken und je 1mal Staphylokokken und Streptokokken, deren ätiologische Bedeutung für die Meningitis durch zahlreiche Belege in der Literatur bewiesen ist und daher keiner weiteren Erörterung bedarf. Ein näheres Interesse dagegen beanspruchen die Befunde von Influenza- und Pyocyaneus-Bakterien, deren Vorkommen in der Cerebrospinalflüssigkeit zwar nicht unbekannt ist, aber doch immerhin zu den Seltenheiten zählt.

Als erster hat, soweit aus der vorliegenden Literatur zu entnehmen ist, **Nauwerck** (3) über positive Zuchtversuche bei Influenzaencephalitis berichtet. In einem Falle gelang es ihm, aus der Ventrikelflüssigkeit einer unter den Anzeichen der Gehirnentzündung gestorbenen Person auf Blutagar zarte Stäbchen zu isolieren, die er auf Grund ihrer morphologischen und kulturellen Eigenschaften mit den Pfeifferschen Influenzabakterien identifiziert. Ferner vermochte **Pfuhl** (4) bei 2 von 3 an „Gehirninfluenza“ Gestorbenen aus Meningeener und Kammerwasser, bzw. aus Ventrikel- und Cerebrospinalflüssigkeit außer verschiedenen Kokkenarten (Pneumokokken, Staphylokokken, Streptokokken) auch typische Influenzabakterien zu züchten. Auch **E. Fraenkel** (5) fand die Pfeifferschen Bakterien bei 2 Fällen von Influenzameningitis im Meningealeiter, bzw. im eitrigen Exsudat von der Hinterfläche des Rückenmarkes. **Jundell** (6) vermochte die Keime bei einem Falle von eitriger Meningitis intra vitam aus dem Lumbalpunktat zu kultivieren; in einem zweiten Falle gelang der Nachweis im Gehirnleiter nur auf mikroskopischem Wege. **Trailescu** (7) stellte bei einem an Meningitis erkrankten Kinde im Lumbalpunktat die Gegenwart von Influenzabacillen fest, die sich nach dem Tode auch aus dem Exsudat an der Hirnbasis isolieren ließen. Ueber positive Influenzabefunde bei Meningitiserkrankungen berichten ferner **Ślawyk** (8) (1 Reininfektion), **Saathoff** (9) (1 Reininfektion), **Langer** (10) (1 Reininfektion), **Ghon** (11) (1 Mischinfektion mit Streptokokken, 1 Reininfektion), **Cattaneo** (12) (1 Reininfektion), **Douglas** (13) (1 Reininfektion), **Longo** (14) (1 Reininfektion), **Ritchie** (15) und **Schröder** (16) (wahrscheinlich Mischinfektion mit Pneumokokken). Nicht immer konnten die Influenzabakterien allein als die Krankheitserreger angesprochen werden, gar nicht selten ließ sich eine Mischinfektion mit Kokken feststellen. Die Identifizierung der gefundenen Keime mit den Pfeifferschen Stäbchen ließ sich unter Berücksichtigung ihrer morphologischen und kulturellen Eigentümlichkeiten in der Regel ohne

Schwierigkeit durchführen. Nur Longo und Ritchie bezeichnen auf Grund bestimmter Besonderheiten ihre Kulturen als influenzaähnlich. Schließlich sind auch nach Flexners (17) Beobachtungen die durch Influenzabakterien verursachten Hirnhautentzündungen keine seltene Erscheinung. Bei solchen Kranken enthält die Rückenmarksflüssigkeit reichlich Eiter und die Pfeifferschen Stäbchen, die auch in das Blut übergehen können.

Bei den zwei im hiesigen Institut untersuchten Erkrankungen handelte es sich in dem einen Falle um einen 10 Monate alten Knaben, der am 24. Okt. 1913 wegen einer fieberhaften Verdauungsstörung in ärztliche Behandlung gekommen war. Den Aufzeichnungen über den klinischen Verlauf, die ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Harmsen verdanke, ist zu entnehmen, daß anfangs anscheinend nur eine subakute Gastroenteritis ohne Komplikationen und mit normalem Ohrbefund vorlag. Seit dem 4. Nov. war das Kind benommen. Die Augen waren nach links gewandt, die Pupillen weit und starr. Nackensteifigkeit nicht sehr ausgeprägt, Patellarreflexe gesteigert, Babinski negativ. Am 5. Nov. morgens entleerten sich bei der Lumbalpunktion wenige Kubikzentimeter Liquor, ohne Drucksteigerung. Am 8. Nov. 1913 Exitus. Die Sektion wurde verweigert.

Die bakteriologische Untersuchung der am 5. Nov. entnommenen leicht getrübten Lumbalflüssigkeit ergab im mikroskopischen Bilde die Anwesenheit zahlreicher, sehr kleiner, gramnegativer Stäbchen. Die mit dem ausgeschleuderten Bodensatz beimpften Bouillonröhrchen und Extraktagarplatten blieben völlig steril, während auf den Kaninchenblut-Agarplatten zahlreiche kleine, glashelle, fast strukturlose Kolonien aufgegangen waren. Durch die weitere Untersuchung ließ sich feststellen, daß es sich um eine Reinkultur sehr kleiner, gramnegativer Stäbchen handelte, die häufig paarweise angeordnet, vereinzelt auch zu kurzen Fäden ausgewachsen waren. Die fraglichen Mikroben ließen sich nur in Nährmedien weiterzüchten, die einen Zusatz von Blut erhalten hatten. Auf Grund dieser morphologischen und kulturellen Eigenschaften mußten die isolierten Mikroorganismen als typische Influenzabakterien angesprochen werden.

Bei dem zweiten von uns untersuchten Falle handelte es sich um ein 2-jähriges Mädchen, das seit einigen Wochen an Keuchhusten litt und 2 Tage vor seiner Aufnahme in das Krankenhaus der deutsch-israelitischen Gemeinde unter Krämpfen erkrankt war. Der Krankengeschichte, für deren gütige Ueberlassung ich Herrn Dr. Weissbrem meinen verbindlichsten Dank ausspreche, ist zu entnehmen, daß das Kind bei seiner Einlieferung einen benommenen Eindruck machte und mit angezogenen Knien dalag. Temperatur 39°, Puls klein, weich und unregelmäßig. Pupillen reagieren. Kopf, Brust und Abdomen ohne besonderen Befund. Bei Auslösung des Kernigschen Symptomes kommt es zu deutlichen Schmerzäußerungen. Keine Lähmungen, keine Reizerscheinungen der Extremitäten. Reflexe der unteren Extremitäten nicht auslösbar. Hirnnerven ohne Befund. Keine Nackensteifigkeit. Am 30. Juli wird die Lumbalpunktion ausgeführt; unter geringem Druck fließt tropfenweise stark getrübte Flüssigkeit ab. Am 6. Aug. immer noch hohe Temperatur, deutliche Besserung, Sensorium frei, Puls regelmäßiger. Am 14. Aug. wird durch eine zweite Lumbalpunktion unter ziemlich starkem Druck ein leicht getrübter Liquor gewonnen, der reichlich Albumen und zahlreiche Leukocyten enthält. Am 15. Aug. zunehmende

Benommenheit, sinkende Frequenz des Pulses, der zeitweise ganz aussetzt. Temperaturabfall. Am 16. Aug. tiefe Benommenheit, keine Nahrungsaufnahme. Kollapstemperatur. Mitunter krampfartige Zuckungen. Am 18. Aug. Exitus letalis. Autopsie nicht ausgeführt.

Die bakteriologische Untersuchung der ersten am 30. Juli entnommenen Liquorprobe ergab im mikroskopischen Bilde die Anwesenheit zahlreicher, sehr kurzer, gramnegativer Stäbchen. Bei der Züchtung des ausgeschleuderten Bodensatzes gingen auf Kaninchenblut-Agarplatten zarte, wasserhelle Kolonien in Reinkultur auf, die sich aus den gleichen kurzen, gramnegativen Stäbchen zusammensetzten. Auf Extraktagar, Ascitesagar und Löffler-Serum war auch nach 2-tägiger Bebrütung kein Wachstum erfolgt, Peptonbouillon hingegen wies eine leichte Trübung auf. Die mikroskopische Untersuchung des zweiten, am 14. Aug. entnommenen Lumbalpunktates wies im Gram-Präparat neben spärlichen kurzen, negativen Stäbchen auch positive Diplokokken auf, die sich durch die weitere Prüfung als Pneumokokken identifizieren ließen. In Uebereinstimmung mit Herrn Dr. H. C. Plaut möchten wir diesen Befund als Zeichen einer sekundär erfolgten Pneumokokkeninfektion deuten.

Die Identifizierung der in beiden Proben gefundenen zarten Stäbchen führte nicht zu einem so eindeutigen Ergebnis, wie in dem ersten Falle. Der hämophile Charakter der isolierten Kulturen, der auch bei der Weiterzüchtung fast völlig erhalten blieb, ließ zwar ohne weiteres an Influenzabakterien denken. Auch sprach das Fehlen pathogener Eigenschaften für Mäuse bei intraperitonealer Verimpfung, ebenso wie bei dem ersten Falle, zugunsten dieser Annahme. Doch muß das allerdings nur zarte Wachstum in Peptonbouillon, wie es bei dem typischen Pfeifferschen Stäbchen nicht beobachtet wird, Zweifel an der Influenzanatur des Mikroben aufkommen lassen. Diese Vermutung gewinnt an Wahrscheinlichkeit, wenn wir uns vergegenwärtigen, daß das Kind seit Wochen an Keuchhusten litt, also von einer Krankheit befallen war, deren Erreger dem Influenzabacillus sehr nahe steht, im Gegensatz zu diesem aber sich bei der Fortzüchtung auch an blutfreie Medien gewöhnen läßt. Leider wurden weitere Versuche in dieser Richtung durch das frühzeitige Absterben unseres Stammes vereitelt. Auch die Identifizierung des fraglichen Mikroorganismus durch die Agglutinationsprobe war unmöglich, da uns ein Keuchhustenrekonvaleszentenserum leider nicht zur Verfügung stand. Es muß daher die Frage, ob das Stäbchen als Influenza- oder Keuchhustenbacillus anzusprechen ist, offen bleiben und die Diagnose allgemeiner auf influenzaähnliche Bakterien gestellt werden.

Von unseren Beobachtungen kann die erste, wie aus den obigen Ausführungen zu entnehmen ist, ohne weiteres als Reininfektion mit echten Influenzabakterien gelten. Den zweiten Fall werden wir dagegen als eine Infektion mit influenzaähnlichen Stäbchen, zu der sekundär eine Invasion von Pneumokokken getreten war, also als Mischinfektion anzusprechen haben.

Nicht ohne Interesse ist schließlich der von uns einmal erhobene Befund von Pyocyaneus-Bakterien in der Cerebrospinalflüssigkeit, der zwar nicht unbekannt ist, aber doch auch nicht alltäglich zur Beobachtung gelangt. Ueber die hierher gehörigen bisherigen Erfahrungen haben Heller und Lepère (18) eingehend berichtet, so daß sich eine Aufzählung der einzelnen Fälle erübrigt. Aus diesen Angaben geht

hervor, daß schon wiederholt in der Literatur durch den *Pyocyanus* verursachte Meningitiden, besonders im Anschluß an Ohrerkrankungen, beschrieben worden sind. Diesen Beobachtungen ist der von uns untersuchte Fall anzureihen.

Am 5. März 1914 wurde dem Institut die Lumbalflüssigkeit eines im Anschluß an Bronchitis unter meningitischen Erscheinungen erkrankten $\frac{3}{4}$ Jahre alten Kindes zur Untersuchung eingeliefert. Nach den Angaben, welche ich Herrn Dr. Schwieker verdanke, war das Kind am 26. Febr. mit bronchitischen Erscheinungen ins Krankenhaus aufgenommen worden. Am 28. Febr. ergab die Lungenuntersuchung vermehrte bronchitische Rasselgeräusche; außerdem waren die Symptome einer Meningitis unverkennbar. Die unteren Extremitäten waren krampfhaft an den Leib gezogen, die oberen oft gespannt in die Höhe gestreckt, der Kopf gerade nach hinten gestreckt und das Kreuz hohl. Die Augen verdreht das Kind unsymmetrisch nach allen Seiten. Vor dem Munde oft schaumiger Speichel. Bei Versuchen, den Kopf zu beugen oder die Extremitäten zu bewegen, fängt der Kranke an zu schreien. Zeitweise eigenartig gespannte, krampfartige Stellung. Bei der am 4. März ausgeführten Lumbalpunktion wurden unter sehr hohem Druck ca. 20 ccm klare Flüssigkeit abgelassen. In den folgenden Tagen Steigerung der meningitischen Erscheinungen. Am 7. März Exitus letalis. Als Hauptbefund wurden bei der am 9. März 1914 ausgeführten Sektion festgestellt: Ein grünlich gefärbter Herd im rechten, erweichten Vorderlappen des Gehirns, Tuberkelknötchen auf der Unterseite des rechten Frontallappens, Tuberkelherde in beiden Oberlappen der Lungen und Knötchen auf der Pleura, gelbeitriger Inhalt in der rechten Felsenbeinhöhle. Im Magen schwarzbrauner Inhalt, kleine Hämorrhagien.

Die mikroskopische Untersuchung des am 5. März entnommenen Lumbalpunktates ergab im direkten Ausstrich die Anwesenheit spärlicher, kleiner, gramnegativer Stäbchen; Tuberkelbacillen ließen sich nicht nachweisen. Der ausgeschleuderte Bodensatz wurde teils direkt, teils nach vorheriger Bebrütung in Bouillon auf die gebräuchlichen Nährböden verimpft. Nach 24-stündigem Wachstum wurden auf den festen Substraten vereinzelt intensiv grün gefärbte Kolonien gefunden, die sich aus schlanken, lebhaft beweglichen Stäbchen zusammensetzten. Sowohl das morphologische und kulturelle Verhalten als auch der allen Kulturen eigene süßlich-aromatische Geruch ließen ohne Schwierigkeit erkennen, daß das isolierte Bakterium als *Pyocyanus* anzusprechen war. Die Tierpathogenität unseres Stammes war ziemlich ausgesprochen, indem noch $\frac{1}{4}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur Mäuse binnen 24 Stunden zu Fall zu bringen vermochte.

Die bakteriologische Untersuchung der Leichenteile ergab ebenfalls teils durch direkte Aussaat auf Agarplatten, teils erst nach Anreicherung in Bouillon ausnahmslos die Anwesenheit von *Pyocyanus*-Bakterien. Dieser Befund ließ sich für die Milz, Niere, Leber, Lunge, Gehirn, Rückenmark, Herzmuskel und Mageninhalt mit gleicher Regelmäßigkeit erheben, der ganze Organismus war scheinbar überschwemmt mit *Pyocyanus*-Keimen. Gegen die naheliegende Möglichkeit einer postmortalen Bakterieninvasion spricht das Ergebnis der serologischen Untersuchung. Die aus der Milz gewonnene seröse Flüssigkeit vermochte noch in der Verdünnung 1:160 die aus den Organen gezüchteten Stäbchen deutlich zu agglutinieren. Diese Feststellung spricht also zweifellos für eine noch zu Lebzeiten stattgefundene Allgemein-

infektion mit *Pyocyaneus*-Bakterien, die sekundär bei einer Tuberkulose aufgetreten war.

Die im Hinblick auf die beschränkte Zahl der Untersuchungen bemerkenswerte Mannigfaltigkeit unserer Ergebnisse zeigt in Uebereinstimmung mit unseren Eingangsworten, daß die Meningitis cerebrospinalis durch die verschiedenartigsten Mikroparasiten verursacht werden kann. Es wird sich also immer empfehlen, bei der Untersuchung der Cerebrospinalflüssigkeit von verdächtigen Erkrankungsfällen nicht nur auf den Weichselbaumschen *Diplococcus* zu fahnden, sondern auch die anderen pathogenen Mikroorganismen zu berücksichtigen.

Literatur.

- 1) Marchal, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Ref. Bd. 32. 1903. p. 391.
- 2) Costa, Compt. rend. Soc. Biol. T. 76. 1914. p. 742.
- 3) Nauwerck, Deutsche med. Wochenschr. 1895. No. 25.
- 4) Pfuhl, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 26. 1897. p. 112.
- 5) Fraenkel, E., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 27. 1898. p. 315.
- 6) Jundell, Jahrb. f. Kinderheilk. III. F. Bd. 9. p. 777.
- 7) Trailescu, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Ref. Bd. 32. 1903. p. 391.
- 8) Slawyk, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 32. 1899. p. 443.
- 9) Saathoff, München. med. Wochenschr. 1907. p. 2220.
- 10) Langer, Jahrb. f. Kinderheilk. III. F. Bd. 3. 1901. p. 91.
- 11) Ghon, Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 26 u. 27.
- 12) Cattaneo, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 39. 1907. p. 455.
- 13) Douglas, Lancet. 1907. Vol. 1. p. 86.
- 14) Longo, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 41. 1908. p. 285.
- 15) Ritchie, Journ. of Path. and Bact. Vol. 14. 1911. p. 615.
- 16) Schroeder, Zeitschr. f. Ohrenheilk. u. f. d. Krankh. d. Luftw. Bd. 70. 1914. p. 27.
- 17) Flexner, Journ. of State Med. Vol. 20. 1912 p. 193.
- 18) Heller u. Lepère, *Bacillus pyocyaneus*. (Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 5. 1913. p. 1207—1209.)

Nachdruck verboten.

Notes de parasitologie et de technique parasitologique.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Avec 5 figures.

A. Notes de parasitologie.

I. Contribution à la distribution géographique de quelques parasites.

1. *Saccharomyces guttulatus* Robin. *Sciurus vulgaris* (intestin). Le Pian 1500 m (Valteline). Les cellules de cette forme de l'écureuil étaient un peu en fuseau et non cylindroïdes comme dans la forme du lapin.

2. *Laelaps agilis* Koch. Nid d'*Arvicola agrestis*. Vidy (Lausanne), juill. 1913, Dr. Narbel. *A. arvalis*. Payerne (Ct. de Vaud) 1913. Dr. Galli.

3. *Argas persicus* Fischer. Poulailier. Dabowo (Bulgarie), mars 1913. Me. Dr. Popoff. Avec ces *Argas*, on n'a pas pu déterminer la spirochétiose des poules à Lausanne.

4. *Argas persicus* Fischer var. *miniatus* (class. Neumann). Riohacha (Colombie) 1913, Dr. Haayen.

5. *Rhipicephalus sanguineus* Latr. (class. Neumann). Idem.

6. *Melophagus ovinus* L. Agneau. Dabowo (Bulgarie), 10 mars 1913. Me. Dr. Popoff. Homme ayant été peu de temps auparavant près d'une chèvre. Epire 1913, Dr. Narbel.

7. *Ctenophthalmus agyrtes* Heller. Une révision des puces de ma collection m'a démontré que cette espèce existe dans le canton de Vaud. Elle était confondue avec *T. assimilis* Tasch. J'en possède des exemplaires de *Talpa europaea* (Orbe, Vidy, Leysin), d'*A. agrestis* (Vidy) et de *Putorius erminea*. Au contraire la forme que j'ai décrite¹⁾ chez *A. nivalis*, d'une coloration beaucoup plus claire, et pourvue d'un peigne de 18 pointes au lieu de 16, au prothorax, doit être considérée comme *Ct. assimilis* Tasch.

8. *Ceratophyllus fasciatus* Bosc, d'Antic. Nid d'*A. agrestis*. Vidy juill. 1913. Dr. Narbel.

9. *Haematopinus suis* L. Porc. Orbe (Ct. de Vaud), 23 nov. 1913. Dr. Galli.

10. *H. eurysternus* Nitzsch. Veau. Idem.

11. *H. tuberculatus* Giebel. Bufflesse. Dabowo (Bulgarie), 10 mars 1913. Me. Dr. Popoff.

II. Observations bactériologiques.

1. Pseudotuberculose bactérienne chez *Cypselus apus*.

A l'autopsie d'un martinet trouvé mort à Orbe le 31 mai 1913, j'ai noté que le foie était criblé de tubercules jaunâtres, de la dimension d'une pointe à une petite tête d'épingle. Le contenu de ces tubercules était puriforme. Ils ne contenaient aucun parasite animal, ni de bactéries acido-résistantes, mais de petits bâtonnets ovoïdes, se colorant uniformément par le bleu au thymol mais non par le Gram. Les cultures sont malheureusement restées stériles.

2. Pseudotuberculose bactérienne du lièvre.

Le 5 avril 1913, succombait à Sondrio (Italie) un lièvre provenant du Piémont. Il avait énormément maigri et il présentait à la patte postérieure gauche des foyers purulents avec nécrose des doigts, et à la postérieure droite un petit abcès. A l'autopsie, j'ai trouvé les poumons farcis de tubercules jaunâtres de la dimension d'un grain de millet et à contenu puriforme jaunâtre. Il n'y avait pas d'autres lésions. L'examen microscopique des frottis du pus des abcès aux pattes et des tubercules pulmonaires m'a démontré la présence de bâtonnets ovoïdes, très courts, se colorant seulement aux extrémités par le bleu au thymol et la fuchsine phéniquée, et ne se colorant pas par le Gram. Il n'y avait point de formes acido-résistantes. J'ai pu cultiver très facilement cette bactérie en présence de l'air, sur tous les milieux de culture entre 18° et 37° C. Elle y présentait les caractères suivants:

Plaques d'agar: Colonies de 4 mm. de diamètre, blanc grisâtres, luisantes, grasses, à centre un peu surelevé, à contours à peine festonnés.

Agar par piqûre: En surface mêmes caractères, que sur plaque, en profondeur, petites colonies en série.

Bouillon: Trouble très fort avec léger voile en surface.

Pomme de terre: Couche blanchâtre épaisse qui ne brunit pas.

1) Arch. de paras. T. 3. 1900. p. 96.

Lait à l'azolitmine: Coloration rouge et coagulation complète en 48 heures.

Gélatine par piqûre: Petite colonie blanchâtre en surface, fine ligne en profondeur, point de liquéfaction.

Colonies rouges sur agar de Drigalski et d'endo, bleus sur agar de Gonzalez.

Coloration rouge du milieu de Seitz à l'azolitmine.

Fermentation du lactose et très forte fermentation du glyose.

Point d'indol.

L'examen microscopique des cultures, montre un bacille identique à celui observé dans le pus: Il est immobile, dans le bouillon, il a la tendance à se disposer par 2 ou en courtes chaînettes. Il y a parfois des formes très courtes simulant presque des coques. Il ne sporule pas.

L'inoculation souscutanée au lapin, *Mus rattus* et *Mus musculus*, n'a déterminé qu'une légère tuméfaction locale, qui a disparu. Un cobaye au contraire, a présenté fort amaigrissement, et il a succombé après un mois présentant forte infiltration séro-sanguinolente au point inoculé avec tuméfaction d'un ganglion et tuméfaction de la rate. Le bacille se trouvait dans le ganglion et dans la rate.

J'ai vu que plusieurs lièvres provenant du même endroit, avaient succombé, présentant les mêmes lésions du lièvre examiné par moi.

Dans quel groupe placer cette bactérie? Quelques uns de ses caractères la rapprochent du groupe *Coli*, mais sa morphologie, son immobilité, le manque d'indol l'en éloignent et la rapprochent au contraire du groupe des septicémies hémorragiques. Je pense que c'est dans ce dernier groupe qu'il faut plutôt la placer, à côté des différentes formes de ce groupe qu'on a signalées chez le lièvre et le lapin.

3. Observations sur le rouget du porc, et sur sa transmission à l'homme.

Les cas de transmission du rouget à l'homme, sont de plus en plus souvent cités dans la littérature. Dans une épizootie de rouget ayant sévi à la colonie pénale d'Orbe, j'ai vu avec mon collègue Mr. le Dr. Rochaz, 6 cas d'infection chez l'homme. Tous s'étaient infectés en faisant l'autopsie des porcs infectés. Les troubles présentés ont été les suivants:

1. Cas. M. 32 ans. Piqûre à la face dorsale du pouce de la main gauche. Enflure des articulations de la 1^e et 2^e phalange. Douleurs lancinantes, fièvre.

2. Cas. Ch. 42 ans. Piqûre au niveau de la première articulation du médius droit. Enflure douloureuse locale. Point de fièvre.

3. Cas. Des. 25 ans. Piqûre au pouce et à l'annulaire gauche. Enflure locale douleurs lancinantes, ganglions axillaires.

4. Cas. C. 46 ans. Piqûres à index, annulaire et pouce gauches. Enflure, ganglion cubital, douleurs lancinantes, frissons.

5. Cas. Dur. 51 ans. Piqûres au médius et annulaire gauche. Enflures douloureuses locales.

6. Cas. Ru. 39 ans. Piqûre à la 3^e phalange de l'index droit. Enflure, douleurs lancinantes, fièvre.

Chez tous la lésion locale était caractérisée par une tuméfaction douloureuse, d'une coloration violacée. L'examen bactériologique, n'a pu porter que sur le cas 5: Dans le liquide rougeâtre, puriforme, je n'ai pas pu trouver, ni par l'examen direct ni par les cultures, le bacille de rouget, mais j'ai pu le mettre en évidence par inoculation souscutanée du liquide à la souris grise. Il était identique à celui isolé de la rate d'un des porcs ayant succombé au rouget, et qui s'était montré pathogène non seulement pour la souris grise, mais aussi pour le rat blanc, *Mus rattus*, et *Arvicola arvalis*.

Les 6 personnes infectées, sont toutes guéries grâce à des applications locales de pansements à l'alcool phéniqué. Le cas 5 a été le plus long à guérir (3 semaines).

Ayant récolté quelques H. suis gorgés de sang sur un porc de l'étable infectée, j'en ai trituré trois dans de l'eau stérile et je les ai inoculés sous la peau d'une souris grise, mais sans résultat.

4. Sur une bactérie acido-résistante trouvée chez *Mus rattus*.

Chez les *Mus rattus* de Lausanne, j'ai trouvé dans les glandes préputiales une bactérie acido-résistante en très grande quantité. Elle se présente sous la forme d'un bâtonnet grêle, souvent courbé sur lui même, isolé, disposé en V, en L et souvent en paquets de cigares comme *M. leprae*. Ses dimensions varient entre 1,5—2—4 μ . Examinée avec de très forts grossissements, elle présente une des extrémités renflée en massue (fig. 1). Cette bactérie résiste très bien à la décoloration par l'acide nitrique au tiers, et ne se recoloré pas par le bleu, même si on laisse agir cette couleur pendant 15'. Elle se colore aussi fort bien par le Gram. Par ces deux procédés de coloration, elle présente des formes uniformément colorées et des formes granuleuses. Si on traite les frottis à l'éther, avant de colorer à la fuchsine, elle résiste quand même à la décoloration par l'acide nitrique au tiers.



Fig. 1. Gross. 1:2250.

Tous les essais de culture ont été, jusqu'à maintenant, négatifs, sauf un léger enrichissement sur un tube d'agar. Les inoculations sous cutanées à *M. rattus* et au cobaye n'ont pas donné non plus de résultat.

Cette bactérie se rapproche, pour son siège, de *M. smegmatis* de l'homme, mais au point de vue morphologique et surtout de sa disposition, beaucoup plus de *M. leprae*.

Je proposerais le nom de *M. smegmatis* var. *muris*.

III. Observations sur les protozoaires.

1. Observations sur un cas de typhus exanthématique.

Au mois de juin 1913, j'ai vu un soldat de l'armée turque en pleine évolution de typhus exanthématique. Du sang pris à la veine du bras, a servi pour des frottis, des cultures et des inoculations. Dans les frottis colorés au Leishman, à la fuchsine phéniquée et au bleu au thymol, je n'ai point trouvé de parasites animaux ni végétaux. Les cultures sont restées aussi absolument stériles. Le sérum n'avait pas d'action agglutinante sur *B. typhi*, ni à 1:100 ni à 1:50. J'ai inoculé dans la cavité abdominale un cobaye et 2 *Mus rattus*, chacun avec 1 c.c. de sang citraté. Le cobaye est mort après 40 jours, les deux rats l'un après 135 et l'autre après 140 jours, mais sans présenter de lésions caractéristiques, ni de parasites.

L'examen de ce cas parle donc contre l'affirmation de quelques observateurs (Klodnitzky, Rabinowitsch) qui affirment d'avoir trouvé des bactéries dans le sang des malades de typhus exanthématique, et confirmer au contraire les constatations absolument négatives de Ch. Ni-

colle. La mort du cobaye en 40 jours parlerait pour l'infection de cet animal, constatée par Ch. Nicolle¹⁾ et par Garvino²⁾.

2. *Bodo ovatus* Duj. chez *Lagopus mutus*. (Fig. 2.)

Dans les matières fécales d'un *L. mutus* des Préalpes bergamasques (Italie), j'ai trouvé des kystes sphériques, à double contour, à protoplasma granuleux avec un noyau et deux vacuoles, de la dimension de 90 μ . Ils étaient très nombreux, et placés dans l'eau ils se développaient en des corps ovoïdes, pourvus de deux flagelles, l'un à chaque extrémité, et très mobiles. L'un des flagelles prenait son origine dans le voisinage du noyau. Ce parasite me semble présenter les caractères de *B. ovatus* Duj.

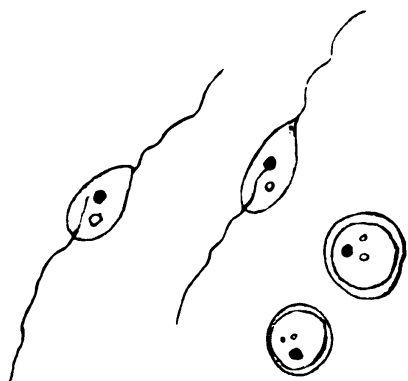


Fig. 2. Gross. 1:1000.

3. *Herpetomonas calliphorae* Swingle.

Sur 5 *Calliphora erythrocephala* prises à Orbe en octobre et décembre 1913, j'ai trouvé chez 2 (octobre) la présence d'*H. calliphorae*, et je l'ai aussi rencontré chez un *C. erythrocephala* prise à Lausanne en mai 1913. Dans deux exemplaires d'Orbe, les *Herpetomonas* étaient très nombreux. Swellengrebel³⁾ a trouvé à Amsterdam le 24% des *Calliphora* infectées au mois d'août, le 50% en octobre, le 24% en novembre et 60% de décembre à mars.

4. *Herpetomonas pyrrhocoris* n. sp. (Fig. 3.)

J'ai examiné 5 *Pyrrhocoris apterus* capturés à Orbe dont 4 en mai et 1 en décembre 1913. Chez trois de la première série, j'ai trouvé dans l'intestin de nombreux exemplaires d'un *Herpetomonas* de 30 μ à flagelle très long et très mobile par mouvements en fouet. Le blépharoplaste était bien développé, et le noyau plutôt petit.

Dans quelques uns, on notait des granulations chromatiques dans le protoplasma. A ma connaissance, on n'a pas encore décrit d'*Herpetomonas* chez *P. apterus* et je propose pour l'espèce, que je viens de signaler le nom d'*H. pyrrhocoris*.

5. Sur un cilié de l'intestin d'*Haematopota pluvialis*. (Fig. 4.)

Le 15 juin, j'ai capturé sur un cheval à Orny (Marais de l'Orbe) 10 *H. pluvialis*. L'examen du contenu intestinal de ces parasites, m'a démontré la présence chez 9 d'entre eux, d'un très grand nombre de ciliés, presque plus abondants chez les exemplaires non gorgés de sang que chez les gorgés. Ces ciliés avaient une forme ovoïde avec une des extrémités plus mince que l'autre, pourvue d'un péristome à peine excavé.

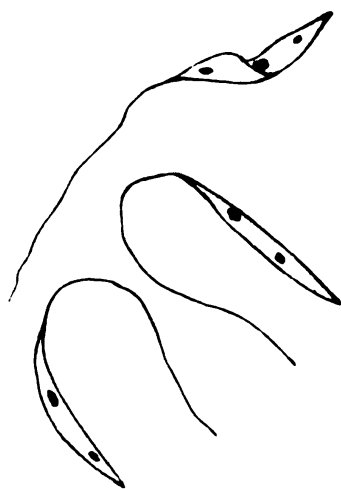


Fig. 3. Gross. 1:2250.

1) Sem. méd. 1911. p. 296.

2) Bull. Pasteur. 1912. p. 127.

3) Parasitology. Vol. 4. 1911. p. 101.

Dans le protoplasma finement granuleux, on remarquait un noyau arrondi ou légèrement ovalaire et des vacuoles. L'anus n'était pas visible. Toute la surface du corps était couverte de cils vibratiles. Le parasite présentait des mouvements très vifs de translation et de rotation.

Par-ci par là il y avait des kystes à mince enveloppe contenant 4 parasites immobiles. Placés dans l'eau, ces ciliés s'y sont très bien maintenus pendant des mois.

J'ai examiné plusieurs *H. pluvialis* pris dans le voisinage d'Orbe, en dehors de la zone indiquée, mais je n'y ai point trouvé de ciliés.

L'infection des *Haematopota*, doit avoir eu lieu en buvant des eaux marécageuses comme le font souvent les tabanidés.

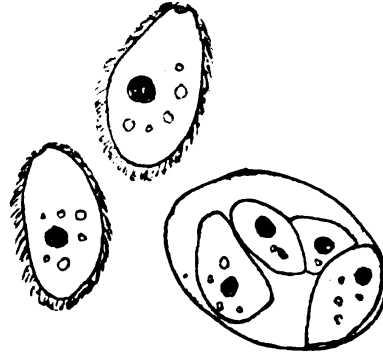


Fig. 4. Gross. 1:1000.

6. *Isospora bigemina* Stiles dans l'intestin de *Stryx flammaea*.

Chez un exemplaire de *St. flammaea* capturé dans les environs d'Orbe et mort deux jours après dans un profond amaigrissement, j'ai trouvé une très forte hyperémie de l'intestin qui était rempli d'une quantité énorme de coccidies. Elles se présentaient sous la forme d'oozytes ovoïdes contenant deux sporoblastes ovoïdes à membrane à double contour et à protoplasma fortement granuleux. Les dimensions des sporoblastes étaient de $12 \times 7,50 - 12 \times 9 \mu$. Sur les coupes de l'intestin on trouvait le lumen occupé par un grand nombre de ces coccidies, dont plusieurs situées dans les villosités intestinales. Les sporoblastes donnaient 4 sporozoïtes ovoïdes.

Je rattache cette coccidie à *I. bigemina* et non à *I. lacazei* Labbé, surtout à cause de la forme des sporozoïtes. L'infection de *St. flammaea* a probablement eu lieu en dévorant un mammifère (*Mustela putorius*?) infecté de ce parasite.

IV. Observations sur les helminthes.

1. Résistance des œufs de quelques helminthes aux causes de destruction.

Les œufs de plusieurs helminthes intestinaux, conservés dans les matières fécales sous une mince couche d'eau peuvent garder leur forme typique pendant des années. J'ai ainsi gardé des œufs d'*A. lumbricoides* de 1897 à 1909, et ils contenaient des embryons bien conservés mais immobiles; des œufs de *N. americanus* pendant 4 ans et 9 mois, mais portés sur agar ils ne se sont pas développés; des œufs de *B. latus* pendant trois ans; des œufs d'*H. diminuta* avec embryon vivant pendant 2 mois et $\frac{1}{2}$.

Des matières fécales contenant de nombreux œufs d'*A. lumbricoides* et quelques œufs de *T. trichiurus*, ont été placées dans différentes solutions, pour établir le temps nécessaire pour les détruire. Les résultats que j'ai obtenu peuvent ainsi se résumer:

Contrôles: Eau potable, eau distillée, urine humaine. Oeufs embryonnés.

Solutions:

1. Acide sulfurique concentré: Après $\frac{1}{2}$ h. les oeufs d'ascaride sont détruits. mais il y a des oeufs de trichocéphale encore bien conservés. Tout est détruit dans les 24 h.
2. Acide sulfurique 50 $\frac{0}{0}$: Quelques oeufs arrivent à s'embryonner.
3. Ac. sulfurique 10 $\frac{0}{0}$: } Idem.
4. " " 2 $\frac{0}{0}$: }
5. Ac. chlorhydrique concentré: Après 4 jours il y a encore des oeufs bien conservés, sauf l'enveloppe externe des oeufs d'ascarides. Après 10 mois on trouve encore des oeufs déformés, avec des restes de protoplasma.
6. Ac. chlorhydrique 50 $\frac{0}{0}$: } Les oeufs s'embryonnent.
7. " " 10 $\frac{0}{0}$: }
8. " " 2 $\frac{0}{0}$: }
9. Ac. nitrique concentré: Comme dans l'Ac. chlorhydrique concentré.
10. " " 50 $\frac{0}{0}$: } Les oeufs s'embryonnent.
11. " " 10 $\frac{0}{0}$: }
12. " " 2 $\frac{0}{0}$: }
13. Ac. acétique concentré: Oeufs bien conservés dans leur forme même après 4 mois, mais ils ne s'embryonnent pas.
14. Ac. acétique 50 $\frac{0}{0}$: } Les oeufs s'embryonnent.
15. " " 10 $\frac{0}{0}$: }
16. " " 2 $\frac{0}{0}$: }
17. Solution saturée de sulfate de cuivre: Les oeufs s'embryonnent.
18. Sol. sat. de sulfate ferreux: Idem.
19. Sol. sat. d'acétate de cuivre: Idem.
20. Antiformine pure: Oeufs détruits après 4 mois. Bornand a même constaté une résistance de 5 mois¹⁾.
21. Antiformine 50 $\frac{0}{0}$: } Les oeufs s'embryonnent.
22. " 10 $\frac{0}{0}$: }
23. " 2 $\frac{0}{0}$: }
24. Formaline pure du commerce: Les oeufs se sont segmentés mais non embryonnés.
25. Formaline 50 $\frac{0}{0}$: } Idem.
26. " 10 $\frac{0}{0}$: }
26. " 2 $\frac{0}{0}$: }

Un coup d'œil jeté sur ces résultats, démontre immédiatement que la seule substance agissant énergiquement sur des œufs d'helminthes à coque très résistante, quand ces œufs sont contenus dans des masses fécales, c'est l'acide sulfurique concentré. La stérilisation des fèces d'individus atteint d'helminthiasis devra donc se faire surtout par cette substance. Il est indispensable quand on veut contrôler l'action d'une substance sur les œufs d'helminthes contenus dans les fèces, de poursuivre le contrôle plusieurs mois, car souvent il y a retard dans la formation de l'embryon et non mort.

V. Observations sur la biologie et la destruction de quelques arthropodes.

1. Résistance de quelques arthropodes au jeûne.

Des *Ph. pubis* gardés dans une éprouvette à 20°, sont morts, comme dans une expérience précédente²⁾, après 48 h. chose confirmée aussi par Marzocchi³⁾.

Des *P. cervicalis* gardés dans une éprouvette, à 20°, sont aussi morts comme dans une expérience précédente⁴⁾ après 48 h. mais quelques uns ont résisté 4 jours.

Un *Tabanus spodopterus* gardé dans une boîte vitrée avec un petit godet d'eau, a vécu 8 jours refusant toujours de me piquer.

2. *Mus sylvaticus* peut-il jouer un rôle dans la destruction des Ixodiniés?

1) Thèse de l'Inst. d'Hyg. de Lausanne. 1909.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. p. 501.

3) Arch. de Paras. T. 16. 1913. p. 314.

4) Trav. cite.

Un *M. sylvaticus* gardé au laboratoire s'étant échappé de sa cage, a pénétré une nuit dans un bocal où se trouvaient 2 ♀ d'*I. ricinus* avec leurs œufs, et il a dévoré le tout. Il serait intéressant de vérifier si, même dans les conditions naturelles, ce rongeur ne s'attaque pas aux tiques mûres qui tombent sur les paturages pour y effectuer leur ponte.

B. Notes de technique parasitologique.

1. L'Azurblaulösung de Bram:

J'ai expérimenté pour la coloration des protozoaires, cette solution préparée par la maison Bram de Leipzig. Utilisée aux mêmes dilutions, et laissée agir le même temps que le Giemsa, elle m'a donné de bonnes préparations, sans précipités.

2. Un support pour pipettes:

Dépuis plusieurs années, j'utilise un support à pipettes que j'avais fait construire par la maison Desaga, et qui est très pratique surtout pour les recherches sur les précipitines agglutinines etc. Le dessin ci-joint, démontre mieux que toute description, le petit appareil.

Les pinces *a* pouvant être déplacées le long des tiges, le support peut servir pour des pipettes de longueur très différentes. En dessous de chaque pipette, on peut placer un petit godet contenant une solution antiseptique ou vide, pour le cas que les pipettes aient servi pour des liquides infectés ou corrosifs. Tout laboratoire pourra facilement construire un support analogue.

Lausanne, 24 février 1914.

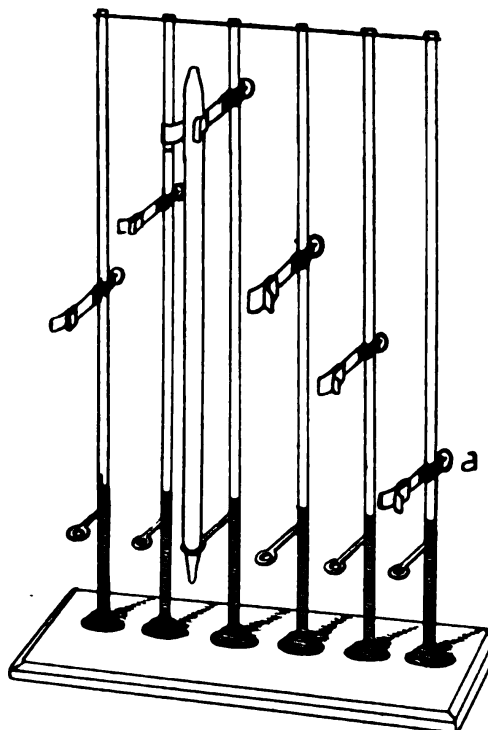


Fig. 5. (Chollet dél.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Verbreitung einer Art von *Trichostrongylus*, *Trichostrongylus orientalis* n. sp., als Darmparasiten des Menschen in Japan.

[Aus der medizinischen Klinik der Universität in Tokyo, Japan
(Direktor: Prof. T. Irisawa).]

Von Dr. med. **Kotaro Jimbo.**

Mit 4 Mikrophotogrammen im Text.

Seitdem zuerst im Jahre 1895 von A. Looss (1) ein Fadenwurm von sehr feiner und zarter Art aus menschlichen Leichen in Aegypten gefunden und bald als ein bisher unbekannter Parasit unter dem Namen *Strongylus subtilis* sehr genau beschrieben worden war, wurde die

Frage nach der Artbestimmung von dergleichen Parasiten aus dem menschlichen sowie tierischen Körper, insbesondere bei den Wiederkäuern, viel umstritten.

Später hat in diesem Centralblatt im Jahre 1906 Looss (2), der sich besonders erfolgreich mit diesen Dingen beschäftigte, beim Ueberblick der in der Literatur bereits veröffentlichten und auch von ihm selber entdeckten Materialien eine eigene Gattung *Trichostrongylus* aufgestellt und derselben die 4 folgenden Species zugeteilt:

- 1) *Trichostrongylus retortaeformis* Zeder 1800.

Vorkommen: Duodenum und ausnahmsweise Magen von *Lepus timidus* und *Lepus cuniculus ferus*.

- 2) *Trichostrongylus instabilis* Railliet 1893.

Syn.: *Strongylus* oder *Trichostrongylus subtilis* Looss 1895.

Strongylus instabilis Railliet 1893.

Vorkommen: Duodenum, ausnahmsweise Magen von *Ovis aries* und *Ovis laticauda*, *Antilope dorcas*, *Camelus dromedarius* (Aegypten), *Papio* (*Cynocephalus*) *hamadrias* (Nordafrika) und gelegentlich *Homo sapiens* [Aegypten und Japan (3)].

- 3) *Trichostrongylus probolurus* Railliet 1896.

Syn.: *Strongylus probolurus* Railliet 1896.

Vorkommen: Duodenum von *Ovis aries*, *Ovis laticauda*, *Antilope dorcas* und gelegentlich *Homo sapiens* (Aegypten), *Camelus dromedarius* (? Paris u. Aegypten).

- 4) *Trichostrongylus vitrinus* Looss 1905.

Vorkommen: Duodenum von *Ovis aries*, *Ovis laticauda*, gelegentlich von *Camelus dromedarius* und *Homo sapiens* (Aegypten).

Ich hatte während des letzten Sommers Gelegenheit, über die Verbreitung der parasitären Krankheiten bei Japanern statistische Untersuchungen anzustellen, soweit solche durch Kotuntersuchung möglich waren. Hierbei fand ich, daß es in Japan, wo die *Ankylostomiasis* auffallend verbreitet ist, häufig Personen gibt, welche in ihren Faeces eine eigentümliche Art von den *Ankylostoma*-Eiern sehr ähnlichen und deswegen bisher mit Unrecht für identisch damit gehaltenen Parasiten-eiern enthalten.

Die fraglichen Eier sind länglicher und größer als die *Ankylostoma*-Eier (Fig. 1), durchschnittlich 0,09 bis 0,083 mm lang, und 0,047 mm breit, also bezüglich der Größe ohne Uebergang zwischen den beiden. Ihr Inhalt befindet sich immer im befruchteten Zustande, und die Furchungskugeln belaufen sich meist auf mindestens 16; die einzelnen der letzteren sind gleich groß, fast kreisrund und mehr glänzend, so daß sie ein schönes Bild, wie eine Traube darbieten.

Zur Untersuchung der Faeces wurden 103 Spitalkranke, abgesehen von den unter der Diagnose Parasitenkrankheiten aufgenommenen, und 43 Gesunde, d. i. insgesamt 146 Fälle, herangezogen; es zeigte sich die Häufigkeit der einzelnen Parasiten folgendermaßen:

<i>Trichocephalus</i>	51,4 Proz.
<i>Ascaris</i>	36,3 "
Personen mit fraglichen Eiern	33,6 "
<i>Ankylostomum duodenale</i> (einschließlich <i>Necator americanus</i>)	28,1 "
Personen mit den beiden letzteren	10,3 "

<i>Distomum spathulatum</i>	5,5 Proz.
Mit heterophyesartigen Eiern	2,1 „
<i>Oxyuris</i>	0,68 „
<i>Schistosomum japonicum</i>	0,68 „
Ohne Parasiteneier	15,8 „

Dabei wurde ein Anreicherungsverfahren der Parasiteneier zur Verwendung gebracht, welches ich aus der Antiforminmethode nach Ya o i t a (4) folgendermaßen modifizierte:

Bis etwa 3 g einer Kotmasse werden in einem Becherglas mit 10,0 ccm 20-proz. Antiforminlösung aufgelöst, durch ein feines Metall-

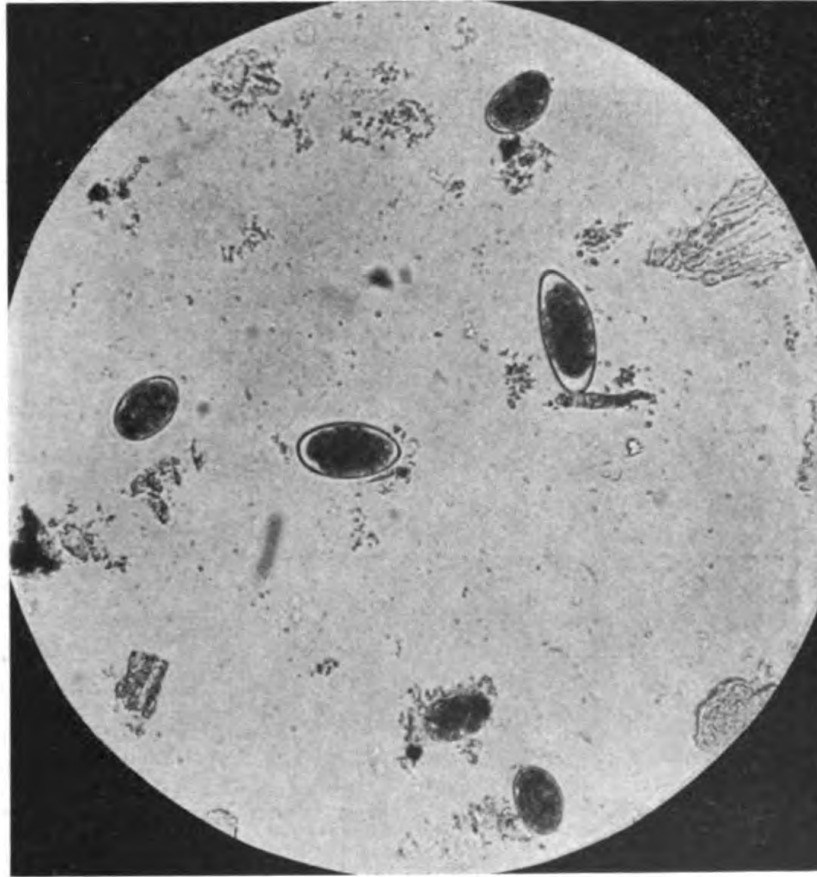


Fig. 1. Stuhlpräparat von einem mit *Trichostrongylus orientalis* sowohl wie mit *Ankylostomum duodenale* behafteten Patienten. Die 2 größeren Eier in der Mitte sind diejenigen des *Tr. orientalis*, die 4 anderen sind die des *Ankylostomum*.

sieb filtriert, dann bald zentrifugiert; dem Bodensatz werden etwa 10,0 ccm einer Mischung von 20-proz. Antiformin und Aether zu gleichen Teilen hinzugesetzt, gut gemischt und abermals zentrifugiert. Der so erhaltene Bodensatz gelangt unter das Mikroskop.

Gelegentlich kamen mir später bei der Obduktion eines Patienten, welcher während des Lebens eine geringe Anzahl der in Frage stehenden Parasiteneier, aber keine *Ankylostoma*-Eier entleerte, ausschließlich aus dem Zwölffingerdarm einige zarte Fadenwürmer zu Gesicht. Ferner wurde bei der Untersuchung des Duodenalinhalts von menschlichen Leichen, deren klinischer Befund, resp. deren Faeces mir völlig

unbekannt waren, bei 20 unter 45 Fällen dieselbe Art von Parasiten, allerdings meistens in geringerer Individuenzahl, entdeckt.

Es bleibt demnach die Frage nach der Bestimmung der Art, zu welcher die so erstaunlich verbreiteten Schmarotzer gehören, allein noch zu lösen.

Es sei mir hier erlaubt, auf die Anatomie der Tierchen einzugehen: Ein dünner, zarter und geschlechtlich getrennter Fadenwurm, von farblosem bis grauweißlichem Aussehen; Körperlänge im geschlechtsreifen Zustande 4,8—3,8 mm beim Männchen und 6,7—4,9 mm beim Weibchen; beide Geschlechter am dicksten in der Gegend der Genitalöffnung, und von wo an der Körper sich nach vorn allmählich und gleichmäßig verjüngt, indem direkt vor dem Spiculum 0,079—0,072 mm, am Kopfende

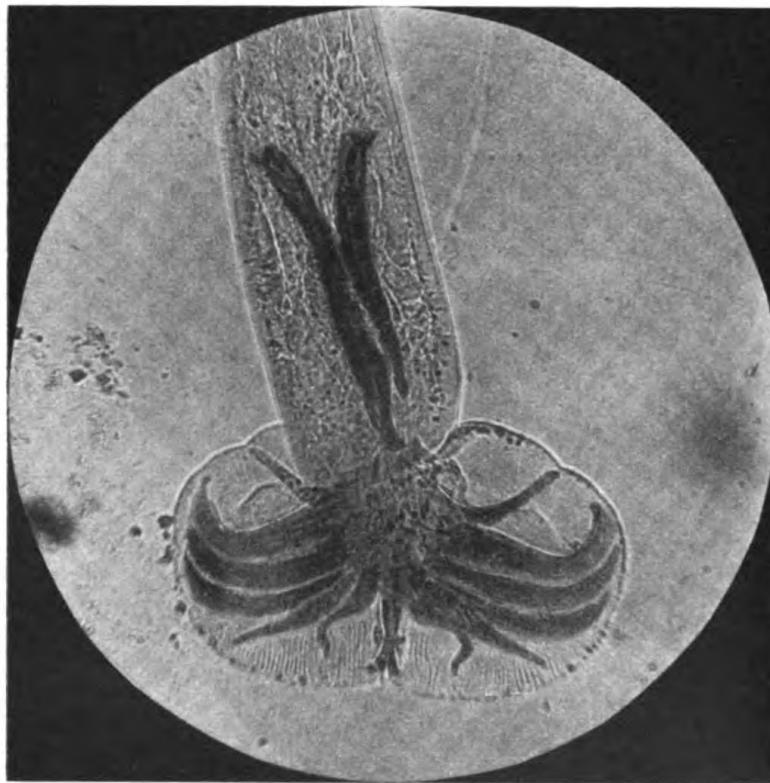


Fig. 2. Hinteres Körperende des Männchen mit ausgebreiteten Bursallappen.

ca. 0,007 mm Breitendurchmesser beim Männchen und beim Weibchen auf der Höhe der Vulva 0,083—0,075, am Kopfe etwa 0,009 mm hat. Haut mit feiner Querringelung, doch ohne Längskanten. Mundöffnung mit kleinen, knötchenförmigen Papillen versehen, sonst mit keinerlei charakteristischer Ausstattung. Oesophagus etwa 0,8 mm lang, mit ebenso beträchtlichen Variationen wie die Körperlänge; die Wandung desselben nirgends besonders differenziert, sondern gleichmäßig gebaut. Chylusdarm durchzieht den ganzen Körper ganz einfach als direkte Fortsetzung des letztgenannten Organs. Nervenring und Exkretionsporus liegt etwa 0,1 mm hinter dem Kopfende.

Geschlechtsorgane. Beim Männchen beginnt der Hodenschlauch 0,06 mm hinter dem Oesophagealende und stellt ein dünnes, nicht gewundenes Rohr dar. Die Bursa (Fig. 2) besteht aus 2 Seitenlappen und

ist in ausgebreitetem Zustande in transversaler Richtung ca. 0,23 mm breit, jeder Lappen an der Basis in dorsoventraler Richtung ca. 0,13 mm breit. Die Rippenvorrichtung auf beiden Lappen symmetrisch angeordnet, mit 2 weit auseinander weichenden Ventralrippen, von denen die ventroventrale dünn, isoliert ventralwärts gerichtet, die lateroventrale auffallend dick, dicht an der Externolateralrippe gelagert ist. Die letztere fast gleich dick wie die lateroventrale und auch in fast ganzer Länge direkt an der etwas schlankeren Mediolateralrippe gelagert. Posterolateralrippe noch etwas dünner und kürzer, jedenfalls nicht dorsalwärts gebogen, sondern gerade divergierend von der vorhergehenden Rippe, und zwar in dem distalen Drittel ihrer Länge, mit dem Ende bis kurz vor den Bursalrand heranreichend. Externodorsalrippe noch kürzer

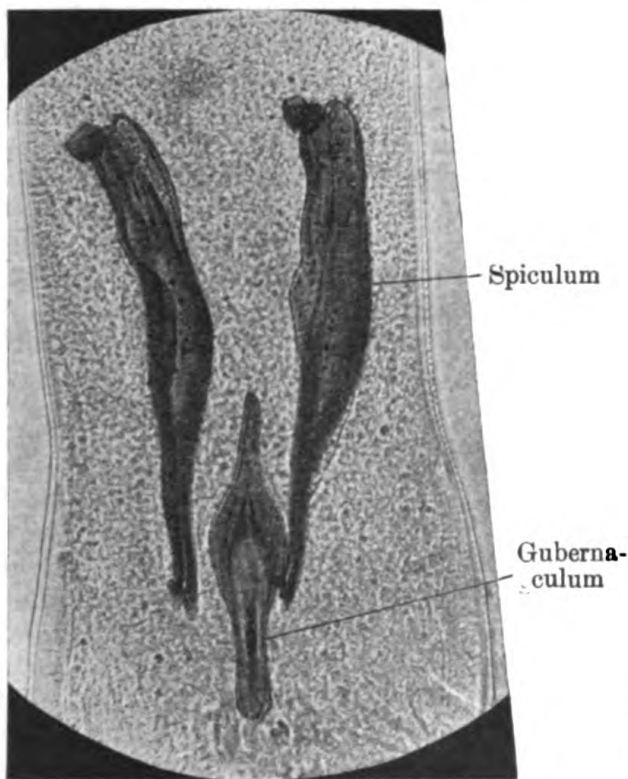


Fig. 3.

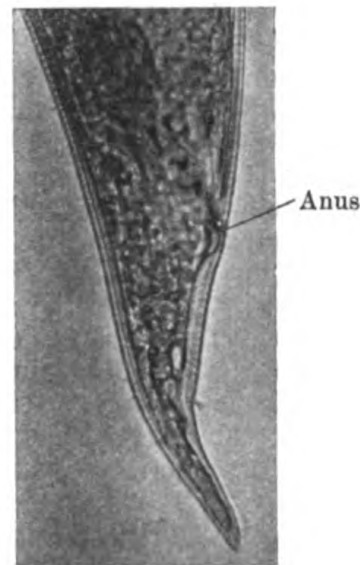


Fig. 4.

Fig. 3. Spicula und Gubernaculum des Männchens.

Fig. 4. Hinteres Körperende des Weibchens.

als die letztere Rippe, nach einer kurzen, jedoch dicken Strecke fast rechtwinklig dorsalwärts gebogen und ihre Endpapille etwa halbwegs zwischen den Enden der beiden angrenzenden Rippen. Die Dorsalrippe unpaarig, nur am Ende gespalten, die ganze Länge etwa 0,032 mm (einschließlich der 0,011 mm langen Gabeläste). Die beiden Spicula (Fig. 3) 0,133—0,119 mm lang, bräunlich gelb; spatelförmig mit schlankem schnabelförmigem Endabschnitte; der Endhaken winzig, gerade an der Spitze gelagert. Gubernaculum (Fig. 3) 0,084—0,065 mm lang, größte Breite ca. 0,018 mm, blaß gelblich; Gestalt in der Flächenansicht eigenartig löffelförmig mit Zentralgrube und im Profile spindelförmig. Beim Weibchen Vulvaöffnung als unregelmäßig gebogene Querspalte von 0,022 mm Länge in der hinteren Körperhälfte, 1,47—0,84 mm vom Schwanzende entfernt. Vagina ca. 0,05 mm lang, nach innen ein wenig schief nach vorn gerichtet. Der gemeinsame Abschnitt der Ovejektoren

zwischen den beiden deutlich hervortretenden ersten Einschnürungen 0,222—0,194 mm lang; ein kleines, etwa 0,036—0,029 mm langes Endstück desselben beiderseits ausgezeichnet durch dichtere und bulböse Ausbildung der Wand; darauf folgt ein bauchiger, 0,062—0,056 mm langer und ca. 0,038 mm dicker Abschnitt, welcher nach beiden Seiten durch eine zweite Einschnürung begrenzt ist und wahrscheinlich der Looss'schen Abteilung I entspricht; daran schließt sich noch ein kleiner, elliptischer, ca. 0,04—0,032 mm langer und ca. 0,047 mm dicker Abschnitt (II. Abteilung Looss') mit ausgeprägt dickmuskulöser Wandung, und, zuletzt an den Uterus anschließend, ein zylindrisch verlängerter und verhältnismäßig dünnwandiger Abschnitt (Looss' III.) von ca. 0,108—0,09 mm Länge. Uterus 0,32—0,55 mm lang, enthält je 10—20, meist noch nicht zur Furchung gelangte Eier, welche dort 0,091—0,075 mm lang und 0,047—0,039 mm breit sind. Vorderes Eirohr erreicht vorn eine etwa 1,0 mm vom Kopfe entfernte Stelle, biegt da zurück und endet nach einer weiteren kurzen Strecke; das hintere zieht nach hinten bis etwa 0,15 mm Entfernung von der Schwanzspitze heran, kehrt dort um, dann kommt es auf die Höhe von etwa 1,4 mm Entfernung vom vorderen Ende, sodann kehrt es wieder um, um schließlich nach einem hinterwärts gerichteten, ca. 0,3 mm langen Verlaufe zu endigen. Der postanale Teil länglich, konisch gebaut, wie man bei Fig. 4 im großen und ganzen sieht; seine Länge variiert jedoch von 0,86 bis 0,65 mm.

Beim Ueberblick des Obenerwähnten stimmen die Parasiten mit den Charakteren von *Trichostrongylus* ganz überein. Jedoch findet sich bei ihnen ein so eigentümliches Charakteristikum in Gestalt der Spicula, des Gubernaculums und der Bursalrippen beim Männchen, sowie des postanalen Körperteils und des Ovejektors beim Weibchen, welche Looss auch zur Charakterisierung der Species benutzt, daß es gerechtfertigt erscheint, dieselbe von den oben beschriebenen 4 Species der Gattung zu trennen.

Herr Prof. Ijima, den ich in der Sache zu Rate zog, ist auch der Ansicht, daß es nötig sei, den Parasiten mit einer besonderen Bezeichnung zu belegen, und, seinem Vorschlage folgend, gebe ich ihm den Namen *Trichostrongylus orientalis*.

Was die pathologische Bedeutung dieser Parasiten anbetrifft, so ist keine nennenswerte für dieselben nachzuweisen. Als Antihelminthica gegen den betreffenden Darmschmarotzer möchte ich dieselben Arzneimittel, welche zurzeit bei Ankylostomiasis gebräuchlich sind, namentlich *Oleum chenopodii* (5) als ein neues wirksames Mittel empfehlen.

Mit den Trägern von *Trichostrongylus* muß man klinisch ganz anders, als mit denjenigen von *Ankylostoma* verfahren, indem man bei Kotuntersuchung eine möglichst genaue Differenzierung der Eierarten vornimmt.

Der Einwanderungsvertrag zwischen Japan und den Vereinigten Staaten verbietet den Eintritt solcher japanischen Auswanderer in das Land, deren Faeces *Ankylostoma*-Eier enthalten. Es ist indessen schon vorgekommen, daß eine gewisse Anzahl von japanischen Auswanderern, welche ausschließlich *Trichostrongylus*-Eier, aber keine *Ankylostoma*-Eier besaßen, aus Versehen oder Unkenntnis der Hafenärzte ohne weiteres vom Landungshafen zurückgewiesen wurden.

Somit möchte ich den Aerzten, die in der Lage sind, häufig Faeces zu untersuchen, die strenge Unterscheidung der *Ankylostoma*-Eier von den *Trichostrongylus*-Eiern ans Herz legen.

Literatur.

- 1) Looss, A., *Strongylus subtilis*, ein bisher unbekannter Parasit des Menschen in Aegypten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 18. 1895. p. 161.)
- 2) —, Notizen zur Helminthologie Aegyptens. VI. Das Genus *Trichostrongylus* n. g., mit zwei neuen gelegentlichen Parasiten des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 409.)
- 3) Ijima, *Strongylus subtilis* in Japan. (The Zoolog. Magaz. Tokyo. Vol. 7. 1895. No. 86.)
- 4) Yaoita, S., Ein neues Verfahren zur Auffindung spärlicher Parasiteneier in Faeces. (Dtsche med. Wochenschr. 1912. p. 1540.)
- 5) Schüffner u. Vervoort, Das Oleum Chenopodii gegen Ankylostomiasis. (Münch. med. Wochenschr. 1913. No. 3.)

*Nachdruck verboten.***Beitrag zur Kenntnis einiger Vogelcestoden.**

[Aus dem Zoologischen Laboratorium der Universität Neuchâtel.]

Von **K. J. Skrjabin**, Veterinärarzt.

Mit 42 Figuren im Text.

Inhalt.

- A. Anoplocephalidae:**
1. *Aporina fuhrmanni* n. sp.
 2. *Cittotaenia columbae* n. sp.
- B. Davaineidae:**
3. *Davainea laticanalis* n. sp.
 4. *Davainea cyrtus* n. sp.
 5. *Davainea emperus* n. sp.
 6. *Davainea galeritae* n. sp.
 7. *Davainea paradisea* Fuhrmann.
 8. *Chapmania unilateralis* n. sp.
- C. Dilepinidae:**
9. *Unciunia trichocirrosa* n. gen. n. sp.
 10. *Anomotaenia socialis* Krabbe.
- D. Hymenolepinidae:**
11. *Hymenolepis flaminginis* n. sp.
- E. Acoleidae:**
12. *Progynotaenia fuhrmanni* n. sp.
 13. *Gyrocoelia brevis* Fuhrm.

Ich gebe hier die Beschreibung einiger Vogelcestoden, die mir in lebenswürdiger Weise von Prof. Dr. O. Fuhrmann zur Untersuchung überlassen worden sind. Die Cestoden stammten aus dem Museum für Naturkunde in Berlin und der Sammlung des Museums von Göteborg.

Herrn Prof. Dr. O. Fuhrmann möchte ich hier meinen herzlichsten Dank aussprechen für das von ihm mir freundlichst überlassene interessante Material und seine zahlreichen, wertvollen Ratschläge bei der Bearbeitung desselben.

Fam. Anoplocephalidae.**1. *Aporina fuhrmanni* nov. sp.**

(Fig. 1—5.)

Wirt: ? Ornis No. 797.

Fundort: Ost-Bolivien.

Glas No. Q. 750: Museum für Naturkunde in Berlin.

In seiner Arbeit 1902 „Die Anoplocephaliden der Vögel“ hat Prof. Fuhrmann einen höchst interessanten Parasiten bei einem Papageien,

Pyrrhura sp., aus Brasilien gefunden. Bei diesem Cestoden, *Aporina alba* Fuhrm., münden die Vagina und der rudimentäre Cirrus nicht nach außen, sondern vereinigen sich im Markparenchym (dorsal von den Längsstämmen des Wassergefäßsystems). Diesen Parasiten hat Fuhrmann zu einer neuen Gattung *Aporina* gerechnet, deren Diagnose folgende ist: „Anoplocephaliden mit einfachem Geschlechtsapparat. Die weiblichen Geschlechtsorgane sind dem Proglottidenrande, nach welchem unregelmäßig abwechselnd die Vagina zieht, genähert. Die dorsal gelegenen

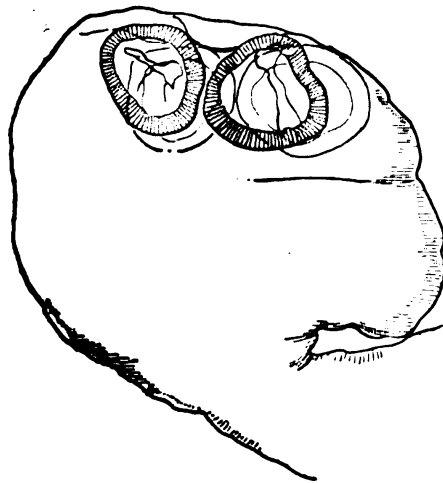


Fig. 1.

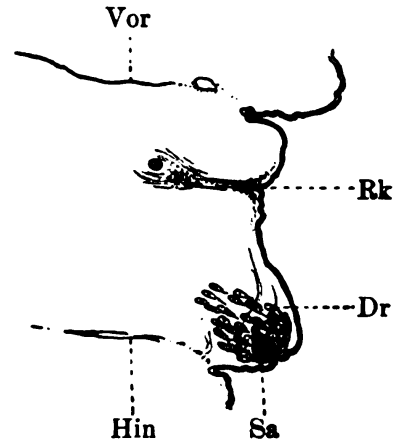


Fig. 2.

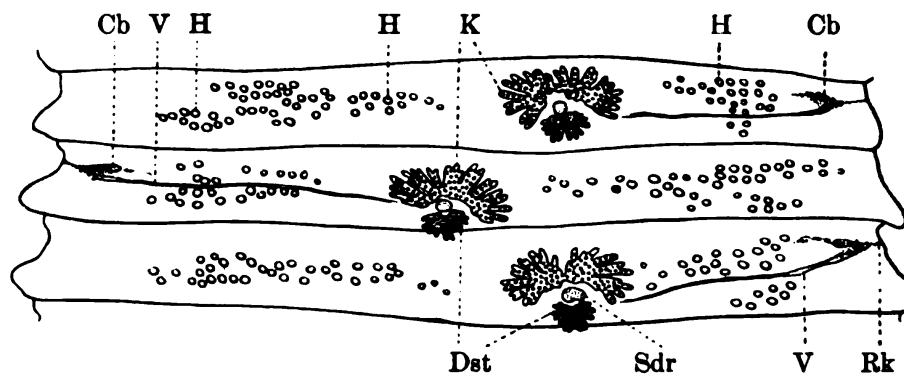


Fig. 3.

Fig. 1. *Aporina fuhrmanni* n. sp. Scolex.

Fig. 2. *Aporina fuhrmanni* n. sp. Teil eines Flächenschnittes mit einem Drüsenkomplex (*Dr*), der in einen Sacculus (*Sa*) mündet. Man sieht noch die Reste von atrophierter Genitalkloake (*Rk*). *Vor* vorderer Rand der Proglottis; *Hin* hinterer Rand derselben.

Fig. 3. Drei Proglottiden der *Aporina fuhrmanni* n. sp. mit Genitaldrüsen. Totalpräparat. *K* Keimstock; *Dst* Dotterstock; *Sdr* Schalendrüse; *V* Vagina; *H* Hoden; *Cb* Cirrusbeutel; *Rk* rudimentäre Genitalkloake.

Hoden sind sehr zahlreich, hauptsächlich seitlich in der ganzen Länge der Proglottis gelegen; sie finden sich ebenfalls zahlreich außerhalb der Längsgefäße des Exkretionssystems, dagegen sind sie median sehr spärlich. Die Geschlechtsgänge gehen über die Exkretionsstämme und vereinigen sich, ohne auszumünden (?). Der Uterus ist median, wo der Uteringang einmündet, sehr eng, so daß zwei Uteri vorgetäuscht werden; er bildet beiderseits hinten ein charakteristisches Cöcum, das über das Wassergefäßsystem weggeht und außerhalb und parallel demselben nach

vorn verläuft. Eier zwei Schalen. In Vögeln. Typische Art: *Aporina alba* Fuhrmann 1902.“

Seither hat niemand einen Parasiten dieser Gattung beschrieben¹⁾.

In seiner Arbeit 1904 spricht Janicki die Vermutung aus, daß die Abwesenheit des äußeren Genitalporus bei *Aporina* eine individuelle Besonderheit bildet. Im Jahre 1906 beschreibt Janicki einen Parasiten aus *Macropus* sp. (Säugetier), *Cittotaenia Zschokkei*, bei welchem die jungen Glieder einen Genitalporus aufweisen, so daß die Vagina ganz normal nach außen mündet; später jedoch fängt sie an, vom Porus aus zu atrophieren, wobei sie „bei der Rückbildung als ein zarter, hinfalliger, nicht leicht zu verfolgender Gang erscheint. Durchgreifend ist aber die fehlende Kommunikation mit dem Genitalporus“²⁾.

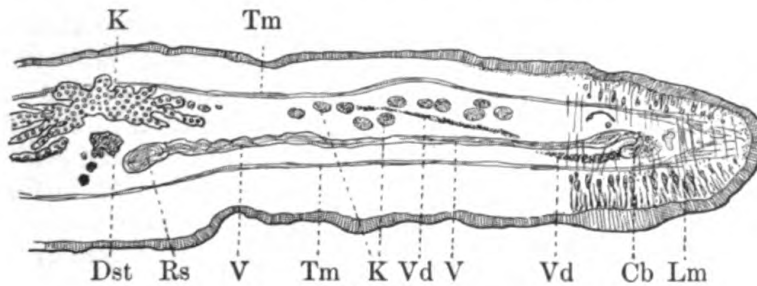


Fig. 4.

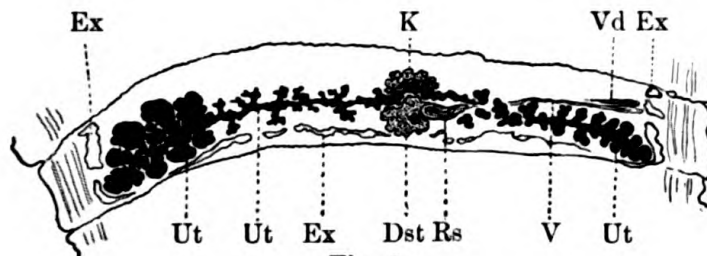


Fig. 5.

Fig. 4. Teil eines Querschnittes der *Aporina fuhrmanni* n. sp. *K* Keimstock; *Dst* Dotterstock; *Rs* Receptaculum seminis; *V* Vagina; *H* Hoden; *Vd* Vas deferens; *Cb* Cirrusbeutel; *Tm* Transversalmuskulatur; *Lm* Längsmuskulatur.

Fig. 5. *Aporina fuhrmanni* n. sp. Horizontalschnitt durch eine ganz reife Proglottis mit Uterus (*Ut*). *K* Reste vom Keimstock; *Dst* Reste vom Dotterstock; *Rs* Receptaculum seminis; *V* Vagina; *Vd* Vas deferens; *Ex* ventrales Exkretionsgefäß.

Im Material des Berliner Museums (Glas: Q. 750) fand ich einen Parasiten aus Ost-Bolivien von leider unbekanntem Wirt (Ornis No. 797), der in vielem der *Aporina alba* Fuhrm. ähnlich ist. Ich halte ihn für eine neue, zweite Art dieser interessanten Gattung und möchte ihn zu Ehren Prof. Fuhrmanns ***Aporina fuhrmanni*** n. sp. nennen.

1) Im Jahre 1905 hat Linstow eine *Aporina borealis* n. sp. (aus *Harelda glacialis*) beschrieben. Dieser Parasit ist nach Fuhrmann, welcher das Originalmaterial untersucht hat, gar keine *Aporina*, sondern eine *Choanotaenia*! [v. Linstow, Helminthen der russischen Polarexpedition 1900—1903. (Mém. de l'Acad. Imp. d. scienc. de St. Pétersbourg. Sér. 8. Cl. phys.-math. T. 18. 1905. p. 11—12.)

2) Die neueste Literatur weist noch einen ähnlichen Fall auf, und zwar bei der *Anoplocephala latissima* Deiner (aus dem Rhinoceros), wo die Öffnung der Vagina ebenfalls nach kurzer Funktionsperiode obliteriert. [Deiner, Elise, Anatomie der *Anoplocephala latissima*. (Arb. d. Zool. Instit. Wien. Bd. 29. 1912. p. 1—26, mit 2 Taf.)]

Das einzige Exemplar dieses Parasiten war 75 mm lang und 6 mm breit. Der relativ sehr kleine, runde und unbewaffnete Scolex hatte eine Länge von 0,2 mm bei einer Breite von 0,27 mm. Der Durchmesser der Saugnäpfe betrug 0,103 mm. Die Proglottiden erreichten rasch ihre Maximalbreite und waren immer mehrfach breiter als lang.

Die Muskulatur ist, wie bei allen Anoplocephaliden, ziemlich stark entwickelt und besteht aus einer Transversal- und mehreren Längsschichten, deren genaue Anzahl schwer festzustellen ist. Das Exkretionssystem zeigt keine Besonderheiten und besteht aus 4 Längsgefäßen, wobei die ventralen mit einer Querkommissur verbunden sind.

Der männliche Apparat ist aus zahlreichen Hoden gebildet, welche rechts und links von den weiblichen Drüsen liegen und einen Durchmesser von 0,05—0,06 mm besitzen. In dorso-ventraler Richtung sind sie, wie die Querschnitte zeigen, in 2—3 Reihen angeordnet. In jungen Gliedern geht das Vas deferens in einen kleinen, fast rudimentären Cirrusbeutel über, der unregelmäßig abwechselnd in eine rudimentäre Kloake durch einen sehr engen Porus nach außen mündet. Bei den reiferen Gliedern atrophiert die Kloakenmündung vollständig, so daß der Cirrusbeutel sich mit der Vagina innerhalb der Proglottis vereinigt. In diesem Stadium entsprechen die Genitalmündungen unseres Parasiten ganz derjenigen der *Aporina alba* Fuhrm.: Bei beiden Arten kann man den vollkommenen Mangel der Geschlechtskloake und der Geschlechtsöffnungen feststellen. Sie unterscheiden sich jedoch dadurch, daß bei *Aporina alba* die Entfernung zwischen der Vereinigungsstelle der Geschlechtsgänge und dem Proglottidenrande (0,456 mm) größer ist als bei *Aporina fuhrmanni* (0,3 mm) und daß der rudimentäre Cirrusbeutel bei *Aporina alba* ventral vor der Vagina liegt, während er sich bei meinem Parasiten dorsal von der letzteren befindet. Außerdem liegt der Anfangsteil des Vas deferens bei *Aporina fuhrmanni* ventral von der Vagina, und bei seinem weiteren Verlaufe kreuzt er sich mit ihr, so daß seine Mündung in den Cirrusbeutel sich dorsal vor ihr befindet.

Die Länge des rudimentären Cirrusbeutels beträgt 0,05 mm.

Die weiblichen Drüsen sind deutlich poralwärts (d. h. dem Proglottidenrande, nach welchem die Vagina zieht) verschoben. Der tiefgelappte Keimstock ist 0,85—0,9 mm breit und dringt, wie die Querschnitte zeigen, ventralwärts etwas in die Muskulatur ein. Der 0,34 mm breite Dotterstock ist ebenfalls tief gelappt. Die lange, schlauchförmige Vagina weist in der Nähe des Keimstockes ein ovales Receptaculum seminis auf; ihre ganze Länge beträgt 1,445 mm (bei *Aporina alba* ist die Vagina 0,91 mm lang). In den halbreifen Gliedern steht die Vagina, wie oben gesagt, mit dem Cirrus in Verbindung, wobei sie, wie auch das Vas deferens, von den beiden Exkretionskanälen dorsalwärts verlaufen.

Der Bau des Uterus ist sehr charakteristisch und unterscheidet sich wesentlich von dem der *Aporina alba*. Der Uterus unserer Art bildet einen quer ausgestreckten Sack, welcher die ganze Breite der Proglottis zwischen den Exkretionsgefäßen einnimmt und nach vorn und hinten verästelte Zweige ausschickt. Ihre höchste Entwicklung erreichen diese Zweige in den lateralen Teilen der Proglottis (besonders in der aporalen), wo sie das Aussehen großer Blasen haben; je mehr sie sich aber der Mittellinie nähern, desto kleiner werden diese Verästelungen. Bei der *Aporina alba* dagegen geht der Uterus „über dem dorsalen und ventralen Längsstamm des Wassergefäßsystems

durch, um in der extravaskulären Markparenchymzone einen dem Proglottidenrande parallel verlaufenden und natürlich nach vorn gerichteten Seitenstamm zu bilden“.

Im Uterus der *Aporina fuhrmanni* befinden sich Eier von runder Form, welche einen Durchmesser von 0,026 mm erreichen. Die ovalen Eier der *Aporina alba* dagegen sind 0,02 : 0,012 mm lang. In den reifsten Gliedern meines Exemplares konnte man noch die Reste des Keimstockes und der Schalendrüse wahrnehmen.

Am hinteren Rande jeder reifen Proglottis konnte man eine eigentümliche Veränderung des Gewebes feststellen, welches von vakuolisiertem Ansehen ist, und dessen Aufgabe es ist, das Lösen der einzelnen Glieder von der Strobila zu erleichtern. Sehr charakteristisch für unsere Art ist noch der Umstand, daß an der Stelle, wo sich der porale und der hintere Rand der Proglottis vereinigen, sich ein Drüsenkomplex befindet, der in einen Sacculus ausmündet. Dieser Drüsenkomplex ist demjenigen der Gattung *Moniczia* homolog, findet sich aber bei der letzteren am Hinterrande der Proglottiden. Dieses Merkmal dient als neuer Beweis für die Zugehörigkeit unseres Parasiten zu den Anoplocephaliden.

Aus dem oben Gesagten geht klar hervor, daß 1) unser Parasit zweifellos eine neue Art der Gattung *Aporina* Fuhrm. darstellt; 2) durch die Rückbildung der Genitalöffnungen erinnert unser Parasit etwas an die Art *Cittotaenia Zschokkei* Jan., mit der er übrigens nichts zu tun hat¹⁾; 3) muß die Diagnose der Gattung *Aporina* etwas

Name	<i>Aporina alba</i>	<i>Aporina fuhrmanni</i>
Untersucher	Fuhrmann	K. Skrjabin
Jahr	1902	1914
Strobila, Länge	110	75
Strobila, Breite	4	6
Scolexbreite	} Scolex nicht bekannt	0,27
Durchmesser der Saugnäpfe		0,103
Zahl der Hoden	ca. 140	zahlreich
Durchmesser der Hoden	?	0,05—0,06
Cirrusbeutel, Länge	0,14	0,05
Distanz zwischen dem Cirrusbeutel u. Proglottidenrand	0,456	0,3
Cirrusbeutel und Vagina	liegen dorsal von den Exkretionsstämmen	
Vagina mit Rec. sem. (Länge)	0,91	1,445
Keimstock, Breite	1,2	0,85—0,9
Dotterstock, Breite	0,34	0,34
Uterus	geht über den Exkretionsgefäßen durch und bildet einen nach vorn gerichteten Seitenstamm	liegt zwischen den Exkretionsgefäßen und bildet keinen Seitenstamm
Eier, Form	oval	rund
Eier, Länge	0,02 : 0,012	0,026
Ein Drüsenkomplex an der Grenze des poralen und hinteren Randes der Proglottis	fehlt	vorhanden
Wirt	Pyrrhura	unbekannt (Ornis)
Fundort	Brasilien (Coxipà)	Ost-Bolivien

Die Maße sind in Millimetern angegeben.

1) Wie bekannt, atrophiert bei *Cittotaenia Zschokkei* Jan. nur die Vaginalmündung, die männlichen Oeffnungen dagegen bleiben unverändert und immer in Verbindung mit der Außenwelt.

verändert werden: anstatt „die Geschlechtsgänge vereinigen sich, ohne auszumünden“ müßte es heißen „die Geschlechtsgänge haben nur in jungen Gliedern eine äußere Oeffnung, in reiferen dagegen atrophiert die Genitalöffnung vollständig, so daß die Gänge sich, ohne auszumünden, vereinigen“. Außerdem kann der Bau des Uterus nicht als Gattungsmerkmal dienen, wie Fuhrmann in seiner Arbeit 1908 annimmt, da der Uterus bei beiden *Aporina*-Arten ganz verschieden ist. Die Diagnose der Gattung *Aporina* Fuhrm. müßte daher folgendermaßen lauten: „Anoplocephaliden mit einfachem Geschlechtsapparat. Die weiblichen Genitalorgane sind dem Proglottidenrande, nach welchem die Vagina zieht, genähert. Die Hoden sind zahlreich und erfüllen die dorsale Seite des ganzen Markparenchyms. Die Geschlechtsgänge haben nur in jungen Gliedern eine äußere Oeffnung, in reiferen dagegen atrophiert die Genitalmündung vollständig, so daß die Vagina und der rudimentäre Cirrus sich, ohne auszumünden, vereinigen (dorsal von den Längsstämmen des Wassergefäßsystems). Eier mit zwei Schalen. In Vögeln.“

Vorstehend gebe ich eine vergleichende Tabelle beider *Aporina*-Arten.

2. *Cittotaenia columbae* nov. sp.

(Fig. 6—8.)

Wirt: *Columba* sp.

Fundort: Neu-Guinea, Liebliche Inseln.

Glas No. Q 1389, Museum für Naturkunde zu Berlin.

Der hier beschriebene Cestode ist die 5. Art der Gattung *Cittotaenia* Riehm aus Vögeln und eine 2. *Cittotaenia* aus der Gruppe *Columbiformes*.

Das einzige Exemplar, welches sich in dem mir zur Verfügung stehenden Material fand, war ohne Scolex. Die Länge der Strobila betrug 130 mm bei einer Maximalbreite von 6,5 mm. Die letzten, ganz reifen Proglottiden waren etwas schmaler als die vorhergehenden. Die Länge der meisten Glieder betrug nur 0,17 mm, die der reifen 0,5 mm. Die Muskulatur bestand aus mehrfachen Längsschichten, deren Bündel sich nach der Peripherie hin allmählich verkleinerten. Die ventralen Exkretionsgefäße sind durch eine Querkommissur verbunden, die in der Breite 0,085 mm mißt.

Der männliche Apparat besteht aus zahlreichen, ca. 240, ovalen Hoden, die in 5—6 horizontalen Reihen angeordnet sind; sie nehmen den ganzen dorsalen Teil der Proglottis ein und haben einen Durchmesser von 0,055—0,074 : 0,03—0,04 mm. Die Anordnung der Hoden in 2 Gruppen konnte nicht festgestellt werden. Das Vas deferens ist sehr mächtig und beträgt im Durchmesser 0,05 mm. Der langgestreckte, stark muskulöse Cirrusbeutel ist 0,37 mm lang, bei einer Breite von 0,069 mm, und mündet zu beiden Seiten jeder Proglottis in eine tiefe Genitalkloake aus. Hinter ihm mündet die ziemlich muskulöse, 0,037 mm breite Vagina, die ein großes ovales Receptaculum seminis bildet. Das letztere ist 0,25—0,28 mm lang, bei einer Breite von 0,06—0,07 mm. In ganz reifen Gliedern ist es sogar 0,4 mm lang und 0,1 mm breit. Das Receptaculum seminis bei *Cittotaenia kuvaria* Shipley ist nach Fuhrmann „kurz, aber sehr weit“. Die weiblichen Drüsen sind doppelt und liegen unweit von den Exkretionskanälen. Der Keimstock ist tief

gelappt und im Vergleich mit der *Cittotaenia kuvaria* sehr stark entwickelt. Er mißt in der Breite 0,425—0,5 mm, ist also doppelt so breit wie bei *Cittotaenia kuvaria*. Der Dotterstock liegt dorsal von ihm. Der Uterus ist einfach, obgleich alle anderen Organe doppelt vorhanden sind. Im Anfang seiner Entwicklung hat der Uterus die Gestalt eines engen, transversal gelegenen Kanals, der an seinem hinteren

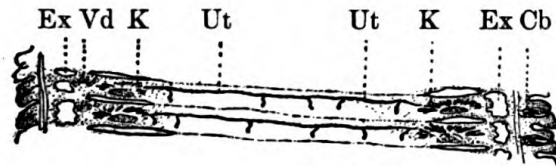


Fig. 6.

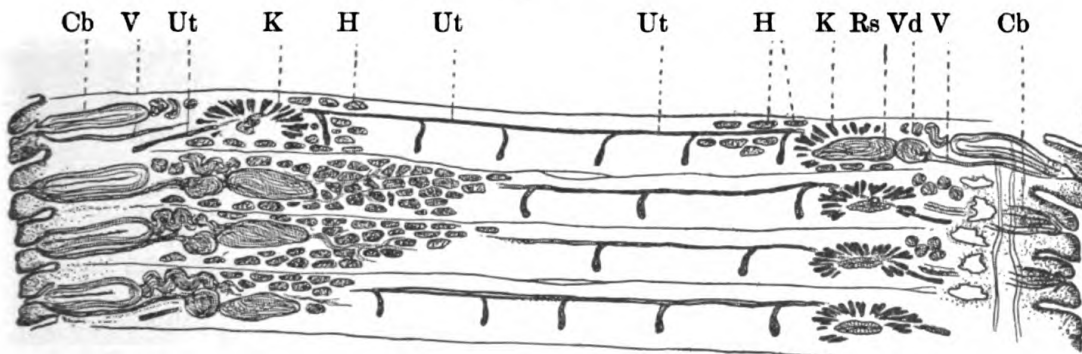


Fig. 7.

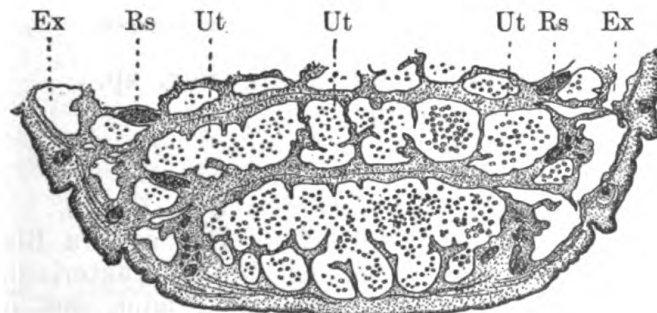


Fig. 8.

Fig. 6. *Cittotaenia columbae* n. sp. Horizontalschnitt durch zwei Proglottiden mit dem jungen Uterus, der nach hinten kleine Fortsätze ausschickt. *Ex* ventrales Exkretionsgefäß; *Vd* Vas deferens; *K* Keimstock; *Ut* Uterus; *Cb* Cirrusbeutel.

Fig. 7. *Cittotaenia columbae* n. sp. Horizontalschnitt durch 4 Proglottiden mit Geschlechtsorganen. *Cb* Cirrusbeutel; *Vd* Vas deferens; *V* Vagina; *K* Keimstock; *H* Hoden; *Ut* Uterus; *Rs* Receptaculum seminis; *Sch* Schalendrüse; *Ex* Ventrales Exkretionsgefäß.

Fig. 8. *Cittotaenia columbae* n. sp. Horizontalschnitt durch 2 letztere, reife Proglottiden. *Ex* ventrales Exkretionsgefäß; *Rs* Receptaculum seminis; *Ut* Uterus.

Ende mehrere (6—8) Fortsätze aufweist. Im weiteren Stadium seiner Entwicklung wachsen diese Fortsätze zu später anschwellenden Verzweigungen aus, und bilden einen reich verästelten Sack, welcher in den reifen Gliedern die ganze Breite der Proglottis einnimmt. Die Onco-sphären mit äußerer Schale haben einen Durchmesser von 0,03—0,04 mm.

Von der ihm nahe verwandten *Cittotaenia kuvaria* unterscheidet sich unser Parasit durch folgende Merkmale:

1) Er ist etwas länger und doppelt so breit wie die *Cittotaenia kuvaria*.

2) Seine reifen Proglottiden sind bedeutend weniger dick.

3) Sein Cirrusbeutel ist etwas kleiner.

4) Sein Keimstock dagegen ist mehr als 2mal so breit wie derjenige der *Cittotaenia kuvaria*.

5) Sein Receptaculum seminis ist viel länger als bei *C. kuvaria*.

Auf beifolgender Tabelle ist die vergleichende Charakteristik dieser beiden Arten gegeben:

Tabellarische Artenübersicht der Gattung *Cittotaenia* Riehm 1881 aus Columbiformes.

Name	<i>Cittotaenia kuvaria</i>	<i>Cittotaenia columbae</i>
Untersucher	E. Shipley	K. Skrjabin
Jahr	1900	1914
Strobila, Länge	80	130
Strobila, Breite	3,4	6,5
Proglottislänge	0,2—0,28	0,17—0,5
Quergefäß des ventralen Exkretionskanals	0,15 breit	0,085 breit
Zahl der Hoden	ca. 100	ca. 240
Cirrusbeutel, Länge	0,41	0,37
Keimstockbreite	0,22	0,425—0,5
Receptaculum seminis	kurz, aber sehr weit	0,4 : 0,1
Onocosphären	0,013	0,018
Wirt	<i>Carpophaga wanwyki</i> , <i>Ptilopus jambu</i> Gm.	<i>Columba</i> sp.
Fundort	Sumatra, Bismarck-Archipel	Neu-Guinea (Liebliche Insel)

Die Maße sind in Millimetern angegeben.

3. *Davainea laticanalis* nov. sp.

(Fig. 9—10.)

Wirt: *Perdix* sp.

Fundort: Brasilien.

Glas No. 2515, Museum für Naturkunde in Berlin.

Bis jetzt waren 19 Arten der Gattung *Davainea* Blanch. aus den Galliformes bekannt, deren vergleichende Charakteristik ich in einer anderen Arbeit 1914 gegeben habe [Vogelcestoden aus Russisch-Turkestan. (Zool. Jahrb. 1914)]. In vorliegender Arbeit gebe ich die Beschreibung einer neuen, 20., *Davainea*-Art aus Galliformes.

Die Strobila 110 mm lang, bei einer Maximalbreite von 3,5 mm. Der Scolex ist 0,2 mm breit, der Durchmesser seiner Saugnäpfe beträgt 0,09 mm. Das 0,062 mm breite Rostellum ist mit doppelter Hakenkrone versehen; die Anzahl der Haken erreicht ca. 160, die 0,0165 mm lang sind. Die Genitalöffnungen liegen unregelmäßig abwechselnd. Die zahlreichen (50—60) Hoden nehmen den mittleren Teil der Proglottis ein und haben einen Durchmesser von 0,074 mm. Der retortenförmige Cirrusbeutel ist 0,15—0,17 mm lang und 0,05—0,07 mm breit. Das Vas deferens reicht mit seinen Schlingen bis zur Mittellinie. Die weiblichen Genitaldrüsen liegen median und zeigen keine Besonderheiten. Die langgestreckte Vagina mündet hinter dem Cirrusbeutel in eine ziemlich tiefe Genitalkloake. Der Uterus zerfällt in Parenchymkapseln, welche in Flächenschnitten 3—4 Eier zeigen. Diese Kapseln liegen so dicht bei einander gedrängt, daß sie dadurch eine typisch polygonale Form angenommen haben.

Charakteristisch für diese neue Art ist der Bau des Exkretionsystems: Die beiden ventralen Längsgefäße sind am hinteren Rande der Proglottis durch einen Verbindungskanal vereinigt, der in seinem mittleren Teile 2 blasenförmige Anschwellungen bildet; die letzteren sind mit ihren konvexen Seiten nach vorn gerichtet. Der hintere Rand dieser Querkommissur zeigt keine Besonderheiten.

Die Gattung *Perdix* erscheint als Wirt für die folgenden 5 *Davainea*-Arten: 1) *Dav. circumvallata* Krabbe, 2) *Dav. globirostris* Fuhrm., 3) *Dav. polynterina* Fuhrm., 4) *Dav. campanulata* Fuhrm. und 5) *Dav. laticanalis mihi*, von denen die beiden letzteren aus Brasilien stammen.



Fig. 9.

Fig. 9. *Davainea laticanalis* n. sp. Scolex.

Fig. 10. *Davainea laticanalis* n. sp. Teil der Strobila mit 4 Gliedern. Totalpräparat. *Vd* Vas deferrens; *Cb* Cirrusbeutel; *V* Vagina; *H* Hoden; *K* Keimstock; *Ex* ventrales Exkretionsgefäß mit Querkommissur, die zwei blasenförmige Anschwellungen bildet.

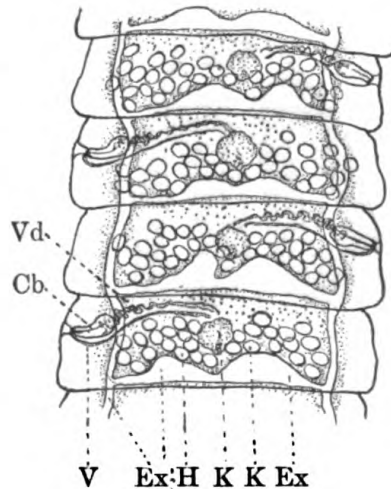


Fig. 10.

Unsere *Davainea laticanalis* steht der *Davainea polynterina* am nächsten, doch fehlen bei der letzteren die für unseren Parasiten spezifischen Merkmale.

4. *Davainea cyrtus* nov. spec.

(Fig. 11—13.)

Wirt: *Anas spec.*

Fundort: Paragua (Asuncion).

Glas No. Q 895, Museum für Naturkunde in Berlin.

Im Jahre 1909 hat Prof. Fuhrmann die erste *Davainea*-Art aus der Gruppe der Anseriformes, *Davainea anatina* Fuhrm., beschrieben, Unlängst hatte ich die Möglichkeit, die Beschreibung einer zweiten Art dieser Gattung aus *Anas boschas domestica*, *Davainea microcotyle mihi* 1914, zu geben. Jetzt gebe ich die Beschreibung einer dritten *Davainea*-Art aus der Vogelgruppe der Anseriformes, welche ich *Davainea cyrtus* nov. sp. nennen möchte.

Strobila dieses Parasiten 45—50 mm lang, bei einer Maximalbreite von 3,5 mm. Der langgestreckte Scolex hat einen Durchmesser von 0,2 mm, wobei die ovalen Saugnäpfe 0,166:0,074 mm groß sind. Die außerordentlich kleine Hakenkrone (0,043 mm im Diameter) besteht aus 140 Haken, die in doppelter Reihe angeordnet sind; die Länge der Haken beträgt nur 0,005 mm. Die Saugnäpfe sind ebenfalls stark bewaffnet; ihre Haken liegen in mehreren Reihen und befinden sich tief im Innern der Saugnäpfe.

5*

Die Genitalöffnungen liegen unilateral. Die 35—40 ovalen Hoden liegen dorsal in 4—5 horizontalen Reihen und haben einen Durchmesser von 0,055 : 0,035 mm. Der sehr kleine, birnförmige Cirrusbeutel ist nur 0,09 mm lang und 0,04 mm breit. Der Keimstock ist sogar in den jungen Gliedern sehr breit und nimmt beinahe den ganzen Raum zwischen den Exkretionskanälen ein. Der kleine, 0,08—0,1 mm breite, unregelmäßig ovale Dotterstock liegt median am hinteren Rande der Proglottis.

Die reifen Proglottiden enthalten die polygonalen, dicht aneinander gedrängten Parenchymkapseln, welche ihren ganzen Raum bis an den Rand ausfüllen; jede Kapsel enthält 5—8 Eier, deren Durchmesser 0,038—0,04 mm beträgt.

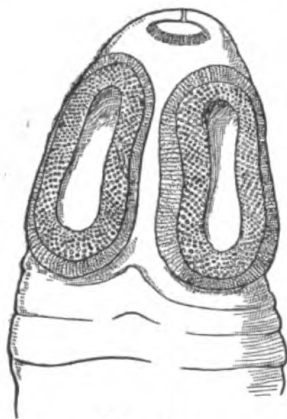


Fig. 11.

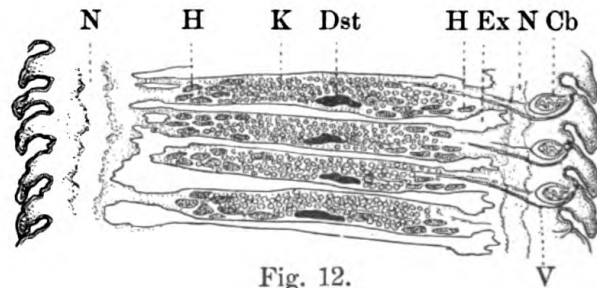


Fig. 12.

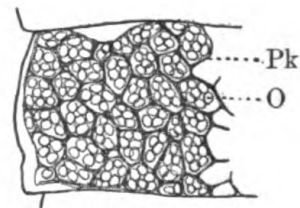


Fig. 13.

Fig. 11. *Davainea cyrtus* n. sp. Scolex.

Fig. 12. *Davainea cyrtus* n. sp. Flächenschnitt durch 4 Proglottiden. *N* Nerv; *H* Hoden; *K* Keimstock; *Dst* Dotterstock; *Ex* ventrales Exkretionsgefäß mit Querkommissur; *Cb* Cirrusbeutel; *V* Vagina.

Fig. 13. Teil eines Horizontalschnittes durch eine reife Proglottis der *Davainea cyrtus* n. sp. mit Parenchymkapseln (*Pk*) und Oncosphären (*O*).

Durch das Charakteristische seines Scolex, durch seine unilateralen Genitalöffnungen und durch die Kleinheit seines Cirrusbeutels ist dieser Parasit leicht von den anderen, ihm verwandten Arten zu unterscheiden.

Anbei gebe ich eine Tabelle aller bis jetzt bekannten *Davainea*-Arten aus den Anseriformes:

Tabellarische Artenübersicht der Gattung *Davainea* Blanch. aus den Anseriformes.

Name	<i>Davainea anatina</i>	<i>Davainea microcotyle</i>	<i>Davainea cyrtus</i>
Untersucher	Fuhrmann	K. Skrjabin	K. Skrjabin
Jahr	1909	1914	1914
Strobila, Länge	1,5	22	50
Strobila, Breite	1	1,5	3,5
Scolexbreite	0,4—0,5	0,29—0,35	0,17—0,2
Durchmesser des Saugnapfchens	0,04	0,07—0,085	0,166 : 0,074

Name	Davainea anatina	Davainea microcotyle	Davainea cyrtus
Zahl der Haken	ca. 300	?	ca. 140
Hakenlänge	0,014—0,016	?	0,005!
Rostellumbreite	0,16—0,2	0,08—0,1	0,043
Genitalöffnungen	fast regelmäÙ. abwechs.	unregelm. abwechs.	unilateral
Zahl der Hoden	16—18	ca. 30	35—40
Durchmesser d. Hoden	?	0,03—0,04	0,055 : 0,037
Cirrusbeutel, Länge	?	0,13—0,14	0,09
Keimstock	?	sehr breit	sehr breit
Parenchymkapseln	?	mit 1 Ei	mit 5—8 Eiern
Onkosphären, Durchm.	?	0,04	0,038—0,04
Wirt	Anas boschas domest.	Anas boschas domest.	Anas sp.
Fundort	Italien	Italien	Paraguay

5. *Davainea emperus* nov. sp.

(Fig. 14—16.)

Wirt: *Buceros seratogynina*.

Fundort: Kamerun, Bipindihof.

Glas No. Q 766, Museum für Naturkunde zu Berlin.

Bisher war nur ein einziger Vertreter der Gattung *Davainea* aus der Coraciiformes bekannt, und zwar *Davainea magnicoronata* Fuhrm. 1909 (aus *Podager nacunda* [Viell] im tropischen Südamerika). Der hier beschriebene Cestode ist also die zweite *Davainea*-Art dieser Vogelgruppe.

Die Strobila des größten Exemplares erreichte eine Länge von 110 mm, bei einer Maximalbreite von 2 mm. Der Scolex fehlte leider. Die

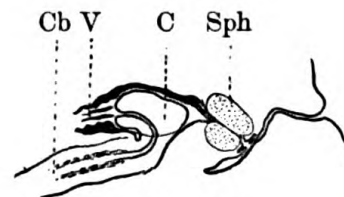
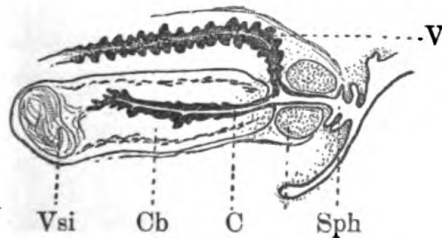
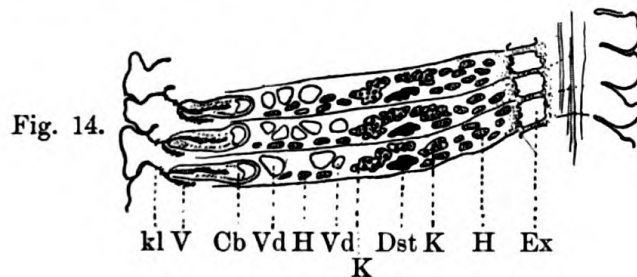


Fig. 14. *Davainea emperus* n. sp. Flächenschnitt durch 3 Proglottiden. *kl V* Genitalkloake; *V* Vagina; *Cb* Cirrusbeutel; *Vd* Vas deferens; *H* Hoden; *K* Keimstock; *Dst* Dotterstock; *Ex* ventrales Exkretionsgefäß.

Fig. 15. *Davainea emperus* n. sp. Teil eines Flächenschnittes mit Ausmündungsstelle des Cirrus und der Vagina. *kl* Genitalkloake; *Sph* Kloakensphincter; *C* Cirrus; *Cb* Cirrusbeutel; *V* Vagina; *Vsi* Vesicula seminalis interna.

Fig. 16. *Davainea emperus* n. sp. Teil eines Flächenschnittes durch Genitalkloake. Selbstbegattung. Der Cirrus (*C*) ist in der Vagina (*V*) eingeführt, wobei der Kloakensphincter (*Sph*) die Kloakenmündung zugeschlossen hat; *Cb* Cirrusbeutel.

Glieder sind sehr kurz, die Genitalöffnungen liegen unilateral. Die ca. 25 Hoden haben einen Durchmesser von 0,054:0,03 mm; sie liegen seitlich von den weiblichen Genitaldrüsen. Der stark muskulöse, ziemlich große Cirrusbeutel ist 0,23 mm lang, bei einer Breite von 0,067 mm, und mündet in die tiefe Geschlechtskloake, welche, was besonders charakteristisch ist, einen mächtigen Sphinkter aufweist. Durch dieses letztere Merkmal nähert sich unser Parasit der *Davainea macrocirrosa* Fuhrm. (aus *Turacus buffoni* Vieill), mit welchem er jedoch nicht identisch, sondern nur verwandt ist. Die Vagina vereinigt sich mit dem Cirrus unmittelbar vor dem Sphinkter; sie ist stark muskulös und auch, wie bei *D. macrocirrosa*, „ausgekleidet von einer sich wie beim Cirrus dunkel färbenden, stark gefalteten Membran“. Das Vas deferens besteht aus ziemlich breiten, wenig zahlreichen Windungen, die fast bis zur Mittellinie reichen.

Die weiblichen Genitaldrüsen liegen median und weisen keine Besonderheiten auf. In den reifen Gliedern befinden sich zahlreiche, ziemlich große, polygonale Parenchymkapseln, die einen Durchmesser von 0,15—0,22 mm haben und 6—8 Onkosphären enthalten. Der Durchmesser der letzteren beträgt 0,003 mm. Die Parenchymkapseln kommen bis an den äußersten Rand der Proglottis zu liegen.

Anbei eine vergleichende Tabelle (die Maße sind in Millimetern angegeben):

Name	<i>Davainea emperus</i>	<i>Davainea macrocirrosa</i>	<i>Davainea magnicoronata</i>
Untersucher	Skrjabin	Fuhrmann	Fuhrmann
Jahr	1914	1909	1909
Strobila, Länge	110	?	15—20
Strobila, Breite	2	2,5	0,4—0,5
Scolexbreite			0,08—0,1
Durchmesser der Saug-	} Scolex unbekannt	} Scolex unbekannt	0,036
näpfchen			200
Zahl der Haken			0,009
Hakenlänge			unregelm. abwechs.
Genitalpori	unilateral	unilateral	wenig zahlreich
Zahl der Hoden	ca. 25	ca. 30	
Cirrusbeutel, Länge	0,23	0,1	0,2
Durchmesser der Par-	0,15—0,22	0,06—0,068	—
enchymkapseln	(sehr große)	(kleine)	
Zahl der Onkosphären			
in Kapseln	6—8	wenige	einzelne
Wirt	<i>Buceros ceratog-</i>	<i>Turacus buffoni</i>	<i>Podager nacunda</i>
	<i>nina</i>	(Vieill)	(Vieill)
Fundort	Kamerun	Kamerun	Tropisch. Südamerika

6. *Davainea galeritae* nov. sp.

(Fig. 17--19.)

Wirt: *Galerita macrorhyncha*.

Fundort: Algier (Biskra).

Glas No. Q. 828: Museum für Naturkunde zu Berlin.

Es fanden sich nur einzelne Fragmente dieser neuen Art, so daß ich die Strobilalänge dieses Cestoden nicht genau angeben kann. Annähernd beträgt sie 25 mm, bei einer Maximalbreite von 1,5 mm. Der runde Scolex hat einen Durchmesser von 0,18 mm, wobei die bewaffneten Saugnäpfe 0,062 mm groß sind. Das 0,074 mm breite Rostellum trägt ca. 200, in doppelter Reihe angeordnete Haken, deren Länge 0,01 mm beträgt.

Die Genitalöffnungen liegen unilateral. Die ca. 35 Hoden haben einen Durchmesser von 0,045 : 0,0185 mm; sie liegen dorsal und seitlich von den weiblichen Drüsen und zeigen eine Querreihe am hinteren Rande der Proglottis. Der sehr kleine, birnenförmige, stark muskulöse Cirrusbeutel ist nur 0,075 mm lang und 0,038 mm breit.

Der zweiflügelige Keimstock ist gelappt und 0,32 mm breit; hinter ihm liegt der ovale, 0,055 mm breite Dotterstock. Die Parenchymkapseln in den reifen Gliedern sind von ovaler Form, wobei ihre Längsachse meistens transversal liegt; sie nehmen nur den mittleren Teil der Proglottis zwischen den Exkretionsgefäßen ein und sind 0,12 : 0,04 mm groß. Jede Kapsel enthält 3—6 Eier.

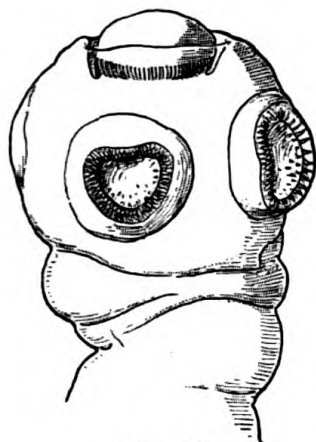


Fig. 17.

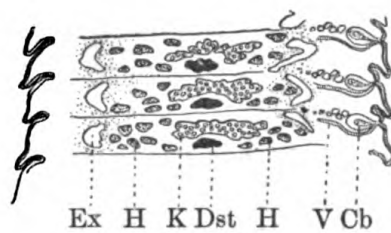


Fig. 18.



Fig. 19.

Fig. 17. *Davainea galeritae* n. sp. Scolex.

Fig. 18. *Davainea galeritae* n. sp. Flächenschnitt durch 3 Proglottiden. Cb Cirrusbeutel; V Vagina; H Hoden; Dst Dotterstock; K Keimstock; Ex ventrales Exkretionsgefäß.

Fig. 19. *Davainea galeritae* n. sp. Flächenschnitt durch eine letzte, reife Proglottis mit Parenchymkapseln

Ogleich dieser Parasit keine besonderen charakteristischen Merkmale aufweist, kann er doch mit keiner bekannten Art der Gattung *Davainea* identifiziert werden. und muß daher als eine neue Art angesehen werden. Für die Vogelfamilie der Alaudidae ist er der erste Vertreter der Gattung *Davainea*.

7. *Davainea paradisea* Fuhrm. 1909.

(Fig. 41—42.)

Wirt: Unbekannt (Vogel No. 747).

Fundort: Neu-Guinea, Lordberg.

Glas No. Q. 2287: Museum für Naturkunde zu Berlin.

Diese Art ist schon von Prof. Fuhrmann 1909 aus *Manucodia chalybeata* (Paradiesvogel) genau beschrieben.

Der 0,32 mm breite Scolex meines Exemplares war mit ca. 200 Haken bewaffnet, deren Länge 0,022 mm betrug. Die Saugnäpfe hatten einen Durchmesser von 0,11 mm. Der Cirrusbeutel war 0,12 mm lang, bei einer Breite von 0,06 mm; die stark muskulöse, 0,015 mm breite Vagina

besaß ein spindelförmiges Receptaculum seminis, dessen Länge 0,025 mm betrug.

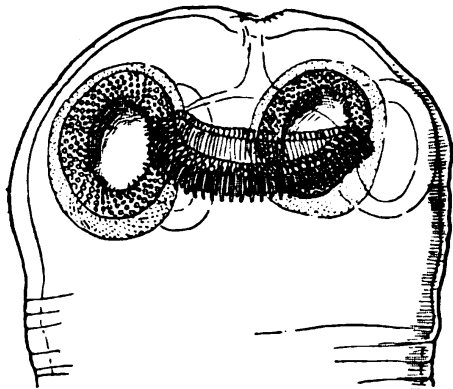


Fig. 41.

Fig. 41. *Davainea paradisea* Fuhrm. Scolex.

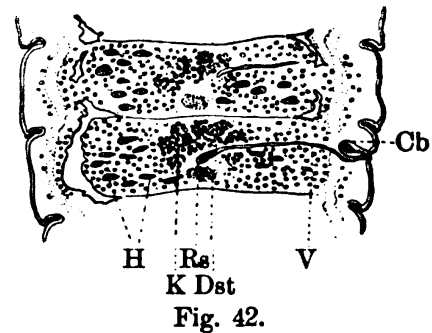


Fig. 42.

Fig. 42. Flächenschnitt durch 2 Proglottiden der *Davainea paradisea* Fuhrmann. Die Eizellen sind im ganzen Parenchym zerstreut. *K* Reste vom Keimstock; *H* Hoden; *Rs* Receptaculum seminis; *Dst* Dotterstock; *V* Vagina; *Cb* Cirrusbeutel.

8. *Chapmania unilateralis* nov. sp.

(Fig. 20—26.)

Wirt: *Bucorax cafer*.

Fundort: Deutsch-Ostafrika, Süd-Ufipa.

Glas No. Q. 1313: Museum für Naturkunde zu Berlin.

Bis jetzt waren nur 2 Arten der Gattung *Chapmania* Monticelli bekannt: *Chapmania tapica* Clerc aus Otidiformes und *Chapmania tauricollis* Chapman aus Rheiformes. In vorliegender Arbeit beschreibe ich einen dritten Parasiten dieser Gattung, der aus der Coraciiformes stammt. Bei diesem Wirt ist bisher kein Parasit beschrieben worden.

Das größte von mir untersuchte Exemplar erreichte eine Länge von 62 mm, bei einer Maximalbreite von 3 mm im mittleren Teile der Strobila. Die reifen Proglottiden sind von der Strobila scharf abgegrenzt und haben eine Breite von nur 0,8—1 mm. Die Strobila ist sehr kurzgliederig. Jedes der Glieder umfaßt mit seinem Hinterrande das nachfolgende. Auf Querschnitten erkennt man deutlich die fast runde Form der Proglottiden.

Der runde Scolex ist 0,85 mm lang und 0,85—0,9 mm breit. Der Durchmesser der stark muskulösen Saugnäpfe beträgt 0,37 mm, derjenige des polsterförmigen Rostellum 0,25 mm. Bei den von mir untersuchten Exemplaren konnte ich leider keine Haken finden, da sie abgefallen waren. Trotz des Mangels dieses wichtigen Merkmals ist die Zugehörigkeit dieser Art zur Gattung *Chapmania* Mont. zweifellos, was aus der folgenden Beschreibung klar hervorgeht:

Der Hals fehlt vollständig. Die Muskulatur ist sehr stark entwickelt und besteht aus einer Transversalschicht und mehreren Längsschichten, wobei die Anordnung der letzteren so unregelmäßig ist, daß ihre genaue Anzahl nicht festgestellt werden konnte. Die einzelnen Längsmuskelfasern sind von länglich-ovaler Form (ihre Längsachse verläuft radialwärts) und bestehen aus mehreren Dutzenden Fibrillen.

Das Exkretionssystem besteht aus 2 dorsalen und 2 ventralen Längsgefäßen; die letzteren sind sehr breit (0,15 mm), stehen miteinander



Fig. 20.



Fig. 21.

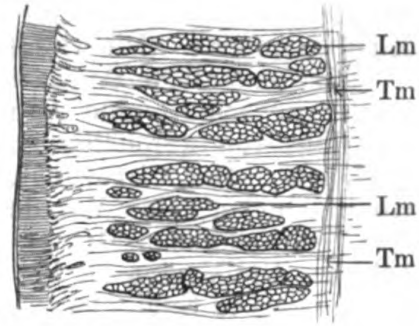


Fig. 22.

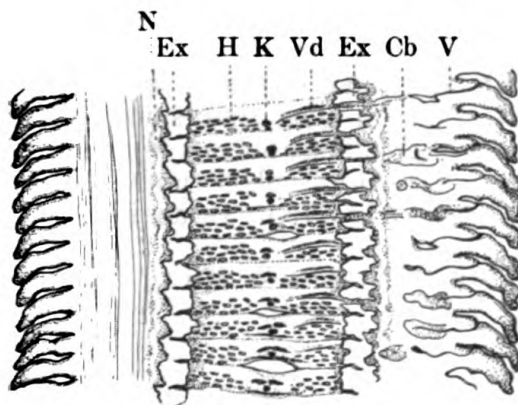


Fig. 23.

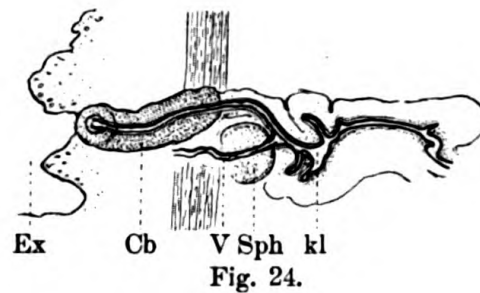


Fig. 24.

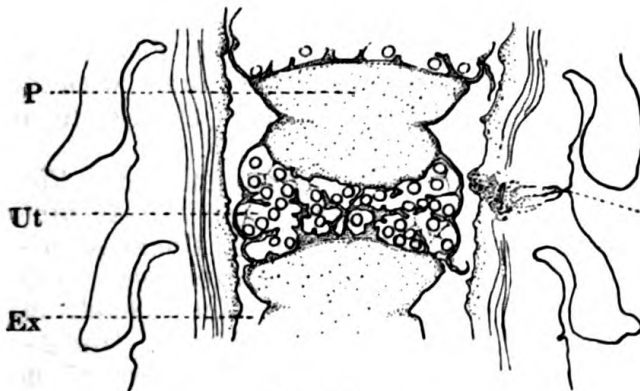


Fig. 25.



Fig. 26.

Fig. 20 und 21. *Chapmania unilateralis* n. sp. Scolex.

Fig. 22. Teil eines Querschnittes der *Chapmania unilateralis* mit Muskulatur. *Tm* Transversalschicht; *Lm* Längsmuskulatur.

Fig. 23. Flächenschnitt durch mehreren Proglottiden der *Chapmania unilateralis* n. sp. *N* Nerv; *Ex* ventrales Exkretionsgefäß mit Klappenapparat; *H* Hoden; *K* Keimstock; *Vd* Vas deferens; *Cb* Cirrusbeutel; *V* Vagina.

Fig. 24. Teil eines Flächenschnittes durch eine Proglottis der *Chapmania unilateralis* mit Genitalkloake. *Ex* ventrales Exkretionsgefäß; *Cb* Cirrusbeutel; *V* Vagina mit Sphincter (*Sph*); *kl* Genitalkloake.

Fig. 25. Flächenschnitt durch ein reifes Glied der *Chapmania unilateralis* mit Paruterinorgan (*P*) und Uterus (*Ut*); *Ex* ventrales Exkretionsgefäß; *kl* Genitalkloake.

Fig. 26. *Chapmania unilateralis* n. sp. Natürliche Größe. Photographie

durch eine Querkommissur in Verbindung und zeigen einen deutlichen Klappenapparat. Die Genitalöffnungen liegen unilateral.

Der männliche Apparat besteht aus zahlreichen ovalen Hoden, die im Flächenschnitt eine Anordnung von 3—4 horizontalen Reihen rechts und links von weiblichen Drüsen zeigen. Ihr Längsdurchmesser erreicht 0,037 mm. Der Cirrusbeutel ist 0,15 mm lang und mündet in eine tiefe Genitalkloake. Das Vas deferens ist von Prostatzellen umgeben.

Die weiblichen Drüsen liegen median und zeigen keine Besonderheiten. Die Vagina ist bei ihrer Mündung in die Geschlechtskloake mit einem starken Sphinkter versehen. Der Uterus ist sackförmig und weist einige Verzweigungen auf. In ganz reifen Gliedern liegt an seinem vorderen Teil das Paruterinorgan an, welches in der Mitte eine Einschnürung zeigt und 0,42 mm lang ist. Die Oncosphären sind rund und haben einen Durchmesser von 0,044 mm. Den Eintritt der Eier in das Paruterinorgan konnte man nicht verfolgen; dieser Prozeß geht, wie bei allen *Chapmania*-Arten, nur in abgelösten Gliedern vor sich.

Wie aus dem Gesagten hervorgeht, kann man diesen neuen Parasiten 1) auf Grund seines äußeren Habitus, 2) nach dem Bau seines Scolex, 3) nach seiner Muskulatur und seinem Exkretionsapparat, 4) nach der Lage seiner Genitaldrüsen und 5) nach der Anwesenheit und dem Bau des Paruterinorgans zur Gattung *Chapmania* Mont. rechnen.

9. *Unclunia trichocirrosa* nov. gen. n. sp.

(Fig. 27—30.)

Wirt: Falconidae (*Polyborus*?).

Fundort: Paraguay, St. Bernardus.

Glas No. Q. 618: Museum für Naturkunde zu Berlin.

Die Maximallänge der Strobila dieses neuen Cestoden betrug nur 11 mm, wobei die Mehrzahl der Exemplare eine Länge von 5—8 mm hatte. Die eigentliche Körperlänge dieses Parasiten muß etwas größer sein, da die vorhandenen Exemplare leider keine reifen Proglottiden zeigten. Den breitesten Teil des Körpers (0,76—0,85 mm) wies der Scolex bei seiner Verdickung hinter den Saugnäpfen auf. Die Breite der hinteren Proglottiden betrug 0,34—0,42 mm.

Der ganze Parasit bestand nur aus 18—30 Proglottiden, deren Form sehr verschieden war. Die vorderen Glieder, welche unmittelbar hinter dem Scolex liegen (ein Hals fehlt vollständig), waren ca. 10mal so breit als lang (= 0,05 mm lang und 0,54 mm breit) und hatten eine rechteckige Form. Bei fortschreitender Reife vergrößerte sich schnell ihre Länge, wobei sie bald eine trapezförmige Gestalt annahmen. Die 2—3 letzten Proglottiden waren dagegen 2mal so lang als breit (= 0,85 mm lang und 0,34—0,4 mm breit).

Der Scolex ist sehr eigentümlich: Er ist 0,6 mm lang, bei einer Breite von 0,76—0,85 mm; an seinem vorderen Teile zeigt er einen Zapfen, welcher mit einem ganz rudimentären Rostellum versehen ist. Das letztere hat seiner Kleinheit wegen gar keine Haken, dagegen weist es einige Drüsen auf. Die 4 stark muskulösen Saugnäpfe sind nach vorn verschoben und haben einen Durchmesser von 0,18—0,2 mm. Die Genitalöffnungen liegen unregelmäßig abwechselnd.

Bei den untersuchten Exemplaren wiesen die 4—8 letzten Glieder entwickelte männliche Genitalorgane auf. Die Zahl der Hoden schwankte zwischen 30—35 und ihr Durchmesser betrug 0,048—0,05 mm. Sie nahmen beinahe die ganze Proglottis zwischen den Exkretionsgefäßen

ein. Der ziemlich kleine Cirrusbeutel von retortenförmiger Gestalt hatte eine Länge von 0,11 mm, bei einer Breite von 0,074 mm. Seine Mündung befand sich nicht am Rande der Proglottis, sondern etwas von demselben entfernt und fiel in eine ziemlich tiefe Genitalkloake.

Ein verwickeltes Gewirr des Vas deferens liegt im vorderen Drittel der Proglottis und nimmt ihr Mittelfeld ein.

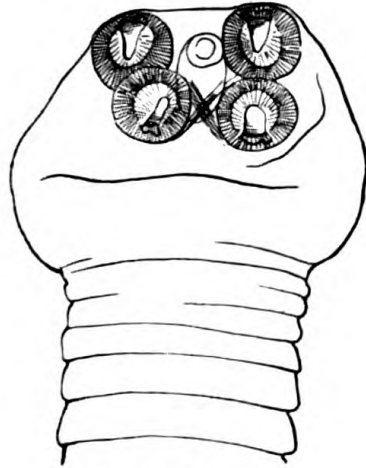


Fig. 27.



Fig. 28.

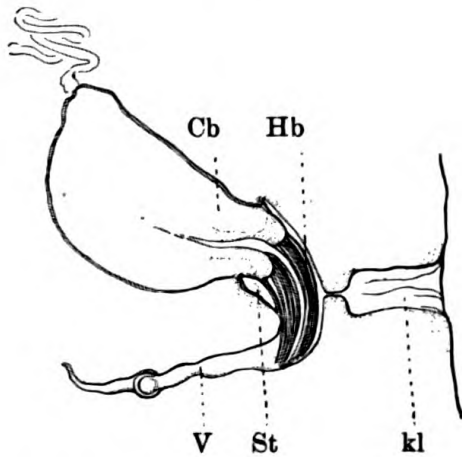


Fig. 29.

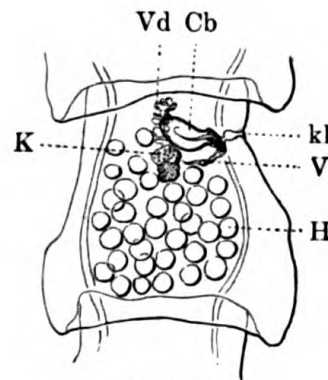


Fig. 30.

Fig. 27 und 28. *Unciunia trichocirrosa* n. g. n. sp. Scolex.

Fig. 29. *Unciunia trichocirrosa* n. g. n. sp. nach Totalpräparat. Cirrus ist in der Vagina eingeführt (Selbstbegattung). *kl* Genitalkloake; *Cb* Cirrusbeutel; *V* Vagina; *St* chitinöser Stachel an der Basis des Cirrus; *Hb* Haarbüschel am Cirrus.

Fig. 30. *Unciunia trichocirrosa* n. g. n. sp. Totalpräparat. *H* Hoden; *V* Vagina; *kl* Genitalkloake; *Cb* Cirrusbeutel; *Vd* Vas deferens; *K* Keimstock.

Außerordentlich typisch für diese Art ist der Umstand, daß der Cirrus an seiner Basis mit einem 0,055 mm langen Haarbüschel versehen ist. Wegen seiner Entfernung von der Kloakenmündung kann dieser Haarbüschel bei ausgestülptem Cirrus nicht zum Vorschein kommen. Bei einer anderen Art, *Choanotaenia fuhrmanni* mihi (auch aus einem Raubvogel — *Circus cinereus*), habe ich einen ähnlichen Haarbüschel feststellen können, welcher aber bei der Ausstülpung des Cirrus immer herausragt.

Außerdem zeichnet sich der männliche Apparat noch durch ein sehr charakteristisches Merkmal aus: Der Cirrus ist am hinteren Rande seiner Basis mit einem mächtigen dreieckigen, chitinösen Stachel versehen, dessen Länge 0,026 mm bei einer Breite von 0,011 mm beträgt. Der letztere erinnert etwas an die Stacheln der *Acanthocirrus*-Arten, bei denen sie aber immer paarweise zu beiden Seiten des Cirrus liegen.

Was die weiblichen Genitaldrüsen betrifft, so konnte ich sie leider nicht untersuchen, da die vorliegenden Exemplare noch zu jung waren; nur bei einzelnen Proglottiden konnte man den Anfang ihrer Bildung feststellen, wobei sie sich im vorderen Drittel des Gliedes befanden. Bei mehreren Proglottiden konnte man Autofekondation beobachten, was Fig. 29 darstellt.

Die eigentümliche Organisation dieses Parasiten, und zwar das Fehlen der Haken¹⁾, das rudimentäre Rostellum, sowie auch die sonderbare Bildung des männlichen Genitalapparates (Anwesenheit des chitinösen Stachels und des Haarbüschels) veranlassen mich, diesen Parasiten als den Vertreter einer neuen Gattung anzusehen, die ich *Unciunia* benenne. Ihre Diagnose wäre folgende: „Kleine Cestoden mit rudimentärem, unbewaffnetem Rostellum, Genitalpori wechseln unregelmäßig ab und münden in eine tiefe Kloake. An der Basis des Cirrus ein Haarbüschel und ein einziger, starker, chitinöser Stachel. Hoden zahlreich. Parasiten der Vögel“.

Unciunia n. gen. muß zu der Familie der *Dilepinidae* Fuhrm. gerechnet werden. Sie nähert sich am meisten der Gattung *Acanthocirrus* Fuhrm.

10. *Anomotaenia socalis* Krabbe 1869.

(Fig. 31—33.)

Wirt: *Uria troile*.

Fundort: ?

Glas No. Q. 2175 und Q. 2170: Museum für Naturkunde in Berlin.

Im Jahre 1869 hat Dr. Krabbe eine kurze Beschreibung dieses Parasiten gegeben, und zwar richtet er seine Aufmerksamkeit hauptsächlich auf Zahl, Form und Länge der Haken. Dieser Parasit ist seither nicht mehr untersucht worden, und daher möchte ich ihn hier genauer beschreiben.

Das größte Exemplar, das ich in dem mir zur Verfügung stehenden Material fand, hatte eine Länge von 85 mm, bei einer Maximalbreite von 3 mm. Nach Krabbe kann dieser Cestode bis 130 mm lang sein. Der typische Scolex ist 0,34 mm breit, wobei seine Saugnäpfe einen Durchmesser von 0,16 mm haben. Das 0,08 mm breite Rostellum trägt eine doppelte Krone von 24 Haken; die größeren derselben haben eine Länge von 0,044 mm, die kleineren messen 0,04 mm. (Nach Krabbe sind die ersteren 0,046 mm, die letzteren 0,035—0,042 mm lang.)

Die Genitalöffnungen liegen unregelmäßig abwechselnd und münden in den vorderen Teil des lateralen Randes der Proglottis. Die Zahl der Hoden beträgt ca. 30; sie liegen nicht dicht nebeneinander, sondern ziemlich weit voneinander entfernt; sie sind von regelmäßig runder Form, liegen hauptsächlich in der hinteren Hälfte der Proglottis und haben einen Durchmesser von 0,055 mm. Der schwach muskulöse Cirrusbeutel

1) Als Beweis dafür, daß die Haken wirklich fehlen und nicht abgefallen sind, dient der Umstand, daß das Rostellum sehr schwach entwickelt ist; außerdem war das zahlreiche Material so gut erhalten, daß jeder Irrtum ausgeschlossen erscheint.

ist 0,12—0,13 mm lang und mündet in die ziemlich tiefe Genitalkloake. Das starke Gewirr des Vas deferens reicht bis zur Mittellinie. Die weiblichen Genitaldrüsen liegen median. Der breite, gelappte Keimstock hat eine Breite von 0,68 mm, der ebenfalls gelappte Dotterstock ist 0,15 mm breit. Die ziemlich muskulöse Vagina bildet ein spindelförmiges Receptaculum seminis. Der stark verzweigte Uterus bildet einen Sack und enthält die Oncosphären, deren Durchmesser 0,013 mm beträgt.

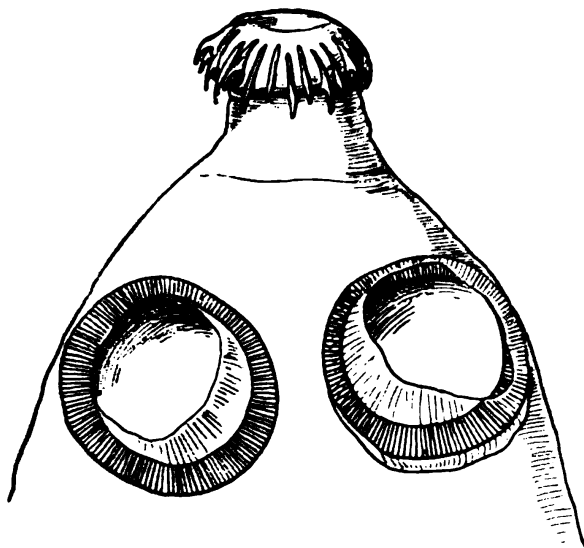


Fig. 31.



Fig. 32.

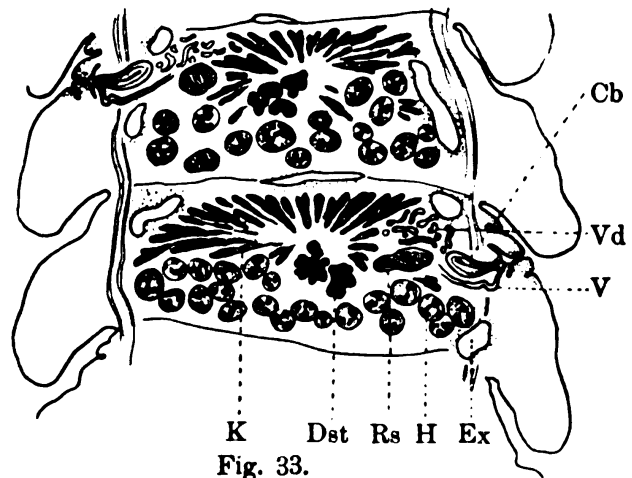


Fig. 33.

Fig. 31. *Anomotaenia socialis* Krabbe. Scolex.

Fig. 32. Haken der *Anomotaenia socialis* Krabbe.

Fig. 33. Flächenschnitt durch 2 Proglottiden der *Anomotaenia socialis* Krabbe. *Cb* Cirrusbeutel; *V* Vagina; *Rs* Receptaculum seminis; *Vd* Vas deferens; *H* Hoden; *K* Keimstock; *Dst* Dotterstock; *Ex* Exkretionsgefäß; *kl* Genitalkloake.

Typisch für diese Art ist der Umstand, daß die Hoden sehr lange funktionieren; in ganz reifen Gliedern, wo der Uterus schon entwickelt ist, bleiben die Hoden noch unverändert und enthalten reife Spermatozoen.

11. *Hymenolepis flamingo* n. sp.

(Fig. 34—37.)

Wirt: *Phoenicopterus antiquorum*.

Fundort: ?

Glas No. Q. 2313: Museum für Naturkunde in Berlin.

Der Flamingo war bis jetzt als Wirt von 3 *Hymenolepis*-Arten bekannt (*H. liguloides* Gervais 1847, *H. Caroli* Parona 1887 und *H. megalorchis* Lühe 1898). Ich gebe hier die Beschreibung einer vierten, die ich *Hymenolepis flamingo* n. sp. nennen möchte.

Ihre Strobila ist 18—25 mm lang, bei einer Maximalbreite von 0,9 bis 1 mm. Der Scolex hat eine Maximalbreite von 0,26 mm. Er ist, wie die 3 oben genannten Arten, auch mit einem langen Rostellum (0,15 mm lang und 0,037 mm breit) und mit 8 Haken versehen. Die

letzteren sind viel kürzer als die der verwandten Arten und messen nur 0,062 mm.

Der Durchmesser der Saugnäpfe beträgt 0,11 mm.

Die ganze Strobila besteht nur aus 80–100 Proglottiden, welche eine rechteckig-trapezförmige Gestalt haben. Die reifen Glieder sind nur 0,4 mm lang und 1 mm breit.

Die Genitalöffnungen liegen unilateral.

Die Lage der 3 Hoden ist dieselbe wie bei den anderen *Hymenolepis*-Arten aus dem Flamingo und entspricht dem Typus „b“ Fuhrm., d. h. die beiden aporalen Hoden liegen übereinander.

Sie sind außerordentlich groß; bei 0,37 mm langen und 0,93 mm breiten Proglottiden beträgt ihre Größe 0,3:0,18 mm; sie sind also noch

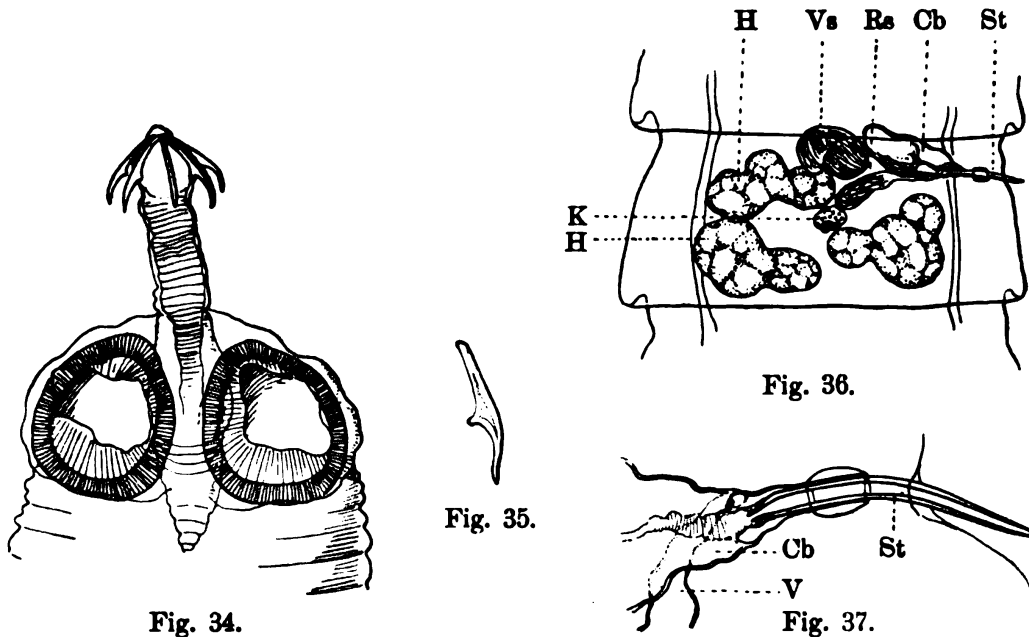


Fig. 34. *Hymenolepis flaminginis* n. sp. Scolex.

Fig. 35. Haken der *Hymenolepis flaminginis* n. sp.

Fig. 36. *Hymenolepis flaminginis* n. sp. Totalpräparat. *H* Hoden; *K* Keimstock; *Vs* Vesicula seminalis externa; *Rs* Receptaculum seminis; *Cb* Cirrusbeutel; *St* Stilet an der Basis des Cirrus.

Fig. 37. *Hymenolepis flaminginis* n. sp. Genitalkloake nach Totalpräparat. *Cb* Cirrusbeutel; *V* Vagina; *St* Stilet an der Basis des Cirrus.

größer als die bei der von Prof. Lühe beschriebenen *Hymenolepis megalorchis*. Sie sind ganzrandig, von unregelmäßiger Form und erscheinen wie aus 2–3 Teilen zusammengesetzt.

Der verhältnismäßig kurze Cirrusbeutel hat eine Länge von 0,26 mm, bei einer Breite von 0,11 mm. Er enthält eine kleine Vesicula seminalis interna.

Der Cirrus hat an seiner Basis einen besonderen, chitinösen, 0,148 mm langen und 0,014 mm breiten Auswuchs, welcher spezifisch für unseren Parasiten ist und wodurch er sich von den anderen, ihm verwandten Arten scharf unterscheidet. Ein ähnliches Stilet findet man bei *Hymenolepis rugosa* Clerc, die bei den *Columbiformes* parasitiert.

Der Cirrus mündet in eine tiefe Genitalkloake, die an einer Stelle mit einer besonderen Anschwellung von anscheinend chitinöser Struktur

versehen ist. Diese Bildung hätte man anfangs für einen Sphincter halten können.

Die 0,185 mm lange und 0,09 mm breite, ovale Vesicula seminalis externa liegt in der Mitte des vorderen Teiles der Proglottis.

Die weiblichen Genitaldrüsen liegen median und sind, im Gegensatz zu den anderen 3 oben genannten Hymenolepis-Arten, verhältnismäßig klein. Das ovale Receptaculum seminis ist 0,148 mm lang und 0,025 mm breit. Der Uterus ist, wie immer bei Hymenolepis-Arten, sackförmig.

Die Länge der Haken, der Bau der männlichen Genitalien und die verhältnismäßig kleinen weiblichen Drüsen dienen als charakteristische Merkmale für diese neue Art.

Zur besseren Veranschaulichung füge ich eine Tabelle aller 4 Hymenolepis-Arten aus dem Flamingo bei.

	Hymenolepis liguloides	Hymenolepis Caroli	Hymenolepis megalorchis	Hymenolepis flamingo
Untersucher	Gervais	Parona	Lühe	Skrjabin
Jahr	1847	1887	1898	1914
Strobilalänge	60	17	5—8	18—25
Strobilabreite	2	2	0,5—0,7	0,9—1,0
Zahl d. Proglottiden	zahlreich	?	30—40	80—100
Scolexbreite	0,4	?	0,2	0,26
Durchmesser der Saugnäpfe	0,115	?	0,09	0,11
Zahl der Haken	8	8	8	8
Hakenlänge	0,13	0,11	0,09	0,062
Rostellumlänge	0,3	?	0,12	0,15
Rostellumbreite	0,1	?	0,045	0,037
Hals	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt
Genitalöffnungen	unilateral	unilateral	unilateral	unilateral
Hodendurchmesser	0,1—0,2	?	0,128 : 0,16	0,3 : 0,18
Lage der Hoden	Typus „b“	Typus „b“	Typus „b“	Typus „b“
Cirrusbeutel, Länge	klein	0,5	?	0,26
Sacculus accessorius	fehlt	vorhanden	fehlt	fehlt
Stilet am Cirrus	fehlt	fehlt	fehlt	vorhanden
Keimstock	sehr breit	0,57 mm breit	sehr breit	sehr klein

Die Maße sind in Millimetern angegeben.

12. Progynotaenia fuhrmanni nov. spec.

(Fig. 38—39.)

Wirt: Charadrius minor.

Fundort: Weißer Nil.

Die interessante Gattung Progynotaenia ist von Prof. Fuhrmann 1909 begründet worden, wobei er die Beschreibung von 2 Arten (Pr. jägerskiöldi und Pr. evaginata) gab. Die dritte Art dieser Gattung, Progynotaenia pauciannulata, ist 1914 von Baczynska beschrieben. Ich gebe hier die Beschreibung einer vierten Progynotaenia-Art, die ich zu Ehren Prof. Fuhrmanns Progynotaenia fuhrmanni n. sp. nennen möchte. Diese Art stammt aus dem Material der schwedischen Expedition, welche sich 1901 nach Aegypten und dem Weißen Nil unter der Leitung von Dr. Jägerskiöld begab.

Bemerkenswert ist, daß alle 4 bis jetzt bekannten Progynotaenia-Arten aus einer Vogelgruppe, den Charadriiformes, und aus dem gleichen Orte, Aegypten und dem Weißen Nil, stammen.

Die Strobila meines neuen Parasiten hat 3,0 mm in der Länge und 1,07 mm in der Breite; er ist also der größte Vertreter dieser Zwerggattung. Seine Strobila besteht nur aus 12—14 Proglottiden. Der Scolex ist 0,27 mm breit und mit 4 rundlich-ovalen Saugnäpfen versehen, deren Durchmesser 0,15:0,1 mm beträgt. Das kurze, 0,1 mm lange und ziemlich dicke Rostellum ist mit 12 Haken bewaffnet, die einen einfachen Kranz bilden. Die Haken sind 0,063 mm lang und von sehr charakteristischer Form. Von allen *Progynotaenia*-Arten hat unser Parasit die längsten Haken.

Der Hals fehlt vollständig, wie bei allen Repräsentanten dieser Gattung.

Die Proglottiden entwickeln sich außerordentlich schnell.

Die 2—3 ersten Glieder sind geschlechtslos. Vom 3.—4. Gliede an entwickeln sich nicht die männlichen, wie das meistens bei den Cestoden der Fall ist, sondern die weiblichen Drüsen. Die Hoden sind erst im 7. Gliede als undifferenzierte Masse zu beiden Seiten des schon entwickelten Uterus bemerkbar. Ihre volle Entwicklung erreichen die Hoden in der 10.—13. Proglottis; in der 14. (letzten) dagegen ist schon keine Spur mehr von ihnen vorhanden.

Der Keimstock (in der 4.—6. Proglottis) ist zweiflügelig, etwas gelappt und hat eine mediane Lage. Hinter ihm liegt der kleine Dotterstock. Zwischen diesen beiden Drüsen befindet sich in der 5. und 6. Proglottis ein ovales Receptaculum seminis, welches, was sehr charakteristisch ist, einerseits einen kleinen Kanal, rudimentäre Vagina, aufweist, der nicht bis an den Rand reicht und blind endet. Die eigentliche Vagina fehlt vollständig.

Der Uterus ist, wie oben gesagt, schon im 7. Gliede bemerkbar; seine vollständige Entwicklung erreicht er in den 2—3 letzten Gliedern, wobei er einen rosettenförmigen Sack bildet, welcher mit Oncosphären gefüllt ist, die einen Durchmesser von 0,03:0,024 mm haben.

Die 16—18 Hoden haben einen Durchmesser von 0,037—0,042 mm und liegen in den 10.—13. Proglottiden zu beiden Seiten des Uterus. Der Cirrusbeutel entwickelt sich erst in der 7. Proglottis und mündet rechts und links regelmäßig abwechselnd aus. Seine höchste Reife erreicht er in dem 11.—12. Gliede, wo er in eine große, 0,22 mm lange Genitalpapille ausmündet. In diesem Stadium ist er 0,34—0,36 mm lang, ent-

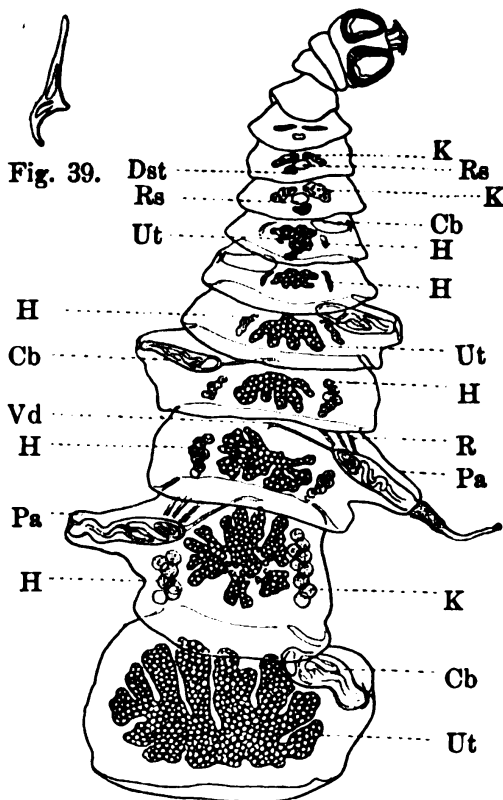


Fig. 38.

Fig. 38. *Progynotaenia fuhrmanni* nov. sp. Totalbild der ganzen Strobila. *K* Keimstock; *Dst* Dotterstock; *Rs* Receptaculum seminis; *Cb* Cirrusbeutel; *H* Hoden; *Ut* Uterus; *Vd* Vas deferens; *R* Retractor des Cirrusbeutels; *Pa* Genitalpapille.

Fig. 39. *Progynotaenia fuhrmanni* n. sp. Haken des Rostellums.

hält eine ovale, 0,09:0,04 mm große Vesicula seminalis interna und ist mit einem starken Retraktor versehen. Der Cirrus ist ziemlich lang und, wie bei allen Acoleinae, stark bedornt. In der letzten Proglottis fängt der Cirrusbeutel an, sich zurückzubilden, wobei er von dem Uterus bis an den Proglottisrand hinausgedrängt wird. Das Vas deferens verläuft als ein gerader Kanal bis zur Mittellinie.

Die Muskulatur unserer Parasiten unterscheidet sich nicht wesentlich von derjenigen der anderen Progynotänien; die Exkretionskanäle verlaufen, wie bei den anderen Arten derselben Gattung, ventral vom Cirrusbeutel.

Anbei eine vergleichende Tabelle:

Tabellarische Artenübersicht der Gattung Progynotaenia Fuhrmann.

	<i>P. evaginata</i>	<i>P. jägerskiöldi</i>	<i>P. pauciannulata</i>	<i>P. fuhrmanni</i>
Untersucher	Fuhrmann	Fuhrmann	Baczinska	K. Skrjabin
Jahr	1909	1909	1914	1914
Strobila, Länge	2,3	2—2,5	2,4	3,0
Strobila, Breite	0,67	?	0,75	1,07
Scolexbreite	0,23	0,24—0,28	0,208	0,27
Durchmesser der Saugnäpfe	0,17:0,11	0,1	0,091	0,15:0,1
Rostellumlänge	0,28	kurz	0,27	0,1
Anzahl der Proglottiden	17	10—14	10—12	12—14
Hakenkranz	in 6-fach gebrochener Zickzacklinie	einfach	einfach	einfach
Zahl der Haken	60	34	19	12
Hakenlänge	0,018	0,052	0,044	0,063
Zahl der Hoden	20—22	18—20	5—7	16—18
Durchmesser der Hoden	0,048	0,028—0,032	0,039	0,037—0,042
Genitalöffnungen	unregelmäßig abwechselnd	regelmäßig abwechselnd	regelmäßig abwechselnd	regelmäßig abwechselnd
Cirrusbeutel	0,8	0,24	0,26	0,34—0,36
Genitalpapille	0,2	—	—	0,22
Cirrus	bedornt	bedornt	bedornt	bedornt
Vagina	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt
Wirt	<i>Oedicnemus senegallensis</i>	<i>Pluvianus aegypticus</i>	<i>Hoplopterus spira</i>	<i>Charadrius minor</i>
Fundort	Weißer Nil	Weißer Nil	Afrika	Weißer Nil

Die Maße sind in Millimetern angegeben.

13. *Gyrocoelia brevis* Fuhrmann.

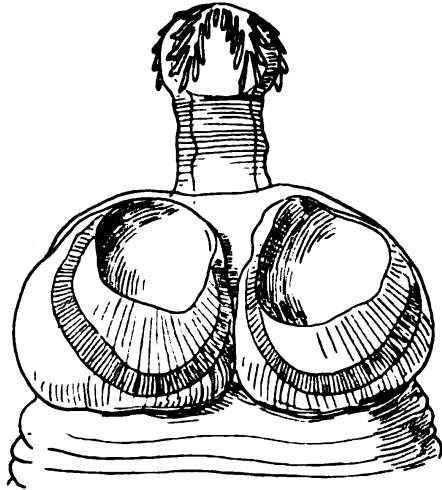
(Fig. 40.)

Wirt: *Charadrius cantianus*.

Fundort: Weißer Nil.

Dieser Cestode stammt auch aus dem Materiale der schwedischen Expedition von 1901. Da diese Art von Prof. Fuhrmann schon 1900 untersucht worden ist, gebe ich hier nur eine kurze Beschreibung und eine Abbildung des Scolex, die bis jetzt in der Literatur fehlten.

Die Breite des Scolex beträgt 0,29 mm; der Durchmesser der Saugnäpfe 0,12 mm. Das 0,12 mm lange Rostellum ist mit 40 Haken bewaffnet, welche in achtfach gebrochener Zickzacklinie angeordnet sind. Die Länge der Haken beträgt 0,034 mm. Die letzteren gleichen in der Form vollständig denjenigen der *Gyrocoelia leuce* Fuhrmann.



Der Scolex der *Gyr. brevis* und *Gyr. leuce* ist also fast identisch, so daß er als Unterschiedsmerkmal zwischen beiden Arten nicht angenommen werden kann. Dasselbe gilt auch von dem Bau und der Länge des Cirrusbeutels. Als Unterschied kann nur die Bewaffnung des Cirrus gelten und andererseits die verschiedene Länge der Strobila.

Zur größeren Veranschaulichung füge ich noch eine Tabelle aller bisher bekannten Gyrocoelia-Arten bei:

Fig. 40. *Gyrocoelia brevis* Fuhrm. Scolex.

Tabellarische Artenübersicht der Gattung *Gyrocoelia* Fuhrmann 1899.

	<i>G. perverse</i>	<i>G. leuce</i>	<i>G. brevis</i>	<i>G. paradoxa</i>
Untersucher	Fuhrmann	Fuhrmann	Fuhrmann	v. Linstow
Jahr	1899	1900	1900	1906
Strobila, Länge	110	60—70	25	85
Strobila, Breite	5,5	6	4	0,75
Scolexbreite	0,7	0,36	0,29	?
Durchmesser der Saugnäpfe	?	0,13—0,16	0,12	?
Rostellum, Länge	0,33	0,13	0,12	0,1
Rostellum, Breite	0,12	0,06	0,06	0,062
Zahl der Haken	?	40	40	78
Hakenlänge	?	0,033—0,036	0,034	0,029
Längsmuskelbündel:				
äußeres	aus ca. 30 Fasern	aus ca. 80 Fasern	aus ca. 100 Fasern	?
inneres	aus ca. 50 Fasern	aus ca. 120 Fasern	aus ca. 100 Fasern	?
Cirrusbeutel	0,75	0,76—0,85	0,68	?
Genitalöffnungen	unregelmäßig abwechselnd	unregelmäßig abwechselnd	fast regelmäßig abwechselnd	regelmäßig abwechselnd
Cirrus	mit 0,007—0,009 mm langen Haken	mit Haken bekleidet, dessen Basalteil 0,027 mm beträgt	mit Haken, die 0,012 mm lang sind	bewaffnet länglich-oval
Eier	rund	länglich-oval	rund	
Wirt	<i>Limosa lap-pouica</i> <i>Vanellus</i> sp.	<i>Aegialites collaris</i> Viell. <i>Vanellus cay-annensis</i> <i>Hoploxypterus cayanus</i> (Lath.)	<i>Charadrius spinosus</i> <i>Charadrius nubicus</i> <i>Charadrius suezensis</i> <i>Charadrius cantianus</i>	<i>Ochthodromus mongolica</i> Pall.
Fundort	Europa	Brasilien	Afrika	Ceylon

Die Maße sind in Millimetern angegeben.

Den Beschluß mag folgende Tabelle der hier beschriebenen Vogelcestoden, nach Wirten geordnet, bilden:

Accipitres.

Polyborus sp. (Paraguay):

Uncinaria trichocirrosa nov. gen. n. sp.

Anseriformes.

Anas sp. (Paraguay):

Davainea cyrtus nov. sp.

- Charadriiformes.
- Charadrius minor (Weißer Nil):
 Progynotaenia fuhrmanni nov. sp.
- Charadrius cantianus (Weißer Nil):
 Gyrocoelia brevis Fuhrm.
- Coraciiformes.
- Bucorax cafer (Kamerun):
 Cohapmania unilateralis nov. sp.
- Buceros ceratogynina (Kamerun):
 Davainea emperus nov. sp.
- Clumbiformes.
- Columba sp. (Neu-Guinea):
 Cittotaeuia columbae nov. sp.
- Galliformes.
- Perdix sp. (Brasilien):
 Davainea laticanalis nov. sp.
- Passeriformes.
- Galerita macrorhyncha (Algier):
 Davainea galeritae nov. sp.
- Wirt? (Neu-Guinea):
 Davainea paradisea Fuhrm.
- Phoenicopteriformes.
- Phoenicopterus antiquorum:
 Hymenolepis flaminginis nov. sp.
- Lariformes.
- Uria troile:
 Anomotaenia socialis Krabbe.
- Neuchâtel, 8. II. 1914.

Nachdruck verboten.

Ueber Trockenerhitzung von Immunserum.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Greifswald
 (Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Loeffler).]

Von Dr. med. Matsuda, Osaka (Japan).

Von F. Loeffler¹⁾ wurde zuerst ein Verfahren angegeben, nach dem man Antigen trocken bis zur Keimfreiheit erhitzen und in dieser Form in brauchbarem Zustande längere Zeit konservieren kann. Daß man aber auch andererseits den gewonnenen Antikörper, das Immunserum, demselben Verfahren unterziehen kann, scheint mir bisher nicht in weiteren Kreisen bekannt geworden zu sein, und ich möchte deswegen kurz über meine diesbezüglichen Erfahrungen berichten.

Einen in diese Richtung fallenden Versuch hat schon früher einmal Ichikawa²⁾ gemacht, indem er den Blutkuchen eines Typhusimmunserums in einer Schale auf dem Wasserbad erwärmte, und er hat dabei gefunden, daß die Immunkörper erhalten blieben. Das Prinzip meiner Arbeit ist aber doch ein anderes.

Wenn man antikörperhaltige Substanzen, also Blutserum, Exsudat, Gewebssaft usw., in natürlichem Zustande, nämlich feucht, erhitzt, wird man sehen, daß sie schon bei einer relativ niedrigen Temperatur in kurzer Zeit ihre spezifischen Eigenschaften verlieren, weil die Antikörper sehr empfindlich gegen den Einfluß feuchter Wärme sind.

1) Loeffler, Dtsche med. Wochenschr. 1904.

2) Ichikawa, Osaka Igakkai Zasshi. 1911. No. 7.

Wie ist es dagegen, wenn man sie erst völlig trocknen läßt und dann in trockenem Zustande erhitzt?

Bleiben, ähnlich wie die Fermente in trockenem Zustande, bei einer relativ höheren Temperatur die Antikörper bei Anwendung des gleichen Verfahrens ungeschädigt?

Wenn meiner Annahme entsprechend die Antikörper durch Trockenerhitzung ungeschädigt bleiben würden, würde dies eine interessante Methode der Konservierung darstellen. Ich habe deswegen in dieser Richtung folgende Versuche unternommen:

Zunächst habe ich antikörperhaltiges Immunsrum auf 70—75° C und weiter noch auf höhere Temperaturen erhitzt. Dabei wurden 3 Gruppen von Antikörpern geprüft, bakteriolytische, hämolytische und antitoxische Immunkörper.

1. Versuch mit Choleraimmunserum.

Das Choleraserum, welches ich bei meinem Versuche verwendete, habe ich von Kaninchen gewonnen, und zwar auf folgende Weise:

Ich habe eine 24 Stunden alte Agarkultur der virulenten Cholera-bacillen in einem Exsikkator über Chlorcalcium 2 Tage lang trocknen lassen und sie dann in einem genau schließenden Trockenschrank 2 Tage lang auf 70—75° C erhitzt. Das so behandelte Material wurde 4mal in 8-tägigem Intervalle intravenös einem Kaninchen eingespritzt. Hiernach zeigte das Serum des Kaninchens eine deutliche Agglutinationsreaktion und ausgesprochene bakteriolytische Kraft. Das so gewonnene Serum habe ich in einem Exsikkator an einem dunklen Ort trocknen lassen. Das Ergebnis des mit diesem Serum angestellten bakteriolytischen Versuches ist folgendes:

Tabelle I.

Versuch über die bakteriolytische Kraft von getrocknetem Choleraimmunserum.
Tödliche Dosis für Meerschweinchen (ca. 200 g) $\frac{1}{4}$ Oese.

	Kulturmenge	Serummenge	Bemerkung
1	2 Oesen	0,0001 g	† nach 24 St., Kultur positiv
2	2 "	0,0005 "	lebt
3	2 "	0,001 "	"
4	2 "	0,005 "	"
5	2 " (Kontrolle)	—	† binnen 24 St.

Demnach sehen wir, daß nach diesem einfachen Verfahren getrocknetes Serum in einer Menge von 0,0005 g das Vierfache der tödlichen Dosis gelöst und das Gift neutralisiert hat.

Dieses getrocknete Serum habe ich dann bei einer Temperatur von 70—75° C längere Zeit gehalten und in Zeiträumen von 10, 20—60 Tagen Versuche damit gemacht und, wie die Tabelle zeigt, gesehen, daß die Antikörper desselben ungeschädigt blieben.

Tabelle II.

Versuch mit dem 10 Tage lang trocken erhitzten Serum.
Tödliche Dosis der verwendeten Cholera-kultur $\frac{1}{4}$ Oese (Meerschweinchen ca. 200 g).

	Kulturmenge	Serummenge	Bemerkung
1	2 Oesen	0,0001 g	† nach 24 St., Kultur positiv
2	2 "	0,0005 "	lebt
3	2 "	0,001 "	"
4	2 "	0,005 "	"
5	2 " (Kontrolle)	—	† binnen 24 St.

Tabelle III.

Versuch mit dem 20 Tage lang trocken erhitzten Serum.
Tödliche Dosis der verwendeten Cholerakultur $\frac{1}{2}$ Oese (Meerschweinchen ca. 200 g).

	Kulturmenge	Serummenge	Bemerkung
1	2 Oesen	0,0001 g	† nach 24 St., Kultur positiv
2	2 „	0,0005 „	lebt
3	2 „	0,001 „	„
4	2 „	0,005 „	„
5	2 „ (Kontrolle)	—	† „ binnen 24 St.

Die Tabellen über die Wirksamkeit der während 30, 40 und 50 Tagen trocken erhitzten Sera zeigen dasselbe Bild wie Tabelle I und II mit dem 10 und 20 Tage lang trocken erhitzten Serum.

Tabelle IV.

Versuch mit 60 Tage lang trocken erhitztem Serum.
Tödliche Dosis der Cholerakultur $\frac{1}{2}$ Oese (Meerschweinchen ca. 200 g).

	Kulturmenge	Serummenge	Bemerkung
1	2 Oesen	0,0001 g	† nach 24 St., Kultur positiv
2	2 „	0,0005 „	Einmal tot. Kultivierung der Bauchhöhlenflüssigkeit neg., also Bakt. gelöst, aber vergiftet. Andermal lebten alle.
3	2 „	0,001 „	lebt
4	2 „	0,005 „	„
5	2 „ (Kontrolle)	—	† „ binnen 24 St.

Aus obigem Versuche habe ich gesehen, daß die 60 Tage lang auf 70—75° C erhitzten Antikörper ungeschädigt blieben und daß ihre Wirksamkeit fast eben so groß war, als mit dem ohne Erhitzen einfach getrockneten Serum. Um dem Einwande zu begegnen, daß Normalserum dieselbe Wirksamkeit wie das Choleraantiserum haben könnte, wenn man es unter denselben Bedingungen erhitzen würde, habe ich dann Normal-Kaninchenserum in der gleichen Weise behandelt und damit denselben Tierversuch gemacht. Ich habe hierbei aber, wie zu erwarten war, keine Einwirkung des Serums gesehen.

Nachdem ich die Erfahrung gemacht hatte, daß bakterizides Serum bei einer Temperatur von 70—75° C im Trockenzustande ungeschädigt blieb, habe ich den gleichen Versuch mit antitoxischem Serum gemacht.

2. Versuch mit Diphtherieimmunserum.

Das Serum, welches ich zu meinem Versuch verwendete, ist von dem Sächsischen Serumwerk hergestellt worden und hat 300 I.-E. pro Kubikzentimeter.

Ich habe das Serum in einem Exsikkator über Chlorcalcium trocken lassen und dann mit dem so getrockneten Serum einen Probeversuch gemacht. Zur Lösung des Serums habe ich Glycerin-Kochsalzlösung gebraucht. Das Ergebnis ist folgendes:

Die Toxinlösung, welche ich hier gebrauchte, habe ich auf folgende Weise hergestellt:

Virulente Diphtheriebacillen habe ich 4 Tage lang in Bouillonkultur gezüchtet und dann mit Toluol die Bakterien abgetötet und die Kultur durch Papier filtriert. Die mit 0,1 von dieser so behandelten Lösung unter die Haut eingespritzten Meerschweinchen (ca. 200 g) zeigten an der Stelle der Einspritzung eine deutliche Infiltration und starben nach

4 Tagen, die mit 0,2 ccm eingespritzt waren, starben schon nach 3 Tagen.

Tabelle V.
Versuch mit einfach getrocknetem Diphtherieimmunserum.

	Toxinlösung	Serummenge	Bemerkung
1	0,2	0,00002	lebt, Spur von Induration
2	0,2	0,00005	" keine "
3	0,2	0,0001	" " "
4	0,2	0,0005	" " "
5	0,2 (Kontrolle)	—	† " nach " 3 Tagen mit " großer Induration

Der vorstehende Versuch zeigt, daß 0,00002 des getrockneten Serums zwar noch nicht vollständig die 0,2 ccm der Toxinlösung neutralisiert hatten, aber doch das Meerschweinchen retten konnten. Wohl aber konnten 0,00005 g Serum die Toxinlösung neutralisieren.

Darauf habe ich so getrocknetes Serum genommen, längere Zeit auf 70—75° C erhitzt und nach verschiedenen Zeiträumen damit Versuche gemacht, wie folgende Tabellen zeigen:

Tabelle VI.
Versuch mit dem 10 Tage lang erhitzten Diphtherieimmunserum.

	Toxinlösung	Serummenge	Bemerkung
1	0,2	0,00002	lebt, Spur von Induration
2	0,2	0,00005	" keine "
4	0,2	0,0001	" " "
4	0,2	0,0005	" " "
5	0,2 (Kontrolle)	—	† " nach " 3 Tagen mit " großer Induration

Der Versuch mit dem 20 Tage lang erhitzten Diphtherieimmunserum ist gleich.

Tabelle VII.
Versuch mit dem 34 Tage lang erhitzten Diphtherieimmunserum.

	Toxinlösung	Serummenge	Bemerkung
1	0,2	0,00002	lebt, wenig von Induration
2	0,2	0,00005	" Spur " "
3	0,2	0,0001	" keine " "
4	0,2	0,0005	" " "
5	0,2 (Kontrolle)	—	† " nach " 3 Tagen mit " großer Induration

Aus obigem Versuch ergibt sich, daß antitoxisches Serum, auch wenn es 34 Tage lang trocken erhitzt ist, seine spezifische Wirksamkeit ungeschädigt behält.

3. Versuch mit hämolytischem Serum.

Zum Schlusse meiner Versuche habe ich hämolytisches Serum als Versuchsmaterial genommen.

Man kann den Erfolg bei diesem Versuche im Reagensglase sehr genau kontrollieren. Das hämolytische Serum, welches durch Einspritzung von Hammelblutkörperchen von Kaninchen gewonnen wurde, habe ich in einem Exsikkator über Chlorcalcium trocknen lassen und dann den Titer bestimmt, wie folgende Tabelle zeigt:

Tabelle VIII.
Versuch mit dem einfach getrockneten hämolytischen Serum.

	Serummenge	Komplement	Blutkörperchen	Bemerkung
1	0,0005	0,1	1,0	fast gelöst
2	0,001	0,1	1,0	komplett gelöst
3	0,005	0,1	1,0	" "
4	0,01	0,1	1,0	" "
5	Kontrolle	0,1	1,0	nicht " gelöst "

Komplement: Frisches Meerschweinchenblutserum.

Blutkörperchen: 5-proz. Hammelblutkörperchen-; 0,85-proz. Kochsalz-
lösung.

Serummenge ist in der 0,85-proz. Kochsalzlösung gelöst.

An obiger Tabelle kann man sehen, daß 0,0005 die Grenzdosis ist und 0,001 schon eine vollständig auflösende Kraft besitzt.

Das so getrocknete Serum habe ich in einem Trockenschrank erhitzt bei einer Temperatur von 70–75° C und in verschiedenen Zeiträumen Versuche gemacht. Daß hierdurch das hämolytische Vermögen des Serums nicht geschädigt wurde, zeigen folgende Tabellen:

Tabelle IX.
Versuch mit dem 10 Tage lang erhitzten hämolytischen Serum.

	Serummenge	Komplement	Blutkörperchen	Bemerkung
1	0,0005	0,1	1,0	fast gelöst
2	0,001	0,1	1,0	komplett gelöst
3	0,005	0,1	1,0	" "
4	0,01	0,1	1,0	" "
5	Kontrolle	0,1	1,0	nicht gelöst "

Die Tabellen mit 20, 30, 40, 50 Tage lang erhitztem hämolytischen Serum zeigen das gleiche Bild wie Tabelle IX.

Tabelle X.
Versuch mit dem 60 Tage lang erhitzten hämolytischen Serum.

	Serummenge	Komplement	Blutkörperchen	Bemerkung
1	0,0005	0,1	1,0	schwach gelöst
2	0,001	0,1	1,0	fast gelöst
3	0,005	0,1	1,0	komplett gelöst
4	0,01	0,1	1,0	" "
5	Kontrolle	0,1	1,0	nicht " gelöst "

Aus obigen Tabellen kann man ersehen, daß das 50 Tage lang erhitze hämolytische Serum seine hämolytische Wirkung nicht verloren hatte; bei einer Erhitzung von 60 Tagen war jedoch sein hämolytisches Vermögen etwas geschädigt.

Durch diese Ergebnisse ermutigt, habe ich das hämolytische Serum 5 Tage lang bei 80–85° C trocken erhitzt und mit dem so behandelten Serum Versuche gemacht, wie folgt:

Tabelle XI.
Versuch mit dem 5 Tage lang auf 80–85° C erhitzten hämolytischen Serum.

	Serummenge	Komplement	Blutkörperchen	Bemerkung
1	0,0005	0,1	1,0	fast gelöst
2	0,001	0,1	1,0	komplett gelöst
3	0,005	0,1	1,0	" "
4	0,01	0,1	1,0	" "
5	Kontrolle	0,1	1,0	nicht " gelöst "

Aus diesem Versuche sieht man, daß das hämolytische Serum, auch wenn man es 5 Tage lang auf 80—85° C trocken erhitzt, sein hämolytisches Vermögen ungeschädigt behält.

Dann habe ich getrocknetes Serum 24 Stunden lang auf 90—95° C erhitzt und gesehen, daß das so erhitzte Serum seine Wirksamkeit nur in geringer Menge verloren hatte, wie Tabelle XII zeigt:

Tabelle XII.
Versuch mit 24 Stunden lang auf 90—95° C erhitztem hämolytischen Serum.

	Serummenge	Komplement	Blutkörperchen	Bemerkung
1	0,0005	0,1	1,0	schwach gelöst
2	0,001	0,1	1,0	fast komplett gelöst
3	0,005	0,1	1,0	komplett gelöst
4	0,01	0,1	1,0	
5	Kontrolle	0,1	1,0	nicht "gelöst"

An diesem Versuche sieht man, daß die Erhitzung des Serums auf 90—95° C anscheinend zu hoch ist. Trotzdem habe ich zur Vervollständigung noch den Versuch gemacht und getrocknetes Serum 4 Tage lang auf 90—95° C erhitzt und gesehen, daß das so behandelte Serum seinen spezifischen Charakter deutlich verloren hatte, wie Tabelle XIII zeigt:

Tabelle XIII.
Versuch mit 4 Tage lang auf 90—95° C erhitztem hämolytischen Serum.

	Serummenge	Komplement	Blutkörperchen	Bemerkung
1	0,0005	0,1	1,0	nicht gelöst
2	0,001	0,1	1,0	
3	0,005	0,1	1,0	"kaum gelöst"
4	0,01	0,1	1,0	schwach gelöst
5	Kontrolle	0,1	1,0	nicht gelöst

Wie dieser Versuch zeigt, ist letztgenanntes Verfahren nicht mehr zur Konservierung von Antikörpern anwendbar.

Gestützt auf die Erfahrungen mit der Trockenerhitzung des hämolytischen Serums habe ich den Versuch gemacht, getrocknetes Choleraserum 5 Tage lang auf 80—85° C zu erhitzen. Ich habe dabei gefunden, daß das so behandelte Serum seinen spezifischen Charakter nicht verloren hatte, wie folgende Tabelle zeigt:

Tabelle XIV.
Versuch mit dem 5 Tage lang auf 80—85° C trocken erhitzten Choleraserum.
Tödliche Dosis $\frac{1}{10}$ Oese (Meerschweinchen ca. 200 g).

	Kulturmenge	Serummenge	Bemerkung
1	$\frac{1}{2}$ Oese	0,0001	† nach 24 St., Kultur positiv
2	$\frac{1}{2}$ "	0,0005	lebt
3	$\frac{1}{2}$ "	0,001	"
4	$\frac{1}{2}$ "	0,005	"
5	$\frac{1}{2}$ " (Kontrolle)	—	† binnen 24 St.

Aus obigem Versuche ist ersichtlich, daß das Serum seine Wirksamkeit ungeschädigt behält.

Weiterhin habe ich getrocknetes Choleraserum 24 Stunden lang auf 90—95° C erhitzt und hieraus gesehen, daß es seinen spezifischen Charakter nicht verloren hat, wie Tabelle XV zeigt:

Tabelle XV.

Versuch mit 24 Stunden lang auf 90—95° C trocken erhitztem Choleraserum.
Tödliche Dosis der Cholerakultur $\frac{1}{10}$ Oese (Meerschweinchen ca. 200 g).

	Kulturmenge	Serummenge	Bemerkung
1	$\frac{1}{2}$ Oese	0,0001	† nach 24 St., Kultur positiv
2	$\frac{1}{2}$ „	0,0005	lebt
3	$\frac{1}{2}$ „	0,001	„
4	$\frac{1}{2}$ „	0,005	„
5	$\frac{1}{2}$ „ (Kontrolle)	—	† „ binnen 24 St.

Auch aus dieser Tabelle kann man sehen, daß das Serum, obgleich es 24 Stunden lang auf 90—95° C trocken erhitzt war, dennoch seinen spezifischen Charakter behielt.

Dann habe ich getrocknetes Diphtherieimmuneserum auch 5 Tage lang auf 80—85° C trocken erhitzt, und im Tierversuch geprüft, wie folgt:

Tabelle XVI.

Versuch mit 5 Tage lang auf 80—85° C trocken erhitztem Diphtherieimmuneserum.
Meerschweinchen ca. 200 g.

	Toxinlösung	Serummenge	Bemerkung
1	0,2	0,00002	lebt, Spur von Induration
2	0,2	0,00005	„ keine „
3	0,2	0,0001	„ „ „
4	0,2	0,0005	„ „ „
5	0,2 (Kontrolle)	—	† „ nach 3 Tagen mit großer Induration

Aus obigem Versuche habe ich gesehen, daß das Serum nach dieser Behandlung seinen spezifischen Charakter ungeschädigt behielt.

Darauf habe ich das getrocknete Serum 24 Stunden lang auf 90 bis 95° C trocken erhitzt und, wie Tabelle XVII zeigt, gefunden, daß auch das so behandelte Serum in seinem spezifischen Charakter nur wenig geschädigt wird.

Tabelle XVII.

Versuch mit 24 Stunden lang auf 90—95° C erhitztem Diphtherieimmuneserum.
Meerschweinchen ca. 200 g.

	Toxinlösung	Serummenge	Bemerkung
1	0,2	0,00002	lebt, deutliche Induration
2	0,2	0,00005	„ schwache „
3	0,2	0,0001	„ Spuren von „
4	0,2	0,0005	„ ohne „
5	0,2 (Kontrolle)	—	† nach 3 Tagen mit großer Induration

Meine Versuche kann ich am Schlusse meiner Arbeit somit dahin zusammenfassen:

1) Wenn man bakterizides, antitoxisches oder hämolytisches Serum trocknen läßt und es dann relativ lange Zeit bei einer Temperatur von 70—75° C trocken erhitzt, so sieht man, daß es seine spezifischen Eigenschaften nicht verliert, sondern erst nach 60-tägiger Erhitzung seine Wirkung teilweise einbüßt.

2) Wenn man die getrockneten Materialien 5 Tage lang auf 80 bis 85° C und 24 Stunden lang auf 90—95° C trocken erhitzt, sieht man, daß sie ihr spezifisches Vermögen bewahren; erst durch eine weitere, 4 Tage lang auf 90—95° C ausgedehnte Erhitzung wird ihre spezifische Wirksamkeit in großem Maße geschädigt.

3) Wenn man das so behandelte Serum in Kochsalzlösung oder Glycerinlösung löst und es Tieren einspritzt, oder den Testversuch im Reagensglase macht, so ist daraus ersichtlich, daß das Serum doch noch gut zu gebrauchen ist.

4) Da das erhitzte Serum, sofern man bei seiner Gewinnung das Hineingelangen sporenbildender Keime verhindert hat, völlig keimfrei ist, kann man es besser konservieren und seine Verwendung dürfte mehr Sicherheit gegen Infektionen bieten.

Zum Schlusse meiner Arbeit erlaube ich mir, Herrn Geheimen Medizinalrat Prof. Dr. Loeffler meinen verbindlichsten Dank für die mir bei meinen Arbeiten freundlichst erwiesene Unterstützung auszusprechen.

Nachdruck verboten.

L'ultrafiltration et les microbes invisibles.

[Travail de l'Institut Pasteur de Bruxelles, Directeur Prof. Bordet.]

Par Dr. méd. vét. **P. Andriewsky**, St. Pétersbourg.

I. Communication: La peste des poules.

Le virus de la peste des poules, dont la culture in vitro se maintient incontestablement virulente jusqu'à la 10^e génération (d'après les travaux de Marchoux¹⁾, Landsteiner²⁾ et d'autres), reste invisible bien qu'on l'ait recherché par l'ultramicroscope et les diverses méthodes de coloration.

L'année passée Mr. le Stabstierarzt Mrowka a publié³⁾ un travail „Das Virus der Hühnerpest ein Globulin“. Il arrive à la conclusion que le virus de la peste des poules n'est pas constitué d'éléments figurés, mais consiste en globuline devenue virulente.

Si nous laissons de côté la partie purement théorique, hypothétique de ce travail, les faits expérimentaux, donnés par Mrowka, sont les suivants: après la précipitation de la globuline dans le sérum virulent, précipitation suivie d'une centrifugation assez énergique, le sédiment reste seul virulent, le liquide surnageant ne contient plus le virus. Lave-t-on ultérieurement ce sédiment dans un liquide où la globuline ne se dissout pas (p. ex. l'eau distillée saturée par CO₂) et centrifuge-t-on à nouveau, l'eau de lavage (Washwasser) ne présente plus de virulence.

Pour précipiter la séro-globuline Mr. Mrowka employait la dialyse du sérum et le traitement par le sulfate d'ammonium. Sangiorgi⁴⁾

1) Compt. rend. Acad. d. scienc. 1908.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. p. 165.

3) Idem. Bd. 67. p. 249.

4) Idem. Bd. 72. p. 70.

répéta la même expérience, mais en employant CO_2 pour la précipitation de la séroglobuline qui entraîne le virus de la peste des cobaye (virus filtrant à travers des bougies de Chamberland). Il a obtenu le même résultat que Mr. Mrowka. D'après nos expériences, on peut obtenir les mêmes résultats avec le virus de la rage. Dans tous les cas, que nous venous de rappeler, le sédiment de globuline précipitée reste virulent et le liquide surnageant clair, obtenu après centrifugation, ne contient plus de virus. Cependant, la conclusion de Mr. Mrowka est passible d'une objection: le virus est peut-être simplement entraîné par la globuline qui se prend en flocons. On pourrait concevoir que le virus résiste à la centrifugation quand il se trouve dans un liquide limpide, mais qu'il se laisse englober et sédimenter lorsque des flocons apparaissent.

Au cours de notre travail sur le virus de la peste des poules, nous avons essayé d'appliquer la méthode d'ultrafiltration de Bechhold¹⁾ pour déterminer par cette méthode la grandeur de ce virus, invisible par les moyens actuels.

Il est actuellement possible de préparer des ultrafiltres dont les pores varient en grandeur. Les pores peuvent être mesurés approximativement en utilisant la vitesse de filtration de l'eau et de l'air²⁾.

Les résultats, d'ailleurs inattendus, que cette méthode de filtration du virus nous a fournis, sont les suivants:

1^o. La première fois nous avons filtré le virus étudié sur filtre no. 3³⁾.

Les pores de ce filtre sont si petits qu'une solution à 1 % d'hémoglobine ne passe pas. Or, si nous soumettons simultanément à la filtration un mélange du virus étudié et de cette solution d'hémoglobine et si nous constatons que l'hémoglobine ne passe pas, mais que le virus passe, nous sommes évidemment autorisés à comparer la grandeur du virus aux grandeurs moléculaires déterminées par Bechhold.

Le sérum contenant le virus, dilué à $\frac{1}{15}$ à $\frac{1}{20}$ dans l'eau physiologique fut soumis à la filtration à travers le filtre no. 3. Le virus passa et ce fait fut constaté par injection de 5 c.c. du filtrat à une poule, qui mourut dans les délais normaux c'est-à-dire, en 45 h., temps limite de l'action de notre virus. Le filtrat soumis à la coagulation par la chaleur et essayé par Biuret donna la réaction de l'albumine; mais, il n'y avait pas d'hémoglobine dans ce liquide, elle avait été retenue sur le filtre.

2^o. Le sérum de la poule tuée par le filtrat, qui avait passé au travers du filtre no. 3, fut dilué comme il est indiqué, et additionné de la solution d'hémoglobine. On le mit ensuite sur le filtre no. 5. Le filtrat ainsi obtenu, privé d'hémoglobine, ne donna plus la réaction du Biuret; la précipitation de la séro-globine par le sulfate d'ammonium fut excessivement faible; la séro-albumine n'avait pas passé. La poule, injectée de 2 c.c. de ce filtrat contracta la maladie et mourut en 45 heures.

3^o. Les filtrats ayant passé à travers des filtres no. 6 et no. 8 ne contiennent plus de traces ni de séro-albumine, ni de séro-globuline; ils sont inoffensifs pour les poules inoculées.

1) Bechhold, H., Die Kolloide in der Biologie und Medizin. 1912.

2) Les formules de ce calcul sont données par Bechhold dans son travail „Durchlässigkeit der Ultrafilter“. (Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 64. 1908. p. 257—318.)

3) Les numéros de filtres indiquent le % de fulmicoton dissous dans l'acide acétique glacial avec lequel on imbibe les papiers des filtres.

4°. Par des opérations successives de filtration du sérum virulent à travers des filtres no. 5 et no. 4 nous avons constaté que la filtrabilité du virus coïncide avec les réactions suivantes dans les filtrats:

Dès que l'acide sulfo-salicylique (30 %) ne donne pas d'anneau de contact blanchâtre, le filtrat est inoffensif. L'épreuve avec le réactif d'Esbach et l'acide nitrique concentré (par superposition) était toujours négative. La demi-saturation avec le sulfate d'ammonium et la saturation avec le sulfate de magnésium donnaient un trouble louche, peu appréciable, bien plus faible que dans le même sérum non filtré, dilué à 1:20; ce dernier sérum sert de témoin¹⁾. Il semble donc que les protéines du sérum et surtout la séro-albumine ont été entièrement retenues par les filtres nos. 4 et 5.

Bechhold donné, dans son mémoire le tableau suivant:

Bleu de Berlin
Sole de platine
Oxyde de fer colloïdal
Caséine
Sulfure d'arsenic colloïdal
Solution d'or (no. 4 — Zsigmondy — dimension de la molécule environ 40 $\mu\mu$)
Oxyde de bismuth colloïdal
Argent colloïdal (environ 20 $\mu\mu$)
Solution d'or colloïdal (no. 0 — Zsigmondy; environ 1 à 4 $\mu\mu$)
Solution d'hémoglobine à 1 %
Solution de gélatine à 1 %
Séro-albumine
Protoalbumoses
Acide silicique colloïdal
Deutroalbumoses
Tournesol et dextrine. Cristalloïdes.

Ce tableau dans lequel les substances sont rangées en grandeurs décroissantes, donne les indications de grandeur moléculaire des soles des colloïdes.

D'après Zsigmondy²⁾, le diamètre de la molécule d'hémoglobine correspondant à 2,3—2,5 $\mu\mu$ ³⁾. Du tableau de Bechhold et des constatations de Zsigmondy il résulte, que le colloïde du virus de la peste des poules est formé de micelles (Nägeli) ou de molécules plus petites que celles d'hémoglobine, c'est-à-dire, inférieures à 2,3—2,5 μ . Il semble même que ces micelles ou molécules sont plus petites que les molécules de séro-albumine.

On pourrait objecter que les poules, inoculées avec les filtrats obtenus avec les ultrafiltrats nos. 4 et 5, meurent par suite de l'action de la toxine produite par le virus. Mais le sérum, le cerveau etc. des poules mortes après l'injection de ces ultrafiltrats sont aussi virulents pour les poules neuves, que les mêmes liquides et organes des poules injectées par le virus non filtré. On ne peut donc invoquer l'intervention de toxines; les poules qui reçoivent l'ultrafiltrat contractent la peste des poules typique.

Ces faits constamment vérifiés par nos expériences nous permettent de conclure que ce virus ne peut être formé de cellules semblables aux cellules animales et végétales connues jusqu'à présent.

On sait que le Prof. Beijerinck a émis l'hypothèse de l'existence d'un „Contagium vivum fluidum“ pour expliquer certaines maladies con-

2) Je tiens ici à remercier MM. les Prof. Zunz et Delange pour l'aimabilité qu'ils ont eu en me fournissant les analyses chimiques des filtrats en question.

1) Zsigmondy, Colloidchemie. Leipzig 1912. p. 264.

2) $\mu\mu$ = 1 millionième de millimètre.

tagieuses des plantes. En présence des résultats, qui nous a donné la méthode d'ultrafiltration, on est vraiment tenté d'admettre cette hypothèse pour le virus de la peste de poules. Quoiqu'il en soit, on peut espérer que la méthode d'ultrafiltration de Bechhold se montrera utile dans l'étude de la nature de quelques virus filtrants invisibles, analogues à celui de la peste des poules. Nous continuerons nos recherches dans cette voie.

Bruxelles, le 1. mai 1914.

Nachdruck verboten.

Zur Verwendung des Ozons für Luftdesinfektion.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio**, Lausanne.

Der hohe Wert des Ozons für die Sterilisierung von Trinkwasser hatte denken lassen, daß es vielleicht auch für die Luftdesinfektion Verwendung finden könnte. Fast ohne Vorversuche hat man sehr viele Apparate in den Handel gebracht, die zur Reinigung und Desinfizierung der Luft Verwendung finden sollten. Die Reklame, die man für solche Apparate macht, ist sehr gefährlich vom Standpunkte der Hygiene aus, weil das Publikum wirklich glaubt, daß die Luftozonisierung die chemische und bakteriologische Reinigung der Luft ermöglicht. Mit solcher Ueberzeugung glaubt es, daß es möglich ist, an der Stelle der Lüftung und der verschiedenen Methoden für Zimmerdesinfektion Ozonisatoren zu verwenden. Verschiedene Arbeiten haben schon demonstriert, daß das Ozon kein Luftreiniger ist.

So haben Erlandsen und Schwarz¹⁾ experimentell demonstriert, daß weder Ammoniak, noch Schwefelwasserstoff in der Luft durch Ozon oxydiert werden können. Nur der Geruch geringer Mengen dieser Substanzen kann durch Ozon verdeckt werden. Eine ähnliche Wirkung hat Ozon auf Trimethylamin, Buttersäure, Valeriansäure, Indol, Skatol. Tabaksgeruch in schwacher Konzentration wird durch Ozonisierung verdeckt. In keinem Falle aber haben Erlandsen und Schwarz mit Ozon in den Konzentrationen, die in der Praxis verwendet werden können, eine Reinigung der Luft herbeiführen können; es hat keine andere Wirkung, als viele Geruchstoffe zu verdecken. Das Ozon also muß nur mit aktiver Lüftung verwendet werden.

Zu ähnlichen Schlüssen ist auch Konrich²⁾ gekommen, der auch die toxische Wirkung des Ozons auf Menschen und Tiere studiert hat. Unter dem Einflusse des Ozons tritt bei Tieren Schläfrigkeit ein, darauf wird die Atmung verändert; sie wird unregelmäßig, vertieft, stoßweise; gegen das Ende setzen lange Atempausen ein, und der Tod scheint durch Atemlähmung zu erfolgen. Der pathologisch-anatomische Befund ergibt: Blut ungeronnen, Lunge durchsetzt mit massenhaften, vielfach zusammenfließenden Blutungen. Es ist wahr, daß bei den meisten Versuchen Konrich mit Konzentrationen von 10 mg Ozon pro Kubikmeter gearbeitet hat, also etwa 20mal so viel, als bei der Lüftung maximal verwendet

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 67. 1910. p. 391.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 73. 1913. p. 443.

werden soll, aber mit geringeren Ozonmengen, etwa mit 0,5 mg pro Kubikmeter, hat Konrich an Tieren Vergiftungserscheinungen hervorgerufen. Bei Menschen hat Konrich Reizungen der Luftwege, Müdigkeit und Schlagsucht bemerkt.

Schwarz und Münchmeyer¹⁾ haben im allgemeinen die Schlüsse von Erlandsen und Schwarz mit neuen Untersuchungen bestätigt: Ammoniak wird nicht verändert, schwefelige Säure wird nur teilweise oxydiert, Mercaptan wird bei Gegenwart eines großen Ueberschusses von Ozon schnell zerstört, Skatol und Indol werden von einem großen Ueberschuß von Ozon zerstört. Die geringeren Konzentrationen von 0,1 mg pro Kubikmeter, die bei der Luftozonisierung angewendet werden, können Riechstoffe nicht zerstören, und es ist noch nicht bewiesen, daß sie bei dauernder Aufnahme absolut ungiftig sind.

Kann aber, wenn das Ozon nicht imstande ist, die chemische Reinigung der Luft zu erzeugen, dieselbe desinfizieren?

Nach Sonntag²⁾ hatte Caillol de Poncy im Jahre 1884 Hörsäle in Marseille mit Ozon, Chappuis Luftstaub sterilisiert und Wyssokowitsch hat Hemmung des Wachstums der Bakterien bemerkt. Aber Hoffmann hat gezeigt, daß an Elfenbeinspateln angetrocknete Lymphe auch durch stark konzentriertes Ozon nicht merklich beeinträchtigt wird, auch Oerum hat keine Einwirkung auf eingetrocknete Bakterien, Schimmel- und Sproßpilze bemerkt. Sonntag hat eingetrocknete Bakterien, wie Milzbrandsporen, *B. pneumoniae*, *Strept. pyogenes aureus* und *albus*, *B. crassus sputigenus*, *B. murisepticus*, der Einwirkung von Ozon in einer Konzentration von 4,1 mg pro Liter ausgesetzt, ohne Einfluß auf die Entwicklungsfähigkeit und die Virulenz zu bemerken. Demnach schließt Sonntag: Somit dürfte fernerhin über alle Bemühungen, welche dahin gehen, die schädigende Wirkung des gasförmigen Ozons auf pathogene Bakterien für die Therapie oder für prophylaktische Desinfektion zu verwerten, ohne weiteres der Stab zu brechen sein.

Entgegen Kuckuck, haben Erlandsen und Schwarz keine Keimtötung oder auch nur wesentliche Herabminderung des Keimgehaltes der Luft nach 1-stündiger und selbst nach mehrstündiger Ozonisierung bemerkt. Aber die vollständigste Arbeit über die desinfizierende Wirkung des Ozons auf die Luft ist diejenige von Konrich. Für seine Untersuchungen hat Konrich einen Kasten aus Glas von 44 cm Länge, 20 cm Breite, 18 cm Höhe und 15840 ccm Inhalt gebraucht, der an beiden Schmalseiten in der Mitte eine Durchbohrung trägt, in die je ein Glasrohr eingekittet ist, eines zum Einlassen der Ozonluft, das andere zum Absaugen. Ein Holzgestell mit eisernen Haken wurde hineingestellt, die Haken wurden durch Glühen sterilisiert und an ihnen die mit Bakterien versehenen Gegenstände aufgehängt. Die Bakterien wurden auf Fließpapierstreifen oder auf Glasstäbchen angetrocknet und dann dem Einflusse des Ozonluftstroms ausgesetzt. Die folgenden Bakterienarten, Typhus, Paratyphus B, Shiga-Kruse, Flexner, Coli, Staphylococcus, Prodigiosus, Sarcina, Pyocyaneus, Milzbrand, die dem Ozonstrom in Konzentrationen von 0,006—0,03 g pro Raummeter für 1—52 Stunden exponiert worden waren, wurden weder gehemmt, noch getötet. Besser waren die Resultate, wenn man die Fließpapier-

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75. 1913. p. 81.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 95.

streifen noch feucht dem Ozonstrom aussetzte. In diesem Falle mit einer Ozonkonzentration von 0,0937 g pro Raummeter und mit einem dauernden, sehr schwachen Dampfstrom, um die Luft mit Dampf gesättigt zu halten, wurden Typhus, Paratyphus A und Shiga-Kruse in 1, Flexner in 2, Coli in 2—3, Paratyphus B, Pyocyaneus, Prodigiosus, Sarcina in 3, 3 Staphylokokken in 3—4 und Tetragenus in 4 Stunden getötet, aber ein Staphylococcus, Milzbrand- und Subtilis-Sporen wurden nicht geschädigt. Konrich bemerkt mit Recht, daß es sich in der Praxis kaum einmal um feuchte Bakterien handeln wird, und außerdem dürften so große Ozonmengen nötig sein, wie sie in der Lüftung niemals angewandt wurden, und er schließt: Den geringen Ozonmengen, die bei der Lüftung benützt werden, kommt keinerlei desinfizierende Wirkung zu, und der in dieser Richtung behauptete hygienische Wert des Ozons ist eine Einbildung.

Schreckenbergl¹⁾ hat auch bemerkt, daß von Ozon trockene Bakterien überhaupt nicht, feuchte Bakterien bestenfalls erst nach Tagen von einer Konzentration von 0,05—0,5 mg pro Kubikmeter beeinflußt werden können.

Dies sind, meines Wissens, die einzigen Untersuchungen, die über die desinfizierende Kraft der Luftozonisierung gemacht worden sind. Ich halte es für nützlich, einige Forschungen, die ich selbst über diese Frage gemacht habe, hier zu veröffentlichen.

Für meine Experimente habe ich einen elektrischen Zimmerozonator gebraucht, der in die zu ozonisierenden Zimmer gelegt werden muß. Ich habe ihn in ein kleines Zimmer von 12 cbm, 30 cm über den Boden gesetzt. Dieses Zimmer hatte keine Fenster und nur eine kleine Tür. Die Zimmertemperatur belief sich auf 15—16°, die relative Feuchtigkeit auf 60,75. Bouillonkulturen von *B. coli* und von *M. pyogenes albus* und sporulierte Bouillonkulturen von *B. vulgatus* wurden in Dosen von 1 Oese auf sterilisierte Deckgläser von 10 × 10 mm, die in sterilen Petri-Schalen enthalten waren, gelegt. Die infizierten Deckgläser wurden 24 Stunden bei 20° antrocknen gelassen, und dann in kleine, geöffnete, sterile Petri-Schalen in das Zimmer unter Einwirkung des Ozons auf verschiedene Zeitdauer exponiert. Diese Schalen wurden auf verschiedene Punkte des Fußbodens und auf einem Tisch 80 cm über den Boden gestellt. Nach 5, 6 und 9 Stunden wurden die Deckgläser unter Kontrolle in Bouillon gelegt. In keinem Falle konnte ich Tötung oder Hemmung der ozonisierten Bakterien konstatieren.

In einer zweiten Serie von Experimenten habe ich statt getrockneter Bakterien Emulsionen von Agarkulturen von *B. coli*, *M. pyogenes albus*, *B. vulgatus* in sterilem Wasser in geöffnete, sterile Petri-Schalen gelegt und, wie in der ersten Serie, der Einwirkung des Ozons ausgesetzt. Kulturen in Bouillon haben nach 5 und 9 Stunden Ozonwirkung im Vergleich zur Kontrolle weder Tötung, noch Hemmung der Bakterien gezeigt.

In einer dritten Serie von Experimenten habe ich geöffnete Petri-Schalen von 8 cm Durchmesser und mit erstarrtem Agar in dasselbe Zimmer, vorher, während und nachdem der Ozonator 5—6 Stunden gewirkt hatte, für 1 Stunde stehen lassen und dann bei 20° gelegt. In keinem Falle habe ich Tötung oder Hemmung der Hyphomyceten, Blastomyceten und Bakterien der Luft bemerkt.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 56. 1913. p. 606.

In dem Zimmer, wo alle Experimente gemacht worden waren, war der Ozongeruch sehr deutlich. Bei Menschen bemerkte man Reizung der Nasen-, Augen- und Kehlkopfschleimhaut. Ein Kaninchen, in das Zimmer gelegt, hat Schläfrigkeit, unregelmäßige, vertiefte Atmung gezeigt, aber es ist nicht gestorben.

Zusammenfassung.

Bei einem in den Handel gebrachten Zimmerozonator habe ich keine bakterizide Einwirkung bemerkt. Man muß also immer mehr, wie schon Sonntag, Erlandsen und Schwarz, Konrich und Schrecken-berg bemerkt haben, das Publikum vor der Verwendung des Ozons für Zimmerdesinfektion warnen.

Lausanne, 5. Jan. 1914.

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>Andriewsky, P., L'ultrafiltration et les microbes invisibles, p. 90.</p> <p>Bruynoghe, R., Le bacille de la pasteurillose des lièvres, p. 36.</p> <p>Gaetgens, W., Beitrag zur Bakteriologie der Meningitis, p. 41.</p> <p>Galli-Valerio, B., Notes de parasitologie et de technique parasitologique, p. 46.</p> <p>— —, Zur Verwendung des Ozons für Luftdesinfektion, p. 93.</p> <p>Gósony, L., Remarks upon the paper by P. H. Hadley, R. Bryant and M. Elkins on capsule-formation in bacteria of the septicaemia-haemorrhagica group, p. 21.</p> | <p>Jimbo, Kotaro, Ueber die Verbreitung einer Art von <i>Trichostrongylus</i>, <i>Trichostrongylus orientalis</i> n. sp., als Darmparasiten des Menschen in Japan, p. 63.</p> <p>Matsuda, Ueber Trockenerhitzung von Immunserum, p. 83.</p> <p>Serkowski, St., <i>Bacillus</i> s. <i>Granulobacillus putrificus</i> nov. sp., p. 1.</p> <p>Skrjabin, K. J., Beitrag zur Kenntnis einiger Vogelcestoden, p. 59.</p> <p>Uémura, H., Untersuchungen über milzbrandähnliche Bacillen, p. 21.</p> |
|---|---|

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 75. Heft 2.

Ausgegeben am 14. Oktober 1914.

Nachdruck verboten.

Ueber Vererbung und Variabilität bei Bakterien.

Weitere Untersuchungen über die Fluktuation, insbesondere über ihre Entstehungsweise, ihre Erbllichkeit und ihre Bedeutung für die Artbildung.

[Aus der medizinischen Klinik Erlangen (Direktor:
Geh. Hofrat Penzoldt).]

Von Dr. **Erich Toennissen.**

In der vorausgehenden Abhandlung (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. p. 241) war beschrieben worden, daß von einem Stamm des Friedländerschen Pneumoniebacillus durch die Bedingungen der künstlichen Kultivierung drei Varianten von verschiedenem Variationscharakter zu gewinnen waren. Als Ursache der Variation ergab sich die Anhäufung der Stoffwechselprodukte, welche je nach Intensität und Dauer ihrer Einwirkung die verschiedenen Variationsformen bedingten. Die Variation betraf das Kapsel- oder Schleimbildungsvermögen und zeigte sich in einer Abnahme bzw. im völligen Verlust dieser Fähigkeit. In entgegengesetztem Sinne wirkten Tierpassagen, weniger stark auch das Wachstum in isolierten Keimen oder Kolonien (Bouillon, Agarplattenguß), wodurch die Varianten zum Teil und verschieden schnell in den Typus zurückgeführt werden konnten.

Die Variationen unterschieden sich neben charakteristischen Veränderungen der Morphologie und des Stoffwechsels, welche sie verursachten, hauptsächlich durch die Art ihrer Entstehung und den Grad ihrer Erbllichkeit scharf voneinander. Bei geringster Einwirkung der Stoffwechselprodukte stellte sich die Modifikation ein; sie bestand in einer verschieden stark ausgeprägten Hemmung der für die Schleimbildung in Betracht kommenden Erbeinheiten und war beim Wachstum im zusammenhängenden Bakterienrasen, d. h. solange der Variationsreiz andauerte, in beliebig vielen Uebertragungen konstant. Durch Tierpassagen ging sie sofort, durch Wachstum in isolierten Kolonien (Plattenguß) zum Teil in der nächsten Generation, zum Teil erst in späteren Generationen (pseudohereditäre Nachwirkung) in den Typus zurück. Die stärkere Einwirkung der Stoffwechselprodukte führte zur Mutation; diese bestand in einer vollständigen Inaktivierung von Erbeinheiten und war bei sämtlichen Arten der künstlichen Kultivierung erblich. Durch mehrere Tierpassagen ließen sich die Mutanten in den Typus zurückführen (Reaktivierung der vordem latenten Anlagen). Dieser Rückschlag trat bei einigen Individuen auch ein, wenn alte Kulturen der Mutanten von neuem übertragen wurden. Durch stärkste Einwirkung der Stoffwechselprodukte wurde die Fluktuation verursacht. Sie brachte einen Verlust von Erbeinheiten mit sich. Im Gegensatz zur Mutation führte sie nicht nur zu einer, sondern zu mehreren erblich konstanten Varianten, welche eine gleichsinnige, aber verschieden starke Abänderung zeigten und hinsichtlich des Grades ihrer Abweichung vom Typus eine kontinuierliche Reihe bildeten. Drei Formen waren durch grobe Unterschiede

charakterisiert, die am wenigsten vom Typus abweichende wurde als Fluktuante I bezeichnet, die stärker abweichende als Fluktuante II, die am stärksten, also extrem abweichende als Fluktuante III. Es existieren aber in Wirklichkeit noch mehrere, für sich beständige Zwischenformen, doch sind diese nicht mit Sicherheit gleich bei der ersten Isolierung aus dem Typus voneinander zu trennen. Jede der drei Fluktuanten war bei der Weiterzucht in künstlichen Kulturen erblich konstant; auch durch eine große Zahl von Tierpassagen konnte kein Rückschlag in den Typus erzielt werden, die Fluktuation zeigte also den größten Grad der Erbllichkeit von allen Variationen.

Hinsichtlich der Entstehungsweise der Varianten war noch festzustellen, ob die verschiedenen Fluktuanten unmittelbar aus dem Typus, also sprunghaft wie die Mutante, hervorgehen, oder ob aus dem Typus zuerst die am wenigsten abweichende Fluktuante I, aus dieser die Fluktuante II und aus dieser die Fluktuante III entsteht. Mit dieser Frage befassen sich die folgenden Mitteilungen, wobei auch die Entstehung der anderen Varianten in ihrem Gegensatz zur Fluktuation eingehender berücksichtigt ist. Es soll dadurch neben den schon festgestellten Unterschieden zwischen der Fluktuation und den anderen Variationsformen die Aufstellung der Fluktuation als einer eigenen Form der Variation begründet werden. Außerdem möchte ich noch weitere Befunde über die Erbllichkeit der Fluktuation und ihren Einfluß auf die Artbeständigkeit mitteilen.

Entstehungsweise der einzelnen Variationsformen.

Die Modifikation ist in ihrer Entstehungsweise sehr einfach zu beobachten. Sie zeigt sich derart, daß im Laufe mehrerer Kulturgenerationen (Schrägagar) die Schleimbildung allmählich immer mehr abnimmt und zwar in allen Individuen der Kultur. Es handelt sich um eine im Laufe der Generationen allmählich und stetig zunehmende Hemmung von Anlagen, die bis zu einem bestimmten Endwert fortschreitet. Diese allmähliche Zunahme der Variation ist sogar in den Generationen der einzelnen Kulturen zu beobachten; denn die zuletzt entstehenden Individuen, also die am Rand des sich ausbreitenden Bakterienrasens gelegenen, sind stärker modifiziert als die ersten. Nie wird eine extrem modifizierte Form unmittelbar aus dem Typus erhalten; die Modifikation braucht eine große Anzahl von Generationen, bis sie in stetig zunehmendem Grade ihr Extrem erreicht.

Die Mutation dagegen vollzieht sich sprunghaft, doch geht ihr eine sich auf mehrere Generationen erstreckende latente Prämutationsphase voraus. Die sprunghafte Ausbildung dieser Variationsform zeigt sich bei beiden Arten der Gewinnung der Mutante. Die Mutante kann erhalten werden durch Aussaat alter Kulturen des normalen Typus. Bei dieser Art der Gewinnung wird gleich in der ersten Aussaat stets die fertige Mutante, also das Endstadium der Mutation erhalten, das sich weiterhin nicht mehr verändert. Die sprunghafte Entstehung der Mutante zeigt sich aber noch deutlicher, wenn die Mutante im Laufe einer Serie von frischen, noch im Wachstum sich befindenden Kulturen erhalten wird. Die Mutanten lassen sich nämlich, wie schon früher beschrieben, auch aus frischen Kulturen des normalen Typus gewinnen, wenn diese mehrmals nacheinander auf Schrägagar übertragen werden und im zusammenhängenden Bakterienrasen wachsen. In einer bestimmten Kulturgeneration setzt die Mutation in Form makroskopisch wahrnehmbarer Sektormutanten

ein. Diese ersten Sektoren bestehen aus Bacillenformen, welche morphologisch zwischen Typus und Mutante stehen. Derartige Uebergangsformen (cf. meine Abhandlung über Wesen und Ursache der Mutation, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. p. 405 u. Fig. 5) stellen aber keine für sich beständigen Varianten dar. Sie gelangen nur deshalb zur Beobachtung, weil in ihnen die Entwicklung der mutierenden Individuen durch die infolge Anhäufung der Stoffwechselprodukte eintretende Wachstumshemmung nicht zum Abschluß bzw. zur Bildung der nächsten Generation kommt. Bei erneuter Uebertragung wird stets das Endstadium der Mutation erreicht und nie eine Uebergangsform mehr angetroffen. Wären die Uebergangsformen auch nur für wenige Generationen beständig, so müßte man sie in der erneuten Uebertragung wenigstens in einigen Exemplaren noch vorfinden. Die Mutation (in diesem Falle eine Verlustmutation) vollzieht sich also derart, daß bei einem in Wachstum begriffenen Individuum in einem bestimmten Stadium der Entwicklung Erbinheiten inaktiviert werden. Auf diese Weise wird das entsprechende Anlageprodukt in der mutierenden Generation schon nicht mehr in normalem Umfang gebildet, ist jedoch noch in einem gewissen Grade vorhanden, soweit es eben vor Einsetzen der Mutation schon gebildet war; in der darauffolgenden Generation fehlt es aber ganz, da in dieser die betreffenden Erbinheiten schon von Anfang an latent sind. Auf diese Weise erklärt sich am besten das Vorkommen der auf eine Generation beschränkten Uebergangsformen zwischen Typus und Mutante und das Sprunghafte der Mutation.

Bei den Fluktuanten ist dagegen eine analoge Beobachtung ihrer Entwicklungsstadien nicht möglich. Denn sie können nur durch Aussaat alter Kulturen des normalen Typus gewonnen werden und gelangen dabei gleich in der ersten Aussaat in ihrem Endstadium zur Beobachtung. Deshalb schien es zunächst, daß die Fluktuanten ebenso wie die Mutante unmittelbar, d. h. ohne erblich konstante Zwischenformen aus dem Typus entstehen, was bei der extremen Fluktuante ein fast ebenso großer „Sprung“ wäre wie bei der Mutante. Gegen diese Entstehungsweise spricht aber folgendes: Wird von einer Schrägagarkultur des Typus nach einer bestimmten Zeit (7—10 Tage) eine Plattenaussaat gemacht, so erhält man meist allein die Fluktuante I, etwas später Fluktuante II und zuletzt (20—30 Tage) Fluktuante III. Nie wird Fluktuante III vor Fluktuante I oder II erhalten. Da die Ursache der Variation die Anhäufung der Stoffwechselprodukte ist, könnte man die Reihenfolge im Auftreten der Fluktuanten so erklären, daß aus Individuen des normalen Typus bei einer bestimmten Anhäufung der Stoffwechselprodukte die Fluktuante I entsteht, bei stärkerer Fluktuante II und bei stärkster Fluktuante III. Dies wäre möglich, wenn die Entstehung der Varianten allein von der Einwirkung der Stoffwechselprodukte abhängig wäre; doch sind hierbei noch zwei weitere Faktoren beteiligt, welche die obige Annahme unwahrscheinlich machen. Die Stoffwechselprodukte wirken nämlich nicht nur variierend, sondern auch wachstumshemmend; eine Variation bewirken sie aber nur bei denjenigen Individuen, welche im Wachstum begriffen sind, die also trotz der wachstumshemmenden Wirkung der Stoffwechselprodukte noch zur Proliferation gelangen. Im Latenzstadium des Wachstums befindliche Keime werden durch die Anhäufung der Stoffwechselprodukte nicht zur Variation gebracht. Dieser

innige Zusammenhang von Variation und Wachstum, aus dem sich die Variation als eine Funktion des Wachstums unter veränderten Bedingungen ergibt, läßt sich bei allen Formen der Variation feststellen. Die ausführliche Begründung hierfür ist aus den schon zitierten früheren Mitteilungen zu ersehen.

Berücksichtigen wir diese für die Entstehung der Varianten maßgebenden Bedingungen sowie die Zeit, welche für die Bildung der Fluktuanten nötig ist, so folgt zunächst, daß die Fluktuanten unter dem stärksten Einfluß der Stoffwechselprodukte entstehen; denn sie werden in den einzelnen Kulturen später als die anderen Varianten, also zuletzt erhalten. Sie entstehen demnach durch Proliferation der letzten noch wachsenden Individuen. Dabei kommt zunächst die am wenigsten abweichende Fluktuate I zur Beobachtung. Etwas später, also bei noch stärkerer Variationsursache, entsteht Fluktuate II. Auf Grund des oben Gesagten läßt sich jetzt mit größter Wahrscheinlichkeit entscheiden, ob die Fluktuate II unmittelbar aus dem Typus oder aus der Fluktuate I hervorgeht. Entstände die Fluktuate II unmittelbar aus Individuen des Typus, so müßten diese während einer gewissen Zeit, nämlich so lange, als die Bedingungen für die Bildung der Fluktuate I gegeben waren, ihr Wachstum eingestellt haben. (Sonst müßten sie in die Fluktuate I, zum mindesten in die Mutante oder in die modifizierte Form übergegangen sein. Letztere beiden kommen aber als Vorstufen der Fluktuate II nicht in Betracht, da sie, wie schon früher erwähnt, nicht zur Bildung der Fluktuate II befähigt sind.) Etwas später aber, also unter den Bedingungen des stärkeren Variationsreizes, müßten diese Individuen des normalen Typus ihr Wachstum wieder aufgenommen haben und dadurch sprunghaft in Fluktuate II übergegangen sein. Das ist aber nicht wahrscheinlich; denn mit dem stärkeren Variationsreiz hat auch die wachstumshemmende Wirkung der Stoffwechselprodukte zugenommen, und es ist nicht einzusehen, daß Zellen, die aus irgendeiner Ursache ihr Wachstum schon einmal eingestellt haben, bei Verstärkung dieser gleichen Ursache ihr Wachstum wieder aufnehmen. Aus diesem Grunde wird eine unmittelbare Entstehung der Fluktuate II und noch mehr der Fluktuate III aus dem Typus unwahrscheinlich. Es bleibt also nur die Möglichkeit übrig, daß die Fluktuate III aus der Fluktuate II und diese aus der Fluktuate I entstanden ist. Es ist auch leicht zu verstehen, daß die gleiche Generationsreihe des normalen Typus, die durch eine den Durchschnitt übertreffende Wachstumsfähigkeit unter der Einwirkung der Stoffwechselprodukte weiter gewachsen ist und dadurch zunächst zur Entstehung der Fluktuate I geführt hat, durch weitere Fortsetzung ihres Wachstums in die Fluktuate II und vom Stadium der Fluktuate II aus in die Fluktuate III übergegangen ist. Es wäre dies also eine von Generation zu Generation fortschreitende, quantitativ zunehmende Abänderung, die nicht nur auf Grund des Vergleiches der fertigen Varianten, sondern auch ihrer Genese nach als fluktuierende Variation bezeichnet werden kann.

Zur Stütze dieser Annahme mußte aber bewiesen werden, daß tatsächlich die Fluktuate III aus Fluktuate II und Fluktuate I hervorgehen kann. Es mußte also aus Reinkulturen der Fluktuate I und II die Fluktuate III gewonnen werden, denn nur in diesen war ein sprunghaftes Entstehen der extremen Fluktuate aus dem normalen Typus auszuschließen. Es wurden also zunächst die Fluktuate I und II zwei Mausepassagen unterworfen, um sie möglichst typisch und durch die künstliche Kultivierung nicht irgendwie modifiziert zu erhalten. Dann

wurden sie durch Plattenguß in einzelnen Kolonien isoliert und, nachdem sie sich als reine Linie und in den für die Fluktuante I und II typischen Eigenschaften gezeigt hatten, von einer einzeln stehenden Kolonie auf Schrägagar abgeimpft. Wie schon in der vorausgehenden Mitteilung erwähnt, gelingt es nicht oder nur höchst selten, aus Reinkulturen der Fluktanten I und II lediglich durch Stehenlassen der Kulturen und Anfertigung einer Plattenaussaat nach längeren Zeiträumen noch stärker abweichende Fluktanten zu gewinnen, wie dies beim Typus der Fall ist. Dies ist auch ohne weiteres verständlich. Denn die Fluktanten I, II und III entstehen aus dem Typus durch stärkste Einwirkung der vom Typus gebildeten Stoffwechselprodukte. Nun haben aber die Fluktanten, wie aus ihrem viel weniger üppigen Wachstum hervorgeht, einen gegen den Typus wesentlich reduzierten Stoffwechsel. Wachsen sie also in Reinkultur, so bilden sie weniger Stoffwechselprodukte als der Typus, und dadurch verliert der die Abänderung bewirkende Reiz an Intensität. Ich versuchte deshalb die Wirkung der Stoffwechselprodukte bei den Fluktanten dadurch zu verstärken, daß ich die im zusammenhängenden Bakterienrasen, also auf dem Schrägagar gewachsenen Kulturen nach verschieden langer Zeit auf einen neuen Schrägagar übertrug und dabei die auf dem ersten Nährboden gebildeten Stoffwechselprodukte (das Kondenswasser des Agars und den ganzen Bakterienrasen) auf den neuen Nährboden brachte. Dies gelang durch Anwendung steriler Glaskapillaren mit aufgesetztem Gummikäppchen ganz leicht. Diese Art der Uebertragung wurde bei den Fluktanten I und II in Serien von 7, 14 und 21 Tagen ausgeführt und vor jeder Uebertragung auf einen neuen Nährboden eine Plattenaussaat der vorhergehenden Kultur angelegt, wie schon früher bei Schilderung der Gewinnung der Fluktanten beschrieben. Schon in der zweiten Kulturgeneration wurden auf diese Weise bei sämtlichen Serien der Fluktuante I und II, also bei Uebertragung in 7-, 14- und 21-tägigen Zwischenräumen einzelne Kolonien der Fluktuante III gewonnen. Daß es sich wirklich um Fluktuante III handelte, wurde durch 6 Mauspassagen festgestellt, welche die Fluktuante III nicht in den Ausgangstypus zurückverwandeln, während die zur Kontrolle gleichzeitig Tierpassagen unterworfenen jetzt schon fast 3 Jahre lang auf künstlichem Nährboden gezüchtete Mutante des Typus schon in der 5. Tierpassage zurückschlug. Es war also tatsächlich Fluktuante III aus Fluktuante I und II hervorgegangen.

Damit war der Beweis erbracht, daß die Fluktuante III aus der Fluktuante II und I entstehen kann. Es ist dies aber nicht nur eine Möglichkeit der Entstehungsweise, sondern wohl der regelmäßige Vorgang; nicht nur die obigen Ausführungen über die Reihenfolge im Auftreten der einzelnen Fluktanten in der gleichen Kultur machen dies wahrscheinlich, sondern auch die später zu erwähnenden Beobachtungen über die progressive, d. h. umgekehrt gerichtete Fluktuation. Hieraus ergibt sich eine auch auf die Vorgänge der Modifikation gegründete Schlußfolgerung. Die Modifikation führt ebenso wie die Fluktuation zu mehreren Varianten verschiedenen Grades der gleichen Abweichung. Auch bei ihr entstehen nie die extremen Varianten durch einen Sprung aus dem Typus, sondern stets aus weniger abweichenden. Es scheint demnach, daß bei allen Variationsformen, welche zu mehreren, gleichsinnigen, aber verschieden stark abweichenden Varianten führen, die extremen Varianten nicht unmittelbar aus dem Typus entstehen, sondern durch eine allmähliche, im Laufe mehrerer Generationen fortschreitende Abänderung. Bei der Modifikation sind diese Zwischenstufen nur von

geringer erblicher Konstanz; bei der Fluktuation zeigen sowohl die Zwischenstufen als auch die Terminalform die höchste experimentell erzielbare Erbllichkeit. Die Fluktuation unterscheidet sich also von der Mutation neben ihrer bedeutend stärker ausgeprägten Erbllichkeit besonders dadurch, daß sie durch mehrere, für sich konstante Zwischenstadien, d. h. im Laufe mehrerer Generationen zu ihrer Terminalform führt.

Was die Art der Veränderung betrifft, welche das Idioplasma bei der Fluktuation erleidet, so ist aus früher schon angegebenen Gründen am wahrscheinlichsten, daß es sich bei der retrogressiven Fluktuation um einen Verlust von Anlagen handelt. Der Entstehungsmechanismus der Fluktuation wäre also folgendermaßen zu denken: Wächst eine Generationsreihe des normalen Typus unter dem schon sehr gesteigerten Einfluß der Stoffwechselprodukte weiter, so geht zunächst eine gewisse geringe Anzahl von Erbeinheiten zu Verlust. Dabei entsteht die Fluktuante I, welche für sich konstant bleibt, wenn sie in diesem Zustand isoliert und in Reinkultur, also nicht unter dem Einfluß der Stoffwechselprodukte des Typus, fortgezüchtet wird. Geht aber ihr Wachstum in der alten, vom Typus angelegten Kultur noch weiter, so werden durch Verstärkung der Variationsursache noch weitere Erbeinheiten zu Verlust gebracht, wodurch die Fluktuante II entsteht. Diese ist, wenn sie jetzt isoliert wird, ebenfalls in dem erreichten Stadium konstant. Gelangt sie jedoch in der alten Kultur zur weiteren Proliferation, so entsteht durch einen weiteren Verlust von Erbeinheiten die Fluktuante III. Diese ist die Terminalform der Fluktuation.

Erblichkeit der Fluktuation.

Es war schon erwähnt worden, daß die einzelnen Fluktuanten selbst durch den stärksten für die Widergewinnung des Typus wirksamen Reiz, nämlich durch Tierpassagen nicht in den Typus zurückverwandelt werden konnten, ja daß die stärker abweichenden Fluktuanten nicht einmal das Stadium der nächsten, weniger abweichenden Form erreichten. Bei Fluktuante I wurden 10, bei Fluktuante II 20, bei Fluktuante III bis jetzt 100 Tierpassagen (Maus) angewendet. Es zeigte sich aber doch eine deutliche Zunahme der Kapselbildung und Virulenz, die zum Teil nach einigen Agarpassagen wieder zurückging, also auf Modifikation beruhte, zum Teil aber doch erblich war. Bei Fluktuante III wurde die Frage, ob durch wiederholte Tierpassagen eine, wenn auch nur geringe, aber doch erbliche Annäherung an die Fluktuante II zu erzielen ist, näher untersucht.

Dies ließ sich durch Feststellung der Zunahme von Kapselbildung und Virulenz entscheiden. Die Virulenz stieg bei subkutaner Infektion (24-stündige Bouillonkulturen) folgendermaßen:

Fluktuante III vor Tierpassagen	0,5	Maus bleibt am Leben
nach 10. Maus	0,1	" "
	0,2	Maus stirbt in " 3 Tagen
" 18. "	0,1	" " 3 "
" 22. "	0,1	Maus bleibt am Leben
" 26. "	0,1	Maus stirbt in 2 Tagen
" 28. "	0,1	" " 36 Stunden
" 40. "	0,01	" " 48 "
" 60. "	0,01	" " 30 "
" 80. "	0,01	" " 30 "
	0,00001	" " 4 Tagen

Es war also eine erhebliche Zunahme der Virulenz durch Tierpassagen zu erzielen. Diese Zunahme der Virulenz war von einer gleichzeitigen Zunahme der Kapselbildung (Tierkörper) und Schleimbildung (bei künstlicher Kultivierung) begleitet. Doch hatte diese letztere Fähigkeit noch nicht wieder den Grad wie bei Fluktuante II (aus dem Typus isoliert, ohne Tierpassagen) erreicht.

Jetzt wurde versucht, ob die Zunahme der Virulenz eine erbliche war oder ob sie durch Züchtung außerhalb des Tierkörpers wieder zurückging. Die Kultur wurde zu diesem Zweck alle 7 Tage neu auf Agar übertragen und die Virulenz im Laufe der Agarpassagen geprüft, indem von den betreffenden Agarkulturen Bouillonkulturen angelegt und diese nach 24-stündigem Wachstum in die Maus verimpft wurden. Die Virulenz war folgende:

Nach 80. Maus unmittelbar	0,000001	Maus stirbt in 4 Tagen
„ 2. Agarpassage	0,001	„ „ „ 44 Stunden
	0,0001	Maus bleibt am Leben
„ 5. „	0,001	Maus stirbt in 52 Stunden
	0,0001	„ „ „ 72 „
„ 10. „	0,001	„ „ „ 72 „
	0,0001	Maus bleibt am Leben
„ 15. „	0,01	Maus stirbt in 72 Stunden
	0,001	„ „ „ 11 Tagen
„ 20. „	0,01	„ „ „ 24 Stunden
	0,001	Maus bleibt am Leben
„ 25. „	0,01	Maus stirbt in 50 Stunden
	0,001	„ „ „ 4 Tagen

Es geht also die durch Tierpassagen erreichte Virulenzsteigerung der Fluktuante III durch die künstliche Kultivierung zunächst zurück, bleibt aber von der 15. Agarpassage ab auf einer konstanten Höhe. Die Dosis letalis minima ist 0,001 geworden, also ungefähr 1000 mal höher als vor den Tierpassagen, jedoch nicht so hoch wie die Virulenz der Fluktuante II, bei der 0,000001 auch nach beliebig langer künstlicher Kultivierung meist in 48 Stunden tödlich ist. Auch die durch die Tierpassagen erzielte Zunahme der Kapsel- oder Schleimbildung der Fluktuante III bleibt trotz der künstlichen Kultivierung auf einem höheren Wert als vor den Tierpassagen. Die Fluktuante III hat sich also durch Anwendung einer großen Reihe von Tierpassagen sehr langsam und allmählich der Fluktuante II genähert, und zwar in erblicher Weise. Es ist dies eine progressive Fluktuation, sie findet allmählich statt. Dies ist ein weiterer Beweis dafür, daß auch die retrogressive Fluktuation stets allmählich vor sich geht.

Bei Fortsetzung der Tierpassagen wäre also zu erwarten, daß die Fluktuante III allmählich das Stadium der Fluktuante II, hierauf das Stadium der Fluktuante I erreicht und schließlich ganz in den Typus zurückgeht.

Bezugnehmend auf die theoretische Vererbungslehre müssen wir annehmen, daß bei der progressiven Fluktuation die vordem zu Verlust gegangenen Erbeinheiten allmählich wiedergewonnen werden. Es handelt sich bei der progressiven Fluktuation um die Erwerbung neuer, vererbbarer Eigenschaften (oder, wie meist formuliert, um die Vererbung erworbener Eigenschaften). Sie findet statt durch gewisse äußere Bedingungen (adäquate Reize) auf Grund einer inneren, in der Konstitution des Idioplasmas gelegenen Fähigkeit. Ist man imstande, den für die Entstehung bestimmter Anlagen adäquaten Reiz lange genug einwirken zu lassen, so kann man bei gegebener Fähigkeit des Idioplasmas, diese

Anlagen zu bilden, eine progressive Fluktuation, d. h. eine Erwerbung neuer vererbbarer Eigenschaften erzielen. Dies geht allerdings äußerst langsam vor sich, selbst wenn es sich, wie in unserem Falle, um die Bildung von Erbeinheiten handelt, welche schon einmal vorhanden waren.

Es ist also auch die retrogressive Fluktuation nicht imstande, das Artbild dauernd zu verändern, auch wenn sie von allen erzielten Variationen weitaus die größte Erblichkeit besitzt. Doch ist auf Grund der außerordentlichen Erblichkeit der Fluktuation zu schließen, daß sie ausschlaggebenden Einfluß auf die Artbeständigkeit und Artumbildung besitzt.

Zusammenfassung.

Die Fluktuation hat als eigene Form der Variabilität gegenüber der Modifikation und Mutation zu gelten. Sie tritt in unserem Falle unter bestimmten Bedingungen der künstlichen Kultivierung (stärkste Einwirkung der Stoffwechselprodukte) ein und führt zur Entstehung mehrerer gleichsinniger Varianten, die hinsichtlich des Grades ihrer Abweichung vom Typus eine kontinuierliche Reihe bilden.

Die Fluktuation zeigt von den erzielten Variationsformen den weitaus höchsten Grad der Erblichkeit. Von der Modifikation unterscheidet sie sich hauptsächlich hiedurch; von der Mutation außerdem noch durch ihre Entstehungsweise; denn die Fluktuanten entstehen nicht sprunghaft aus dem Typus, sondern durch eine allmähliche, im Laufe mehrerer Generationen zunehmende Abänderung, die zu erblichen Zwischenformen führt.

Durch eine große Reihe von Tierpassagen läßt sich eine ebenso allmählich verlaufende Wiederannäherung der extremen Fluktuante an die Fluktuante II, vermutlich bei Fortsetzung der Tierpassagen sogar völlige Rückkehr in den Typus erzielen.

Die Fluktuation bringt wahrscheinlich eine Aenderung des Idioplasmas in seiner Zusammensetzung aus einzelnen Erbeinheiten mit sich. Die retrogressive Fluktuation führt zu einem Verlust, die progressive Fluktuation zu einem Gewinn von Erbeinheiten. Durch die experimentelle Beobachtung ließ sich der Beweis erbringen, daß sowohl der Verlust als auch der Gewinn von Erbeinheiten allmählich vor sich geht, und daß hiebei nie sprunghafte Veränderungen zu beobachten sind, wie sie die Mutation, die nur zu einem Valenzwechsel von Erbeinheiten führt, verursacht.

Durch den im Vergleich zu den übrigen Variationsformen unverhältnismäßig hohen Grad von Erblichkeit bei der Fluktuation ist es wahrscheinlich gemacht, daß die Fluktuation von den bis jetzt beschriebenen Variationsformen die größte Bedeutung für die Artbildung besitzt, und daß hiefür die sprunghaft verlaufende Variationsform, nämlich die Mutation, nicht in Betracht kommt.

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur Bakterienmutation.

[Aus dem Städtischen Hygienischen Institut zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. Max Neisser).]

Von Dr. **M. Salzmann**,
früherem Assistenten am Institut.

Wir hatten Gelegenheit, aus dem Urin eines an Cystitis erkrankten Patienten bei 3 Untersuchungen, deren letzte über 3 Monate von der ersten entfernt war, ein Bakterium reinzuzüchten, das in verschiedener Hinsicht unser Interesse in Anspruch nahm.

Einmal verdient es Beachtung, weil es in langen Zwischenräumen in dem Urin einer chronischen Cystitis, und zwar fast immer in Reinkultur gefunden wurde; diese Cystitis widerstand allen therapeutischen Bemühungen. Im Zusammenhang damit sei erwähnt, daß das Bakterium für Kaninchen ziemlich giftig war, so daß bei der Immunisierung mehrere Tiere eingingen. Weiterhin war das morphologische Verhalten des Bakteriums nicht ohne Interesse. Während es nämlich im Urin ein langes, häufig auch zu Fäden ausgewachsenes Stäbchen darstellte, wurde es bei der Kultur auf festen Nährböden in wenigen Passagen so kurz, daß man an ein kokkenartiges Gebilde denken konnte. Bei der Rückverpflanzung auf Urin war dann immer wieder die starke Verlängerung der Bakterien festzustellen.

Auch bezüglich der Beweglichkeit zeigte das Bakterium Besonderheiten. Bei frischer Züchtung aus dem Urin war die Beweglichkeit außerordentlich groß, „mückenschwarmartig“. Bei der Züchtung auf festen Nährböden verlor sich die Beweglichkeit innerhalb weniger Passagen vollständig und blieb dauernd verschwunden. Es genügte aber die Rückverimpfung auf Urin und Herauszüchtung auf festen Nährboden, um wieder stärkste Beweglichkeit zu erhalten, die man wiederum durch wenige Passagen zum Verschwinden bringen konnte. Wir konnten auch die Beweglichkeit sich unter unseren Augen wiederherstellen sehen, als hängende Tropfen aus schwachsaurer Bouillon, in der die Bakterien gewachsen waren, angelegt wurden. Die ganz geringe Beweglichkeit wurde innerhalb 6 Stunden in diesen hängenden Tropfen eine geradezu maximale. Trotz verschiedener Versuchsvariationen konnten wir diese Erscheinung nicht aufklären.

Hauptsächlich aber hat uns das Bakterium in allgemein biologischer Beziehung durch seine Kolonief orm interessiert. Seit den Veröffentlichungen von M. Neisser und Massini (*Bacterium coli mutabile*) ist ja auf dem Gebiete der Bakterien und der Protozoen eine Reihe von Erscheinungen beschrieben worden, welche als Mutationen bezeichnet worden sind. Es hat sich daraus gelegentlich eine Erweiterung des Begriffes der Mutation ergeben, welche es fraglich erscheinen läßt, ob diese Bezeichnung heute noch zweckmäßig ist. Dementsprechend sind auch andere Bezeichnungen von verschiedenen Autoren gebraucht worden, von denen wir hier nur den Ausdruck „Dauermodifikation“ von

Jollos¹⁾ erwähnen wollen. Dieser Ausdruck erscheint auf den ersten Blick deshalb zweckmäßig, weil er zum Ausdruck bringt, daß es sich dabei um eine Veränderung des ursprünglichen Zustandes handelt, welche nicht nur so lange andauert, als die besonderen Umstände einwirken, sondern welche bestehen bleibt, auch wenn der die Veränderung bewirkende Reiz aufgehört hat. Für das Neisser-Massinische Phänomen aber trifft dieser Ausdruck nicht den Kernpunkt. Denn die von diesen Autoren beschriebene Erscheinung zeigte einen scheinbar plötzlichen, unvermittelten Uebergang einer Wuchsform in eine andere, der, wenn einmal eingetreten, von außerordentlicher Konstanz war. Das scheinbar sprunghafte Auftreten der „Dauermodifikation“ war also das Wesentliche an der Neisser-Massinischen Mitteilung. Eben dieser plötzlichen Umwandlung wegen wählten die Autoren die de Vriessche Bezeichnung Mutation. Freilich trifft der Vergleich mit der de Vriesschen Mutation nicht vollständig zu, denn diese ist „richtungslos“, d. h. ohne nachweisbare oder übersehbare Reize hervorgerufen, während Neisser-Massini ihre Erscheinung nur auf milchzuckerhaltigen Nährböden sahen und mit dem Milchzucker in Beziehung setzten. Ferner fehlt natürlich bei den Bakterien der geschlechtliche Charakter, so daß hier nach de Vries höchstens von vegetativer Mutation gesprochen werden könnte.

Unser Bakterium zeigt eine noch weiter gehende Analogie zu der de Vriesschen Mutation, dadurch weitergehend, daß die sprunghafte Entstehung der „Dauermodifikation“ scheinbar richtungslos, d. h. ohne erkennbaren Reiz, vor sich geht, und daß diese Dauermodifikation scheinbar wahllos, in ganz vereinzelt Exemplaren, auftritt. Und doch ist auch hier die Erscheinung eine stets sich in gleicher Weise wiederholende, also gesetzmäßige. Die Erscheinung deckt sich nicht absolut mit dem der Darwinschen Sports, den de Vriesschen Mutanten, bei denen aus einer gleichmäßigen Art heraus nur ein einziges Individuum abweichende Eigenschaften gewinnt und diese dann streng vererbt, ohne je in den Urtypus zurückzufallen. Es liegt aber in der Natur der Sache, daß derartige Sports, falls sie überhaupt bei Bakterien vorkommen, kaum je zum Gegenstand exakter Untersuchungen werden können, da beim einmaligen Auftreten einer „neuen Rasse“ immer zuerst an Verunreinigungen wird gedacht werden müssen und das Ausbleiben von Wiederholungen dieser Mutation eine Kontrolle der Beobachtung und Ausschließen der Fehlerquellen verbietet.

Da die Mutation im strengen de Vriesschen Sinne bei Bakterien demnach nie nachgewiesen, sondern höchstens theoretisch gefordert werden kann, glauben wir, diesen prägnantesten Ausdruck für die von uns beobachtete Erscheinung ebenso wie für das Neisser-Massinische Bacterium coli mutabile aufrecht halten zu sollen. Wir bezeichnen also als „Bakterienmutation“ einen Vorgang, bei dem ein Bakterium in einzelnen Exemplaren durch bekannte oder unbekannte Ursachen scheinbar plötzlich, sprunghaft, eine neue Eigenschaft gewinnt und diese für lange Zeit, vielleicht für immer, festhält. Daß diese Mutation eine „vegetative“ ist, brauchen wir nicht mehr besonders zu betonen. Wenn wir im folgenden von Mutation sprechen, so ist natürlich nur an die vegetative Mutation, also eine ohne geschlechtliche Vorgänge

1) Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre. Bd. 12. 1914. p. 14.

sich abspielende Erscheinung gedacht. Die von uns gegebene Definition der „Bakterienmutation“ deckt sich ziemlich genau mit der von Tönniessen als „Fluktuation“ bezeichneten Erscheinung. Wir glauben aber mit Eisenberg, bei der an sich schon verworrenen Nomenklatur lieber auf diesen neuen Begriff für eine alte Sache verzichten zu sollen. Für die Bakteriologie genügen zurzeit die Begriffe Modifikation, Dauermodifikation und Mutation.

Das uns zur Untersuchung eingesandte Material enthielt gramnegative Stäbchen, die ausnahmslos zu langen Fäden ausgewachsen waren, wie man es in colihaltigem Urin gelegentlich zu Gesicht bekommt.

Auf den vom Urinsediment angelegten Agarplatten entwickelten sich kleinste, runde, farblose Kolonien, die erst am 2. Tage der Bebrütung die Grenze der Erkennbarkeit bei Lupenbetrachtung überschritten. Wir fanden in ihnen die gramnegativen Stäbchen des Originalmaterials wieder, die allerdings nicht mehr deutliche Fadenbildung aufwiesen. In der Bouillon zeigten sie sich lebhaft beweglich. In den nächsten Tagen traten nun auf den Platten zwischen den beschriebenen kleinen Kolonien, die anfangs in Reinkultur vorhanden gewesen waren, einzelne Kolonien von gänzlich anderem Typus auf. Sie waren ziemlich groß, auffallend flach, von graugelblicher Farbe und trüber Oberfläche und wuchsen in 1—2 Tagen zu einem Durchmesser von über einem Centimeter aus. Selbstverständlich hielten wir sie für belanglose Verunreinigungen, die sich bei dem Öffnen der Platten eingeschlichen hatten. Unser Interesse an ihnen wurde erst rege, als wir genau dieselbe Kolonieform in den von den kleinen Kolonien auf Schrägagar angelegten Reinkulturen sich entwickeln sahen, auch hier wieder 2—3 Tage nach dem Auftreten der kleinen Kolonien.

Neue Plattensätze, die wir von den scheinbaren Mischkulturen anlegten, und neue Reinzüchtungen der kleinen Kolonie hatten immer (36mal) dasselbe Ergebnis: Nach 2—3 Tagen Auftreten von großen, flachen, trüben, gelblichgrauen Kolonien.

Es möge ausdrücklich betont sein, daß zur Erzielung der hier beschriebenen Erscheinungen sehr gute Plattensätze notwendig sind, d. h. also, es müssen Plattensätze entstehen, auf denen lauter isoliert wachsende Kolonien vorhanden sind. Nur dann wird man die ganz vereinzelt größeren neben den vielen kleinen Kolonien gut beobachten können. Ich habe zum Plattenausstreichen mich ausschließlich des M. Neisserschen Verfahrens bedient, das unzweifelhaft gleichmäßigere Ausstriche liefert, als der Ausstrich mit der Oese.

Diese großen Kolonien, wir wollen sie zum Unterschied von den kleinen, die wir in der Folge als „k“ bezeichnen, „K“ nennen, setzten sich aus Individuen zusammen, die sich von denen der Kolonie k in keiner Weise unterschieden. Auch hier handelte es sich um gramnegative Stäbchen, die in der Beweglichkeit, der Fadenbildung unter gewissen Bedingungen, dem morphologischen Habitus und endlich im Verhalten gegen ein mit ihnen gewonnenes Immunserum absolut denen der Kolonie k glichen.

Der einzige Unterschied beruht eben in der Form der Kolonie, resp. ihrer Wachstumsgeschwindigkeit, hier kleinste, farblose, durchsichtige, erst am 2. Tage erkennbar wachsende, immer isoliert stehende Kolonien (k), dort große, flache, trübe, graugelbe (K), die schon in 8—10 Stunden

einen dichten, konfluierenden Rasen bilden. Während die kleinen in der Größe Streptokokkenkolonien glichen und nie einen Durchmesser über $1\frac{1}{2}$ mm erreichten, was erst nach ca. 10-tägigem Wachstum der Fall war, brachte es die Form K in 1—2 Tagen zum 10-fachen Durchmesser der maximalen Größe der Kolonie k.

Die Unterschiede von k und K waren auf allen zur Verwendung kommenden Nährböden, mit Ausnahme von Ascitesagar, auf dem auch k fast ebenso üppig wie K, wenn auch etwas langsamer, wuchs, äußerst prägnant. Eine besonders auffallende Differenz beobachteten wir auf den Gelatinegußplatten. k war klein, rund, leicht gelblich gefärbt und sehr fein granuliert, K sehr grob, aus derben, braungelben Schollen zusammengesetzt, die wie eine Handvoll grober Kieselsteine beieinanderlagen, so daß die Peripherie der Kolonie ganz unregelmäßig und von tiefen, scharfwinkligen Vorsprüngen und Einbuchtungen gebildet war. Daneben zeigten sich härchen- oder fädchenartige Ausläufer, die besonders bei jungen Kolonien auffielen. Brachte man diese Formen wieder auf Agar, so entwickelte sich hier wieder die typische Kolonie k oder K, genau dem zur Gelatineplatte verwendeten Ausgangsmaterial entsprechend. Dasselbe trat auch beim Abimpfen von der Ascitesagarplatte ein, auf der, wie gesagt, eine deutliche Differenz von k und K nicht in Erscheinung trat. Die Entwicklung der Form K aus k auf der Agarplatte ließ sich nach ihrem Vollzug immer noch feststellen, genau in der Mitte einer großen Kolonie markierte eine nabelförmige, runde Erhebung den Sitz der ursprünglichen Kolonie k als den Ausgangspunkt der großen Form K. Wurde die Kolonie K direkt aus K weitergezüchtet, so fehlte diese Erhöhung im Zentrum. Die Entwicklung erfolgte außerdem mit absoluter Konstanz, und zwar auf allen zum Versuch herangezogenen Nährmedien, die unten im einzelnen aufgeführt sind. Als einzige Ausnahme konnten wir das regelmäßige Ausbleiben der Mutation bei Züchtung im Urin feststellen. Wir hatten erwogen, ob eine Rückführung der Kolonie K in k nicht unter den dem klinischen Fall möglichst entsprechenden Bedingungen zu erreichen wäre und hatten dies durch Züchtung in Urin, der amphoter reagierte und Spuren von Eiweiß enthielt, zu erzwingen gesucht. Wie wir unten sehen werden, ist uns das nicht gelungen, wenn auch gutes Wachstum erfolgte; dagegen blieb in diesem Medium die kleine Kolonie k klein und mutierte auch in 4-monatigen Kulturen niemals.

Um den Zeitpunkt des Mutationsbeginnes festzustellen, gingen wir so vor, daß wir einzelne Kolonien k auf Schrägagar abimpften und diese Kulturen nach verschiedener Wachstumsdauer mit der Platinöse in sich verrieben. War nun eine der kleinen Kolonien eben im Beginn der Mutation begriffen, während wir sie über die ganze Agarfläche ausbreiteten, so mußte sich nach 24 Stunden weiterer Bebrütung eine Aussaat von K-Kolonien über das ganze Röhrchen finden, während in den Kulturen, in denen der Anstoß zur Mutation noch nicht die Reizschwelle überschritten hatte, als die Verreibung erfolgte, nur an einzelnen Stellen große zwischen den kleinen Kolonien gelagert waren, eben da, wo sie im zweiten Bebrütungsintervall sich entwickelt hatten. Dieser Versuch ergab, daß der Eintritt der Mutation frühestens nach $30\frac{1}{2}$ Stunden erfolgte, in wenig Stunden längerer Zeit war auch schon an manchen Röhrchen makroskopisch die Entwicklung einzelner großer Kolonien

festzustellen, wodurch ein Verreiben zur Fixierung der Bildungszeit natürlich überflüssig wurde.

Dagegen setzte erst das Vertrocknen des Nährbodens der Bildung neuer Mutanten eine zeitliche Grenze nach oben. Sie traten in rasch zunehmender Zahl auf jeder Platte auf, sobald einmal eine erste entstanden war. So zählten wir z. B. auf einer mit kleinen Kolonien dicht bewachsenen Platte an einigen aufeinanderfolgenden Tagen erst 4, dann 4, 5, 9, 13, 14, 21, 22, 24 große Formen.

Daß eine Verunreinigung uns getäuscht haben sollte, ist auszuschließen. Einmal genügen wohl 36 direkt aufeinanderfolgende Reinzüchtungen durch Plattensatz, die wir vornahmen, und die alle nach einigen Tagen das Auftreten der großen Form K zur Erscheinung brachten, während anfangs nur eine Reinkultur kleiner Kolonien vorzuliegen schien, auch für den kritischsten Beurteiler; zum andern ist die Wesensgleichheit der beiden Formen auf dem Wege der Agglutination zweifelsfrei erwiesen. Ein Immunserum gegen Kolonie k agglutiniert k in der Höhe 1:100 +, 1:200 schwach, K 1:400 +; ein von K gewonnenes Immunserum zeigte sich gegen k noch in einer Verdünnung von 1:3200, gegen K in einer Verdünnung von 1:1600 wirksam. Der Komplementbindungsversuch gab leider keine verwertbaren Resultate, da es uns nicht gelang, genügend wirksame Bakterienextrakte herzustellen.

So interessant diese Erhebungen an sich schon waren, so begegneten wir noch einem anderen unerwarteten Befund. Nach Analogie der großen Zahl ähnlicher Beobachtungen, bei denen in sicheren Reinkulturen verschiedene mehr oder weniger auffallend voneinander verschiedene Kolonieförmigkeiten beobachtet wurden, mußten wir eine Rückbildung der Form K in k ziemlich bestimmt erwarten. Aber diese Erwartung zeigte sich in der Folge als irrig. Es ist uns nie und unter keiner der gewählten Versuchsbedingungen gelungen, eine Rückbildung der Kolonie K in k zu erreichen. Vielmehr blieb die Form K bei der Weiterzüchtung absolut konstant, mochten wir sie unter den denkbar günstigsten Bedingungen halten oder Schädigungen aussetzen, die ihr Wachstum oder sogar ihre Lebensfähigkeit bedrohten, immer konnten wir bei weiterer Züchtung nur wieder die große Form K erhalten.

Wir haben die Kultur täglich auf die verschiedensten Nährböden übertragen; wir beobachteten sie auf Agar, Endo-Agar, Ascitesagar, Loeffler-Serum und Gelatine, in Bouillon, Milch, Peptonwasser, Lackmusmolke, Urin und Galle; wir haben dem Nährboden Desinfizientien bis zur Wachstumsgrenze des übertragenen Keimes zugesetzt (z. B. Alkohol bis zu 10 Proz. die verschiedensten Farbstoffe), wir variierten den Säure- und Alkaleszenzgrad des Nährmediums ebenfalls bis zu Graden, bei denen die Entwicklung aufhörte, hielten die Kulturen bei Temperaturen bis zu 45° C mehrere Tage lang, wochenlang im Eisschrank, bei Zimmertemperatur und bei 37° C, immer zeigten die Plattensätze der vorbehandelten Kulturen ausschließlich die eine Kolonie K. In 50 direkt aufeinanderfolgenden Reinzüchtungen hatten wir Gelegenheit, nicht nur die Kolonien einzeln, weit auseinanderstehend aufs eingehendste zu beobachten, sondern auch die Einwirkung dieser großen Reihe von Agar-

passagen zu studieren, doch konnten wir im ganzen Verlauf der Untersuchung keine Andeutung eines Rückschlags zur Form k feststellen. Am ehesten durften wir nach den Erfahrungen anderer Autoren einen solchen Rückschlag in alten Kulturen erwarten, doch ist uns auch hier nie etwas derartiges begegnet, trotzdem wir unser Augenmerk darauf richteten und immer wieder eine große Zahl von Plattensätzen aus alten Kulturen anlegten. Solange sich diese überhaupt noch fortpflanzungsfähig erwiesen, was bis zu einem Alter von 4 Monaten der Fall war, trat nie ein Rückschlag auf¹⁾.

Wir haben es also mit einer, soweit die Beobachtung reicht, durchaus konstanten Form zu tun, die sich aus einer anderen fest definierten entwickelt hat. Aehnliche Erscheinungen haben neuerdings Wolf²⁾, Eisenberg³⁾, Toenniessen⁴⁾ und Beijerinck⁵⁾ beschrieben. Die weitestgehende Aehnlichkeit findet sich in einer Arbeit von Jacobsen⁶⁾, der einen interessanten Typhusstamm beschrieben hat. Jacobsen konnte auch durch veränderte Wachstumsbedingungen die Verschiedenartigkeit der Kolonien aufheben. Das ist auch uns, wie erwähnt, auf Ascitesagar gelungen, aber nur scheinbar, da die auf Ascitesagar scheinbar gleichen Kolonien sich bei Weiterzüchtung auf Agar und Gelatine als verschieden erwiesen.

Es kann nach allen diesen Befunden keinem Zweifel mehr unterliegen, daß aus sicheren Reinkulturen bei bestimmten Züchtungen neben der Hauptmasse der gleichartig wachsenden Keime eine gewisse Anzahl verändert wachsender Keime hervorgehen, deren veränderter Zustand nicht mehr zum Typus der Hauptmasse zurückschlägt. Mit dieser Veränderung der Wachstumsform können auch andere Veränderungen verknüpft sein, wie es Jacobsen bezüglich Agglutinabilität beschrieben hat. Unser Bakterium zeigte ebenso, wie das Neisser-Massinische keine nachweisbaren Veränderungen bezüglich der Agglutination. Die Bedingungen für die Entstehung dieser Veränderungen sind teils im Experiment feststellbar (wie Neisser-Massini, Jacobsen), teils für uns noch völlig unübersehbar, wie in unserem Falle.

Ueber die anderen kurz erwähnten Eigentümlichkeiten unseres **Bacterium mobile mutans**, wie wir es nennen wollen, geben wir hier eine schematische Uebersicht.

Kulturelles Verhalten:

Beide Kolonien, die große ebenso wie die kleine, setzten sich aus gramnegativen Stäbchen zusammen, die anfangs ziemlich lang waren, bei der Züchtung aber in allen Nährmedien, mit Ausnahme des Urins, und bis zu einem gewissen Grade der Bouillon in wenigen Generationen sich extrem verkürzten, so daß man sie in den Präparaten für Kokken halten konnte und nur ganz vereinzelte Individuen noch längsovale Form zeigten. Zugleich nahm die anfangs geradezu mückenschwarmartig lebhafte Beweg-

1) Erwähnen müßten wir höchstens eine Art Knopfbildung, die sich bei älteren Kulturen am Rand wie in der Mitte einstellte. Die Knöpfe waren farblos durchscheinend, klein und rund, glichen in ihrem Habitus ungefähr einer Kolonie k, doch lieferten die von ihnen angelegten Plattensätze immer ausschließlich wieder die Form K. Man darf sie also sicher nicht als Rückschläge zur Ausgangsform deuten.

2) Zeitschr. f. ind. Abstammungs- u. Vererbungslehre. Bd. II. 1909.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. p. 449.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. p. 241.

5) Folia microbiol. I. 1912.

6) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. p. 208.

lichkeit rasch ab und wich einer fast absoluten Unbeweglichkeit. Wurden die Kulturen aber wieder auf Urin gebracht, so streckten sich die Kügelchen und Körnchen im Verlauf von einer, höchstens zwei Passagen wieder zu mehr oder weniger langen Fäden, die oftmals Einschnürungen und Septierung zeigten und in der Folge rasch wieder zu mittellangen Stäbchen zerfielen. Zugleich stellte sich eine träge Beweglichkeit ein, die sich nach der Ueberimpfung auf einen der gebräuchlichsten Nährböden wieder zu äußerst lebhaften Durcheinanderschwärmen verwandelte.

Wachstum erfolgt gut bei 22°, am besten bei 37°.

Beide Individuen, die der kleinen wie der großen Kolonie, tragen gut entwickelte, mittellange Geißeln (2—4?)

Kleine Kolonie.

Agar: Bis stecknadelkopfgroße, kreisrunde, glashelle Kolonien, die erst am zweiten Tage eine Größe erreichen, die ihre Feststellung mit der Lupe gestattet. Umwandlung in die große erfolgt frühestens nach 30 Stunden, setzt sich aber fort solange die Platten nicht zu sehr austrocknen und die Kolonien absterben. Es finden sich z. B. auf einer Agarplatte mit unzähligen kleinen Kolonien am 3. und den folgenden Tagen 4, dann 5, 9, 13, 14, 21, 22, 24 große Kolonien. Mit schwacher Vergrößerung sind die Kolonien sehr fein granuliert und werden im Alter etwas trüber und leicht grau.

Endoagar: Wie auf Agar, kein Fuchsinglanz.

Ascitesagar: Schon am 1. Tage breite, flache Kolonien, die weder in der Größe noch in der Form von den großen sicher zu unterscheiden sind. Geringe, gleichmäßige, kleine Granulationen in der Mitte. Die Kolonien sehen feucht aus.

Löfflerserum: Wachstum etwas üppiger als auf Agar. Die höchste erreichte Größe übersteigt das beim Agar übliche Maß um eine Kleinigkeit. Keine Verflüssigung.

Traubenzuckeragar, Schüttelkultur: Anaerobes Wachstum, Gasbildung sehr geringen Grades oft erst vom 2. Tage ab.

Milchzuckeragar, Schüttelkultur: Fakultativ anaerobes Wachstum, keine Reduktion des zugesetzten Neutralrots, geringe Gasbildung, oft erst am 2. Tage.

Milch: Nicht geronnen.

Bouillon: Gutes, diffus trübes Wachstum ohne Bodensatz.

Lakmusmolke: Am 1. Tage schwach gerötet, vom 2. an leicht gebläut.

Peptonwasser: Indolbildung vom 2. bis 3. Tage an, nach 8 Tagen sehr stark.

Gelatinestich: Keine Verflüssigung, deutliches Wachstum erst vom 3.—4. Tage ab, aerob und anaerob, an der Oberfläche leicht flächenförmig. Nach ca. 8 Tagen im Stich flaschenbürstenartig.

Große Kolonie.

Bis über 1 cm im Durchmesser große, sehr flache, trüb gelblich-graue Kolonien mit deutlich feingranuliertem Zentrum. Häufig, aber nicht regelmäßig tragen sie eine etwas flachere Randzone. Die Umgrenzung ist leicht gewellt, im allgemeinen, aber nicht ganz regelmäßig kreisrund. Die Granulierung im Zentrum trägt in älteren Exemplaren deutlich scholligen Charakter. Sie besteht aus Sekundärkolonien in der Tiefe des Nährbodens. Gelegentlich finden sich um die Kolonien ausgestreut kleinere Kolonien, die weiter verimpft, genau der großen Mutterform entsprechen. Das Bild dieser Streukolonien erinnert an Proteus.

Wie auf Agar, kein Fuchsinglanz.

Kaum ausgeprägtere Schollenbildung als auf Agar, so daß eine Unterscheidung von der kleinen Form nicht möglich ist, sonst genau dieser entsprechend. Vielleicht etwas üppigeres Wachstum.

Gutes Wachstum, keine Verflüssigung.

Genau wie kleine Kolonie.

Genau wie kleine Kolonie.

Nicht geronnen.

Genau wie kleine Kolonie.

Genau wie kleine Kolonie.

Genau wie kleine Kolonie.

Gutes Wachstum vom 1. Tage ab. Aerob flächig, anaerob nach einigen Tagen ausgeprägte Flaschenbürstenform.

Gelatineplatte: Kleine, runde, bräunliche Kolonien, die erst am 2.—3. Tage zu sehen sind, leicht granuliert. Uebergang in die großen erfolgt erst nach ca. 8 Tagen. Dabei werden die Kolonien in der Form unregelmäßig, der Rand wird zerklüftet, sieht wie mit Härchen und Fädchen besetzt aus, das Zentrum verwandelt sich in grobe Schollen.

Urin amphoter: Gutes Wachstum, keine Mutation.

Galle: Gutes Wachstum.

Am 1. Tage zeigen sich kleine, braune, unregelmäßig geformte Kolonien, die am Rande härchenartige Gebilde tragen. Sie wachsen in wenigen Tagen zu Kolonien aus, die sich vollkommen aus sehr groben Schollen zusammensetzen und sehr rasch wachsen. Die Härchen an der Peripherie bleiben bestehen.

Gutes Wachstum.

Gutes Wachstum.

Zusammenfassung.

Das im Urin eines Cystitiskranken im Laufe mehrerer Monate wiederholt gefundene **Bacterium mobile mutans** zeigt folgende Eigentümlichkeiten:

1) Auf Plattensätzen entstehen nach einigen Tagen unter vielen „kleinen“ Kolonien einzelne, ganz abweichende „große“.

2) Sind diese großen Kolonien erst einmal entstanden, so sind sie weiterhin dauernd in derselben Form überimpfbar. Sie entwickeln sich dann innerhalb eines Tages.

3) Wir haben niemals einen Rückschlag von „großen“ Kolonien in die „kleinen“ gesehen, aber unter allen Umständen die in Punkt 1 beschriebene Mutation einzelner „kleinen“ Kolonien in die „großen“, mit Ausnahme der Züchtung in Urin.

4) Die Unterschiede zwischen großer und kleiner Kolonie sind auf allen verwendeten festen Nährböden sehr deutlich. Nur auf Ascitesagar waren keine sicheren Unterscheidungsmerkmale vorhanden. Doch zeigte es sich, daß bei der Abimpfung innerhalb 24 Stunden auf andere Nährböden immer wieder der Typus allein auftrat, der auf der Ascitesplatte ausgesät worden war.

5) Die Mutation beginnt frühestens nach 30 $\frac{1}{2}$ Stunden.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über latente Infektion der Leber und Milz tuberkulöser Schlachtrinder; ein Beitrag zur fleischbeschaulichen Beurteilung tuberkulöser Tiere.

Von Dr. med. vet. **Hans Mittel.**

Ein Rückblick auf die Arbeiten, welche auf dem Gebiete der Pathologie in den verflossenen 50 Jahren geleistet wurden, zeigt, daß wohl keine Krankheit einen größeren wissenschaftlichen Wettkampf hervorgerufen hat, als die Tuberkulose. Keine Krankheit steht mit ihr auf gleicher Stufe in der Bedeutung sowohl für die öffentliche Gesundheitspflege als auch für die Viehzucht. Sie bildet die größte und wohl nie auszurottende Kalamität unserer Zuchtbestände, insbesondere der Rinder und den häufigsten Krankheitsbefund bei der Fleischbeschau. Das besondere Interesse, das die tuberkulöse Erkrankung unserer Haustiere für den Menschen erweckt hat, liegt in der Möglichkeit und der Gefahr einer Uebertragung der Tuberkulose vom Tier auf den Menschen, namentlich durch den Genuß von Fleisch tuberkulös erkrankter Schlachttiere.

Mit der im Jahre 1865 erfolgten Entdeckung Villemins, daß Kaninchen, welche mit tuberkulösem Material von an Phthisis gestorbenen Menschen und mit Perlsuchtmaterial — damals allgemein als Franzosenkrankheit bezeichnet — subkutan am Ohr geimpft wurden, jedesmal die gleichen Veränderungen zeigten, war der ehemaligen Annahme, daß die Perlsucht einen unreinen venerischen Charakter trage, die Spitze gebrochen. Es wurde vielmehr hiermit die schon 30 Jahre vorher vielfach geäußerte Vermutung bestätigt, daß es sich um eine der Tuberkulose des Menschen identische Krankheit handle.

Außer der Impfung mit tuberkulösem Material war es auch durch Verfütterung tuberkulöser Organteile von Menschen, Rindern und Schweinen gelungen, eine tuberkulöse Erkrankung der Versuchstiere zu erzeugen. So waren hiermit Tatsachen gegeben, die für die Uebertragungsmöglichkeit der Tuberkulose des Menschen auf das Tier und vom Tier zu Tier sprachen. Umgekehrt kam man zu dem Schlusse, daß die Tuberkulose des Tieres auch auf den Menschen übertragen werden könne. Die positiven Ergebnisse der Fütterungsversuche mit tuberkulösen Organanteilen von Mensch und Rind bei den Versuchstieren machten die Frage aktuell, ob auch durch den Genuß von Fleisch tuberkulöser Tiere eine Uebertragung der Tuberkulose statthaben kann.

Gerlach (7) fütterte zur Lösung dieser bedeutenden Frage Muskelfleisch hochgradig tuberkulöser Tiere mit Einschluß von Bindegewebe, Fett, Blut- und Lymphgefäßen und Lymphknoten an Schweine, die fast sämtlich tuberkulös erkrankten.

Auf Grund der positiven Ergebnisse hielt Gerlach das Fleisch tuberkulöser Tiere für unbedingt infektiös.

War das Fleisch mit sogenannter Franzosenkrankheit behafteter Tiere wegen seines unreinen und damals vermeintlichen venerischen Charakters vom Genuß für den Menschen schon geraume Zeit vorher ausgeschlossen, so forderte nun Gerlach neuerdings die volle Beseitigung tuberkulöser Schlachttiere, allerdings auf Grund anderer Gesichtspunkte, als solche vor der Entdeckung Villemins noch größtenteils gegeben waren.

Die Forderung Gerlachs, das Fleisch aller tuberkulös erkrankten Tiere als untauglich für den Genuß des Menschen zu beseitigen, bedeutete einen schweren Verlust für die Landwirtschaft und für das Nationalvermögen. Eine Unmenge von bestgenährten Tieren mit geringgradiger lokaler und bedeutungsloser tuberkulöser Erkrankung auch nur eines Organes hätte auf Grund dieser Maßnahme dem Konsum verloren gehen müssen. Den Fütterungsversuchen Gerlachs standen andererseits auch viele negative Resultate gegenüber. Nicht außer acht zu lassen war der Einwand, daß Milch und Fleisch tuberkulöser Tiere jahrelang fast ausschließlich ohne Nachteil vom Menschen genossen wurden. Unter Berücksichtigung dieser Punkte und im Hinblick auf die begrenzte Entwicklung und das erfahrungsgemäße langsame Fortschreiten des tuberkulösen Prozesses kam Gerlach deshalb selbst zu dem Schlusse, daß erst bei gewissen Anzeichen und bei einem besonderen Grad der tuberkulösen Erkrankung eine Schädlichkeit des Fleisches anzunehmen sei.

Eine neue Aera für die Tuberkuloseforschung begann mit der Entdeckung des Tuberkelbacillus durch Robert Koch im Jahre 1882. Allmählich wurde man auf Unterschiede zwischen der Tuberkulose des Menschen und der Tuberkulose der Haustiere aufmerksam. Eine Impfung mit Reinkulturen menschlicher Herkunft auf Rinder verursachte entweder gar keine oder nur geringe tuberkulöse Veränderungen, während eine Impfung mit Reinkulturen aus dem Rinde stammend den Tod oder eine hochgradige Erkrankung der Versuchstiere zur Folge hatte (Frothingham und Dinwiddie 1896, Smith 1898). Demnach konnte auch Smith zwei verschiedene Varietäten ein und derselben Art, einen Typus humanus und einen Typus bovinus aufstellen. Smith vertritt die Anschauung, daß der menschliche Tuberkelbacillus unfähig sei, im Rinderkörper festen Fuß zu fassen, wohl aber sei die Vermutung berechtigt, daß der Bovinebacillus infolge seiner stärkeren Pathogenität auf den Menschen übergehen könne. Ferner wiesen Koch und Schütz auf dem Tuberkulose-Kongreß zu London 1901 auf die Unterschiede der Tuberkulose des Menschen und der des Tieres hin. Man fand mehr und mehr Unterscheidungsmerkmale und vermochte die Tuberkelbacillen des Rindes von denen des Menschen durch deutliche morphologische, kulturelle und tierpathogene Eigenschaften zu trennen.

Mit der Feststellung über das verschiedenartige kulturelle und tierexperimentelle Verhalten des Typus humanus und Typus bovinus waren greifbare Mittel gegeben, um aus den tuberkulösen Veränderungen der an Phthisis gestorbenen Menschen nachzuweisen, ob lediglich der Typus humanus vorliegt oder ob die tuberkulöse Erkrankung des Menschen auf den Typus bovinus zurückzuführen war.

Robert Koch züchtete bereits zur Prüfung dieser Frage aus den Darmlymphknoten des Menschen Tuberkelbacillen, weil hier eine Ansteckung durch Fleisch und Milch tuberkulöser Rinder am ehesten anzunehmen war, und überimpfte die gewonnene Kultur auf Rinder. Seine Versuche fielen negativ aus; es trat eine tuberkulöse Erkrankung der für den Typus bovinus sehr empfänglichen Versuchstiere nicht ein. Auf Grund dieser negativen Versuche kam Robert Koch zu dem Schlusse, daß die Ansteckungsgefahr durch den Genuß von Milch und Fleisch tuberkulöser Tiere für den Menschen nicht überschätzt werden dürfe.

Eine Anzahl von Forschern nahm gegen die Kochsche Lehre Stellung und prüfte, ob der von Robert Koch aufgestellte Satz ganz zu Recht besteht, oder ob doch mehrfach Fälle von Tuberkulose des Menschen gegeben seien, die den Charakter der Tuberkulose des Rindes tragen.

In der Tat gelang es auch beim Menschen mehrfach, den Typus bovinus festzustellen. Damit war neuerdings der sicherste Beweis erbracht, daß wirklich eine Uebertragung der Tuberkulose des Rindes auf den Menschen stattfinden kann.

Nach Cornet und Kossel (8) wurde bei einer Gesamtzahl von 290 Untersuchungen 120mal der Typus bovinus beim Menschen konstatiert, wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist.

Formen der Erkrankung	Gesamtzahl der untersuchten Fälle	Gezüchtet wurden Kulturen des			Prozentzahl der Fälle mit Typus bovinus E = Personen über 16 Jahre K = Personen unter 16 Jahren
		Typus humanus	Typus bovinus	Typus gallinaceus	
Lungentuberkulose	732	728	4	1	E = 0,56 Proz. K = 0 "
Tuberkulose der Knochen und Gelenke	98	94	5	—	E = 7 " K = 4,3 "
Meningitis tuberculosa	32	29	3	—	E = 0 " K = 10,7 "
Generalis. Tuberkulose	172	141	33	1	E = 2,5 " K = 23,8 "
Tuberkulose der Halsdrüsen	157	112	45	—	E = 6 " K = 40 "
Tuberkulose der Abdominalorgane	99	70	30	1	E = 13,6 " K = 49 "

Die englische „Royal Commission on Tuberculosis“ (9) konstatierte:

Bei 14 Menschen mit primärer Lungentuberkulose 14mal Typus humanus.

Bei 28 Sputumuntersuchungen des Menschen 26mal Typus humanus und 2mal Typus bovinus.

Bei 5 tuberkulösen Bronchiallymphknoten 3mal Typus humanus und 2mal Typus bovinus.

Bei 9 tuberkulösen Halslymphknoten 6mal Typus humanus und 3mal Typus bovinus,

und unter 29 Fällen von Abdominaltuberkulose 13mal Typus humanus, 14mal Typus bovinus und 2mal Mischinfektion.

Demgegenüber war bei 59 tuberkulösen Schweinen in 50 Fällen Typus bovinus, 3mal Typus humanus, in 5 Fällen Typus gallinaceus und 1mal Typus bovinus und gallinaceus zu finden.

Rothe (10) und Gaffky untersuchten in Berlin die Bronchial- und Mesenteriallymphknoten von 400 Kinderleichen und konnten in 78 Fällen durch Impfung eine tuberkulöse Infektion nachweisen. Von diesen 78 Fällen war 75mal Typus humanus und 3mal Typus bovinus gegeben.

Westenhoefer (11) bekam ein Kind zur Sektion mit Tuberkulose des Darmes, der Bronchial- und Tracheallymphknoten. Bei der Impfung auf ein Kalb zeigten sich die Symptome des Typus bovinus.

Da Lunge und Sputum des Menschen mit äußerst geringen Ausnahmen nur den Typus humanus aufweisen, so ist die Tuberkulose des Rindes zur Entstehung der Lungenphthise des Menschen wohl kaum in Betracht zu ziehen. Nicht so selten ist eine Tuberkulose des Abdominaltraktes resp. des ganzen Verdauungsschlauches durch den Typus bovinus veranlaßt, von der wieder mehr Personen unter 16 Jahren und insbesondere Kinder heimgesucht sind.

Deshalb stellt die Tuberkulose des Rindes für die menschliche Gesundheit eine gewisse nicht zu unterschätzende Gefahr dar, da der Typus bovinus bei Erwachsenen eine chronische, vielfach zum Stillstand kommende Tuberkulose zu verursachen vermag, andererseits aber unter Kindern eine schwere zum Tode führende Erkrankung bedingen kann.

Orth (12) äußerte sich in einer Sitzung der Berliner Akademie der Wissenschaften über diese Frage folgendermaßen: „Die Zahl der Erkrankungen von Menschen durch Rindertuberkulose ist nachweisbar so groß, daß vom Standpunkte der menschlichen Pathologie und Hygiene aus eine Bekämpfung der Rindertuberkulose geboten erscheint. Ueberhaupt spricht vieles dafür, daß noch häufiger als man es unmittelbar nachweisen kann, menschliche Erkrankungen unter Mitwirkung von Tuberkelbacillen des Rindes erzeugt werden können.“

Die Kontrolle des Fleisches (und der Milch) ist daher durchaus gerechtfertigt und hat in einer der Gefährgröße des Fleisches tuberkulöser Tiere entsprechenden Form zu erfolgen.

Es wurde auch die Frage erörtert, ob nicht die Möglichkeit eines allmählichen Ueberganges des Typus humanus in den Typus bovinus und umgekehrt vorhanden sei. Eber (13) ist es geglückt, tuberkulöses Material vom Menschen direkt auf das Rind zu übertragen und aus den dadurch erfolgten tuberkulösen Veränderungen des Rindes Tuberkelbacillen des Typus bovinus zu gewinnen. Günstiger gestalteten sich die Versuche, als die Rinder mit tuberkulösem Material des Menschen geimpft wurden, das vorher den Meerschweinchenkörper passiert hatte.

Die Ansicht über die Gefährgröße des Fleisches tuberkulöser Tiere richtete sich jeweils nach dem Standpunkte der wissenschaftlichen Erkenntnis über Ursache, Art und Weise der Ausbreitung der Infektion. Wurde früher der Ausschluß tuberkulöser Schlachttiere vom Genuß für den Menschen ohne Berücksichtigung des Ausbreitungsgrades der Erkrankung durchwegs gefordert (Gerlach), so können nach dem neueren Stande der Tuberkuloseforschung und nach den diesen zugrunde liegenden Bestimmungen des Fleischbeschaugesetzes tuberkulös erkrankte Tiere eventuell volltauglich sein. Zwei bedeutenden Umständen wird hierbei Rechnung getragen, es wird die Gefährdung der menschlichen Gesundheit nicht außer acht gelassen und dem Nationalvermögen werden große Werte erhalten.

Ueber die Häufigkeit des Vorkommens tuberkulöser Erkrankung bei den Schlachtieren und über die hohe Zahl der gesetzlichen Tuberkulosebeanstandungen mögen folgende Tabellen einen Einblick gewähren, die aus den Ergebnissen der Schlachtvieh- und Fleischschau für das Deutsche Reich (14) und nach dem Jahresbericht des Münchener Schlachthofes (15) für das Jahr 1910 zusammengestellt sind.

Zahl der geschlachteten Rinder im Deutschen Reiche während des Jahres 1910.

Ochsen	Bullen	Kühe	Jungrinder	Kälber
614 011	477 564	1 807 550	1 054 633	4 741 727

Ausschließlich der Kälber = 3 953 758 Stück.

Von diesen Tieren wurden wegen Tuberkulose beanstandet:

Rinder über 3 Monate alt		Kälber	
a) Ganze Körper	b) Organe von Tieren	a) Ganze Körper	b) Organe von Tieren
68 405	821 465	3784	13 978

Zahl der im Münchener Schlachthof geschlachteten Rinder während des Jahres 1910.

Ochsen	Bullen	Kühe	Jungrinder	Kälber
30 927	14 727	19 828	4598	224 756

Hier von wurden wegen tuberkulöser Erkrankung beanstandet:

	a) Ganze Tierkörper von	b) Nur die veränderten Teile von
Ochsen	227	4715
Kühen	1076	5133
Bullen	98	2630
Jungrindern	17	175
Kälbern	218	1124

Als Gesamtzahl der mit Tuberkulose behafteten Tiere ergibt sich für den Münchener Schlachthof:

Ochsen	Bullen	Kühe	Jungrinder	Kälber
4942	2728	6209	192	1342
= 15,98 Proz.	= 18,52 Proz.	= 31,31 Proz.	= 4,18 Proz.	= 0,59 Proz.

der Gesamtschlachtungen überhaupt.

Der Gesamtprozentsatz der mit Tuberkulose behafteten Rinder ausschließlich der Kälber beträgt somit 20,08 Proz.

Zur Lösung der wichtigen Frage, von welchem Zeitpunkt an das Fleisch tuberkulöser Schlachttiere als infiziert und somit als gefährlich für die Gesundheit des Menschen zu betrachten sei, suchte man eine bestimmte Grenze zu finden zwischen dem als genießbar und ungenießbar zu verwerfenden Fleisch.

Schon Gerlach (7) versuchte hier eine bestimmte Richtschnur zu geben, indem er behauptete, daß das Fleisch schädlich sei, wenn die Tuberkulose schon eine weitere Verbreitung in den Lymphknoten und überhaupt im Körper angenommen habe, oder käsiger Zerfall, oder bereits Abmagerung eingetreten sei. Einer dieser Punkte in ausgebildetem Grade genüge bereits um das Fleisch für ungenießbar zu erklären.

Der heutigen Beurteilung des Fleisches tuberkulöser Tiere liegt die Uebertragung des Weigertschen Generalisationsbegriffes auf die Fleischschau durch Johne zugrunde.

Weigert (16) bezeichnete mit Generalisation eine Tuberkulose-Eruption an Stellen, die für das Seminium derselben nach der damaligen Anschauung nur auf dem Wege des Blutstromes, und zwar des allgemeinen Blutstromes zu erreichen sein sollten. Von den eigentlichen tuberkulösen Erkrankungen trennte er diejenigen als nicht generalisierte Tuberkulose, „welche durch Weiterschreiten per conti-

guitatem, Fortkriechen in den Lymphwegen, durch Ueberimpfung oder durch Eintritt in das Pfortadergebiet, entstehen“. Die Leber, sagte Weigert, bildet nun als Ueberschwemmungsorgan eine Ausnahme. „In ihr findet man recht zahlreiche Tuberkel, ohne daß sonst im Körper andere vorhanden wären, deren Ursprung man auf eine Blutinfektion zurückführen müßte. „Wie kommt dies? Meist finden sich in diesem Falle tuberkulöse Prozesse im Darm. Dies ist nur so zu erklären, daß durch die Pfortaderwurzel das ‚Gift‘ aufgenommen wurde. Ja es gibt sogar Befunde, welche darauf hinweisen, daß auch ohne Läsion des Darmes die Pfortader Gift aus dem Chylus aufnimmt. Wie es scheint besitzen die Darmwurzeln der Pfortader viel mehr wie andere Gefäße die Fähigkeit Tuberkelgift zu resorbieren, was vielleicht mit ihrer besonderen Beziehung zur Darmresorption überhaupt in Zusammenhang steht.“ „Der Eintritt des Tuberkuloseagens in das Pfortadergebiet ist deshalb in das Kapitel der generalisierten Tuberkulose nicht ohne weiteres aufzunehmen, weil trotzdem die Organe des Gesamtkreislaufes verschont bleiben.“ „Man muß aber von einer generalisierten Tuberkulose im obigen Sinne sprechen, wenn zu einer tuberkulösen Lungenerkrankung z. B. sich noch eine solche von Milz, Nieren und anderen Organen hinzugesellt, welche (mit den primär erkrankten Organen in keinem Zusammenhang stehend) nur auf dem Wege des allgemeinen Blutstromes für ein Gift zugänglich erscheinen.“ Weigert selbst stellte also den „Generalisationsbegriff“ nicht als etwas Bewiesenes, durchaus Feststehendes auf, sondern nur als eine ihm begründet erscheinende Annahme. Johné (17), der den Generalisationsbegriff auf die Fleischbeschau übertrug, folgerte dann vermutungsweise weiter, daß, nachdem einmal Generalisation der Tuberkulose eingetreten und somit das Tuberkulose-Virus in den allgemeinen Blutstrom gelangt sei, hiermit auch unbedingt eine Ueberschwemmung des Muskelfleisches mit Tuberkulosevirus stattgefunden haben müsse. Denn die Anatomie erteilte die Antwort auf die Frage wie das Fleisch des Konsums infiziert werden könne und diese lautete: „Nur durch das Blut“. „Erst von diesem Zeitpunkt ab“ — nämlich der Annahme der Generalisation — „sind wir daher berechtigt und verpflichtet das betreffende Schlachtstück unbedingt vom Konsum auszuschließen.“ Einen Beweis für die Richtigkeit und das Zutreffen seiner Anschauungen hat Johné jedoch nicht erbracht und deshalb gründete sich die Tuberkulosebeurteilung auf berechtigt erscheinende Annahmen, nicht aber auf bewiesene Tatsachen.

Es zeigten sich auch die Grenzen, die Johné für die Genußtauglichkeit des Fleisches setzte, als zu hart, und veranlaßten eine zu strenge Beurteilung im Hinblick auf die Fütterungs- und namentlich auf die Impfversuche, die mit Fleisch- und Fleischsaft von Schlachttieren mit hochgradig generalisierter Tuberkulose ohne positive Resultate ausgeführt wurden. Mit anderen Worten, der Generalisationsbegriff im Sinne Weigerts erwies sich für die Fleischbeschau als nicht zutreffend.

Ostertag (18) ist unter dem Festhalten am Generalisationsbegriff für eine Milderung der Johnéschen Beurteilungsgrundsätze eingetreten, und vertrat die Ansicht, daß eine Gesundheitsschädlichkeit des Fleisches in solchen Fällen nicht zu erblicken sei, in denen vor längerer Zeit die Generalisation erfolgt war. Diese vor geraumer Zeit erfolgte Generalisation zeichne sich dadurch aus, daß sich in Bauch- und Brusteingeweiden, speziell in Milz und Nieren, ältere tuberkulöse Herde von trockener resp. verkalkter Art zeigen (größer als ein Hanfkorn). Denn trotz vorausgegangener Generalisation sei in solchen Fällen das Blut nicht tuberkelbacillenhaltig. Nach den Versuchen von Nocard besitze auch das Blut nach der Injektion von Tuberkelbacillen nur kurze Zeit virulente Eigenschaften. Es pflege 4, 5 oder längstens 6 Tage nach der künstlichen Infektion mit Tuberkelbacillen seine ansteckende Kraft wieder einzubüßen.

Die gegenüber der Johnéschen Maßnahmen milder erscheinenden Beurteilungsgrundsätze begründete Ostertag mit Impfversuchen. Seine Versuchstiere impfte er mit gesund erscheinenden Muskelstückchen von 6 Rindern, deren tuberkulöse Erkrankung das Bild einer vor längerer Zeit erfolgten Generalisation zeigte. Das Fleisch erwies sich dabei als keimfrei. Auf Grund dieser Feststellungen konnte Ostertag für die Begutachtung tuberkulöser Tiere einen neuen Gesichtspunkt aufstellen, nämlich den der abgelaufenen Generalisation. In Zweifelsfällen jedoch, wo die abgelaufene Generalisation in Milz und Niere nicht einwandfrei feststehe, wo die Tuberkel in den genannten Organen nicht schon Haufkorngröße überschritten haben, sei — so sagt Ostertag — die makroskopische Untersuchung der in der Muskulatur gelegenen Lymphdrüsen nicht für ausreichend zu erachten und das Fleisch der betreffenden Tiere in dubio als gesundheitsschädlich zu behandeln. Ostertag sagt dann weiter: Sind in einem Fleischlymphknoten aber sichtbare tuberkulöse Veränderungen vorhanden, so sei dies ein Zeichen, daß das Quellgebiet tuberkelbacillenhaltig sei. Das

ganze Fleisch sei deshalb vom Genuß für den Menschen auszuschließen. Später spricht sich Ostertag dahin aus, daß bei gegebener tuberkulöser Infektion eines Fleischlymphknotens nur das Wurzelgebiet jenes Lymphknotens infiziert sei, und als bedingt, der übrige Tierkörper als tauglich anzusehen sei.

Die Begriffe lokale, frische generalisierte, abgelauene generalisierte Tuberkulose und tuberkulöse Erkrankung mit Erweichungsherden bilden die Grundlage für die zurzeit geltenden fleischbeschaulichen Bestimmungen.

Die auf dem Generalisationsbegriff aufgebaute tuberkulöse Beurteilung bleibt aber unbefriedigend, da die Schlachtbefunde und vor allem die bakteriologischen Befunde mit den Beurteilungsgrundsätzen nicht immer übereinstimmen.

So gibt die bei der Fleischschau öfters zutage tretende Tatsache zu Bedenken Anlaß, daß in verschiedenen Lymphknoten (z. B. Fleischlymphknoten) tuberkulöse Herde vorhanden sind, hingegen einzelne Organe des großen Blutkreislaufes, wie Milz und Nieren, makroskopisch keine Tuberkulose zeigen, obwohl man annehmen müßte, daß beim Vorliegen von Generalisation auch diese Organe wie die Lymphknoten hämatogen infiziert sein sollten.

Nun kann es nach Ansicht mancher Autoren sehr wohl auftreten, daß dabei das eine oder andere Organ übersprungen wird, indem die Tuberkelbacillen vereinzelt verstreut nur in einzelnen Lymphzellendepots zurückgehalten werden. Das Vorkomnis, daß jeweils nur ein einziges Organ, das mit der Außenwelt nicht in Verbindung steht, primär Tuberkulose enthält, während sonst im ganzen Körper kein Herd zu finden ist — wie z. B., daß lediglich im Hoden ein tuberkulöser Herd vorliegt, oder lediglich eine monoartikuläre Gelenkstuberkulose gegeben ist, oder am ganzen Körper des Schweines nur einzelne Wirbel tuberkulös befunden werden — kann nach Kitt schwerlich anders gedeutet werden, als daß vom Darm her vereinzelt in die Blutbahn gelangte oder durch Phagozyten im Körper herumgetragene Tuberkelbacillen eben nur an einem oder einigen verstreuten Stellen Sitz fassen konnten. Wenn man in solchen Fällen im Blute keine Tuberkelbacillen nachweisen könne, so sei dies bei der Schnelligkeit des Blutumlaufes nicht zu verwundern, da die Tuberkelbacillen darin nur ganz kurze Zeit verweilen und in irgend einem Winkel des Körpers haften geblieben sind.

Auffallend ist, daß sich das Fleisch bei der bakteriologischen Prüfung in den meisten Fällen frei von Tuberkelbacillen erweist, indeß in anderen sehr wenigen Fällen eine Infektiosität des Fleisches bei gewissen Tuberkuloseformen der Generalisation und gleichzeitiger tuberkulöser Veränderung der Fleischlymphknoten nachweisbar ist.

Ostertag (18) untersuchte 6 mit hochgradig generalisierter Tuberkulose behaftete Rinder auf den Tuberkelbacillengehalt des Fleisches und fand den Fall einer Infektion nie gegeben.

Westenhoefer (19) (1904) hatte unter 5 untersuchten Fällen verschiedengradiger Tuberkulose ein positives Resultat (akute Miliartuberkulose).

Hoefnagel (20) (1905) impfte subkutan Muskelstückchen von Rindern mit chronischer generalisierter Tuberkulose auf ein Kalb, eine Ziege, 2 Ferkel, sowie mehrere Kaninchen und Meerschweinchen ohne Erfolg, obwohl auch regionäre Lymphdrüsentuberkulose in seinen geprüften Fällen vorhanden war.

Swiersta (21) (1906) kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schluß, daß das Fleisch sich bei chronischer generalisierter Tuberkulose als keimfrei erweise.

Auch Bongert (22) befaßt sich mit der Frage des Tuberkelbacillengehaltes des Fleisches und Blutes von Tieren mit verschiedengradiger tuberkulöser Erkrankung. In 8 Fällen fand er das Fleisch keimfrei, obwohl der Befund bei den Tieren als Generalisation anzusprechen war und auch eine gleichzeitige Herderkrankung der Fleischlymphknoten und der Knochen vorhanden war. Demgegenüber aber zeigte eine Zahl der Bongertschen Versuche unter ähnlichen Verhältnissen, d. h. bei Generalisation, wobei zugleich auch tuberkulöse Veränderungen von Fleischlymphknoten gegeben waren, positive Resultate; es erwies sich hier das Fleisch tuberkelbacillenhaltig. Bongert bringt diese in manchen Fällen gegebenen positiven Resultate mit ganz bestimmten anatomischen tuberkulösen Veränderungen in Verbindung, und bezeichnet als Ursache der Fleischinfektion einerseits die Erweichungsherde und andererseits eine

strahlenförmige Verkäsung, die als tuberkulöse Infiltration aufzufassen ist und besonders in den Lymphdrüsen von Rind und Schwein auftritt. Beide zeichnen sich aus durch ihren Reichtum an Tuberkelbacillen.

Bei der Prüfung von 50 Fleischvierteln mit tuberkulös veränderten Fleischlymphknoten fand Nieberle (23) in 47 Fällen die Keimfreiheit des Fleisches; 3 Fälle waren positiv. Die tuberkulösen Veränderungen an den Organen der zur Untersuchung herangezogenen Schlachttiere hatte Nieberle nicht zu Gesicht bekommen.

Deshalb tritt sowohl Bongert wie Nieberle, in Uebereinstimmung mit den Versuchen Swierstas und Westenhoefers, dafür ein, daß die ins Gesetz angenommene Beurteilung des Fleisches mit tuberkulös veränderten Lymphknoten nicht länger aufrecht erhalten werde und ein genereller Kochzwang als wissenschaftlich unbegründet nicht durchzuführen sei.

Eine Erklärung nun für die aus der Prüfung tuberkulöser Tiere gemachten Feststellungen suchte Bongert dadurch zu gewinnen, daß er — vom Generalisationsbegriff ausgehend — die Befunde dahin deutete, daß immer das Blut die Keime verschleppt habe, und daß in jenen Fällen, in denen die Muskulatur und das Blut sich trotz eines für das Vorliegen der Generalisation gegebenen Befundes als keimfrei erwiesen, nunmehr die Blutinfektion als abgelaufen zu betrachten sei. (Abgelaufene Generalisation.)

Das Vorliegen von Tuberkulose in einzelnen Lymphknoten und Organen, deren Infektion nach dem bisher geltenden Infektionsmodus nur hämatogen erfolgen kann, kann eine Erklärung nur darin finden, daß bei temporärer Anwesenheit von nur vereinzelt Tuberkelbacillen im Blut diese in den betreffenden Organen Fuß fassen und dort lokale Veränderungen verursachen.

Im Gegensatz zu jenen Autoren, die eine Deutung der tuberkulösen Veränderungen in den Fleischlymphknoten, in Milz und Leber nur auf Grund des Generalisationsbegriffes für möglich erachteten, hat M. Müller (24, 25, 26) gezeigt, daß für die Genese der Infektion insbesondere dieser Organe nicht nur der Blut-, sondern auch der Lymphweg in Frage komme.

Die Einwände, welche von Östertag (27), Joest und Baum (28) gegen die erste diesbezügliche Veröffentlichung M. Müllers (25) gemacht wurden, hat Müller als nicht zutreffend für seine Befunde erklärt (29, 30) und die Möglichkeit rein lymphogener Infektionen in seinen Arbeiten über die Genese der bakteriellen Infektion (24, 25, 26, 29, 30) dargelegt und zu begründen gesucht.

M. Müller (31) hat im Laufe seiner Untersuchungen über den Tuberkelbacillengehalt und die Gefährgröße des Fleisches, des Blutes, der Lymphknoten, der Milz und Leber tuberkulöser Tiere in einigen Versuchen die interessenswerte Tatsache gefunden, daß auch normal erscheinende Milzen und Lebern tuberkulöser Tiere bei Verimpfung eine tuberkulöse Erkrankung der Versuchstiere erzeugen, daß somit solche Organe, die nach den geltenden Bestimmungen der Fleischschau in den freien Verkehr gelangen, Tuberkelbacillen enthalten können.

Inwieweit bei tuberkulösen Schlachtrindern in Milz und Leber, die keine makroskopisch erkennbaren tuberkulösen Erscheinungen zeigen, eine fleischbeschaulich latente Tuberkulose vorliegt, sollen folgende Untersuchungen, welche am Schlachthoflaboratorium München durchgeführt wurden, eröffnen.

Das benötigte Material wurde Schlachtrindern mit verschiedengradiger tuberkulöser Erkrankung entnommen. Um klaren Einblick zu bekommen, wurden nicht nur schwere, sondern auch leichtere Tuberkulosefälle herangezogen. Da die Arbeit speziell vom Standpunkte der praktischen Fleischschau aus geführt wurde, beschränkte ich mich auf den bakteriellen Nachweis vermittels des Tierversuches und verwendete solche Milzen und Lebern tuberkulöser Tiere, die weder im Parenchym, noch — bei der Leber — in den Portallymphknoten sichtliche tuberkulöse Veränderungen zeigten. Die genannten pathologisch-anatomisch völlig tuberkulosefrei erscheinenden Organe wurden dergestalt geprüft, daß aus denselben Preßsäfte unter sterilen Kautelen hergestellt wurden. Ich erwarb mir vom Besitzer des Schlachttieres jeweils ein Stück Leber bis zum Gewicht von ca. $\frac{1}{2}$ Pfund, und zwar entnahm ich dasselbe zumeist dem

oberen und seitlichen Randteil des linken Leberlappens, manchmal auch Teilen des Spiegelschen Lappens. Von der Milz wurden Stücke von ungefähr $1\frac{1}{2}$ Handbreite dem dorsalen und teils dem ventralen Ende entnommen. Die Proben wurden zunächst mehrere Minuten in 96-proz. Alkohol gelegt. Der seröse Ueberzug der Milz wurde mit sterilen Instrumenten abpräpariert und in der Nähe der ersten Schnittfläche noch ein fingerbreites Stück entfernt. Nach nochmaligem Einlegen in Alkohol wurden die Stücke in der offenen Gasflamme, hierauf mit dem glühenden Spatel abgebrannt und in sterilen Petri-Schalen zu für die Presse geeigneten Würfeln geschnitten. Bei der Leber wurde die Brandkruste abgetragen und nur die Kernstücke mit möglichster Umgehung der sichtbaren Gallengänge verwendet. Die so von jeglicher Oberflächenverunreinigung befreiten Organstückchen wurden in eine kleine, vollständig auskochbare Presse gebracht, wobei Saftmengen bis zu 5 ccm erhalten werden konnten. Der gewonnene Preßsaft wurde Meerschweinchen nach vorheriger Reinigung der Bauchgegend mit Alkohol intraperitoneal injiziert. Es zeigte sich hierbei jedoch, daß gerade die mit Lebersaft gespritzten Tiere mehrfach nach kurzer Zeit eingingen. Brachte ich Lebersaft auf Nährböden und in den Brutschrank, so erhielt ich meist ein reges Bakterienwachstum. In dieser bekannten Keimhaltigkeit der normalen Leber liegt die Ursache, daß kleine 4—6 Wochen alte Impftiere mehrfach eingingen. Ich habe deshalb zunächst die Injektionsmenge reduziert, und als dieser Umstand noch nicht zum Ziele führte, wurde für den Lebersaft die subkutane Injektion gewählt. Bei der mikroskopischen Untersuchung der mit Lebersaft geimpften und eingegangenen Tiere waren im Blut, in der ödematösen Bauch- und Brustwand Diplokokken, Kokken und kleine Stäbchen in großen Mengen zu finden. Es handelte sich demnach stets um eine septische Infektion. Im Gegensatz zu den mit Lebersaft geimpften Tieren ist von den mit Milzsaft injizierten Versuchstieren kein einziges interkurrent eingegangen.

Die Einstichwunde der Impftiere wurde mit Kollodium bestrichen und mit Watte verklebt. Die geimpften Tiere wurden nach 6 Wochen getötet und seziiert.

Aus den tuberkulösen Veränderungen, welche die Impftiere bei der Sektion aufwiesen, wurden in der Regel die Tuberkelbacillen durch Färbung nach Much-Gram und nach Ziel-Neelsen nachzuweisen gesucht.

Im folgenden gebe ich die pathologischen Veränderungen der Schlachttiere wieder, von denen Material zu den Untersuchungen auf den latenten Tuberkelbacillengehalt der Leber und Milz entnommen wurde unter gleichzeitiger Anfügung des Befundes der tierexperimentellen Prüfung.

Fall I.

5-jähriger Simmenthaler-Ochse in mittlerem Nährzustand.

Befund: Die beiden Bronchiallymphknoten sind zu halbem Faustumfang vergrößert, hart und derb, auf dem Durchschnitt trockenkäsig und schneiden sich wie Sand. Der Mediastinallymphknoten¹⁾ ist ca. 30 cm lang und kinderarmstark,

1) Baum (5) unterscheidet mehrere Gruppen Mediastinallymphknoten, nämlich die Lgl. dorsales, ventrales, craniales, mediae und caudales. Einen besonders auffallenden Lymphknoten der letzten Gruppe bezeichnet er als Lgl. mediastinalis caudalis longissima, der die meisten Lymphgefäße aus der Lunge aufnimmt neben solchen der Speiseröhre, des Herzbeutels, des Zwerchfells und sogar der Leber und Milz. Die praktische

hart, total trockenkäsig. In den Spitzen- und Zwerchfellappen der Lunge sitzen isolierte haselnußgroße Herde mit weichkäsigen Inhalt (Tuberculosis chronica nodosa). In einem zu Eigroße gediehenen Mesenteriallymphknoten ist ein erbsengroßer, käsiger Herd. Die Fleischlymphknoten sind frei von tuberkulösen Veränderungen bis auf den linken Sitzbeinknoten. Leber und Milz, sowie die Portallymphknoten erweisen sich unverändert.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Organe werden als untauglich beseitigt, das linke Hinterviertel ist bedingt tauglich.

Impfversuch: Ein am 15. Jan. 1913 mit 2½ ccm Milzsaft intraperitoneal geimpftes Meerschweinchen ergibt bei der Obduktion am 26. Febr. 1913 einen negativen Befund.

Das mit 4 ccm Lebersaft intraperitoneal geimpfte Meerschweinchen geht am 16. Jan. 1913 ein.

Fall II.

6-jähriges Simmenthaler-Rind in schlechtem Nährzustand.

Befund: Die Bronchiallymphknoten erreichen Kartoffelgröße und sind mit erbsengroßen, hartkäsigen Herden durchsetzt. Die Mediastinallymphknoten sind halb faustgroß und auf dem ganzen Durchschnitt hartkäsige. Die Spitzenlappen der Lunge sind mit erbsen- bis haselnußgroßen tuberkulösen Herden versehen, die eine weichkäsige Masse in sich bergen. In den Hauptlappen der Lunge verstreut finden sich bis über haselnußgroße weichkäsige Herde. Die Serosa der Leber zeigt disseminierte, knötchenförmige Herde mit bindegewebigen Auflagerungen. In den Nieren sind grieskörnig große käsige infarktöse Veränderungen. Die Fleischlymphknoten und die Milz sind unverändert.

Beurteilung: Die veränderten Organe werden als untauglich und das Fleisch als minderwertig erachtet.

Impfversuch: Ein am 17. Jan. 1913 intraperitoneal mit 2½ ccm Milzsaft geimpftes Meerschweinchen ergibt bei der Obduktion am 1. März 1913 negativen Befund.

Fall III.

6 Jahre alte Kuh im mittleren Nährzustand.

Befund: Der rechte Bronchiallymphknoten ist zu dem Ausmaße einer kleinen Kartoffel vergrößert und besitzt einige trockenkäsige Herde in Größe einer Traubenbeere. Der linke Bronchiallymphknoten ist nicht ganz so groß und mit erbsengroßen trockenkäsigen Herden versehen. Der Mediastinallymphknoten ist halbf Faustgroß und mit haselnußgroßen käsigen Herden durchsetzt. Die Vorderlappen der Lunge bergen in sich erbsen- bis haselnußgroße, gut abgegrenzte käsige Herde, die im Parenchym disseminiert zu finden sind. Die Hauptlappen der Lunge zeigen haselnuß- bis kleinhühnereigroße, bindegewebig abgegrenzte, käsige Knoten. Ferner ist eine Verwachsung mit dem Herzbeutel gegeben. Auf dem Brustfell sind schwartige, bindegewebige, höckerige Auflagerungen. In den Nieren finden sich grieskörnig große Herde, infarktös in die Tiefe greifend. Die Portallymphknoten enthalten einige weizenkorngroße, harte Tuberkel; auch im Leberparenchym sind zwei erbsengroße Herde zu bemerken. Die Mesenteriallymphknoten sind vergrößert und allenthalben mit haselnußgroßen, harten, kalkigen Knoten durchsetzt. Die Milz und die Fleischlymphknoten sind frei von tuberkulösen Veränderungen.

Beurteilung: Die veränderten Organe werden als untauglich entfernt, das Fleisch ist minderwertig.

Impfversuch: Am 20. Jan. 1913 wird ein Meerschweinchen mit 2½ ccm Milzsaft intraperitoneal geimpft. Die am 3. März 1913 erfolgte Obduktion ergibt negativen Befund.

(Das Ergebnis der Untersuchung der Niere mag darauf hindeuten, daß einmal ein temporärer Einbruch von Tuberkelbacillen in das Blut vorgelegen hat.)

Fall IV.

6-jährige Pinzgauer Kuh in gutem Nährzustand.

Befund: Die Bronchiallymphknoten sind kaum vergrößert, in einem derselben sitzt ein erbsengroßer, harter, kalkiger Tuberkel. Der Mediastinallymph-

Fleischbeschau berücksichtigt von den Mediastinallymphknoten in der Regel nur die Lgl. mediastinalis caudalis longissima. Als Bronchiallymphknoten werden summarisch die Lgl. eparterialis und die Lgl. bifurcationis dextra et sinistra bezeichnet. Mit den Mesenteriallymphknoten sind die Leerdarm-, Hüft-, Blind- und Grimmdarmlymphknoten zusammengefaßt.

knoten enthält wenige getreidekorn- bis erbsengroße, hartkalkige Herde. Die Spitzenlappen der Lunge stellen ein traubenförmiges Konglomerat dar aus lauter haselnußgroßen Knoten mit camembertartigem Inhalt. In den Hauptlappen zerstreut finden sich mehrere bis haselnußgroße weichkäsige Tuberkelherde. Einige hintereinander liegende Mesenteriallymphknoten sind knollig vergrößert und weisen auf dem Durchschnitt erbsen- bis haselnußkerngroße kalkige Herde auf. Die Leber und Milz sind frei von tuberkulösen Veränderungen.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Organe sind untauglich, das Fleisch und die übrigen Organe tauglich.

Impfversuch: Am 20. Jan. 1913 wird ein Meerschweinchen intraperitoneal mit 3 1/2 ccm Lebersaft geimpft. Dasselbe geht am 10. Febr. ein.

Desgleichen wird am 20. Jan. ein Meerschweinchen intraperitoneal mit 3 ccm Milzsaft geimpft. Der Obduktionsbefund am 3. März ist negativ.

Fall V.

8-jährige Kuh, Simmenthaler-Rasse, in gutem Nährzustand.

Befund: Der linke und rechte Bronchiallymphknoten ist zirka kleinkartoffelgroß und enthält mehrere hartkäsige erbsengroße Tuberkel. Der Mediastinallymphknoten nimmt die Größe einer halben Faust ein und enthält gleichfalls verkalkte, erbsengroße Tuberkel. Die ganzen Vorderlappen der Lunge sind traubenförmig durchsetzt mit haselnußgroßen, weichkäsigen Knoten. In den Hauptlappen befinden sich haselnuß- bis welschnußgroße, bindegewebig umschlossene, intralobulär gelegene Herde mit weichkäsiger, fast flüssiger, rahmartiger Masse gefüllt. Ein Portallymphknoten ist hühnereigroß und enthält auf dem Durchschnitt erbsengroße, hartkalkige Tuberkel. Auch im Parenchym der Leber sind einige bohnenkerngroße käsige Tuberkel sichtbar. Die Euterlymphknoten (Lgl. inguinales superficiales) weisen erbsengroße hartkäsige Tuberkel auf. Die Milz und die Fleischlymphknoten sind nicht tuberkulös verändert.

Beurteilung: Die tuberkulösen Organe sind untauglich, das Fleisch minderwertig.

Impfversuch: Am 22. Jan. 1913 wird ein Meerschweinchen intraperitoneal mit 4 ccm Milzsaft + physiologischer Kochsalzlösung geimpft. (Die Aufschwemmung mit Kochsalzlösung war nötig, weil das Milzstückchen nur wenig und sehr dicken Preßsaft ergab.) Die am 5. März 1913 erfolgte Obduktion ergibt negatives Resultat.

Fall VI.

8-jährige Kuh, Pinzgauer-Rasse, von mittlerem Nährzustand.

Befund: Die Bronchiallymphknoten finden sich zu Aprikosengröße angeschwollen und sind mit einem haselnußgroßen, käsigem Herd versehen. Sie schneiden sich ziemlich weich. Der Mediastinallymphknoten erreicht Faustgröße und ist mit zwei kleinhühnereigroßen, weichkäsigen Herden besetzt, die von einer sich sehr leicht schneidenden, weißlichen, weichknorpelartig aussehenden Zone umgeben sind. Im rechten Hauptlappen der Lunge befinden sich auf dem Durchschnitt mehrere ei- bis kinderfaustgroße, weichkäsige Herde; im linken Hauptlappen sitzt ein mannsfaustgroßer, ebenso beschaffener Herd. In den Spitzenlappen finden sich zahlreiche erbsen- bis haselnußgroße, disseminierte weichkäsige Tuberkel. Dem linken Brustfell sind mäßig große, isolierte, auf dem Durchschnitt käsige, tuberkulöse Knoten aufgelagert. Alle Mesenteriallymphknoten sind geschwollen, knotig hervorragend und enthalten zumeist haselnußgroße, weichkäsige Herde.

Leber mit Portallymphknoten und Milz sind frei von tuberkulösen Veränderungen. Auch die Fleischlymphknoten werden nicht infiziert befunden.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Organe werden als untauglich, die übrigen Organe samt dem Fleisch als minderwertig erachtet.

Impfversuch: Am 24. Jan. 1913 wird ein Meerschweinchen mit 4 ccm Lebersaft intraperitoneal geimpft. Die am 7. März 1913 erfolgte Obduktion ergibt positives Resultat.

Der Obduktionsbefund des Meerschweinchens war folgender:

Auf der Brustwand (an der Impfstelle) sitzt eine schwartige, flächenartige Auflage von ca. 2 cm und der Dicke eines Pfennigstückes. Im Umkreis dieser Veränderung sind noch 4 hühnerschrotgroße Knötchen vorhanden, aus denen beim Durchschneiden eine rahmige, eitrig Masse quillt. Der linke Kniefaltenlymphknoten ist gut erbsengroß und mit einem weichkäsigen Herdchen auf dem Durchschnitt versehen. Der linke Kreuzbeinlymphknoten hat Doppelterbsengröße angenommen und ist auf dem Durchschnitt dem Rande entlang strahlig verkäst. Die Milz ist durchsetzt mit zahlreichen, in Häufchen beieinander liegenden, stecknadelkopfgroßen Herdchen, die der Milzober-

fläche ein höckeriges Aussehen verleihen. Der Portallymphknoten nimmt die Größe einer kleineren Traubenbeere ein, auf dem Durchschnitt ist er hart und gelbsandig. Im Netz sind zahlreiche hühnerschrotgroße Knötchen, aus denen beim Einschneiden eine rahmige Masse quillt. An der unteren Brustwand liegen 3 ungefähr weizenkorn- bis kleinerbsengroße Knoten, welche teils käsige, teils weichkäsige Herdchen enthalten. Die Bronchiallymphknoten sind etwas vergrößert, zeigen aber keine charakteristischen Veränderungen.

Das am 24. Jan. 1913 intraperitoneal mit $2\frac{1}{4}$ ccm Milzsaft geimpfte Meerschweinchen zeigt bei der Obduktion am 7. März 1913 ebenfalls positive Reaktion.

Der Obduktionsbefund dieses Impftieres war folgender:

Der linke Kniefaltenlymphknoten ist bedeutend größer als der rechte. Die Impfstelle ist gut verheilt. Der linke Kreuzbeinlymphknoten ist gut erbsengroß und birgt in sich ein stecknadelkopfgroßes, weichkäsiges Herdchen. Am Gekröse des Dick- und Dünndarmes entlang sitzen kleine miliare Knötchen. Das Netz ist mit zahlreichen, bis hühnerschrotgroßen Knötchen besetzt, die beim Durchschneiden eitrigen Inhalt aufweisen. Die Milz ist mit der Bauchwand bindegewebig verwachsen und enthält im ganzen Parenchym zerstreut massenhaft stecknadelkopfgroße Herdchen. Der Portallymphknoten ist haselnußkerngroß und auf dem Durchschnitt mit gelben, sandähnlichen, strahligen Veränderungen durchzogen. In der Leber selbst, auf der Oberfläche sichtbar, sitzen disseminierte, kleinstecknadelkopfgroße, gelbweiß erscheinende Herdchen. Auf der rechten Nierenkapsel sind einige kleine Herde und ein stecknadelkopfgroßer Knoten wahrzunehmen. Der pectoralen Fläche des Zwerchfells liegt ein erbsengroßer Knoten auf, der ziemlich eiterhaltig ist. Die Bronchiallymphknoten haben Apfelferngröße angenommen. Die Halslymphknoten sind unverändert.

Der Fall VI ergibt demnach, daß die Leber, deren Parenchym und zugehörige Lymphknoten makroskopisch nicht tuberkulös verändert waren und ebenso die Milz, die keine Erscheinungen einer tuberkulösen Infektion aufwies, trotzdem bakteriologisch nachweisbare Tuberkelbacillen enthalten. Die beiden Organe wurden in der Annahme, daß sie frei von tuberkulöser Infektion seien, zum Genusse für den Menschen (wenn auch als minderwertig) freigegeben.

Fall VII.

4 Jahre alte Kuh, Simmenthaler-Rasse, in mittlerem Nährzustand.

Befund: Der linke Bronchiallymphknoten ist kindsfaustgroß und mit welschnußgroßem, hartkäsigem Tuberkelherd versehen. Die Mediastinallymphknoten stellen zwei mannsfaustgroße Knoten dar, die total hartsandig verkäst sind. In den Spitzenlappen der Lunge sind zahlreiche, isolierte, bis welschnußgroße, in den Hauptlappen bis doppelt faustgroße, tuberkulöse Herde mit weichem, rahmartigem Eiter und Schleimmassen gefüllt. Die Kavernen stehen mit den Bronchien in Verbindung (bronchiektatische Kavernen). Das Brustfell ist mit einer ca. 5 cm starken Schwarte und mit einzelnen eigroßen, hervorragenden Knoten bedeckt (Pleuritis tuberculosa nodosa et fungosa). Einige Mesenteriallymphknoten sind zum Ausmaß einer Pflaume vergrößert und beherbergen haselnußgroße, hartkäsige Tuberkel. Der rechte Buglymphknoten ist schwammig geschwollen und enthält einen haselnußgroßen tuberkulösen Herd.

Leber und Milz sind nicht tuberkulös verändert.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Organe werden als untauglich, das rechte Vorderviertel als bedingt tauglich, das übrige als minderwertig erachtet.

Impfversuch: Am 24. Jan. 1913 wird ein Meerschweinchen mit 4 ccm Lebersaft intraperitoneal geimpft. Dasselbe geht am 27. Jan. 1913 ein.

Ein weiteres Meerschweinchen wird am 24. Jan. 1913 intraperitoneal mit $2\frac{1}{2}$ ccm Milzsaft geimpft. Die am 7. März 1913 erfolgte Obduktion ergibt ein negatives Resultat des Impftieres.

Fall VIII.

7-jährige Kuh, Simmenthaler-Rasse, in mäßigem Nährzustand.

Befund: Der rechte und linke Bronchiallymphknoten ist sulzig geschwollen und durchsetzt mit miliaren, zentral verkästen Tuberkeln. Der Mediastinallymphknoten ist ebenfalls sulzig, schwammig geschwollen zum Ausmaß einer kleinen Faust und besät mit miliaren, zentral verkästen Knötchen. Die Lunge zeigt das Bild einer schweren Bronchopneumonie. Die Lobuli sind durchweg durchsetzt mit haselnußgroßen, weichkäsigen Herden, zwischen denen noch zahlreiche miliare, zentral verkäste Knötchen auftreten. Die Mesenteriallymphknoten sind stark geschwollen und zeigen ver-

schiedentlich stecknadelkopf- bis kleinerbsengroße Knötchen. In den Portallymphknoten finden sich einige kleinerbsengroße, hartkäsige Knötchen.

Die Leber selbst wie die Milz sind nicht tuberkulös verändert. Die Fleischlymphknoten ergeben keine Zeichen einer Infektion.

Beurteilung: Die tuberkulösen Organe sind untauglich. Das Fleisch, sowie die Milz kommen als minderwertig in den Verkehr.

Impfversuch: Ein Meerschweinchen wird am 25. Jan. 1913 intraperitoneal mit 3 ccm Milzsaft geimpft. Die am 8. März 1913 erfolgte Obduktion ergibt die tuberkulöse Erkrankung des Impftieres mit folgendem Befund:

Der linke Kniefaltelymphknoten ist merklich größer als der rechte. Auch der linke Kreuzbeinlymphknoten erscheint vergrößert und birgt in sich ein stecknadelkopf-großes eiteriges Herdchen. Am Gekröse des Dick- und Dünndarmes entlang sitzen ganz kleine Knötchen in Mohnsamengröße. Die Darmlymphknoten erscheinen etwas vergrößert, und bestehen teilweise nur aus einem gelben Knoten, aus dem beim Durchschneiden weicher Eiter herausquillt. Das ganze Netz ist besetzt mit neben- und hintereinander stehenden hühnerschrot- bis rehschrotgroßen Knötchen, die jedesmal im Zentrum ein eiteriges Herdchen einschließen. Die Milz besitzt eine ganz höckerige Oberfläche und ist durchsetzt mit stecknadelkopf-großen, in kleinen Haufen beieinander sitzenden, gelb durchschimmernden Knötchen. Der Portallymphknoten ist zu Haselnußgröße gediehen und auf dem Durchschnitt vom Rande gegen das Zentrum hin mit gelbsandigen Strahlen durchzogen. Auf der Leberoberfläche sitzen in kleinen Häufchen beisammen gelbweiße, stecknadelkopf-große Flecken. Auf der Visceralfläche des Zwerchfells haftet ein hühnerschrot-großes, gelbes Knötchen. Der linke Bronchiallymphknoten ist weizenkorngroß und schließt ein stecknadelkopf-großes, eiteriges Herdchen in sich ein. Auf der unteren Brustwand (Brusteingeweidefläche) sitzen zwei rehschrot-große, innen eiterige Knoten.

Dieser Fall zeigt wieder, daß die Milz tuberkelbacillenhaltig ist, obwohl das Fehlen sichtbarer tuberkulöser Veränderungen gegen die Infektion der Milz sprach.

Fall IX.

6-jährige Pinzgauer Kuh im mittleren Nährzustand.

Befund: Der rechte und linke Bronchiallymphknoten erlangt Kinderfaustgröße und ist mit länglichem, hartkäsigem Herd und einigen erbsengroßen hartkäsigem Tuberkeln besetzt. Die Lunge zeigt starke Serosentuberkulose und Verwachsung mit Zwerchfell, Brustfell und Herzbeutel. In den Lungenlappen sitzen vereinzelte bis haselnußgroße, käsige, bindegewebig abgekapselte Herde. Der Mediastinallymphknoten hat Faustgröße angenommen und ist mit länglichem schmalen, hartsandigem, kaum zu durchschneidendem Tuberkelherd und mit mehreren kleineren hartsandigen Knötchen besetzt. Auf dem Brust- und teilweise auch noch auf dem Zwerchfell sitzen haselnuß- bis aprikosengroße Knoten neben bindegewebigen, schwartigen Auflagerungen. Einige Darmlymphknoten weisen erbsengroße, hartkäsige Tuberkel auf. Leber, Milz und Fleischlymphknoten zeigen keine tuberkulösen Veränderungen.

Beurteilung: Die tuberkulösen Organe sind untauglich, das Fleisch und die übrigen Organe minderwertig.

Impfversuch: Ein am 27. Jan. 1913 intraperitoneal mit 2 ccm Milzsaft geimpftes Meerschweinchen ergibt bei der am 11. März 1913 erfolgten Obduktion einen negativen Befund.

Das am 27. Jan. 1913 intraperitoneal mit $3\frac{1}{2}$ ccm Lebersaft geimpfte und am 11. März 1913 obduzierte Meerschweinchen reagiert ebenfalls negativ.

Fall X.

8-jährige Kuh, Simmenthaler-Rasse, in mittlerem Nährzustand.

Befund: Das Brustfell ist bedeckt mit granulösen, schwartigen Auflagerungen, vielfach ragen auch haselnuß- bis halbf Faustgroße Knoten hervor. Auch das Zwerchfell zeigt diese Veränderungen in geringem Grade. Das Lungenparenchym selbst ist frei von tuberkulösen Prozessen. Jedoch ist eine sehr starke Serosentuberkulose der Lunge mit erbsen- bis haselnußkerngroßen Knoten gegeben.

Darm, Nieren, Leber, Milz und Fleischlymphknoten sind nicht infiziert.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Teile und Organe sind untauglich, das Fleisch minderwertig.

Impfversuch: Am 29. Jan. 1913 wird je ein Meerschweinchen intraperitoneal mit $2\frac{1}{4}$ ccm Milzsaft resp. 4 ccm Lebersaft geimpft. Während das Lebertier am 2. Febr. 1913 eingeht, zeigt das Milztier bei der am 13. März 1913 erfolgten Obduktion keine Anzeichen einer Infektion.

Fall XI.**6-jährige magere Kuh.**

Befund: Der linke Bronchiallymphknoten ist zu Kleinapfelgröße angeschwollen und leicht wie Wachs zu durchschneiden, mit wenig über stecknadelkopfgroßen, in Haufen stehenden Tuberkeln versehen. Zwei Mediastinallymphknoten sind halbfaustgroß, schwammig und schneiden sich so leicht wie das Fleisch einer Pflaume. Auf dem Durchschnitt sind sie mit zahlreichen über hirsekorngroßen Knötchen besetzt. Das interstitielle Bindegewebe der Lunge zwischen den einzelnen Lobuli ist sehr stark entwickelt. Es sind nur noch wenige, hellrosa aussehende gesunde Lobuli vorhanden, zwischen denen vielfach braunrot erscheinende, fibrinös-croupöse Lobuli liegen. Die ganze Lunge ist ferner durchsetzt mit erbsen- bis haselnußgroßen, tuberkulösen Herden, die reinkäsigen aber auch weichkäsigen Inhalt führen. Der Anblick der Lunge macht den Eindruck sehr schwerer Erkrankung. Das Leberparenchym ist frei, jedoch enthält der Portallymphknoten einen harten, erbsengroßen Tuberkel. Die Mesenteriallymphknoten sind geschwollen, treten deutlich hervor und bergen in sich kleinererbsengroße, hartkäsige Herde. Der unteren Brustwand haften fauststarke granulöse, schwartige Gebilde an, auf denen noch deutliche haselnuß- bis welschnußgroße tuberkulöse Knoten hervorragen.

Die Fleischlymphknoten und die Milz sind frei von sichtbaren tuberkulösen Veränderungen.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Organe werden als untauglich entfernt, die übrigen Organe und das Fleisch als minderwertig begutachtet.

Impfversuch: Am 31. Jan. 1913 wird ein Meerschweinchen intraperitoneal mit 4 ccm Milzsaft geimpft. Die am 15. März 1913 erfolgte Obduktion ergibt, daß eine tuberkulöse Infektion des Impftieres eingetreten ist.

Der Obduktionsbefund des Impftieres ist folgender:

Die beiderseitigen geschwollenen Kniefaltenknoten enthalten je einen stecknadelkopfgroßen, mit einem weichen Eiterklümpchen versehenen Herd. An der Impfstelle hat sich auf der Bauchwand ein erbsengroßer geschlossener Eiterknoten gebildet. Die Darmlymphknoten sind nur geringgradig geschwollen. Der Portallymphknoten hat Erbsengroße angenommen und birgt in sich zentral ein Eiterklümpchen. Am Leberrand sitzt ein hühnerschrotgroßer, gelber Knoten, der mit dem anliegenden Darm verwachsen ist. Im Netz finden sich mehrere hühnerschrotgroße, gelbe Knötchen. Die Milz ist durchspickt mit stecknadelkopfgroßen, in Haufen liegenden Tuberkeln. An der unteren Brustwand sitzen 4 kleinererbsengroße Knoten. Die Bronchiallymphknoten sind weizenkorngroß und auf dem Durchschnitt strahlig verkäst.

Fall XI zeigt somit, daß die von sichtbaren tuberkulösen Veränderungen freie Milz, welche nach den Ausführungsbestimmungen des Fleischbeschaugesetzes nicht zu beanstanden war, trotzdem Tuberkelbacillen enthält.

Fall XII.**8-jährige magere Kuh.**

Befund: Der rechte Bronchiallymphknoten ist hühnereigroß, markig geschwollen und mit 4 erbsengroßen, weichkäsigen Tuberkeln versehen. Der linke Bronchiallymphknoten ist ungefähr von gleicher Größe und ist dem Rande entlang mit grieskorngroßen, sandigen Körnchen imprägniert. Ein dem Zwerchfell zunächst gelegener Mediastinallymphknoten hat die Form einer Schweinsniere, aber deren doppelte Länge und ist mit mehreren gegen den Rand sitzenden erbsengroßen, weichkäsigen Tuberkeln besetzt, von denen ast- und strahlenförmige Züge deutlich gegen den Hilus ziehen. Vor dem genannten Knoten liegt noch ein weiterer faustgroßer, kreiselförmiger Mediastinallymphknoten, der weiß wie Knorpel aussieht und sich weich wie roher Speck schneidet. Auf seinem Durchschnitt findet sich ein haselnußgroßer, weichkäsiger Herd und viele stecknadelkopfgroße, sandähnliche Massen, die den Lymphknoten strahlenartig durchziehen, und schließlich in schmalen Streifen auslaufen [diffuse, käsige Infiltration nach Kitt (4)]. Die Lunge zeigt äußerlich schon und noch mehr auf dem Durchschnitt das Bild schwerer Bronchopneumonie. Es wechseln auch hier wieder ödematöse, fibrinös-croupöse, halbe Lappen einnehmende Lobuligruppen mit teilweise noch gesunden, rosafarben erscheinenden Lobuli ab. Auf der ganzen Lungenoberfläche schimmern die ziemlich dick gestellten, erbsen- bis taubeneigroßen, gelben Tuberkelherde durch. Auf dem Durchschnitt treten erbsen-, tauben- bis hühnereigroße, weichkäsige Herde und Kavernen zutage. Teilweise sind sie gefüllt mit dünnrahmigem, schleimartigen Inhalt. Auf dem Brustfell liegen disseminiert bis marktstückgroße, flache granulöse Auflagerungen neben zahlreichen kleineren bis erbsengroßen Knoten. Der Uterus ist mit zahlreichen grieskorngroßen Knötchen besetzt.

Im Ovarium findet sich ein gut erbsengroßer, weichkäsiger Herd. Die Niere ist mit grieskorngroßen, gelben Pünktchen versehen. Sämtliche Mesenteriallymphknoten sind stark vergrößert und mit hartsandigen Tuberkeln teilweise besetzt. Auf dem Zwerchfell sind blaßrote, bindegewebige Auflagerungen.

Die Fleischlymphknoten sind frei von sichtbaren tuberkulösen Veränderungen, ebenso die Leber, die Portallymphknoten und die Milz.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Organe sind untauglich, das Fleisch und die übrigen Organe minderwertig.

Impfversuch: Am 31. Jan. 1913 wird ein Meerschweinchen intraperitoneal mit 3 ccm Milzsaft und ein weiteres Meerschweinchen subkutan mit 3 $\frac{1}{2}$ ccm Lebersaft geimpft. Die am 15. März 1913 erfolgte Obduktion ergibt, daß beide Impftiere tuberkulös infiziert sind. Es werden nachstehende Veränderungen bei den Impftieren gefunden.

Meerschweinchen mit Milz geimpft:

An der Impfstelle sitzt ein gut erbsengroßer, eine eiterige Kaverne vollständig einschließender Knoten. Der Kreuzbeinlymphknoten ist haselnußkerngroß und enthält im Innern einen trockenkäsigen, kleinererbsengroßen Herd. Das ganze Netz und teilweise das Pankreas ist besetzt mit gelben, hühnerschrotgroßen, tuberkulösen Herden. In der Milz sitzen in 2 Haufen jedesmal ca. 4–5 stecknadelkopfgroße, gelb durchschimmernde, an der Oberfläche höckerig vorstehende Tuberkel. Der Portallymphknoten ist haselnußkerngroß und mit zentraler Eiterkaverne versehen. Auf der Leberoberfläche sind zu kleinen Kolonien versammelt weiße, stecknadelkopfgroße Punkte zu bemerken. Die Bronchiallymphknoten sind geschwollen, gleichen einem Weizenkorn und sind dem Rand entlang mit strahligen Einlagerungen besetzt. Die Halslymphknoten sind unverändert.

Meerschweinchen mit Lebersaft geimpft:

An der Impfstelle der äußeren Bauchwand aufsitzend ist ein erbsengroßer, innen eiteriger Knoten. Der linke Kniefaltenknoten ist größer als der rechte. Der vergrößerte Portallymphknoten birgt in sich ein stecknadelkopfgroßes Eiterklümpchen. In der Milz sitzen 4 stecknadelkopfgroße, gelbe, höckerig hervortretende Tuberkel. Ein erbsengroßer Knoten sitzt der unteren Brustwand auf und umfaßt einen kleinen Eiterherd. In den tuberkulösen Veränderungen der Milz, des Portal- und des Brustwandknotens sind färberisch Tuberkelbacillen nachzuweisen. Bei der subkutan gewählten Impfung sind die tuberkulösen Veränderungen zwar typisch tuberkulöser Natur, aber nicht so stark ausgebreitet als in den vorhergehenden Fällen.

Aus Fall XII ist ersichtlich, daß Leber und Milz des Schlachtieres fleischbeschaulich zwar keine Ursache zur Beanstandung boten, daß sie aber trotzdem tuberkelbacillenhaltig sind.

Fall XIII.

8-jährige Allgäuer Kuh von mäßigem Nährzustand.

Befund: Der rechte und linke Bronchiallymphknoten ist zu Aprikosen- bis Kleinapfelgröße angeschwollen und auf dem Durchschnitt übersät mit harten, sandigen, reiskorngroßen Tuberkeln. Der Mediastinallymphknoten ist ca. 25 cm lang, 4–5 cm breit und ebenfalls ganz durchsetzt mit harten, grieskorngroßen Tuberkeln. Die Lunge selbst zeigt starke tuberkulöse Erkrankung. Die Spitzenlappen, sowie auch die Hauptlappen sind durchsetzt mit erben- bis haselnußgroßen tuberkulösen Knoten, aus denen beim Anschneiden eine weichkäsige, rahmartige, breiige Masse abläuft. Am Brustfell sitzen neben kleineren Knoten auch faustgroße und vielfach handdicke Schwarten. Das Zwerchfell zeigt mehr bindegewebige Auflagerungen mit zerstreuten erbsengroßen Knoten. Die serös-tuberkulöse Milz ist mit der Bauchwand teilweise verwachsen. Die Mesenteriallymphknoten sind bis zum Ausmaß einer Zwetschge gediehen und bergen in sich runde hartkäsige Herde. Leber mit Portallymphknoten, Euter, Nieren und Fleischlymphknoten sind frei von tuberkulösen Veränderungen.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Organe und Teile sind untauglich, die übrigen Organe und das Fleisch minderwertig.

Impfversuch: Das am 3. Febr. 1913 subkutan mit 3 ccm Lebersaft geimpfte Meerschweinchen wird bei der am 17. März 1913 erfolgten Obduktion als tuberkulös infiziert befunden.

Der Obduktionsbefund des Impftieres war folgender: An der Impfstelle befindet sich der äußeren Bauchwand aufgelagert ein haselnußgroßer Knoten mit eiteriger Kaverne. Der rechte Kniefaltenlymphknoten ist klein erbsengroß und birgt in sich ein stecknadelkopfgroßes Eiterklümpchen. Einige hühnerschrotgroße Knötchen sitzen im Netz. In der Milz sind 5 konklomierete Herde in Stecknadelkopfgroße, welche auf der Oberfläche höckerig hervorragen. Der Portallymphknoten ist haselnußkernartig vergrößert und schließt einen weichkäsigen Herd in sich ein. Auf dem

rechten Leberlappen sind in einem Haufen angeordnet weiße, punktförmige Herdchen. Der Eingeweidefläche der Brustwand sitzen 3 erbsengroße Knoten auf, die im Innern eine kleine Eiterkaverne führen. Der linke vergrößerte Bronchiallymphknoten birgt ein stechnadelkopfgroßes Käseherdchen in sich. Die Halslymphknoten sind nicht verändert.

Fall XIII zeigt somit wieder, daß die Leber, welche weder im Parenchym, noch in den Portallymphknoten sichtbare tuberkulöse Veränderungen zeigte, trotzdem durch Impfung nachweisbare Tuberkelbacillen enthält.

Fall XIV.

8-jährige Kuh im mittleren Nährzustand.

Befund: Der linke Bronchiallymphknoten ist pflaumengroß und enthält zwei erbsengroße hartsandige Tuberkeln. Der Mediastinallymphknoten hat Kleinkartoffelgröße angenommen und birgt in sich einen hartkäsigen Tuberkel in Haselnußgröße. Die Spitzenlappen der Lunge stellen eine aus haselnußgroßen Knoten zusammengesetzte Traube dar. Eben solche, aber auch bis hühnereigroße, isolierte Knoten mit weichkäsigem, rahmartigem Inhalt sind in den Hauptlappen zerstreut. Die Mesenteriallymphknoten sind teilweise bis zu Walnuß- und Kartoffelgröße geschwollen und auf dem Durchschnitt mit bis haselnußgroßen, hartkäsigen, mörchelartigen Tuberkeln durchsetzt.

Leber, Milz und Fleischlymphknoten sind nicht tuberkulös verändert.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Organe werden als untauglich entfernt, das Fleisch und die übrigen Organe sind minderwertig.

Impfversuch: Am 3. Febr. 1913 werden 2 Meerschweinchen geimpft, das eine intraperitoneal mit 4 ccm Milzsaft und das andere mit 3 $\frac{1}{2}$ ccm Lebersaft subkutan.

Die am 17. März 1913 erfolgte Obduktion ergibt keine eingetretene Infektion der beiden Impftiere.

Fall XV.

6-jährige Kuh, Allgäuer Rasse in gutem Nährzustand.

Befund: Von den Organen ist nur die Lunge tuberkulös erkrankt. Der linke Bronchiallymphknoten ist aprikosengroß und birgt in sich einen fast haselnußgroßen, runden, lehmig-sandigen Tuberkel. In den Spitzen- und Hauptlappen der Lunge finden sich haselnußgroße, weichkäsige, fast rahmartig fließende Herde neben kleineren ebenso beschaffenen Tuberkeln in geringer Zahl. An den übrigen Organen sind keine tuberkulösen Veränderungen wahrzunehmen.

Beurteilung: Die Lunge ist untauglich zum Genuß für den Menschen, alles übrige volltauglich.

Impfversuch: Ein am 3. Febr. 1913 mit 2 $\frac{1}{2}$ ccm Milzsaft intraperitoneal resp. ein mit 3 ccm Lebersaft subkutan geimpftes und am 17. März 1913 obduziertes Meerschweinchen ist ganz gesund geblieben.

Fall XVI.

6-jähriger Ochse in mittlerem Nährzustand.

Befund: Der linke Bronchiallymphknoten ist von der Größe einer kleinen Faust, markig, speckig aussehend. Beim Durchschneiden sind am Rand des Lymphknotens 3 hartkäsige, traubige Tuberkel in doppelter Erbsengröße neben einigen reiskorngrößen ersichtlich. Der rechte Bronchiallymphknoten ist zu Kleinkartoffelgröße angeschwollen und sulzig schwammig. Der Mediastinallymphknoten ist geschwollen zur Form und Größe einer Schweinsniere. Beim Durchschneiden desselben treten in der weißen, weichknorpelig erscheinenden Organmasse streifenförmige, rote Striemen zutage, die das Bild einer Marmorierung erwecken. Ferner sind mehrere reiskorngrößen, harte Tuberkel in ihm verstreut vorzufinden. Die Lunge zeigt das Bild schwerer Erkrankung. Die Lobuli der Spitzenlappen sind rotbraun, luftleer (vibrinös-croupös), mit disseminierten erbsen- bis kleinhaselnußgroßen tuberkulösen Herden besetzt, die mit den Bronchien in Verbindung stehen. Ihr Inhalt ist weichkäsiger, meist schleimig-eiteriger. Auch die meisten Lobuli der Hauptlappen sind funktionslos, rotbraun und mit Exsudat gefüllt. In den meisten Lobuli sitzen zahlreiche erbsen- bis haselnußgroße Tuberkel mit weichkäsiger schleimiger Inhalt. Die Mesenteriallymphknoten sind vielfach hühnereigroß und bergen in sich runde kalkige Herde. Auf dem Brustfell sitzen nur vereinzelte Knoten an stark ausgeprägten bindegewebigen Auflagerungen. Die Niere zeigt zahlreiche zentral-gelbe Infarkte.

Leber, Milz und Fleischlymphknoten sind unverändert.

Beurteilung: Die tuberkulösen Organe und Teile sind untauglich, die übrigen Organe und das Fleisch minderwertig.

Impfversuch: Am 10. Febr. 1913 wird je ein Meerschweinchen mit 3 ccm Lebersaft subkutan resp. mit 3 ccm Milzsaft intraperitoneal geimpft. Beide Tiere werden bei der am 25. März 1913 erfolgten Obduktion tuberkulös erkrankt befunden.

Der Obduktionsbefund des mit Lebersaft geimpften Meerschweinchens war folgender:

Der äußeren Brustwand liegt ein schwartiger, flächenhafter Belag, außerdem noch vereinzelt ca. 9 gerstenkorngroße Knötchen mit geschlossenen Eiterherdchen auf. Der linke Kniefaltenlymphknoten ist doppelt erbsengroß und mit 2 zentralen Eiterherdchen besetzt. Der Kreuzbeinlymphknoten ist kleinerbsengroß, auf dem Durchschnitt dem Rand entlang käsigt, die Tuberkelmassen verlaufen nach dem Hilus zu strahlig. Die Darmlymphknoten sind merklich vergrößert. Die Milz ist durchsetzt mit zahlreichen tuberkulösen Herden, die knotig über die Oberfläche ragen und gelb durchschimmern. Der Portallymphknoten ist kleinbohnen groß, innen hartkäsigt. Auf der visceralen Brustwand sitzt ein weizenkorngroßer und ein kleinerbsengroßer zentral-weichkäsiger Knoten. Die Bronchiallymphknoten sind vergrößert, der linke derb und hart. Die Halslymphknoten sind unverändert.

Der Obduktionsbefund des mit Milzsaft geimpften Meerschweinchens ist folgender:

An der Impfstelle sitzt ein haselnußgroßer Knoten, der einen eiterigen geschlossenen Abszeß enthält. Ferner liegen noch einige kleine Knötchen der Bauchwand auf. Auch innen an der Bauchwand an der Durchstichstelle findet sich ein kleiner Knoten. Die Milz zeigt 4 konglomerierte Herde tuberkulöser, die Oberfläche überragender Knötchen. Der Portallymphknoten ist auf dem Durchschnitt hart und mit sandigen Massen durchsetzt. Der visceralen Brustwand sitzt ein gut erbsengroßer Knoten mit dünnflüssigem Eiterherd auf. Der rechte Bronchiallymphknoten ist ungefähr dreimal größer als normal, markig hart geschwollen, der linke weniger ausgedehnt. Die Halslymphknoten sind unverändert.

Im vorliegenden Fall sind somit Leber und Milz nachweisbar tuberkelbacillenhaltig, obwohl dieselben bei der Beschau keine Veränderungen boten, die zu einer Beanstandung der Organe berechtigt hätte.

Fall XVII.

8-jährige Simmenthaler-Kuh in gutem Nährzustand.

Befund: Die Leber zeigt Distomatose. Von den übrigen Organen ist nur die Lunge mit Bronchial- und Mediastinallymphknoten tuberkulös.

Die Bronchiallymphknoten sind bis aprikosengroß und bergen in sich trockenkäsige runde Tuberkel. Im kartoffelgroßen Mediastinallymphknoten findet sich ein welschnußgroßer käsiger Herd. In der Lunge zeigen sich isolierte, erbsengroße, weichkäsige Tuberkel. Außerdem sind noch isolierte, haselnußgroße und 1 hühnereigroßer Tuberkuloseherd mit weichkäsigen Inhalt vorhanden. Zudem finden sich noch einige Cysticerken in der Lunge vor.

Beurteilung: Die Lunge ist untauglich, die Leber wird teilweise (durch Ausschneiden) entfernt. Das Fleisch und die übrigen Organe sind tauglich.

Impfversuch: Je ein Meerschweinchen wird am 10. Febr. 1913 mit 3 ccm Lebersaft subkutan und mit 3 ccm Milzsaft intraperitoneal geimpft. Das Lebertier geht am 14. Febr. 1913 ein, das am 25. März 1913 obduzierte Milztier erweist sich als nicht tuberkulös infiziert.

Fall XVIII.

7-jährige Simmenthaler-Kuh in gutem Nährzustand.

Befund: Von den Organen ist nur die Lunge tuberkulös infiziert.

Die Bronchial- und Mediastinallymphknoten sind geringgradig vergrößert. In den Spitzen- und Hauptlappen der Lunge finden sich isolierte, taubeneigroße, weichkäsige Massen führende Tuberkel. Einige Lobuli sind rotbraun, luftleer (vibrinös-croupös), mit erbsengroßen, weichkäsigen Knötchen durchsetzt.

Beurteilung: Die Lunge ist untauglich, das Fleisch und die übrigen Organe sind tauglich.

Impfversuch: Am 12. Febr. 1913 wird je ein Meerschweinchen mit 3 ccm Lebersaft subkutan und mit $2\frac{1}{2}$ ccm Milzsaft intraperitoneal geimpft. Die beiden Tiere werden bei der am 27. März 1913 erfolgten Obduktion gesund befunden.

Fall XIX.

Simmenthaler-Kuh in mittlerem Nährzustand.

Befund: Das Schlachttier zeigt nur Tuberkulose des Dickdarms und der Lunge geringgradig.

Die beiden Bronchiallymphknoten sind taubeneigroß und mörtelartig verkäst. Im linken Zwerchfelllappen der Lunge finden sich einige fibrinös-croupöse Lobuli, die, teils mit unregelmäßigen, weichkäsigen Herden, teils mit erbsengroßen, weichkäsigen Knoten besetzt sind. Die Lymphknoten des Dickdarms sind knollig, kaum zu durchschneiden und von mörtelartiger Konsistenz.

Beurteilung: Lunge und Dickdarm sind untauglich.

Impfversuch: Das am 12. Febr. 1913 mit 2 $\frac{1}{2}$ ccm Lebersaft subkutan geimpfte Meerschweinchen geht am 21. Febr. ein und das mit 2 ccm Milzsaft intraperitoneal geimpfte Meerschweinchen erweist sich bei der am 27. März 1913 erfolgten Obduktion als nicht tuberkulös infiziert.

Fall XX.

5-jährige Allgäuer Kuh in gutem Nährzustand.

Befund: Nur Lunge und Brustfell sind geringgradig tuberkulös.

Die Bronchial- und Mediastinallymphknoten sind mit isolierten, hartkäsigen, mörtelartigen, erbsen- bis kleinschnußgroßen Herden durchsetzt. In der linken Lunge befinden sich nur einige rotbraune, luftlere Lobuli. Die rechte Lunge zeigt stellenweise croupöse, pneumonische Herde, die mit isolierten, zackigen, sandigen Inhalt führenden, erbsengroßen Tuberkeln besetzt sind. Auf dem Brustfell liegen schwache granulöse Auflagerungen und haselnußgroße Knoten.

Beurteilung: Die Lunge ist untauglich und das Brustfell wird entfernt. Die übrigen Organe und das Fleisch sind tauglich ohne Einschränkung.

Impfversuch: Die mit 3 ccm Lebersaft subkutan resp. mit 2 $\frac{1}{2}$ ccm Milzsaft intraperitoneal geimpften Meerschweinchen werden bei der am 29. März 1913 erfolgten Obduktion als nicht tuberkulös erkrankt befunden.

Fall XXI.

Gut genährter bayrischer Ochse.

Befund: Von den Organen ist nur die Lunge geringgradig tuberkulös.

Der linke und rechte Bronchiallymphknoten besitzt die Größe einer Pflaume und ist mit isolierten, reiskorn- bis kleinererbsengroßen, zentral-hartkalkigen Herden durchsetzt. Der vergrößerte Mediastinallymphknoten ist ebenso beschaffen. In einem Lobulus des rechten Zwerchfelllappens der Lunge sitzt ein taubeneigroßer, weichkäsiger, unregelmäßig-zackiger Herd in sarkomartiger Umgebung. Ferner sind noch isolierte, erbsengroße, weichkäsige Tuberkel in der Lunge vorhanden.

Die Leber ist geringgradig distomatös.

Beurteilung: Nur die Lunge und teilweise auch die Leber sind untauglich, das Fleisch und die übrigen Organe tauglich ohne Einschränkung.

Impfversuch: Die beiden mit 2 $\frac{1}{4}$ ccm Lebersaft subkutan, resp. 2 $\frac{1}{4}$ ccm Milzsaft intraperitoneal geimpften Meerschweinchen werden bei der Obduktion am 29. März 1913 gesund befunden.

Fall XXII.

6-jährige Simmenthaler-Kuh im mittleren Nährzustand.

Befund: Von den Organen ist nur die Lunge tuberkulös. Die Bronchiallymphknoten sind kindsfaustgroß und von mörtelartiger Konsistenz; die Mediastinallymphknoten fauststark und ebenfalls total mörtelartig verkäst. In den Spitzen-, namentlich aber in den Zwerchfelllappen der Lunge sitzen zahlreiche isolierte, erbsen-, haselnuß- bis taubeneigroße, tuberkulöse Herde, die gut bindegewebig abgegrenzt und mit weichkäsigen Massen gefüllt sind.

Beurteilung: Nur die Lunge ist untauglich, die übrigen Organe und das Fleisch tauglich ohne Einschränkung.

Impfversuch: Die am 17. Febr. 1913 mit 2 $\frac{1}{2}$ ccm Milzsaft intraperitoneal bzw. mit 2 $\frac{1}{2}$ ccm Lebersaft subkutan geimpften Meerschweinchen werden bei der Obduktion am 31. März 1913 gesund befunden.

Fall XXIII.

4-jährige Simmenthaler-Kuh in gutem Nährzustand.

Befund: Von den Organen wird bei der Beschau nur die Lunge tuberkulös befunden.

Die Bronchial- und Mediastinallymphknoten sind ziemlich vergrößert und mit welschnußgroßen und kleineren hartkäsigen, sägmehlartigen Herden besetzt. An einigen Stellen der Lunge sitzen traubenförmig angeordnete Haufen, bindegewebig abgegrenzter Knoten, die teilweise in sarkomähnlicher Masse gelegen sind.

Beurteilung: Nur die Lunge ist untauglich.

Impfversuch: Die am 17. Febr. 1913 mit 2 $\frac{1}{2}$ ccm Lebersaft subkutan und mit 2 $\frac{1}{2}$ ccm Milzsaft intraperitoneal geimpften Meerschweinchen werden bei der am 31. März 1913 erfolgten Obduktion als frei von Tuberkulose befunden.

Fall XXIV.

Magere Simmenthaler Kuh.

Befund; Brustfell, Darm und Lunge sind hochgradig tuberkulös.

Die Bronchiallymphknoten sind fast zu Mannsfaustgröße geschwollen und schneiden sich leicht wie das Fleisch einer reifen Pflaume, sind schwammig und sulzig. Am Rand des Lymphknotens entlang sind gelbe kleinsandige Massen gelagert, die streifig nach dem Innern hinziehen. Der Mediastinallymphknoten ist ca. 25 cm lang, schwammig, und schneidet sich sarkomähnlich. Auf dem Durchschnitt ist er rotstriemig, am Rand des Lymphknotens entlang mit kleinsandigen Massen belegt, die strahlig nach dem Innern zu auslaufen. (Diffuse, käsige Infiltration.) Nur wenige Lobuli der Lunge besitzen noch ihre normale Farbe und erscheinen gesund und funktionsfähig. Die übrigen Lobuli der Lunge sind ödematös, rotbraun (fibrinöscroupöse Pneumonie). Die ganze Lunge ist durchsetzt mit disseminierten, erbsen-, teils hühnereigroßen, weichkäsigen, teils gut abgegrenzten, teils unregelmäßig sich ausdehnenden Tuberkelknoten, zwischen denen wieder disseminierte, reiskorngroße, zentralgetrübe Knötchen liegen. Auf dem Brustfell sind mäßige schwartige Auflagerungen und isolierte haselnuß- bis welschnußgroße Knoten. Die Mesenteriallymphknoten sind sämtlich stark geschwollen, und mit haselnußgroßen Tuberkeln besetzt.

Beurteilung: Die tuberkulösen Organe werden als untauglich beseitigt. Die übrigen Organe und das Fleisch sind minderwertig.

Impfversuch: Am 21. Febr. 1913 wird ein Meerschweinchen mit 2 $\frac{1}{2}$ ccm Milzsaft intraperitoneal und ein Meerschweinchen mit 2 $\frac{1}{2}$ ccm Lebersaft subkutan geimpft.

Bei der am 4. April 1913 erfolgten Obduktion erweisen sich beide Impftiere tuberkulös erkrankt.

Befund des mit Milzsaft geimpften Meerschweinchens: Der Bauchwand sitzt an der Impfstelle ein erbsengroßer und ein hühnerschrotgroßer Knoten mit zentralem Eiterherd auf. Der linke Kreuzbeinknoten ist länglich weizenkorngroß und mit einem stecknadelkopfgroßen zentralen Eiterklümpchen versehen. Der Blinddarmlymphknoten ist erbsengroß und zentral weichkäsige. Das ganze Netz ist dicht besetzt mit hühnerschrotgroßen, zentral weichkäsigen Knötchen, die auch auf das Pankreas übergreifen. In der Milz sitzen ca. 8 konklomierete, reiskorngroße Knötchen. Der Portallymphknoten ist haselnußkerngroß und mit einem hanfkorngroßen Käseherdchen besetzt. In der Leber zerstreut finden sich mehrere stecknadelkopfgroße Herde. Auf der visceralen Brustwand sitzen zwei erbsengroße, zentral verkäste Knoten. Die Bronchiallymphknoten sind weizenkorngroß und besitzen ein käsiges Zentrum. Die Halslymphknoten sind unverändert.

Befund des mit Lebersaft geimpften Meerschweinchens: An der äußeren Bauchwand lagern zwei fast taubeneigroße, eine eiterige Kaverne einschließende, Knoten. Der linke Kniefaltenknoten ist roggenkorngroß und besitzt im Zentrum einen reiskorngroßen Eiterherd. Der linke Kreuzbeinlymphknoten ist haselnußkerngroß und birgt in sich einen erbsengroßen Käseherd. In der Milz zerstreut sitzen ca. 14 reiskorngroße, gelbe, über die Milzfläche hervorragende, tuberkulöse Herde. Der Portallymphknoten ist haselnußkerngroß und auf dem Durchschnitt wie übersät mit gelbem Sand. In der Leber selbst sind wenige, oberflächlich zerstreute, nadelkopfgroße Herdchen wahrzunehmen. Auf der visceralen Brustwand sitzt ein haselnußkerngroßes Knotenpaket und ein weizenkorngroßes Knötchen, die ein weichkäsiges Zentrum besitzen. Die Bronchiallymphknoten sind etwas vergrößert. Auf der Lungenoberfläche sind einige stecknadelkopfgroße, glasige Herdchen ersichtlich.

Obwohl Leber und Milz des Schlachttieres als minderwertig in den Verkehr gegeben werden, da das Parenchym und der Portallymphknoten keine tuberkulösen Veränderungen zeigten, so erwiesen sich dieselben bei eingehender Prüfung durch den Tierversuch doch als tuberkelbacillenhaltig.

Fall XXV.**Magere Simmenthaler Kuh.**

Befund: Der linke Bronchiallymphknoten ist zu Welschnußgröße geschwollen und von weicherer Konsistenz als normale Knoten. Der rechte Bronchiallymphknoten ist ebenso beschaffen, besitzt aber 2 hartkäsige sagogroße Tuberkel. Der Mediastinallymphknoten ist kreiselförmig und mit hartkäsigem reiskorn- bis erbsengroßen Herden besetzt. Am stumpfen Rand der Lungenhauptlappen sind zahlreiche ödematöse, rotbraune (vibrös-croupöse) Lobuli, aus denen die tuberkulösen Herde auf die Oberfläche höckerig hervorragend. Auf dem Durchschnitt zeigen sie sich durchsetzt mit hühnerschrot- bis erbsengroßen, weichkäsigen Tuberkeln. Die gesund erscheinenden Partien der Lunge sind ganz durchsetzt mit über grieskorngroßen, zentral getrüben, nur bei näherer Beachtung ins Auge fallenden Knötchen. (Abgelaufene Miliartuberkulose.) Auf dem Brustfell sind mäßige tuberkulöse Auflagerungen. Die Mesenterial-Lymphknoten sind teilweise vergrößert und umfassen hartkäsige, abgegrenzte Tuberkeln. Die Leber ist distomatös.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Organe sind untauglich; die Leber wird wegen Distomatosis teilweise entfernt. Die übrigen Organe und das Fleisch sind minderwertig.

Impfversuch: Es wird je ein Meerschweinchen am 21. Febr. 1913 mit 2 1/2 ccm Milzsaft intraperitoneal resp. mit 3 ccm Lebersaft subkutan geimpft. Das Lebertier verendet am 22. Febr. 1913. Das Milztier erweist sich bei der am 4. April 1913 erfolgten Obduktion als nicht tuberkulös erkrankt.

Fall XXVI.**7-jähriger Ochse in gutem Nährzustand.**

Befund: Von den Organen sind nur Lunge und Darm tuberkulös. Die Bronchial- und Mediastinallymphknoten sind vergrößert, derb und mit etlichen runden, erbsengroßen, käsigen Herden versehen. In der Lunge sitzt ein auf der Oberfläche hervorragender, hühnereigroßer, mit Bronchien in Verbindung stehender Herd, der bindegewebig umgrenzt ist und schleimig-eiterige Massen enthält. Einige Mesenteriallymphknoten sind derb, vergrößert und enthalten kalkige Herde.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderte Lunge und das dem erkrankten Mesenterialknoten korrespondierende Darmstück werden entfernt. Die übrigen Organe und das Fleisch sind tauglich ohne Einschränkung.

Impfversuch: Ein am 26. Febr. 1913 mit 3 ccm Lebersaft subkutan geimpftes Meerschweinchen wird bei der am 10. April 1913 erfolgten Obduktion als nicht tuberkulös erkrankt befunden.

Fall XXVII.**7-jährige Pinzgauer-Kuh in gutem Nährzustand.**

Befund: Von den inneren Organen ist nur die Lunge tuberkulös.

Die Bronchiallymphknoten sind faustgroß und mit zahlreichen erbsengroßen hartkäsigen Herden versehen. Ebenso ist auch der Mediastinallymphknoten beschaffen. In der Lunge verteilt sitzen zahlreiche erbsen- bis hühnereigroße, weichkäsige tuberkulöse Herde, die scharf gegen die Umgebung abgegrenzt sind. In einigen Lobuli finden sich kleine sarkomähnliche, zackig auslaufende, nicht deutlich abgegrenzte Herde. Die übrigen Teile der Lunge sind funktionsfähig.

Andere Organe und Fleischlymphknoten erweisen sich als unverändert.

Beurteilung: Die Lunge wird als untauglich entfernt, die übrigen Organe und das Fleisch sind tauglich.

Impfversuch: Das am 28. Febr. 1913 mit 2 ccm Lebersaft subkutan geimpfte Meerschweinchen erweist sich bei der am 11. April 1913 erfolgten Obduktion frei von Tuberkulose.

Fall XXVIII.**6-jährige Simmenthaler-Kuh in gutem Nährzustand.**

Befund: Die Untersuchung ergibt nur das Vorhandensein von Lungentuberkulose.

In den etwas vergrößerten Bronchiallymphknoten finden sich einige hartkäsige Herde. Im rechten Zwerchfellappen der Lunge sitzt ein deutlich bindegewebig umgebener, 1 1/2-faustgroßer, weichkäsiger, teilweise rahmartig-schleimiger Herd.

Weitere Veränderungen an der Lunge und an anderen Organen sind nicht vorhanden.

Beurteilung: Die Lunge ist untauglich, die übrigen Organe und das Fleisch sind tauglich ohne Einschränkung.

Impfversuch: Das am 28. Febr. 1913 subkutan mit 2 $\frac{1}{2}$ ccm Lebersaft geimpfte Meerschweinchen erweist sich bei der am 11. April 1913 erfolgten Obduktion als gesund.

Fall XXX.

7-jährige magere Simmenthaler-Kuh.

Befund: Die Bronchiallymphknoten sind welschnußgroß und schwammig geschwollen, so daß die Lymphknoten zwischen den Fingern zu zerquetschen sind. Der Mediastinallymphknoten erreicht das Ausmaß einer Schweinsniere, ist ebenfalls schwammig geschwollen, sehr leicht zu durchschneiden, und auf dem Durchschnitt mit kleinsandigen, gelben Massen durchtränkt. Die Lunge zeigt sich mit disseminierten, grißkorngroßen, zentralgetrübten und verkästen Knötchen durchsetzten, zwischen denen sich wieder erbsen- bis haselnußgroße, weichkäsige Tuberkel befinden. Die Mesenteriallymphknoten sind stark geschwollen und mit disseminierten erbsen- bis haselnuß- und taubeneigroßen, weichkäsigen Herden versehen.

In den anderen Organen finden sich keine tuberkulösen Veränderungen.

Beurteilung: Lunge und Darm sind untauglich, das Fleisch und die übrigen Organe aber minderwertig.

Impfversuch: Ein Meerschweinchen wird am 3. März 1913 mit 2 ccm Lebersaft subkutan geimpft. Dasselbe geht am 6. März 1913 ein.

Ein weiteres Meerschweinchen erhält 2 ccm Milzsaft intraperitoneal und wird bei der am 25. April 1913 erfolgten Obduktion tuberkulös erkrankt befunden.

Der Befund bei dem mit Milzsaft geimpften Tiere war folgender:

Der linke Kniefaltenknoten ist erbsengroß und zentral verkäst. Der linke Kreuzbeinlymphknoten ist weizenkorngroß und birgt im Innern ein Eiterklümpchen. Der Blinddarmlymphknoten ist gut erbsengroß, der Grimmdarmlymphknoten grißkorngroß, beide mit zentralem Käseherd besetzt. Der Blinddarm ist mit der Bauchwand verwachsen. Auf der Darmserosa finden sich stecknadelkopfgroße, weiße Knötchen. Das Netz ist übersät mit hühnerschrotgroßen, gelben Knoten, von denen einer erbsengroß ist und eine Käsekaverne in sich birgt. Auch auf dem Pankreas sind die Knötchen ausgebreitet. Die Milz ist durchsetzt mit höckerig die Oberfläche überragenden, in Gruppen stehenden, gelben, stecknadelkopfgroßen Tuberkeln. In der linken Niere sitzt ein hirsekorngroßes Knötchen. Der Portallymphknoten ist haselnußkerngroß und auf dem Durchschnitt durchgehend verkäst. Die Oberfläche der Leber ist übersät mit grüngelben, unregelmäßigen Flecken im Ausmaß einer kleinen Fischschuppe. Am linken Rande ist die Leber knotig mit dem Peritoneum verwachsen. Die Lungenoberfläche ist dicht besetzt mit zahlreichen, hirsekorngroßen, glasig-durchsichtigen Herdchen. Der rechte Bronchiallymphknoten ist kleinerbsengroß und schließt eine Kaverne in sich ein. Auf der visceralen Brustwand sitzt ein haselnußkerngroßer Knoten mit zentraler Verkäsung. Die Halslymphknoten sind unverändert.

Es ergibt sich demnach, daß die als minderwertig in den Verkehr gegebene Milz virulente Tuberkelbacillen enthält.

Fall XXX.

9-jährige Kuh, Simmenthaler-Rasse, im mittleren Nährzustand.

Befund: Der linke Bronchiallymphknoten ist kinderfaustgroß und mit einigen erbsen- bis haselnußgroßen, runden, hartkäsigen Tuberkeln durchsetzt. Der Mediastinallymphknoten ist fauststark und trockenkäsige. Die Spitzenlappen der Lunge werden ganz eingenommen von traubig angeordneten, dicht nebeneinanderliegenden, haselnußgroßen, bindegewebig miteinander verbundenen Knoten, so daß kaum mehr gesundes Lungengewebe dazwischen liegt. Die tuberkulösen Veränderungen enthalten weichkäsige Massen. Am stumpfen Rand des rechten Zwerchfellappens findet sich ein faustgroßes Konglomerat aus erbsen- bis taubeneigroßen, weichkäsigen Herden. Der übrige Teil der Lunge ist gesund.

Beurteilung: Die Lunge und das dem Lymphknoten zugehörige Darmstück sind untauglich. Die übrigen Organe und das Fleisch sind tauglich ohne Einschränkung.

Impfversuch: Die beiden am 14. März 1913 intraperitoneal mit 2 ccm Milzsaft resp. mit 2 $\frac{1}{2}$ ccm Lebersaft subkutan geimpften Meerschweinchen erweisen sich bei der am 25. April erfolgten Obduktion als nicht tuberkulös.

Fall XXXI.

Simmenthaler-Kuh in mittlerem Nährzustand.

Befund: Die Bronchiallymphknoten sind zu Kleinapfelgröße und die Mediastinalknoten zu Kartoffelgröße geschwollen und teils mit erbsengroßen, runden, teils unregelmäßigen, hartkäsigen Herden besetzt. Die Lunge ist stark mit erbsen- bis haselnußgroßen, weichkäsigen Herden in allen Lappen durchspickt. Auf

dem Brustfell sitzen mäßige schwartige und knotige Auflagerungen. Vier Mesenteriallymphknoten sind halbfautgroß, und auf dem Durchschnitt hartkäsige. Die Euterviertel sind mit disseminierten, erbsengroßen, käsigen Tuberkeln durchsetzt und ebenso sind die Lgl. inguinales superficiales tuberkulös verändert.

Leber, Milz und Fleischlymphknoten sind frei von tuberkulösen Veränderungen.

Beurteilung: Die tuberkulösen Organe und Teile sind untauglich, die übrigen Organe und das Fleisch minderwertig.

Impfversuch: Die am 26. März 1913 mit $2\frac{1}{4}$ ccm Milzsaft intraperitoneal und mit $2\frac{1}{2}$ ccm Lebersaft subkutan geimpften Meerschweinchen erweisen sich bei der am 13. Juni 1913 erfolgten Obduktion als tuberkulös infiziert.

Der Befund des mit Milzsaft geimpften Meerschweinchens ist folgender:

An der Impfstelle (äußere Bauchwand) findet sich ein haselnußgroßer geschlossener Abszeß. Der linke Kniefaltenlymphknoten und der linke Schamlymphknoten sind weizenkorngroß und zentral verkäst. Der linke Kreuzbeinlymphknoten zeigt Haselnußgröße und ist mit einer erbsengroßen, weichkäsigen Kaverne besetzt. Der rechte Kreuzbeinlymphknoten ist etwas kleiner. Das Netz ist besät mit dichtstehenden, hühnerschrotgroßen, weichkäsigen Knötchen, die auch über das Pankreas ausgebreitet sind. Die Milz ist dicht durchsetzt mit gehäuften, stecknadelkopfgroßen Tuberkuloseherden. Die Portallymphknoten sind zu Haselnußkerngröße gediehen, in die kleine Käseherden eingelagert sind. In der Lunge sind zahlreiche glasig-durchsichtige und unregelmäßig gestaltete Knötchen. Die Bronchiallymphknoten sind erbsengroß und mit zentralen Käseherden versehen. Der visceralen Brustwand sitzen vier hühnerschrot- bis weizenkorngroße, käsige Knoten auf. Die Halslymphknoten sind unverändert.

Der Befund des mit Lebersaft geimpften Meerschweinchens ist folgender:

Auf der Bauchwand sitzen traubige Knoten mit kleinen Abszessen auf schwartiger, marktstückgroßer Unterlage. Die beiden Kniefaltenknoten sind fast haselnußgroß und führen in sich weiche Käsemassen. Der linke Schamlymphknoten ist klein-erbsengroß und zentral-verkäst, der linke Kreuzbeinlymphknoten zum Ausmaß einer kleinen Haselnuß vergrößert. Beim Durchschneiden desselben fließt dünnflüssiger Eiter ab. Netz, Pankreas und Darmlymphknoten sind ohne sichtliche Veränderungen. Die Milz ist höckerig und dicht durchsetzt mit gelben, hirsekorngroßen Tuberkeln. Auf der Leberoberfläche sind in kleinen Haufen angeordnet stecknadelkopfgroße, weiße Herde. Der Portallymphknoten ist haselnußkerngroß und von gelbkäsigen Massen unregelmäßig durchzogen. Der visceralen Brustwand sitzen vier weizenkorngroße käsige Knoten auf. Die Lunge ist oberflächlich mit einigen hirsekorngroßen glasig-durchsichtigen Herden besetzt. Der linke Bronchiallymphknoten erreicht fast Kleinbohnengröße und ist unregelmäßig mit Käsemassen durchsetzt. Der rechte Bronchiallymphknoten ist nur zu halber Größe gelangt und auf dem Durchschnitt käsige.

Die tuberkulösen Veränderungen der beiden Impftiere ergeben somit den Beweis, daß die tuberkulosefrei erscheinende Leber und Milz tuberkelbacillenhaltig sind.

Fall XXXII.

8-jährige, magere Simmenthaler-Kuh.

Befund: Die Bronchiallymphknoten sind zu mäßiger Größe angeschwollen, schneiden sich sehr leicht und haben ein gallertartiges Aussehen. Der Mediastinallymphknoten ist zu zwei hintereinander gelegten Fäusten vergrößert. Unregelmäßige, gelbsandige Massen durchziehen den schwammigen Lymphknoten. Die Spitzlappen der Lunge stellen eine aus haselnußgroßen, weichkäsigen Knoten zusammengesetzte Traube dar, so daß kaum mehr gesundes Gewebe übrig bleibt. In den Hauptlappen sind reichlich erbsengroße, käsige und hühnereigroße Herde mit rahmartigem, schleimigem Inhalt zerstreut. Mehrere Lungenlobuli sind rotbraun, fibrinös-krupös verändert. Einige Mesenteriallymphknoten sind kinderfaustgroß mit runden, hartkäsigen Knoten besetzt.

Leber, Milz und Fleischlymphknoten sind frei von tuberkulösen Erscheinungen.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Organe sind untauglich, die übrigen Organe und das Fleisch im Nahrungs- und Genußwert herabgesetzt.

Impfversuch: Am 28. März 1913 wird ein Meerschweinchen mit $2\frac{1}{2}$ ccm Milzsaft intraperitoneal und ein Meerschweinchen mit $2\frac{1}{2}$ ccm Lebersaft subkutan geimpft. Beide Tiere erweisen sich bei der am 13. Mai 1913 erfolgten Obduktion als tuberkulös infiziert.

Das mit Milzsaft geimpfte Meerschweinchen zeigte folgenden Befund.

Die Impfstelle und die regionären Lymphknoten sind intakt. Der linke Kreuzbeinlymphknoten ist weizenkorn groß und zentral verkäst. Das Netz ist dicht besät mit hühnerschrotgroßen gelben Knoten, die sich auch im Pankreas vorfinden. Die Milz ist reichlich durchsetzt mit gelben, stecknadelkopfgroßen, höckerig hervorragenden Tuberkeln. Im haselnußgroßen Portallymphknoten ist eine kleinerbsengroße, weichkäsige Kaverne. Auf der Oberfläche der Leber sind weiße, hirsekorn große Knötchen verteilt. Die Lunge ist durchsetzt mit stecknadelkopfgroßen, glasigen Herden. Beide Bronchiallymphknoten sind doppelt weizenkorn groß und mit Käsemasse gefüllt. Auf der visceralen Brustwand sitzen vier erbsen- bis übererbsengroße, innen käsige Knoten.

Der Obduktionsbefund des mit Leberpreßsaft geimpften Meerschweinchens ist folgender:

An der Impfstelle sitzt ein bohnenkerngroßer, geschlossener weichkäsiger Knoten. Der linke Kniefaltenlymphknoten ist weizenkorn groß und zentral verkäst. Der linke Schamlymphknoten ist erbsengroß, käsig, der linke Kreuzbeinlymphknoten fast bohnen groß und sein Inneres mit einer weichkäsigen Masse ausgefüllt. Gegen den Milzrand zu liegen drei gelbe, stecknadelkopfgroße Knötchen. Der Portallymphknoten ist doppelt erbsengroß und birgt ein käsiges Klümpchen in sich. Der linke Bronchiallymphknoten erreicht die Größe eines Roggenkorns und ist zentral-käsig. Der rechte Bronchiallymphknoten ist etwas kleiner.

Es zeigt sich demnach auch hier wieder, daß Leber und Milz des angeführten Schlachttieres, obwohl dieselben auf Grund der Beschau als tuberkulosefrei angesprochen werden mußten und dementsprechend zum Genuß für den Menschen zugelassen wurden, sich trotzdem als tuberkulös infiziert erweisen.

Fall XXXIII.

7-jährige magere Kuh.

Befund: Von den Organen erweisen sich die Bronchiallymphknoten zu Kleinapfelgröße angeschwollen, teilweise schwammig und rotfleckig und mit unregelmäßigen, gelbsandigen Massen durchzogen. Die Mediastinallymphknoten haben Faustgröße angenommen und sind total verkäst. Die Lunge ist stark tuberkulös. Alle Lappen sind reichlich durchsetzt mit erbsen-, haselnuß- bis hühnereigroßen Herden, die mit teils weichkäsigen, teils dünurahmigen, schleimartigen Massen erfüllt sind. Das Brustfell zeigt schwartige und großknotige tuberkulöse Auflagerungen. Eine Anzahl der Mesenteriallymphknoten ist kinderfaust groß und total hartkäsig. Auch im Darm selbst sind reiskorn große Knötchen wahrzunehmen. Die Nieren weisen mehrere reiskorn große, im Zentrum gelb erscheinende Knötchen auf.

Die Fleischlymphknoten, Leber, Portallymphknoten und Milz wurden frei von tuberkulösen Veränderungen gefunden.

Beurteilung: Die tuberkulös veränderten Organe sind untauglich, die übrigen Organe und das Fleisch im Nahrungs- und Genußwert erheblich herabgesetzt.

Impfversuch: Am 5. April 1913 wird ein Meerschweinchen subkutan mit 2 1/2 ccm Lebersaft und ein weiteres Meerschweinchen mit 2 ccm Milzsaft intraperitoneal geimpft. Die am 17. Mai 1913 erfolgte Obduktion zeigt, daß beide Impftiere tuberkulös infiziert sind.

Der Obduktionsbefund des mit Lebersaft geimpften Meerschweinchens war folgender:

An der Impfstelle sitzt ein erbsengroßer Knoten mit käsigem Inhalt. Der linke Kniefaltenknoten hat die Größe einer Haselnuß erreicht und ist im Innern mit einem Käseherd versehen. Der linke Schamlymphknoten ist mehr als weizenkorn groß und käsig. Der linke Kreuzbeinlymphknoten erreicht die Größe eines der Länge nach halbierten Mandelkernes. Auf dem Durchschnitt sind zwei hühnerschrotgroße Käseherdchen zu bemerken. Die Milz ist stark durchsetzt mit stecknadelkopfgroßen, gelben Tuberkeln. Der Portallymphknoten ist haselnußkern groß und mit hartkäsigen Herden gefüllt. Die Leberoberfläche zeigt einige weiße, fleckige Herde. Der linke Bronchiallymphknoten ist doppelt weizenkorn groß und mit sandigen Streifen durchzogen. Der rechte Bronchiallymphknoten zeigt Weizenkorngröße und ist mit rundem, hühnerschrotgroßem Käseherd besetzt. Auf der visceralen Brustwand sitzen zwei zentral verkäste Knoten in Weizenkorn- bis Rehschrotgröße. Der obere Halslymphknoten ist roggenkorn groß, ohne käsige Veränderung zu zeigen.

Der Obduktionsbefund des mit Milzsaft geimpften Meerschweinchens war folgender:

Die Impfstelle ist nicht verändert. Der linke Kniefaltenknoten erweist sich kaum größer als der rechte. Der linke Kreuzbeinlymphknoten ist merklich vergrößert und birgt auf dem Durchschnitt im letzten Drittel ein stecknadelkopfgroßes Käseherdchen. Der rechte Kreuzbeinlymphknoten aber ist erbsengroß und total sandig verkäst. Im

Netz liegen mehrere hühnerschrotgroße, gelbe Knoten und ein flächenhaft ausgebreiteter Herd so groß wie ein Drittel der Meerschweinchenmilz. Etliche Knoten finden sich im Pankreas; das Milzparenchym ist durchsetzt mit zahlreichen konglomerierten, stecknadelkopfgroßen Tuberkeln. Der Portallymphknoten ist haselnußkerngroß und schließt ein kleines Käseherdchen in sich ein. In der Leber finden sich zahlreiche, gelbfleckige, sich unregelmäßig in die Tiefe erstreckende Herde. Auf der Baueingeweidefläche des Zwerchfells sitzt ein gelber, rehschrotgroßer Knoten. In der Lunge finden sich einige stecknadelkopfgroße, glasige Herdchen. Der linke Bronchiallymphknoten ist zu einem längs halbierten Mandelkern vergrößert und mit feinen, sandigen Körnchen gefüllt. Der rechte Bronchiallymphknoten ist erbsengroß. Auf der visceralen Brustwand sitzen zwei weizenkorngroße, zentral kavernöse Knoten. Die Halslymphknoten sind unverändert.

Es ergibt sich also auch im vorstehenden Falle, daß Leber und Milz auf Grund der Beschau zwar als tuberkulosefrei angesehen werden konnten, daß sich die genannten Organe bei der Prüfung vermittelst des Tierexperimentes aber trotzdem als tuberkulös erwiesen.

Zusammenfassung.

Um eine Uebersicht zu geben, sind in folgender Tabelle die Ergebnisse der angestellten Untersuchungen zusammengestellt.

Laufende Nummer der untersuchten Fälle	Datum der Untersuchung und Impfung	Geimpft wurde mit Preßsaft aus	Datum der Sektion bzw. Einganges des Impftieres	Obduktionsbefund der Impftiere
I	15. 1. 1913	1) Milz 2 $\frac{1}{2}$ ccm intraperitoneal 2) Leber 4 ccm intraperitoneal	26. 2. 1913 16. 1. eingegangen	negativ —
II	17. 1.	Milz 2 $\frac{1}{2}$ ccm intraperitoneal	1. 3.	negativ
III	20. 1.	Milz 2 $\frac{1}{4}$ ccm intraperitoneal	3. 3.	negativ
IV	20. 1.	1) Milz 3 ccm intraperitoneal 2) Leber 3 $\frac{1}{2}$ ccm intraperitoneal	3. 3. 10. 2. eingegangen	negativ —
V	22. 1.	Milz 4 ccm intraperitoneal	5. 3.	negativ
VI	24. 1.	1) Milz 2 $\frac{1}{2}$ ccm intraperitoneal 2) Leber 4 ccm intraperitoneal	7. 3. 7. 3.	ausgebreitete Impftuberkulose ausgedehnte Impftuberkulose
VII	24. 1.	1) Milz 2 $\frac{1}{2}$ ccm intraperitoneal 2) Leber 4 ccm intraperitoneal	7. 3. 27. 1. eingegangen	negativ —
VIII	25. 1.	Milz 3 ccm intraperitoneal	8. 3.	ausgebreitete Impftuberkulose
IX	27. 1.	1) Milz 2 ccm intraperitoneal 2) Leber 3 $\frac{1}{2}$ ccm intraperitoneal	11. 3. 11. 3.	negativ negativ
X	29. 1.	1) Milz 2 $\frac{1}{4}$ ccm intraperitoneal 2) Leber 4 ccm intraperitoneal	13. 3. 2. 2. eingegangen	negativ —

Laufende Nummer der untersuchten Fälle	Datum der Untersuchung und Impfung	Geimpft wurde mit Preßsaft aus	Datum der Sektion bzw. Einganges des Impftieres	Obduktionsbefund der Impftiere
XI	31. 1.	Milz 4 ccm intraperitoneal	15. 3.	ausgebreitete Impftuberkulose
XII	31. 1.	1) Milz 3 ccm intraperitoneal 2) Leber 3 1/2 ccm subkutan	15. 3. 15. 3.	ausgebreitete Impftuberkulose Tuberkulose der Milz, Portal- u. Brustwandlymphknoten
XIII	3. 2.	Leber 3 ccm subkutan	17. 3.	Tuberkulose von Milz, Leber u. Netz, ferner von Kniefalten-, Portal-, Brustwand- und Bronchiallymphknoten
XIV	3. 2.	1) Milz 4 ccm intraperitoneal 2) Leber 3 1/2 ccm subkutan	17. 3. 17. 3.	negativ negativ
XV	3. 2. 1913	1) Milz 2 1/4 ccm intraperitoneal 2) Leber 3 ccm subkutan	17. 3. 1913 17. 3.	negativ negativ
XVI	10. 2.	1) Milz 3 ccm intraperitoneal 2) Leber 3 ccm subkutan	25. 3. 25. 3.	ausgebreitete Impftuberkulose Tuberkulose der Milz, d. Kniefalten-, Kreuzbein-, Darm-, Portal-, Brustwand- u. Bronchialknoten
XVII	10. 2.	1) Milz 3 ccm intraperitoneal 2) Leber 3 ccm subkutan	25. 3. 14. 2. eingegangen	negativ —
XVIII	12. 2.	1) Milz 2 1/2 ccm intraperitoneal 2) Leber 3 ccm subkutan	27. 3. 27. 3.	negativ negativ
XIX	12. 2.	1) Milz 2 ccm intraperitoneal 2) Leber 2 1/4 ccm subkutan	27. 3. 27. 3.	negativ negativ
XX	14. 2.	1) Milz 2 1/2 ccm intraperitoneal 2) Leber 3 ccm subkutan	29. 3. 29. 3.	negativ negativ
XXI	14. 2.	1) Milz 2 1/2 ccm intraperitoneal 2) Leber 2 3/4 ccm subkutan	29. 3. 29. 3.	negativ negativ
XXII	17. 2.	1) Milz 2 1/2 ccm intraperitoneal 2) Leber 2 1/2 ccm subkutan	31. 3. 31. 3.	negativ negativ

Laufende Nummer der untersuchten Fälle	Datum der Untersuchung und Impfung	Geimpft wurde mit Preßsaft aus	Datum der Sektion bzw. Einganges des Impftieres	Obduktionsbefund der Impftiere
XXIII	17. 2.	1) Milz 2 1/2 ccm intraperitoneal	31. 3.	negativ
		2) Leber 2 1/2 ccm subkutan	31. 3.	negativ
XXIV	21. 2.	1) Milz 2 1/2 ccm intraperitoneal	4. 4.	ausgebreitete Impftuberkulose Tuberkulose von Milz, Leber, Lunge, Kniefalten-, Kreuzbein-, Portal-, Brustwand- und Bronchiallymphknoten
		2) Leber 2 1/2 ccm subkutan	4. 4.	
XXV	21. 2.	1) Milz 2 1/2 ccm intraperitoneal	4. 4.	negativ
		2) Leber 3 ccm subkutan	22. 2. eingegangen	—
XXVI	26. 2.	Leber 3 ccm subkutan	10. 4.	negativ
XXVII	28. 2. 1913	Leber 2 ccm subkutan	11. 4. 1913	negativ
XXVIII	28. 2.	Leber 2 1/2 ccm subkutan	11. 4.	negativ
XXIX	3. 3.	1) Milz 2 ccm intraperitoneal	25. 4.	ausgebreitete Tuberkulose —
		2) Leber 2 ccm subkutan	6. 3. eingegangen	
XXX	14. 3.	1) Milz 2 ccm intraperitoneal	25. 4.	negativ
		2) Leber 2 1/2 ccm subkutan	25. 4.	negativ
XXXI	26. 3.	1) Milz 2 1/4 ccm intraperitoneal	13. 5.	ausgebreitete Impftuberkulose Tuberkulose von Netz, Pankreas, Milz, Leber, Lunge, Kniefalten-, Scham-, Kreuzbein-, Darm-, Portal-, Brustwand- u. Bronchiallymphknoten
		2) Leber 2 1/2 ccm subkutan	13. 5.	
XXXII	28. 3.	1) Milz 2 1/2 ccm intraperitoneal	13. 5.	ausgedehnte Impftuberkulose Tuberkulose der Milz, Kniefalten-, Scham-, Kreuzbein-, Portal- und Bronchiallymphknoten
		2) Leber 2 1/2 ccm subkutan	13. 5.	
XXXIII	5. 4.	1) Milz 2 ccm intraperitoneal	17. 5.	ausgebreitete Impftuberkulose Tuberkulose von Leber, Milz, Kniefalten-, Scham-, Kreuzbein-, Portal-, Bronchial- u. Kehlgangslymphknoten
		2) Leber 2 1/2 ccm subkutan	17. 5.	

Meine Untersuchungen über den Tuberkelbacillengehalt von makroskopisch unveränderten Lebern und Milzen erstrecken sich auf eine Zahl von 33 tuberkulösen Schlachttieren. Geprüft wurden 29 Milzen und 28 Lebern. Von den mit Lebersaft geimpften Tieren gingen 7 Meerschweinchen infolge des Keimgehaltes des Leberpreßsaftes ein, so daß sich die Zahl der Leberuntersuchungen auf 21 Fälle reduziert. Zu den 21 Impfergebnissen mit Leberpreßsaft treten 29 Impfergebnisse mit Milzpreßsaft zu einer Gesamtzahl von 50 Untersuchungen.

Bei den Impfversuchen zeigte sich die Milz in 10 Fällen und die Leber in 8 Fällen tuberkelbacillenhaltig. Es erwies sich somit bei den geprüften tuberkulösen Schlachttieren die Leber und Milz in 36 Proz. tuberkulös infiziert, obwohl die genannten Organe fleischbeschaulich keine tuberkulösen Veränderungen erkennen ließen und deshalb nach den Ausführungsbestimmungen des Schlachtvieh- und Fleischbeschaugesetzes zum Konsum für den Menschen zugelassen waren.

Bringt man aber jene Fälle in Abrechnung, in denen ein positives Resultat für die Untersuchungen nicht zu erwarten war, da nur geringgradige Tuberkulose der Lunge allein oder der Lunge und der Darmlymphknoten vorlag, wie dies aus den Fällen 10, 15, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 27 und 28, resp. 4, 19, 26 und 30 hervorgeht, so ergibt sich ein bedeutend höherer Prozentsatz.

Da gerade die untersuchten Organe und insbesondere die Leber bei der Zubereitung für den Genuß des Menschen nur kurzen Kochprozeduren unterworfen werden, die für eine Abtötung der Tuberkelbacillen durch die Erhitzung nicht immer Gewähr leisten, so muß der oben erwiesene Keimgehalt menschlicher Nahrungsmittel zu Bedenken Anlaß geben und nach einer Nachprüfung und Würdigung von maßgebender Stelle zu einer teilweisen Aenderung der Ausführungsbestimmungen zum Fleischbeschaugesetz in bezug auf die Beurteilung von nicht sichtlich tuberkulös erkrankten Organen schwer tuberkulöser Schlachttiere führen.

Bei der Betrachtung der anatomisch-pathologischen Veränderung der Schlachttiere, die positive Impfergebnisse von makroskopisch nicht tuberkulös veränderten Lebern und Milzen aufwiesen, fällt auf, daß es sich hierbei immer um schwere destruktive tuberkulöse Prozesse in der Lunge handelt, die mit markiger, schwammiger Schwellung und käsiger Infiltration der Lymphknoten verbunden sind; also um tuberkulöse Prozesse, die den Charakter schwerer, progredienter Erkrankung tragen.

Bemerkenswert ist, daß sich bei gleichzeitiger Verimpfung von Leber und Milz ein und desselben Tieres konsequent beide Organe als keimhaltig erwiesen.

Die von Dr. Müller erstmals festgestellte Tatsache, daß fleischbeschaulich unverändert erscheinende Lebern und Milzen von Schlachttieren mit progredienter Tuberkulose nicht immer als frei von Tuberkulose angesehen werden können, hat demnach durch meine Untersuchungen eine volle Bestätigung gefunden. Für die Fleischschau ist diese Feststellung

von großer Bedeutung; sie fordert, daß der Beurteilung tuberkulöser Tiere eine Phthisiogenese zugrunde gelegt wird, die sich nicht auf unbewiesene Annahmen, sondern auf nachweisbare Tatsachen gründet. Hierzu einen Beitrag zu liefern, war der Zweck der vorliegenden Arbeit.

Zum Schluß entledige ich mich der angenehmen Pflicht, Herrn Privatdozenten Dr. M. Müller bestens zu danken für die Ueberweisung des Themas. Ebenso gilt Herrn Schlachthofdirektor F. Opel mein Dank, durch dessen gütige Erlaubnis es mir möglich wurde, das nötige Material zu sammeln und die Arbeit im Laboratorium des Münchner Schlachthofes zu fertigen.

Literatur.

- 1) Kitt, Lehrbuch der allgemeinen Pathologie für Tierärzte etc. Stuttgart.
- 2) —, Lehrbuch der pathologischen Anatomie der Haustiere. Stuttgart.
- 3) —, Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie. Wien 1908.
- 4) Schmaus, Grundriß der pathologischen Anatomie.
- 5) Baum, Das Lymphgefäßsystem des Rindes. Berlin 1912.
- 6) Ellenberger u. Baum, Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere.
- 7) Gerlach, Die Fleischkost des Menschen vom sanitären und marktpolizeilichen Standpunkt aus. Berlin 1875.
- 8) Cornet u. Cossel, Tuberkulose. (Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. V. 1913. p. 391.)
- 9) —, Schlußbericht der englischen „Royal-Commission on Tuberculosis“ über die Beziehungen zwischen Menschen und Tiertuberkulose. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 21. 1911. H. 12.)
- 10) Rothe, Untersuchungen über tuberkulöse Infektion im Kindesalter. (Robert Koch-Stiftung zur Bekämpfung der Tuberkulose. 1911. H. 2.)
- 11) Westenhoeffer, Ueber Impftuberkulose. (Charité-Annalen. Berlin 1904.)
- 12) Orth, Ueber die Bedeutung der Rindertuberkelbacillen für den Menschen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1912.)
- 13) Eber, Experimentelle Uebertragung der Tuberkulose vom Menschen auf das Rind. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 21. 1911. H. 11.)
- 14) —, Ergebnisse der Schlachtvieh- und Fleischschau für das Deutsche Reich. 1910.
- 15) —, Verwaltungsbericht über den Schlacht- und Viehhof der K. Haupt- und Residenzstadt München f. d. Jahr 1910.
- 16) Weigert, Die Lehre von der Tuberkulose und von verwandten Erkrankungen. Zur Pathologie der akuten allgemeinen Miliartuberkulose. (Virchow-Arch. Bd. 77. H. 2.)
- 17) John, Geschichte der Tuberkulose. Leipzig 1883. — Die Geschichte der Tuberkulose, mit besonderer Berücksichtigung der Tuberkulose des Rindes und die sich hieran knüpfenden medial- und veterinärpolizeilichen Konsequenzen. (Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 9. 1883. H. 1 u. 2.)
- 18) Ostertag, Ist Generalisation der Tuberkulose immer gleichbedeutend mit Gesundheitschädlichkeit des Fleisches? (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 2. 1891. H. 1.)
- 19) Westenhoeffer, Ueber die Grenzen der Uebertragbarkeit der Tuberkulose durch Fleisch tuberkulöser Rinder auf den Menschen.
- 20) Hoefnagel, Zeitschr. f. Veterinärmed. 1905. p. 397.
- 21) Swiersta, Kommen im Fleisch und in makroskopisch unverändert erscheinenden Lymphdrüsen von tuberkulösen Tieren Tuberkelbacillen vor? (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1906. H. 2.)
- 22) Bongert, Untersuchungen über den Tuberkelbacillengehalt des Blutes, des Fleisches und der Lymphdrüsen tuberkulöser Schlachttiere. (Arch. f. Hyg. Bd. 69. 1909. H. 3.)
- 23) Nieberle, Untersuchungen über die Lungentuberkulose des Rindes und ihre Bedeutung für die Fleischhygiene. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 21. H. 11 u. 12; Jg. 22. 1911. H. 1.) — Untersuchungen über Lymphdrüsentuberkulose des Rindes und ihre Bedeutung für die Fleischhygiene. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. 1913. H. 1 u. 2.)

- 24) Müller, Die Genese der bakteriellen Infektion des Tierkörpers. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 41.)
- 25) —, Erfolgt die bakterielle Infektion der Milz, der Leber und der Fleischlymphknoten nur auf dem Wege der Blutbahn? (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 22. 1912. H. 4.)
- 26) —, Der Nachweis von Fleischvergiftungsbakterien in Fleisch und Organen von Schlachttieren auf Grund systematischer Untersuchungen über den Verlauf und den Mechanismus der Infektion des Tierkörpers mit Bakterien der Enteritis- und Paratyphusgruppe, sowie des Typhus; zugleich ein Beitrag zum Infektions- und Virulenzproblem der Bakterien auf experimenteller Basis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1912. H. 5.)
- 27) Ostertag, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 22. 1912. H. 4.)
- 28) Joest u. Baum, Bemerkungen zu den Arbeiten Dr. M. Müllers in H. 4 u. 5 des 22. Jahrg. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1912. H. 5.)
- 29) Müller, Eppur si muove! Bemerkungen zur lymphogenen Infektionsmöglichkeit. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 22. 1912. H. 5.)
- 30) —, Zur unitaristischen und dualistischen Auffassung der Infektion des Tierkörpers. (Ibid. Jg. 22. 1912. H. 7.)
- 31) —, Verwaltungsbericht über den Schlacht- und Viehhof der Kgl. Haupt- u. Residenzstadt München für das Jahr 1912.
- 32) Ishiwara, Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in gesund erscheinendem Eutergewebe tuberkulöser Schlachtkühe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913. H. 1. u. 2.)
- 33) Hartenstein, Zur Frage der Freibank. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1890; Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 16. H. 4 u. 5.)
- 34) Bartel, Infektionswege bei der Fütterungstuberkulose. (Klin. Jahrb. Bd. 14. 1905. H. 4.)
- 35) Ostertag, Handbuch der Fleischschau.
- 36) Cornet, Die Skrofulose. 2. Aufl. Wien 1912.
- 37) Arnold, Beiträge zur Anatomie des miliaren Tuberkels. (Virchows Arch. Bd. 88. H. 3.)
- 38) Cohnheim, Die Tuberkulose vom Standpunkt der Infektionslehre. (Gesammelte Abhandlungen von Jul. Cohnheim, herausg. von Wagner. Berlin 1885. p. 655.)
- 39) Joest u. Emschoff, Studien über die Histogenese des Lungendrüsentuberkels und die Frühstadien der Lymphdrüsentuberkulose. (Virchows Arch. Bd. 210. H. 2.)
- 40) Liebermeister, Studien über Komplikationen der Lungentuberkulose und über die Verbreitung der Tuberkelbacillen in den Organen und im Blut der Phthisiker. (Virchows Arch. Bd. 197. H. 2 u. 3.)
- 41) Bang, Geflügel- und Säugetiertuberkulose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908.)

Nachdruck verboten.

Earlier indications of gas formation by coliform organisms, with description of a modified fermentation tube.

[From the Pathological Laboratories of the Bristol University and
Bristol Royal Infirmary.]

(The cost of this work has been covered by grants from the
Bristol University Colston Society.)

By

Prof. Dr. I. Walker Hall, Bristol and F. Nicholls.

With 2 figures.

The formation of gas during bacterial growth on nutrient media containing sugars, etc., has been used as an indication of the power of the micro-organism to hydrolyse and to utilise these substances. Bacteria differ in their capacity to break up monosaccharides, di-saccharides, poly-

saccharides, glucosides, alcohols, etc., and this character has suggested the collection and identification of the products of cleavage as a means of differentiation and classification.

Of late years, special attention has been directed to the quantity and quality of the gas produced and the results obtained have led to a better knowledge of the metabolic activities of *B. coli* etc. (1). The apparatus generally employed for this purpose is somewhat complicated and the organisms have been allowed to grow for about seven days prior to the analysis of the gases produced.

For qualitative work, in order to demonstrate the presence of gas forming organisms in clinical materials, or during the examination of water or milk, a straight glass tube, known as Durham's tube, is frequently employed in preference to the shaped or similar tubes. By its use this stage in diagnosis is completed in from twelve to twenty four hours. Many instances occur, however, in which the saving of a day, or even of a few hours, is of consequence to the laboratory worker, clinician, or patient. To lessen the time, therefore, Emrys-Roberts investigated the effect of increasing the sugar content of the media and found that when the usual one per cent of lactose was made up to 15 per cent, the gas formation was accelerated. With some slow lactose formations, which required 26 days with one per cent solution, he obtained gas formation in two days when a 15 per cent solution of lactose was employed.

The work now recorded has resulted in a further diminution of the time involved, making it possible to demonstrate the formation of gas in about four hours. It has also indicated certain differences in the rate and type of cleavage of the several substances.

We have found that an advantage is gained by using a tube for the collection of the gas which is bell-shaped at its lower end and almost entirely fills the test-tubes (see Fig. 2)¹). The whole of the gas formed in the lower stratum of fluid passes upward into the collecting tube while convection currents are set up which cause gas evolved in the middle portion of the media to find its way into the dome shaped cavity.

Elsewhere the advantages of neutralised pure silk peptone over Witte's peptone, or other complex mixtures, as bacterial food has been shown by one of us, and silk peptone has been employed with success in the present set of experiments (3). Table I shows the comparison of Witte's peptone and silk peptone as media for growth of colon bacilli and points out that the best results are got with a media composed of 2 per cent silk peptone and 5 per cent lactose, that is to say, gas becomes evident



Fig. 1.

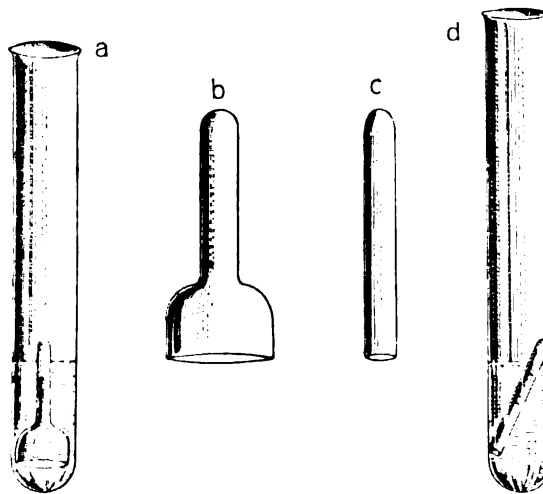


Fig. 2. a, b new Tube. c, d old Tube.

1) Made by Firma Goetze, Härtelstraße, Leipzig.

in 4 hours as compared with 8 hours by the ordinary tube, or in 10 and 12 hours when Witte's peptone is employed.

The Witte's peptone solution was prepared in the usual manner. The silk peptone was used in the crude form obtained from Hoffman la Roche, Basel. The results obtained with purified silk peptone will be reported later. After solution of the crude silk peptone in distilled water, it was sterilised; alcoholic solution of phenolphthalein was then added to an aliquot portion and the amount of sodium hydrate necessary for obtaining a neutral point was determined. The lactose, or other sugar, was then added and the solution steamed as usual on successive days.

The dose of organisms was 100 or 200 millions. Counting was carried out in a haemocytometer. It was found that an average standard loopful of urinary sediment in cases of cystitis contains about 100 millions organisms. The inoculated tubes were examined hourly throughout the set of experiments.

Table I.
Time of gas formation by coliform organism in hours (Rapid fermentation tube) and ordinary tube.

Media	Number of coliform organisms inoculated into 4 c. c. of medium							
	100 millions		200 millions		400 millions		800 millions	
	Special tube hours	Ordinary tube hours	Special tube hours	Ordinary tube hours	Special tube hours	Ordinary tube hours	Special tube hours	Ordinary tube hours
2% Silk peptone								
+ 1% Lactose	10	12	10	15	9	10	6	10
+ 5% "	4	8	4	8	3	6	3	6
+ 10% "	10	12	4	12	4	8	4	8
+ 15% "	12	16	11	14	5	10	8	10
2% Witte's peptone								
+ 1% Lactose	7	10	6	8	4	8	4	8
+ 5% "	10	12	8	12	6	11	4	8
+ 10% "	10	12	8	12	5	11	5	8
+ 15% "	10	12	8	10	5	10	5	8

In order to see if the gas formation could be still further accelerated, neutral veal broth containing one per cent Witte's and silk peptone and varying amounts of sugars, was employed. Table 2 gives the results given by a laboratory strain of *B. coli* (see table II p. 143).

As a result of these observations it was decided that the best medium for *B. coli* was neutral veal broth with 2 per cent silk peptone and five per cent lactose.

This medium was accordingly employed for the growth of some slow lactose fermenters, originally isolated by Dr. Penfold of the Lister Institute and made available by the courtesy of Prof. Emrys-Roberts of Cardiff. These strains fermented lactose in 2, 5 and 26 days. From table III it will be seen that with the medium now employed the time was reduced to 11, 18 and 42 hours, while the use of the special fermentation tube reduced this still further to 6, 16 and 21 hours.

Table II.
Time of gas formation by coliform organisms in varying media.

Media	Number of coliform organisms added to 4 c. c. of medium							
	100 millions		200 millions		400 millions		800 millions	
	Special tube hours	Ordinary tube hours	Special tube hours	Ordinary tube hours	Special tube hours	Ordinary tube hours	Special tube hours	Ordinary tube hours
Neutral veal broth with 1% Witte's peptone								
+ 1% Lactose	4	6	4	6	4	6	4	6
+ 5% "	5	7	4	6	4	6	3	6
+ 10% "	4	7	4	6	4	6	3	6
+ 15% "	6	10	6	8	4	8	4	8
Neutral veal broth with 1% Silk peptone								
+ 1% Lactose	6	9	5	9	5	8	5	7
+ 5% "	5	9	4	8	4	8	4	7
+ 10% "	5	9	4	8	4	8	4	7
+ 15% "	5	10	4	10	4	10	4	10

Table III.
Time of gas formation by slow lactose fermenters.

Media.	Number of organisms added to 4 c. c. of media							
	100 millions		200 millions		400 millions		800 millions	
	Special tube hours	Ordinary tube hours	Special tube hours	Ordinary tube hours	Special tube hours	Ordinary tube hours	Special tube hours	Ordinary tube hours
Neutral veal broth + 2% silk peptone + 5% lactose								
Penfold I	21	42	21	42	16	18	16	18
Penfold III	16	21	16	18	16	18	14	17
Penfold Amb. F.	6	12	4	11	4	10	4	9

When constant doses of *B. coli* are added to equal quantities of silk peptone media containing various sugars, the time at which the gas formation is first evident in the modified tube appears to be proportionate to the complexity of the substance concerned. Table IV shows a gradual increase in the time necessary for gas evolution from the mono- to the polysaccharides and the various glucosides and alcohols. How far these times will prove constant with different strains and under varying conditions is a matter which is now engaging our attention.

(Table IV see p. 144.)

Some further results already obtained have suggested an enquiry into the question of media in relation to the capacity of organisms to ferment sugars. We have found that growth of intestinal bacteria in silk peptone solutions is associated with increased activities in the breaking down of the generally used sugars, glucosides or alcohols. The assumption of these characters has induced us to proceed with an investigation into the constancy of gas forming properties and the underlying principles concerned.

The silk peptone facilitates the growth of colon bacilli in solid media also. When the Witte's peptone of nutrient sugar is replaced by silk

peptone, growth is more rapid and in the presence of sugars gas is produced in about eight hours, namely, in half the time which is usually taken.

Table IV.

Gas formation in various sugars, etc.

Dose: 100 millions.

Medium: Veal broth with 2 per cent silk peptone and one per cent sugars, alcohols or glucoside.

	B. coli		Pneumobacillus	
	Time in hours			
	Special tube	Old tube	Special tube	Old tube
Monosaccharides				
Arabinose	4	7	5	10
Laevulose	5	7	6	17
Glucose	6	8	5	8
Galactose	6	9	4	9
Disaccharides				
Lactose	7	10	8	11
Maltose	8	10	8	11
Saccharose	10	16	5	17
		Another strain 40 and 90		
Trisaccharides				
Raffinose	16	28	5	10
Polysaccharides				
Dextrin	28	42	6	10
Starch	72	96	22	
Glucosides				
Salicin	72	96	8	11
Polyatomic alcohols				
Mannite	7	16	6	8
Sorbite	16	20	5	10
Dulcite	21	42	8	18
Glycerin	120	140	16	18
Adonite	7 days		12	18
Inulin	9 days			

References.

- 1) Rogers, Clark and Davis, Journ. of infect. Dis. Vol. 14. 1914. p. 411.
- 2) Frieber, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. p. 437.
- 3) Hall, Walker, Journ. of Pathol. Vol. 19. 1914.

*Nachdruck verboten.***Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus.**

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten Hamburg
(Leiter: Obermedizinalrat Prof. Nocht).]

Von **S. v. Prowazek** (Hamburg) und **S. Miyaji** (Tokio).

Mit 1 Tafel.

Trotz zahlreicher Untersuchungen namhafter Forscher ist derzeit das Vaccineproblem noch von seiner endgültigen Lösung weit entfernt. Selbst wenn wir davon absehen, daß die Elementarkörperchen als Erreger nur von wenigen Forschern wie Paschen, Volpino, Casagrandi, Paul, Belin u. a. m. anerkannt sind, wissen wir über ihr weiteres

Verhalten und ihre eventuelle Entwicklung nur Einzelheiten, zwischen denen ein Zusammenhang mit Sicherheit noch nicht hergestellt worden ist. Wir wissen, daß in der Lymphe Elementarkörperchen vorkommen, daß in den geimpften Zellen einzelne größere Initialkörper auftreten, um die sich als Reaktionsprodukte die Guarnierischen Körperchen, die sich auch noch zerschnüren können, ausbilden. Warum sind aber die Initialkörper nicht zahlreicher, warum treten nur wenige Guarnierische Körperchen (1—4, selten mehr) auf, besitzt die Zelle nur eine beschränkte Menge dieser Reaktionsprodukte, so daß sie mit ihnen nur auf die allererste Invasion antworten kann? Alle diese Fragen harren noch der Antwort. Daß das Virus intracellular vorkommt, wird nach den neueren Untersuchungen (Volpino) wohl nicht mehr in Zweifel gezogen, wogegen die Frage nach der Existenz einer Entwicklungsweise noch strittig ist. Noch schlimmer bestellt ist es mit der Kenntnis der Immunitätsverhältnisse — hier stehen sich die Ansichten bezüglich der Serumimmunität und der histogenen Immunität schroff gegenüber. — In dem nachfolgenden Aufsatz haben wir versucht, einen Beitrag zur Lösung einiger dieser Fragen zu liefern, zum Teil haben wir frühere Angaben einer notwendigen Revision unterworfen.

I. Früher wurde mitgeteilt, daß das Vaccinevirus lange Zeit der Trypsin- und Pepsinverdauung widersteht (Handbuch der pathogenen Protozoen. p. 132). Diese Angabe bedarf insofern einiger Einschränkungen, als die Trypsin- und Pepsinwirkung in ihrem Effekt nicht gleichwertig ist:

a) Pepsinverdauungsversuche.

10. März 1914. Beide Augen eines Kaninchens mit Vaccinelymphe geimpft. Nach 48 Stunden Guarnierisches Phänomen positiv. Kaninchen getötet, beide Hornhäute der Pepsinverdauungsflüssigkeit (0,5 Proz. Pepsin + 0,5 Proz. Salzsäure 40 ccm) durch 2 Stunden bei 37° C ausgesetzt, dann auf die Cornea eines gesunden Kaninchens verimpft. Nach 48 Stunden zeigt die Hornhaut keine Trübung. Mikroskopisch Guarnierisches Phänomen negativ.

12. März 1914. Beide Augen eines Kaninchens mit Vaccinelymphe geimpft. Nach 48 Stunden Guarnierisches Phänomen positiv. Tier getötet. Eine Cornea in der Pepsinverdauungsflüssigkeit (a) (Salzsäure 0,5 Proz.), die andere Cornea in der Pepsinverdauungsflüssigkeit (b) (Salzsäure 0,25 Proz.), 24 Stunden bei Zimmertemperatur (vor Licht geschützt) gehalten, dann auf beide Cornea (rechts: a, links: b) eines gesunden Kaninchens verimpft. Nach 48 Stunden keine Trübung beider Hornhäute. Mikroskopisch Guarnierisches Phänomen negativ.

17. März 1914. Vaccinierte Cornea (Guarnierische Phänomen positiv) in der Trypsinverdauungsflüssigkeit (0,5-proz. Lösung mit Sodalösung schwach alkalisiert) 24 Stunden bei Zimmertemperatur (vor Licht geschützt) gehalten, dann auf das Auge eines gesunden Kaninchens verimpft. Nach 48 Stunden Guarnierisches Phänomen sehr stark positiv.

20. März 1914. Trypsinverdauungsversuch wiederholt. Die Behandlungsweise ganz gleich wie oben.

Resultat: Guarnierisches Phänomen schwach positiv.

Bemerkungen: Bei dem Pepsinverdauungsversuch war nach einem 2-stündigen Aufenthalte bei 37° C die Cornea infolge zu starker Einwirkung der Lösung vollkommen gallertig, schleimig verändert, deswegen haben wir bei dem nächsten Versuch die Cornea bei Zimmertemperatur gehalten und den Salzsäuregehalt variiert. —

Nach der Trypsinverdauung war die obere Schicht des Hornhautepithels verschwunden, ein Teil der unteren pallisadenartigen Schichte war noch teilweise erhalten (Schnitte). —

Die Verdauungsversuche führten zu dem Ergebnis, daß das Vaccinevirus in der Kaninchen cornea der Pepsinverdauung (Salzsäure) gegenüber einen geringeren Widerstand leistet als der Trypsinverdauung, die sich in gewissen Fällen für eine Isolierung des Vaccinevirus vom

Corneaepithel eignet. Von Interesse ist es, daß nach den Beobachtungen von Uhlenhuth das Schweinepestvirus gleichfalls der Verdauung bis zu einem gewissen Grade Widerstand leistet.

In analoger Weise scheint sich das Virus der Gelbsucht, der Seidenraupen zu verhalten, indem dessen Reaktionsprodukte (Bolles Körper) sowohl durch die Pepsinsalzsäure als die Säfte des Mageninhaltes einer gesunden Raupe gelöst werden (Bolle).

II. Auf Grund der leichten Reduktionsfähigkeit des Methylenblaus, das in der Folge in ein farbloses Leukoprodukt verwandelt wird, haben Neisser und Wechsberg diesen Farbstoff für die Prüfung der Vitalität und Reduktionsfähigkeit organischer Objekte (Bakterien und Zellen etc.) empfohlen. Da wegen des hohen Glyzeringehaltes der Lymphe, durch den sonst den höheren tierischen und pflanzlichen Zellen die für das vitale Geschehen notwendige Flüssigkeit entzogen wird, der Schluß auf eine Parabiose des Virus und der synergetischen Begleitorganismen immerhin naheliegend war, schien die Prüfung des Verhaltens des Methylenblaus zur Glycerinlymphe von besonderem Interesse zu sein. Frühere Versuche belehrten uns, daß man Glycerinlymphe sehr schwer filtrieren kann, daher konnten wir sie für diese Versuche nicht von den synergetischen Bakterien befreien. — Die käufliche Lymphe wurde zum Zwecke der angedeuteten Reduktionsversuche mit einer Methylenblaulösung in 10^4 -facher Verdünnung in Glaskapillaren gemischt, bei 37°C sowie bei Zimmertemperatur (dem Licht ausgesetzt oder vor Licht geschützt) gehalten, und auf die Reduktionsfähigkeit hin geprüft:

1) Methylenblaulösung (1 : 10000) + unverdünnte Vaccinelymphe \widehat{aa} .

a) Bei 37°C : Nach 1 Stunde entfärbt.

b) Bei Zimmertemperatur (vor Licht geschützt): Wenig entfärbt.

c) Bei Zimmertemperatur (dem Licht ausgesetzt): Keine Veränderung.

Bei der weiteren Beobachtung nach 2, 3 und 24 Stunden konnten wir kaum weitere Veränderungen konstatieren.

2) Methylenblaulösung (1 : 10000) + verschiedene Vaccineverdünnung \widehat{aa} .

Vaccine (1 : 2).

a) Bei 37°C : Nach 1 Stunde stark entfärbt.

b) Bei Zimmertemperatur (vor Licht geschützt): Sehr schwach entfärbt.

c) Bei Zimmertemperatur (dem Lichte ausgesetzt): Keine Veränderung.

Vaccine (1 : 4)

„ (1 : 6)

„ (1 : 10)

„ (1 : 20)

„ (1 : 50)

„ (1 : 70)

„ (1 : 100)

} Keine Veränderung unter den obigen Bedingungen.

3) Kontrolle: Methylenblaulösung (1 : 10000) + reines Glycerin \widehat{aa} .

Keine Entfärbung bei 37°C .

Wir haben weiterhin Neutralrotlösungen und Azur II-Lösungen auf ihre Reduktionsfähigkeit hin geprüft:

Neutralrotlösung (1 : 10^9) + Vaccinelymphe \widehat{aa} .

Vaccine (1 : 1)

„ (1 : 2)

„ (1 : 4)

„ (1 : 6)

} Keine deutlich wahrnehmbare Entfärbung unter den obigen Bedingungen.

Bei diesem Versuch konnten wir nur feststellen, daß die Hautfetzen in der Lymphe ziemlich stark mit der Farbe imbibiert worden sind.

Azur II-Lösung (1 : 10⁴) + Vaccinelymphe \widehat{aa} .

Vaccine (1 : 1): Nach 1 Stunde bei 37° C starke Entfärbung, bei Zimmertemperatur ganz schwach.

„ (1 : 2): Nach 1 Stunde bei 37° C schwache Entfärbung, bei Zimmertemperatur nichts.

„ (1 : 4): Keine Veränderung.

„ (1 : 6): Keine Veränderung.

Nach weiteren Beobachtungen sind die geschilderten Veränderungen nicht weiter fortgeschritten.

Aus uns unbekanntem Gründen wurde in 2 Fällen die Methylenblaulösung 1 : 10000 \widehat{aa} -Vaccine von dem Virus nicht reduziert; allerdings ergab die derart blau gebliebene Vaccinemethylenblaulösung, auf eine Kaninchencornea verimpft, kein Guarnierisches Phänomen im Gegensatz zu der reduzierten Vaccinemethylenblaulösung, ein Beweis, daß das Virus irgendwie unwirksam war oder es geworden ist.

Daß auch das Virus allein das Methylenblau reduzieren kann, wurde durch den Nachweis der bakteriellen Sterilität einzelner derart entfärbter Glaskapillaren bewiesen.

Durch Erhitzen abgetötete Lymphe war nicht imstande, das Methylenblau zu reduzieren.

Als Kontrolle dienten durch Wärme abgetötete Colpidien, die unter Voraussetzung der Vernichtung der Bakterien im Sediment und in den frisch gebildeten Nahrungsvakuolen dieser Infusorien in keiner Weise die Methylenblaulösung reduzierten, die aber sofort farblos wurde, sobald irgendwie Bakterien bzw. ihre Sporen am Leben geblieben sind.

Die Versuche führten zu dem Ergebnis, daß im allgemeinen das Vaccinevirus in Form der Glycerinlymphe das Methylenblau und Azur II bei 37° C stark, weniger stark bei Zimmertemperatur im Dunkeln zu reduzieren vermag. Da in der Lymphe nächst dem angenommenen Virus auch noch andere Keime vorkommen können, darf nicht in allen Fällen die Reduktion allein auf die Rechnung des Vaccinevirus gestellt werden.

Der Glycerinegehalt der Lymphe scheint immerhin das Virus auf die Dauer nicht sehr zu schädigen, vor allem benimmt er der Glycerinlymphe sicherlich nicht die Reduktionskraft. Herr Medizinalrat Dr. Risel in Halle a. S. war so liebenswürdig, eine 7 Jahre alte Glycerinlymphe, mit der an Kindern mit Erfolg Impfungen vorgenommen worden sind, uns zu überlassen (vom 29. September 1906 Glycerin-Kinderlymphe). Diese Lymphe ergab nach der Verimpfung auf die Cornea ein sehr reichliches Guarnierisches Phänomen und konnte auf eine andere Cornea noch im positiven Sinne weiter verimpft werden.

9. März 1914. Kaninchencornea mit dieser Glycerinlymphe geimpft. Nach 72 Stunden (12. März 1914) zeigt die geimpfte Cornea deutliche Trübung. Mikroskopisch Guarnierisches Phänomen reichlich positiv.

23. März 1914. Nach 14 Tagen Guarnierisches Phänomen noch positiv, aber spärlich. Kaninchen getötet, geimpfte Cornea herausgeschnitten, im Mörser zerrieben und weiterhin auf eine gesunde Kaninchencornea verimpft.

25. März 1914. Guarnierisches Phänomen positiv. (Abstrichpräparat und Schnitte [wenig Guarnierische Körperchen])¹⁾.

III. Auf die Beziehung der Leukocyten zum Vaccinevirus haben bereits verschiedene Autoren (Casagrandi, Paschen u. a.) die Aufmerksamkeit gelenkt. Paschen schreibt im „Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung“ (1911. p. 502): „Die Leukocyten müssen eine Rolle bei der Immunität spielen. Untersuchung

1) Risel, Vaccineerreger und Glycerin. (Hyg. Rundschau, Jhrg. 1914. p. 674.)

von Kinderlymphe (I. Impfung) am 7. Tage zeigt Leukocyten (Makrophagen und Mikrophenen) mit Zelleinschlüssen, die zum Teil Kernreste zugrunde gegangener Leukocyten oder Epithelien sind. v. Prowazek sah in den Leukocyten die kleinsten von ihm und mir als Erreger ausgesprochenen Körperchen.“ Auch in der vaccinierten Cornea fällt zunächst der große Reichtum von verschiedenen stark granulierten Polynukleären auf; die oft intensiv färbbaren, jedoch verschiedenen großen Granulationen dürfen allerdings in ihrer Gesamtheit nicht auf die Elementarkörperchen des Virus zurückgeführt werden, da nach den Versuchen von Yamamoto nach einer Einträufelung von verdünnter Jodtinktur ins Kaninchenauge ähnlich derb granuliert Polynukleäre auf der Bildfläche erscheinen. —

Im Anschluß an frühere Versuche haben wir zunächst die Vaccinelymphe intraperitoneal einem Kaninchen injiziert, um ihr Verhalten im Peritonealexsudat zu untersuchen. Nach 24 Stunden wurde das Tier getötet und das Exsudat in 2 Portionen geteilt; der eine Teil wurde sofort verimpft, der andere Teil durch sorgfältiges Reiben mit Kieselguhr aufgeschlossen. In beiden Fällen fiel die Impfung negativ aus und ergab keine Ausbeute an Guarnierischen Körperchen.

Auf Grund früherer Untersuchungen von v. Prowazek und Yamamoto kann man sich den negativen Ausfall dieser Versuche teilweise dahin erklären, daß das Vaccinevirus im freien Zustand bereits nach wenigen (4) Stunden intraperitoneal „abgetötet“ wird, wogegen die Leukocyten sich noch nicht in hinreichendem Maße angesammelt haben, um das Virus einzuschließen und vor der Vernichtung zu schützen. Der Versuch fällt jedoch sofort anders aus, wenn man 24 Stunden vorher Bouillon allein intraperitoneal injiziert und erst dann die Lymphe dem entstandenen Exsudat einverleibt.

Versuch I. 16. März 1914. Ca. 20 ccm Bouillon einem Kaninchen intraperitoneal injiziert, am folgenden Tage (nach 24 Stunden) Vaccinelymphe (1 Dosis) intraperitoneal verabreicht. Nach 5 Stunden Kaninchen getötet, Bauchexsudat abpipettiert, einmal gewaschen, in 2 Portionen geteilt, ein Teil wurde sofort verimpft, die andere Hälfte mit Kieselguhr sorgfältig verrieben und erst in diesem Zustande an einem gesunden Kaninchen, wie folgt, verimpft:

Linkes Auge: Leukocytenaufschwemmung.

Rechtes Auge: Mit Kieselguhr zerriebene Leukocytenemulsion.

19. März. Nach 48 Stunden makroskopisch linkes Auge: Keine Trübung; mikroskopisch kein Guarnierisches Phänomen.

Rechtes Auge: Trübung mäßig; mikroskopisch typisches Guarnierisches Phänomen.

Versuch II. 28. März. Ebenso wiederholt, nur wurde die eine Hälfte des Exsudats zunächst mit Kieselguhr zerrieben und dann noch einmal im Eiskochsalzgemisch zum Frieren gebracht und aufgetaut. Sodann wurden beide Portionen verimpft:

Linkes Auge: Leukocytenaufschwemmung.

Rechtes Auge: Zerriebene und gefrorene Leukocytenemulsion.

Befunde nach 48 Stunden: Makroskopisch linke Cornea keine Trübung, rechte mäßige Trübung; mikroskopische Präparate ergaben nur von der rechten Hornhaut ein positives Guarnierisches Phänomen.

Aus den Versuchen folgt, daß mit dem Leukocytenexsudat nach 24 Stunden nicht mehr positive Impfungen an der Kaninchencornea vorgenommen werden können, daß aber entgegen einer Annahme von der phagocytären Vernichtung des Virus (oder einer Modifikation desselben) dieses noch längere Zeit in den Leukocyten unversehrt bleiben kann. Werden die zentrifugierten Leukocyten durch Frieren und Reiben mit Kieselguhr aufgeschlossen, so kann mit diesem Material ein posi-

tiver, wenn auch nicht immer sehr starker Impfeffekt auf der Kaninchencornea erzielt werden¹⁾).

Wir versuchten auch diese Experimente in vitro zu wiederholen. Zu diesem Zwecke setzten wir zu den gewaschenen Bouillonleukocyten das Virus in folgender Weise hinzu:

30. März. Vaccinelymphe (Verdünnung 1:10) wurde zunächst ca. 24 Stunden lang gegen fließendes Wasser dialysiert.

a) Gewaschene Leukocytenaufschwemmung 1 ccm + Vaccine 0,5 — 24 Stunden bei Zimmertemperatur.

b) Gewaschene Leukocytenaufschwemmung 1 ccm + Vaccine 0,5 — 24 Stunden bei 37° C.

c) Gewaschene Leukocytenaufschwemmung 1 ccm + Vaccine 0,5 + Immuneserum 0,2 — 24 Stunden bei Zimmertemperatur.

d) Gewaschene Leukocytenaufschwemmung 1 ccm + Vaccine 0,5 — 24 Stunden bei Zimmertemperatur, dann mit Kieselguhr zerrieben.

Beide Augen von 2 Kaninchen wurden mit a), b), c) und d) geimpft. Nach 48 Stunden zeigten alle 4 Augen eine verschieden starke Trübung, mikroskopisch fiel das Guarnierische Phänomen verschieden stark positiv aus.

In vitro lieferte der Versuch demnach in allen Variationen ein positives Ergebnis. Dieses Resultat ist nicht so verwunderlich, sofern man in Erwägung zieht, daß das Virus in sehr hoher Verdünnung noch infektiösfähig ist und die Leukocyten in vitro zumal bei Zimmertemperatur ihre phagocytäre Kraft nicht vollkommen entfalten können. Bei 37° C erlitt dagegen das Virus immerhin eine Abschwächung. —

Bei einer Zweitimpfung, bei der allergische Reaktionen zu Worte kommen, spielen die Leukocyten gleichfalls eine wichtige Rolle. Wird eine immune Cornea zum zweitenmal geimpft, so treten an der Impfstelle zahlreiche polynukleäre Leukocyten auf, die auch von den Epithelzellen phagocytirt werden und dann Guarnierische Körperchen vortäuschen können. Bei der Zweitimpfung der immunen Kaninchenhaut beobachteten wir mikroskopisch eine Hyperämie, manchmal Blutungen zwischen den Zellen, eine Rundzelleninfiltration, zahlreiche Polynukleäre sowie Mastzellen im subkutanen Gewebe. Einzelne Epithelzellen sahen ödematös aus, besonders um den Kern herum war das Stroma gelockert.

IV. Ferroni und Massari²⁾ haben die Ansicht verfochten, daß die Guarnierischen Körperchen metamorphosierte oder degenerierte Archoplasmen sind. Borrel³⁾ nahm gleichfalls an, daß gewisse Virusnoxen die Teilungsapparate der Zelle in eigentümlicher Weise beeinflussen, eine Ansicht, die später Schilling-Torgau⁴⁾ unabhängig von ihm im Centralblatt für Bakteriologie und in den Folia haematologica u. a. weiter ausgeführt hatte. — Da in den Spermatogonien und Spermatiden des Kaninchenhodens sehr deutliche Archoplasmen (Idiozome) vorhanden sind und nach Chiari⁵⁾ in den Hoden typische Pockenlokalisationen vorkommen können, haben wir die Glycerinlymphe ähnlich wie früher Henseval⁶⁾

1) Vgl. Untersuch. üb. d. Vaccine. Arb. a. d. K. Gesundheitsamte. 1907. p. 56. 4. Zeile von unten Druckfehler: statt „mit einem Exsudat von 1—24 St.“ soll heißen „von 1—2 Stunden“. (Handb. d. pathog. Protozoen. Bd. 1. p. 134.)

2) Handb. d. pathog. Protozoen. p. 130.

3) Les théories parasit. de cancer. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901. p. 55.) — Bull. de l'Inst. Pasteur. T. 5. 1907. p. 501.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912. — Folia haematol. Bd. 14. 1912. p. 219. — Vgl. v. Prowazek, Zur Parasitologie von Westafrika. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913.)

5) Prager Zeitschr. 1886.

6) Henseval, Bull. de l'acad. royal de médecine de Belgique. 1910.

und Paschen¹⁾ nach dem Vorgang der Luesinfektion des Kaninchenhodens (Uhlenhuth) direkt in das Hodengewebe injiziert. Das Virus hielt sich bemerkenswerterweise im Hoden längere Zeit und wir konnten mit einer Aufschwemmung vom Hodengewebe noch nach 2 Tagen mit Erfolg ein sehr deutliches Guarnierisches Phänomen hervorrufen (vgl. Henseval). Die Kaninchenhoden sind mit Schaudinn's Sublimatalkohol fixiert und nach Giemsa sowie mit Hämatoxylin gefärbt worden. Es konnte an der Impfstelle nur eine weitgehende lokale Nekrose mit zahlreichen pyknotischen Kernen, umgeben von einem Infiltrationswall, nachgewiesen werden.

Die Archoplasmen der Spermatogonien sind nicht in Guarnierische Körperchen umgebildet worden, noch konnte irgendein Befund erhoben werden, der im Sinne der oben angedeuteten Theorie sprechen würde.

Da wir zunächst mit Kulturversuchen nicht vorwärts kommen — auch Mischkulturen mit Vaccinebakterien fielen negativ aus — dürfte es sich empfehlen, nächst der Hautimpfung bei Kaninchen, die jedoch nicht immer die gewünschte Virusausbeute liefert, mit Hodenimpfungen weiter zu arbeiten und auch die Frage der paternen Vererbung der Vaccineimmunität (vgl. die Arbeiten von Süpfle, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 54. 1910) in Angriff zu nehmen.

Henseval hat bereits im Jahre 1910 Versuche mit Hodenimpfungen vorgenommen und konnte dabei keine Induration des infizierten Organs beobachten.

V. Ob die Bedeutung des Guarnierischen Phänomens auf das intracelluläre Vorkommen des Virus oder auf eine Art von toxischer Fernimpfung zurückzuführen ist, wurde mehrfach erörtert und Paschen²⁾ selbst neigte früher zu der letzten Annahme. In der letzten Zeit erklärte Rabinowitsch³⁾, daß die Guarnierischen Körperchen Produkte der gelösten Toxine seines „Streptodiplococcus“ sind, eine Annahme, der bereits Gins⁴⁾ widersprach. „Da man nämlich von der geimpften Hornhaut mit positivem Guarnierischen Versuch bei Weiterimpfung auf die Haut typische Pusteln bekommen kann, ist die Annahme nicht zulässig, daß der Guarnierische Versuch durch gelöste Toxine verursacht wird.“ Um dieser Frage experimentell näherzutreten, haben wir mit durch Sonnenlicht bei Neutralrotzusatz, durch Wärme bei 55° C (18 Stunden) sowie durch Galle (konzentriert) abgetötete Vaccine Versuche angestellt, von der Voraussetzung ausgehend, daß die angeführten Noxen das angenommene Toxin nicht vernichten. Mit einer durch Wärme (55° C) abgetöteten Glycerinvaccine konnte bei einem mehrmals geimpften Menschen im Gegensatz zu den Kontrollen ein deutliches allergisches Phänomen ausgelöst werden, ein Beweis, daß das Vaccineantigen nicht vernichtet wird.

Neutralrotversuche.

Friedberger und Yamamoto⁵⁾ haben die Wirkung des Neutralrots auf die Vaccineinfektion beim Kaninchen untersucht und dabei die

1) Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforsch. I. Ergänz.-Bd. 1911. p. 483.

2) Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforsch. I. Ergänz.-Bd. 1911. p. 514.

3) Berlin. klin. Wochenschr. 1914. No. 7.

4) Berlin. klin. Wochenschr. 1914. No. 9.

5) Berlin. klin. Wochenschr. 1909. No. 30. p. 1399.

Tatsache festgestellt, daß keineswegs das Maximum der Wirkung mit der maximalen Konzentration zusammenfällt. Unsere Versuche wurden in folgender Weise angestellt:

16. April. Neutralrotlösung (1:10000) und Vaccineaufschwemmung \widehat{aa} in Glaskapillaren ca. 1 Stunde lang dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt, dann auf die rechte Cornea eines gesunden Kaninchens verimpft.

Als Kontrolle wurde gleiches Gemisch im Dunkeln (im Eisschrank) gehalten und auf die linke Cornea desselben Kaninchens verimpft. Nach 48 Stunden (18. April):

Rechtes Auge: Guarnierisches Phänomen negativ.

Linkes Auge: Guarnierisches Phänomen positiv.

Wärmeversuche.

24. April. Vaccineaufschwemmung (1:5) in Glaskapillaren bei 55° C 18 Stunden gehalten, dann auf die linke Cornea eines gesunden Kaninchens verimpft.

Zur Kontrolle diente dieselbe Aufschwemmung, gleiche Zeit bei Zimmertemperatur gehalten und auf die rechte Cornea desselben Kaninchens verimpft. Nach 48 Stunden:

Linkes Auge: Guarnierisches Phänomen negativ.

Rechtes Auge: Guarnierisches Phänomen positiv.

28. April. Versuche wurden wiederholt. Nach 48 Stunden zeigt die Cornea mit Vaccine bei 55° C makroskopisch keine Trübung, mikroskopisch Guarnierisches Phänomen negativ. Am 1. Mai wurde dasselbe Auge nachgeimpft. Nach 72 Stunden Guarnierisches Phänomen positiv (keine Immunität).

Versuche mit Galle.

21. April. Steril entnommene Rindergalle wurde, wie folgt, mit der physiologischen Kochsalzlösung und Vaccine gemischt, 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten und dann verimpft.

Konzentration der Galle	Vaccinevirus	Impfung
1:20 (0,5 ccm)	1 gtt.	rechte Cornea
1:5 (0,5 ccm)	1 gtt.	linke Cornea

Nach 48 Stunden bemerkt man das Auftreten einer sehr starken Conjunctivitis. Klatschpräparate zeigten nur wenige Guarnierische Körperchen.

23. April. Unverdünnte Rindergalle 0,5 ccm mit Vaccineaufschwemmung 1 gtt. gleichmäßig gemischt, 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten, dann auf das Auge des Kaninchens verimpft. Nach 2 Tagen intensive Conjunctivitis (starke Hyperämie, Anschwellung etc.), Cornealtrübung sehr stark (intensive Keratitis). Im Klatschpräparat aber fehlte das Guarnierische Phänomen.

Die Galle allein hat nach diesem Versuch ¹⁾ auf der Cornea und Conjunctiva eine derartig heftige Wirkung ausgelöst. Alle Klatschpräparate von der mit Galle und Vaccinevirus geimpften Hornhäute zeigten enorme Mengen von Leukocyten, die auch in sehr erheblichem Maße von den Hornhautepithelzellen phagocytirt worden sind (Fig.5). Da diese Erscheinungen sich auch bei der Zweitimpfung der Cornea, bei der eine Vernichtung des Virus einhergeht, einstellen, ist die Gallewirkung der Viruslyse gleichzusetzen; beide Aenderungen des Kolloidzustandes des Protoplasmas erhöhen die phagocytären Eigenschaften des Epithels. Aus den Versuchen folgt, daß die Guarnierischen Körperchen Reaktionsprodukte des lebenden Virus sind.

VI. Eine weitere Serie von Versuchen sollte, um Versuchstiere zu sparen, teilweise gleichzeitig die vielumstrittene Frage, a) ob von einer Hornhautimpfung eine Immunisierung der gesamten Hautdecke und der anderen Hornhaut möglich sei, b) ob ferner eine humorale Immunität von einer Hornhautimpfung Platz greift, sowie schließlich c) ob in den Zellen selbst das immunisatorische Prinzip seinen Sitz hat, zur Entscheidung bringen. „Die Aktivität einer infizierten Hornhaut wird beim Kaninchen durch entsprechende oder gleiche Mengen von Zellmaterial, das einer ausgeheilten immunen Hornhaut angehört hatte, nur dann herabgesetzt oder unwirksam gemacht,

1) sowie nach früheren Trachomversuchen.

wenn man die fraglichen Zellen, in denen die Immunkörper sitzen, mechanisch oder durch Trypsinverdauung aufschließt und dann die beiden Zellderivate gründlich durchmischt, um nach einiger Zeit gegenteiliger Einwirkung die Impfungen vorzunehmen¹⁾. Arndt hat diese Versuche wiederholt. Paschen²⁾ konnte sie dagegen nicht bestätigen. Paschen benutzte das abgekratzte Epithel des Kaninchens, das er vorher allerdings in abweichender Weise 24 Stunden in zerriebenem Zustande stehen ließ, worauf er erst dann den Epithelbrei mit Vaccine, Lapine und Kinderlymphe gemischt hatte. Alle 3 Impfungen, die Paschen vornahm, ergaben ein positives Resultat.

Wir impften zu dem oben angeführten Zwecke zunächst die Kaninchen-cornea (Guarnierisches Phänomen), revaccinierten sie nach einiger Zeit (kein Guarnierisches Phänomen), impften die Hautdecke (eventuelle Reaktion), revaccinierten die Hautdecke (Allergie) und prüften schließlich nach einiger Zeit das Serum auf seine parasitiziden Eigenschaften. Erst dann wurden die herausgeschnittenen immunen Corneae der getöteten Tiere zerrieben, entweder mit Glycerinlymphe oder Corneavirus vermischt und nach 24 Stunden verimpft.

9. Dez. 1913. 4 Kaninchen. Hornhäute (links) skarifiziert und mit Vaccinolymphe geimpft. Gleichzeitig Unterbauchgegend (linke Seite) rasiert und mit Vaccinolymphe geimpft. (Versuch nicht zur Beantwortung von a) angestellt.)

11. Dez. 1913. Die Trübung der geimpften Hornhäute aller Kaninchen deutlich. Mikroskopisch Guarnierisches Phänomen positiv. Hautreaktion aller Kaninchen positiv.

3. Febr. 1914. Cornea (links) aller Kaninchen revacciniert und gleichzeitig die rechte Unterbauchgegend rasiert und mit Vaccinolymphe geimpft.

6. Febr. 1914. Klatschpräparate von den revaccinierten Hornhäuten: Guarnierisches Phänomen negativ. Hautreaktion bei 2 Kaninchen schwach (?), bei den anderen undeutlich.

Versuch 1. 27. Febr. Vom I. Immunkaninchen Serum gewonnen. Vaccinolymphe (1:10) + Serum aa gemischt, 24 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln gehalten, dann auf die andere Hornhaut verimpft. Nach 48 Stunden Guarnierisches Phänomen positiv. Sodann wurde das sogenannte Immunkaninchen getötet, ein Hautstück sowie die immune Cornea mit Kieselguhr zerrieben und mit Glycerinlymphe (1:10) gemischt. Beides 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten und dann auf beide Augen eines gesunden Kaninchens verimpft. Nach 48 Stunden auf beiden Augen Guarnierisches Phänomen positiv (schwach).

Versuch 2. 9. März. Versuche wiederholt. Vom II. Immunkaninchen Serum gewonnen. Wie oben behandelt. Guarnierisches Phänomen positiv. Am 12. März Kaninchen getötet, ein Hautstück und Immuncornea wie oben mit Vaccinolymphe behandelt und auf beide Augen eines gesunden Kaninchens verimpft. Nach 48 Stunden Guarnierisches Phänomen schwach positiv.

Versuch 3. 20. März. Vom III. Immunkaninchen Serum gewonnen, wie oben behandelt. Nach 48 Stunden Guarnierisches Phänomen positiv (schwach). Immune Cornea diesmal mit der frisch vaccinierten Cornea eines anderen Kaninchens zerschnitten und mit Kieselguhr zerrieben; gleichzeitig wurde ein immunes Hautstück mit der frisch infizierte Cornea eines gesunden Kaninchens gemischt, zerschnitten und mit Kieselguhr zerrieben. Beide 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten, dann auf beide Augen eines gesunden Kaninchens verimpft (links: Immune Cornea + infizierte Cornea; rechts: Immune Haut + infizierte Cornea). Nach 48 Stunden in beiden Corneae Guarnierisches Phänomen vollkommen negativ.

Versuch 4. 1. April. Vom IV. Immunkaninchen Serum gewonnen. Versuche wiederholt. Nach 48 Stunden Guarnierisches Phänomen sehr schwach positiv. Kaninchen getötet, immune Cornea und Haut wie oben behandelt. In diesem Falle war das Guarnierische Phänomen positiv, trotzdem im Serum des Kaninchens vielleicht gewisse parasitizide Substanzen vorhanden waren. Die Versuche wurden wegen des letzteren Ausfalles noch wiederholt.

Versuch 5. 23. April. Vaccinierte Cornea (am 19. April geimpft) und immune

1) Prowazek, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1905.

2) Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforsch. 1911. p. 503 ff.

Cornea (am 4. April geimpft) gemischt, zerschnitten, mit Kieselguhr zerrieben und 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten (vor Licht geschützt), dann auf die Cornea eines gesunden Kaninchens verimpft. Nach 48 Stunden Guarnierisches Phänomen vollkommen negativ. Um zu prüfen, ob durch diese Behandlung die Infektionsfähigkeit der Cornea nicht herabgesetzt wird, wurde dasselbe Auge mit Vaccinelymphe nachgeimpft. Nach 48 Stunden Guarnierisches Phänomen positiv.

Versuch 6. 28. April. Die Hälfte der vaccinierten Cornea (am 24. April geimpft) und der immunen Cornea wie oben behandelt. 48 Stunden nach der Impfung Guarnierisches Phänomen vollkommen negativ. 1. Mai. Mit Vaccinelymphe nachgeimpft. Guarnierisches Phänomen positiv.

Andere Hälfte der vaccinierten Cornea in 60-proz. Glycerin 24 Stunden im Eisschrank gehalten. Erst am folgenden Tage mit der anderen Hälfte der immunen Cornea zerschnitten, mit Kieselguhr zerrieben und 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur gehalten, hierauf verimpft (30. April). Nach 48 Stunden makroskopisch mäßige Trübung, mikroskopische Präparate zeigten ein typisches Guarnierisches Phänomen.

Versuch 7. 4. Mai. Die Hälfte der infizierten Cornea (am 30. April geimpft) sowie der immunen Cornea (am 4. April geimpft) wie oben behandelt. Guarnierisches Phänomen vollkommen negativ.

Andere Hälfte der infizierten Cornea in 60-proz. Glycerin 24 Stunden gehalten und dann mit der Immuncornea behandelt. Guarnierisches Phänomen positiv.

Versuch 8. 7. Mai. Infizierte Cornea (am 5. Mai geimpft) sowie immune Cornea (am 14. April geimpft) wie oben behandelt und auf ein gesundes Auge verimpft. Guarnierisches Phänomen negativ.

Immune Cornea + Vaccinelymphe (1:40) gemischt, mit Kieselguhr zerrieben und nach 24 Stunden verimpft. Guarnierisches Phänomen positiv.

Versuch 9. a) Immune Cornea (24. April—29. Mai) + 48 Stunden vaccinierte Cornea gemischt, mit Kieselguhr zerrieben und nach 24 Stunden verimpft. Guarnierisches Phänomen vollkommen negativ.

b) Immune Cornea (24. April—29. Mai) 24 Stunden in 60-proz. Glycerin, 3 Stunden in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen + mit 48 Stunden vaccinierter Cornea gemischt, sodann mit Kieselguhr zerrieben und nach 24 Stunden verimpft; Guarnierisches Phänomen positiv.

Diese Versuche führten zu dem überraschenden Resultat, daß das glyzerinierte Vaccinevirus durch das immune, aufgeschlossene Zellmaterial in keinem Falle abgetötet wird (Guarnierisches Phänomen), daß aber eine zerriebene vaccinierte Cornea¹⁾ durch 24 Stunden mit dem immunen Zellbrei in Kontakt gebracht, die Eigenschaft, ein Guarnierisches Phänomen auszulösen, in den meisten Fällen (Ausnahme Versuch 4) eingebüßt hatte; eine immune Cornea, die 24 Stunden hindurch dem 60-proz. Glycerin ausgesetzt wurde, beeinträchtigt das Virus der vaccinierten Cornea nicht (Versuch 9). Da wir zunächst nach Analogie der Protozoenentwicklung keinen komplizierten Entwicklungszyklus (Geschlechtsformen, vegetative Formen) des Vaccinevirus annehmen, sehen wir uns zu der Annahme gedrängt, daß durch das Glycerin das Virus modifiziert wird, oder die parasitizide Kraft der einmal geimpften und immunen Cornea durch das Glycerin (60-proz.) abgeschwächt bzw. vernichtet wird. Dagegen scheint das Corneavirus eine hinfalligere, immunisatorischen Kräften des 2mal geimpft gewesenen Epithelbreies leichter zum Opfer fallende Modifikation darzustellen; wann eventuell diese „Modifikation“ sich in der Kaninchen-cornea einstellt, können nur große Serienversuche entscheiden.

Interessanterweise ergab auch bei einem überempfindlichen Menschen die Glycerinvaccine (käufliche Vaccine und glyzerinierte Cornea) ein stärkeres allergisches Phänomen als die Corneavaccine oder 12 Stunden dialysierte Vaccine (Kontrollen: Mechanische Risse und Risse, die mit Glycerin getränkt worden sind). Auf dem hier nur angedeuteten experimentellen Wege kann man vielleicht auch die Biologie und das Wesen

1) die das Virus nicht in einem derartigen Ueberschuß wie die Kinderlymphe enthält.

der Virusmodifikationen (Initialkörper, Elementarkörper, Latenzstadium) weiterhin studieren und die immerhin auffallende Resistenz des glyzerinierten Vaccinevirus einer vollständigen Klärung entgegenführen — diese Entscheidung können aber nur sehr große Serienversuche, die wir nicht durchführen können, herbeiführen.

Jedenfalls konnte aber nach allen bisherigen Versuchen von der vaccinierten Cornea aus (zwei Vaccinationen) die zweite Cornea nicht immunisiert werden, auch traten in dem Serum nicht derartig parasitizide Substanzen auf, daß sie fähig wären, die Ausbildung eines Guarnierischen Phänomens vollkommen zu unterdrücken.

Von den nach der obigen Methode immunisierten Kaninchen konnten wir intraperitoneal mit dem Milzbrei oder mit einer Hautemulsion keine Kaninchen im wahren Sinne des Wortes passiv immunisieren; d. h. wir erhielten bei den Tieren auf der Cornea nach einer Vaccinenachimpfung bei der Milzbreimmunisierung ein positives Guarnierisches Phänomen; nach der Hautemulsionimmunisierung konnte die Haut noch positiv nachgeimpft werden, hiernach fiel bei der Corneaimpfung die Reichhaltigkeit der geimpften Cornea an Polynukleären auf. In den Schnitten sind aber keine Guarnierischen Körperchen nachgewiesen worden — offenbar stellte sich nach der intraperitonealen Immunisierung mit der Haut und der zweiten Hautimpfung doch eine gewisse Immunität der Cornea ein. Ohne die Möglichkeit einer Serumimmunität, die durch wiederholte Einverleibungen des Virus etwa wie bei den Trypanosomeninfektionen sich allerdings einstellen kann, zu leugnen, müssen wir auf Grund dieser und früherer Versuche ein Ueberwiegen der histogenen Immunität bei der Vaccine, deren komplexe Natur noch nicht bewiesen ist, annehmen. Es sei hier nochmals ausdrücklich hervorgehoben, daß wir zum Maßstabe einer positiven Impfung stets einzig und allein das deutlich nachweisbare Guarnierische Phänomen gewählt haben. Für eine histogene Immunität bei der Vaccine sprechen auch die außerordentlich wichtigen Versuche von Camus (Compt. rend. soc. de biol. 1912. p. 197), der ein immunes Kaninchen nahezu entblutete und dessen Blut durch normales Blut ersetzte, ohne daß die Immunität des Tieres beeinträchtigt worden wäre. Das Ergebnis dieses Versuches schließt sich an die Versuche von R. v. Fenyvessy und J. Freund über den Mechanismus der Anaphylaxie (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 22. 1914) an, die auf einem ähnlichen Wege zeigen konnten, daß die Anaphylaxie mehr ein Gewebe- als ein Serumphänomen ist.

VII. Im Anschluß an die grundlegenden Untersuchungen von v. Pirquet gewann die Anschauung, daß von der supponierten Protopustel Pfeiffers das Virus zuerst in die Zirkulation gelangt, dann aber sekundär im Kapillargebiete agglutiniert wird und die Nekrobiose Weigerts im Hautorgan verursacht, viele Anhänger. R. Kraus und Sternberg haben gegen diese Vorstellung geltend gemacht, daß eine Agglutination in der Blutbahn nicht stattfindet, auch sei eine Agglutination des Virus nicht bewiesen. v. Prowazek und Aragaò haben unter Einfluß eines Variolaserums von 12, 14, 15, 20, 24, 30 und 40 Tage keine deutliche Agglutination beobachtet, noch entschiedener lauten die Angaben von Dahm¹⁾. Paschen und Jacobsthal²⁾ konnten neben der Präzipitation (Freyer) auch eine Agglutination der Körperchen wahrnehmen

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. Heft 2.

2) Dtsche med. Wochenschr. 1913.

und schließen daraus, daß die v. Pirquet angenommenen Agglutinine zu Recht bestehen. Im Anschluß an diese Vorstellungen und Feststellungen stellten wir folgenden Versuch an:

Wir haben, den natürlichen Verhältnissen der Pockeninfektion uns möglichst anpassend, ohne also durch wiederholte intravenöse Injektionen den Wert eines Immunserums hochzutreiben, Serum von einem einmal corneal und kutan geimpften und nachgeimpften Kaninchen gewonnen und dieses Serum einem jungen Albinokaninchen eine $\frac{1}{2}$ Stunde¹⁾ nach einer intravenösen Injektion von 4 Dosen Vaccinevirus intravenös injiziert. Das Tier wurde dauernd beobachtet; außer einer vorübergehenden Hyperämie der Conjunctiven haben wir nichts Auffallendes bei ihm auch in den Conjunctiven, den Schleimhäuten des Mundes, der Nase, auf der Haut etc. wahrgenommen. Nach 24 Stunden wurde die Bauchhaut rasiert und durch Schaben aufgeschlossen; am nächsten Tage wurde eine Rötung und an einzelnen Stellen Pustelbildung beobachtet (vgl. Calmette und Guerin, v. Prowazek und Yamamoto). Nach 10 Tagen wurde das Tier corneal vacciniert. Nach 48 Stunden wurden Klatschpräparate angefertigt. Guarnierisches Phänomen fiel positiv (schwach) aus (viele Leukozyten!). Im Schnittpräparate von der vaccinierten Cornea sind typische Guarnierische Körperchen nachgewiesen worden. Eine Immunität der Cornea ist auf diese Weise nicht eingetreten.

Mehrfach ist betont worden, daß das Vaccinevirus ein Hautorganvirus (Lipschütz) ist, d. h. auch bei einer intravenösen Injektion kreist es nur eine kurze Zeit im Kreislauf, wird frühzeitig im Kapillargebiet der Haut festgehalten und hier biologisch verankert. Die Verankerung geschieht entweder durch eine Art von Agglutination (v. Pirquet) oder celluläre Ultrafiltration, indem das Virus durch Hilfe von besonderen Zwischensubstanzen als Suspensionskolloid in die Zellen ultrafiltriert wird.

Diese Vorstellung versuchten wir, auch in vitro einer Prüfung zu unterwerfen. Zu diesem Zwecke wurden kleine Glastuben mit Vaccine + physiologischer Kochsalzlösung (1:10) gefüllt, mit einer sorgfältig abpräparierten und vorher rasierten Kaninchenhaut bespannt und so in umgekehrter Lage in Gefäße mit Ringerscher Lösung getaucht. Nach 24 Stunden wurden die oberflächlichen Schichten des Derma abgeschabt und verimpft (Kontrolle Röhrcheninhalt). Die Impfungen fielen leider negativ aus.

VIII. Bei allen unseren Versuchen haben wir auf das Auftreten und die Morphologie des Guarnierischen Phänomens geachtet. Es ist bis jetzt nachgewiesen, daß in den nicht immer leicht zu gewinnenden Filtraten (Paul) sowie in der Ausgangsvaccine die Elementarkörperchen vorkommen. Um zu entscheiden, ob und wann diese Gebilde sich auf der Cornea vermehren, haben wir von 6 Stunden nach der Impfung ab Klatschpräparate von der Cornea angefertigt und sie in der üblichen Weise nach Loeffler gefärbt. Anfangs konnten wir keine Elementarkörper, die erst nach 24 Stunden auftraten, nachweisen; sobald die Destruktion der Zellen weiter vorgeschritten ist, kann man die Elementarkörper zuweilen in der Menge einer Reinkultur ohne bakterielle Verunreinigung in den Klatschpräparaten beobachten (Fig. 8 nach 48 Stunden). Einige anscheinend größere Elementarkörper färbten sich zentral nicht und wiesen auf dieser Stelle eine Lücke auf (Fig. 8). Initial-

1) Nach v. Prowazek und Yamamoto kreist das Virus ca. 1 Stunde nach der intravenösen Injektion.

körper konnten wir in den nach Giemsa feucht fixierten und gefärbten Abstrichpräparaten sowie in alten (1904—1905) gleichfalls nach Giemsa (alte Methode der drei Lösungen) hergestellten Schnittpräparaten (Fig. 1) sichtbar machen. Auf Grund eines Studiums der Abstrichpräparate kamen wir zu der Vorstellung, daß die Zelle auf das eingedrungene oder genauer ausgedrückt adsorbierte bzw. in den Zelleib ultrafiltrierte, unbewegliche Virus, das sich zuerst in größere Initialkörper umbildet, mit Chromatinplastinsubstanzen reagiert, die sich um viele Initialkörper ansammeln (Fig. 2). Auf diese Weise ist in der Zelle anfänglich eine Vielzahl von jungen Guarnierischen Körperchen vorhanden; später reißen aber nur einzelne dieser Gebilde die ganze Menge der verfügbaren Reaktionsprodukte an sich, ähnlich wie in einer Mutterlauge die sichtbar werdende Kristallisationssubstanz sich nicht immer gleichmäßig um alle in die Lösung geworfenen Erregungskristalle ansammelt, sondern nur einige bevorzugt. Demnach wachsen nur 2—4 Guarnierische Körperchen zu der bekannten Größe in den Corneazellen des Kaninchens heran.

Da sich die eingeschlossenen Initialkörper auch teilen, werden auf gewissen Zwischenstadien des Wachstums auch die Guarnierischen Körperchen hantelförmig durchschnürt und bringen so Figuren zur Anschauung, die der Aufmerksamkeit Guarnieri, Kurloff und Hückels nicht entgangen sind (Fig. 7). Sobald die Impfstelle eine Trübung erfahren und ein Epitheldefekt sich eingestellt hatte, kann man eine große Menge von Elementarkörperchen auf dem Impffeld zur Darstellung bringen (vgl. Paschen). In der Cornea spielt sich das Vaccinephänomen in folgender Weise ab: 1) Elementarkörperchen, die in die Zelle eindringen, 2) größere Initialkörper, die von den Reaktionssubstanzen der Zelle (Chromatinplastin) oft polar umhüllt werden; die Initialkörper teilen sich noch. 3) Guarnierische Körper, die auch noch die Initialkörper einschließen (vgl. Galli-Valerio¹⁾. 4) Wiederauftreten von Elementarkörpern, die intra- und extracellulär vorkommen, deren spätere Beziehung zu den Guarnierischen Körpern aber noch unklar ist; manche größeren Gebilde färben sich nur peripher und zeigen zentral eine Art von Lückenbildung.

Zusammenfassung.

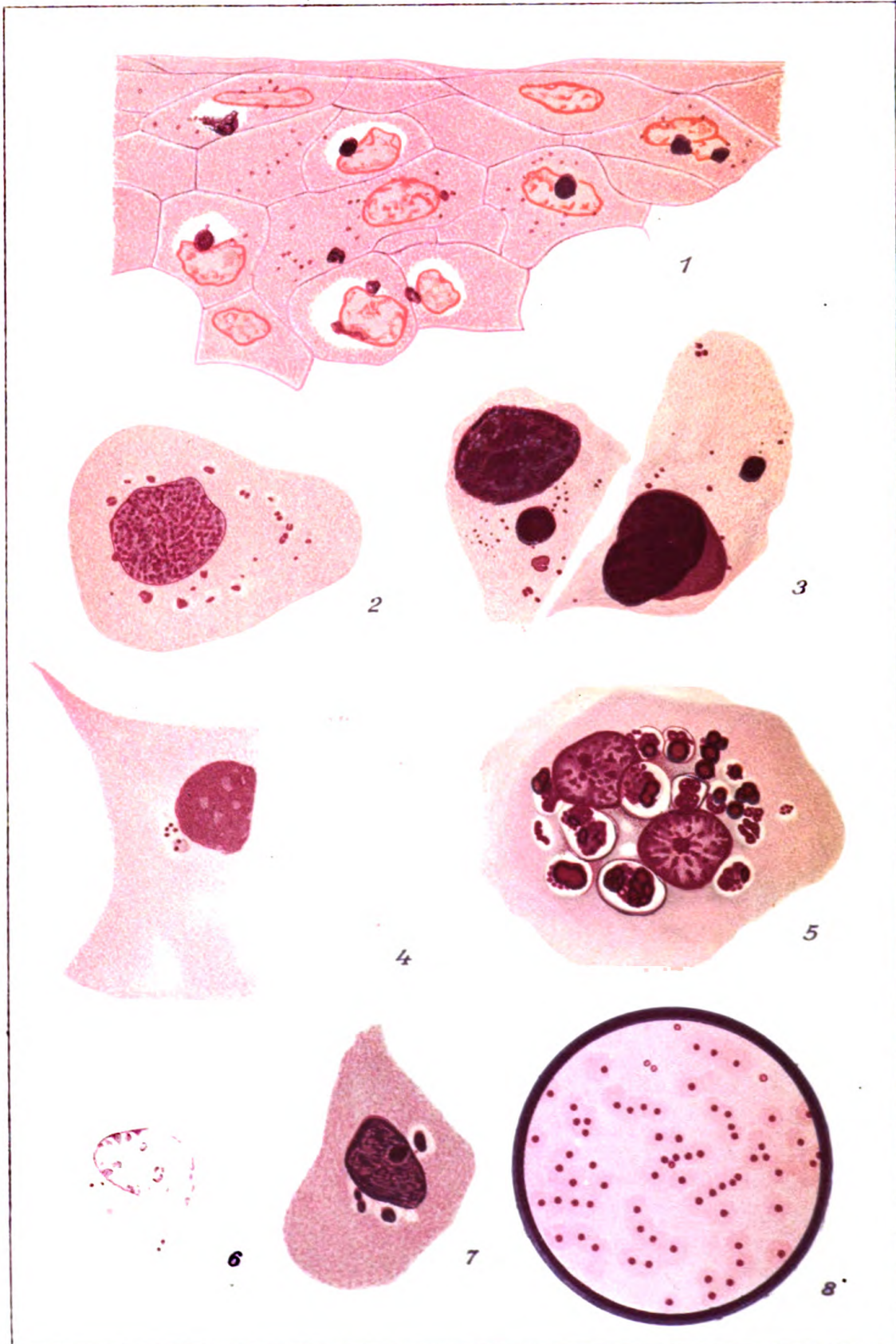
1) Vaccinevirus wird durch Pepsinsalzsäure in weitgehendem Maße verändert, dagegen nicht durch Trypsin, das sich für eine Isolierung des Virus vom Corneaepithel eignet.

2) Glycerinlymphe reduzierte Methylenblau und Azur II bei 37° C stark, weniger stark bei Zimmertemperatur im Dunkeln. Glycerin schädigt das Virus anscheinend nicht in außerordentlichem Maße (Risel).

3) Vaccinevirus wird vom Kaninchen intraperitoneal in kurzer Zeit vernichtet. Schafft man vorher in der Bauchhöhle ein Exsudat, so phagocytieren zwar die Leukocyten das Virus, vernichten es aber nicht vollständig.

In vitro können diese Experimente nicht wiederholt werden.

1) Galli-Valerio, Observations sur les corpus de la vaccine. (Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 63. 1912. p. 53 ff.)



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. A. Gutsch, Jena

4) Hodenimpfungen sind für ein experimentelles Arbeiten in Uebereinstimmung mit Henseval und Paschen sehr zu empfehlen. In den Samenzellen werden die Archoplasmen durch die Einführung des Virus nicht verändert.

5) Das Guarnierische Phänomen wird nicht durch mit Galle, Neutralrot (Sonnenlicht) sowie Wärme abgetötete Vaccine erzeugt und ist demnach nur eine Reaktion auf lebendes Virus.

6) Nach einer gewissen Zeit können immune Cornea und immune Kaninchenhäute unter Umständen nur das Corneavirus, nicht aber das Glyzerinvirus (Lymph und glyzerinierte Vaccinecornea) abtöten. Durch das Glyzerin werden wahrscheinlich andere „Modifikationen“ des Virus geschaffen bzw. verändert das Glyzerin die Parasitizidie der Immuncornea. Serienversuche sind erwünscht.

7) Nach einer cornealen und kutanen Impfung sowie Zweitimpfung treten im Serum der Kaninchen keine zunächst mit unseren Hilfsmitteln (G. P.) nachweisbaren Immunkörper auf.

8) Durch Injektion von Milzbrei und Hautemulsion der nach 7. behandelten Kaninchen konnte im ersten Fall keine, im letzten Fall erst nach einer Hautimpfung eine Corneaimmunität erzielt werden.

9) Kaninchencorneae, die mit Emulsionen von Corneavirus + immuner Cornea behandelt wurden, sind, sofern vorher nicht ein Guarnierisches Phänomen auftrat (Versuch 5 VI.) mit Erfolg vacciniert worden.

10) Verschiedene Versuche zur Theorie des Hautorganvirus (Dermatropismus Lipschütz) sind angestellt worden.

11) Morphologie des Virus (Zusammenfassung s. oben).

Figurenerklärung.

Die Zeichnungen sind von Frl. H. Sykora hergestellt worden.

Fig. 1. Alter Schnitt durch eine Kaninchenhornhaut mit Guarnierischen Körperchen und Initialkörpern. (Alte Giemsa-Färbung. Vergr. 1400.)

Fig. 2. Abstrichpräparat von einer Corneazelle mit vielen kleinen Guarnierischen Körpern und auch Initialkörperchen. (Giemsa-Azetonmethode. Vergr. 1400.)

Fig. 3. Zwei Zellen mit Initialkörpern und Guarnierischen Körperchen. (Giemsa-Azetonmethode. Vergr. 1400.)

Fig. 4. Eine etwas zerdrückte Corneazelle mit Guarnieri- und Zentralkörpern. (Giemsa-Azetonmethode. Vergr. 1400.)

Fig. 5. Eine mit Galle + abgetötetem Virus behandelte Hornhautepithelzelle im Stadium der maximalen Leukocytenphagozytose. (Vergr. 1400.)

Fig. 6. Corneazelle mit blassen Guarnierischen Körperchen und Initialkörpern. (Vergr. 1400.)

Fig. 7. Corneazelle mit 4 Guarnierischen Körperchen. Ein Körperchen im Stadium einer Art von Teilung. (Geimpft mit Vaccinevirus, das der Trypsinverdauung ausgesetzt worden ist. Vergr. 1400.)

Fig. 8. Elementarkörper im Klatschpräparat einer vor 48 Stunden geimpften Cornea — Loeffler-Färbung. Einzelne Körperchen nur an der Peripherie gefärbt. (Die Zeichnerin hat die Körperchen mit dem Zeichenapparat genau zweimal gezeichnet, vielleicht scheinen die Körperchen auf diese Weise größer zu sein — nach unseren subjektiven Schätzungen erscheinen sie als kleinere Gebilde.)

Nachdruck verboten.

Bemerkung zu S. v. Prowazeks Arbeit: „Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus“¹⁾.

Von Privatdozent Dr. **Karl Przibram**, Wien.

In der genannten Arbeit hat S. v. Prowazek die beständige unregelmäßige Bewegung der Elementarkörperchen in Kinderlymphe messend verfolgt und das mittlere Verschiebungsquadrat λ^2 für das Beobachtungsintervall von $t = 8$ sec bzw. $t = 16$ sec zu $162 \cdot 85$, bzw. $390 \cdot 37$ in willkürlichem Maße gefunden. Diese beiden Zahlen stehen nahezu im Verhältnis von 1:2 (genauer 2:4) zueinander, wie die Einstein-Smoluchowskische Theorie der Brownschen Bewegung es erfordert. Da diese Beziehung λ^2 prop. t nicht nur für die Brownsche Bewegung, sondern für jede ungeordnete Bewegung gelten muß, und ich an anderer Stelle²⁾ zeigen konnte, daß sie auch bei der Wimmelbewegung lebender Infusorien, die viel lebhafter ist als die Brownsche Bewegung derart relativ großer Teilchen (10^{-3} cm), erfüllt ist, so spricht v. Prowazek nur von einer Wahrscheinlichkeit, daß die Bewegung der Elementarkörperchen mit der Brownschen identisch ist.

Diese Wahrscheinlichkeit nähert sich jedoch, wie mir scheint, der Gewißheit, wenn man die Einsteinsche Formel $\lambda^2 = \frac{2 RT}{N} \frac{t}{6\pi\mu a}$

hier quantitativ anwendet. Der Ausdruck $\frac{2 RT}{N}$, der aus molekular-kinetischen Betrachtungen folgt, ist für die Brownsche Bewegung charakteristisch; jede andere ungeordnete Bewegung wird einen anderen Faktor liefern, und wenn obige Formel für die Elementarkörperchen die beobachteten Werte von λ^2 richtig wiedergibt, so ist die Identität mit der Brownschen Bewegung erwiesen.

Die Formel liefert nun, wenn wir für die Gaskonstante R den bekannten Wert $83 \cdot 10^6$, für die absolute Temperatur bei diesen Versuchen $T = 294^\circ$, für die Loschmidtsche Zahl N , d. i. die Zahl der Moleküle, im Grammmolekül als plausiblen Wert $6 \cdot 10^{23}$ (Millikan)³⁾, für den Radius a der Teilchen den Schätzwert $0 \cdot 5 \cdot 10^{-5}$ cm und für den Reibungskoeffizienten des Mediums den des Blutserums, der nach den Tabellen von Landolt-Börnstein-Roth etwa gleich $2 \cdot 4 \cdot 10^{-2}$ angenommen werden kann, einsetzen, für $t = 1$ $\lambda^2 = 3 \cdot 6 \cdot 10^{-8}$ cm².

Herr v. Prowazek hat mir auf meine briefliche Anfrage die bei seinen Versuchen benutzte Vergrößerung freundlichst mitgeteilt; sie betrug 2450 linear, oder $6 \cdot 0 \cdot 10^6$ im Quadrat. Daraus berechnet sich aus den eingangs angegebenen Zahlen das λ^2 für 8 sec zu $0 \cdot 272 \cdot 10^{-6}$, für 16 sec zu $0 \cdot 65 \cdot 10^{-6}$; es ist also für 1 sec $\lambda^2 = 3 \cdot 4 \cdot 10^{-8}$ cm² bzw. $4 \cdot 0 \cdot 10^{-8}$ cm², in befriedigender Uebereinstimmung mit dem theoretischen Werte. Allerdings muß bemerkt werden, daß der Radius der Teilchen nur grob geschätzt ist, ebenso ist μ nicht ganz sicher, auch können Ab-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1913. p. 94—102.

2) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 153. 1913. p. 401—405.

3) Der Perrinsche Wert $N = 6 \cdot 8 \cdot 10^{23}$ liefert $\lambda^2 = 3 \cdot 2 \cdot 10^{-8}$ cm².

weichungen von der Kugelgestalt¹⁾ u. dgl. m. den Wert von λ^2 etwas beeinflussen. Jedenfalls kann man aber, soweit diese Unsicherheiten eine bestimmte Aussage zulassen, schon die Behauptung aufstellen:

Nach den Prowazekschen Versuchen und der vorliegenden Berechnung liegt keine Ursache vor, den Elementarkörperchen außer der Brownschen Bewegung noch eine Eigenbewegung zuzuschreiben. Sie bewegen sich gerade so, wie irgendein unbelebtes Teilchen der gleichen Größe sich bewegen muß.

Wien, 26. Juni 1914.

Nachdruck verboten.

Veränderungen der Bakterien im Tierkörper.

IX. Ueber die Korrelation zwischen Kapselbildung, Sporenbildung und Infektiosität des Milzbrandbacillus.

[Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag.]

Von Professor **Oskar Bail**.

Zu den auffälligsten Veränderungen, welche Bakterien im infizierten Tierkörper annehmen, gehört die Bildung von eigenartigen, als schleimig bezeichneten Hüllen oder Kapseln. Seitdem hauptsächlich das Studium des Milzbrandbacillus die Aufmerksamkeit auf gewisse Beziehungen der Kapselbildung zur Infektiosität gelenkt hat, hat man auch bei zahlreichen anderen, fast könnte man sagen, bei allen der Infektion fähigen Mikroorganismen, entweder auch Kapseln auffinden oder doch andere morphologische Veränderungen als Analoga derselben auffassen können, wobei allerdings in den meisten Fällen die bloße Erscheinung beschrieben ist; sichere Beweise eines ursächlichen Zusammenhanges zwischen Infektiosität und Kapselbildung sind aber bisher nur in wenigen Fällen zu führen gewesen. Jedes ausführlichere Handbuch erbringt Beispiele der Befunde an den verschiedensten Bakterien, von einem genauen Studium der gesetzmäßigen Korrelation zwischen Hüllbildung und Infektiosität kann man erst beim Milzbrandbacillus sprechen; dabei sei aber darauf hingewiesen, daß schon für andere Bakterien sehr gewichtige Hinweise auf eine solche Korrelation vorliegen. Abgesehen von den seit längerer Zeit in dieser Hinsicht studierten Pneumokokken und Streptokokken seien die Ermittlungen von Toeniessen erwähnt, der bei Kapselbacillen, Schläfrig, Pollak und Eisenberg, die bei Sarcinen fanden, daß im Laufe der Zeit entstehende kapselfreie, dabei trocken wachsende Varietäten (Mutationen?) gleichzeitig auch ihre Infektiosität mehr oder weniger vollständig eingebüßt hatten.

Es ist nicht beabsichtigt, in diesem Zusammenhange auf die Literatur über Kapselbildung und ihre mutmaßliche Bedeutung einzugehen, was in kurzem in ausführlicherer Weise geschehen soll. Hier handelt es sich nur darum, zu zeigen, daß gleichzeitig mit Verlust der Kapselbildung eine korrelative Abschwächung der Infektiosität eintritt, und zu

1) Solche Abweichungen müßten sehr groß sein, um das Resultat merklich zu beeinträchtigen. Die Brownsche Bewegung nicht kugelförmiger Teilchen habe ich an abgetöteten Ketten von *Bacillus subtilis* studiert. (Wien. Ber. Bd. 121. 1912. p. 2339—2350; Bd. 122. 1913. p. 1895—1912.)

untersuchen, inwieweit diese Veränderung bei Weiterzucht unter verschiedenen Verhältnissen konstant bleibt. Dabei sollte gleichzeitig festgestellt werden, ob auch das Vermögen der Sporenbildung, welches ja erfahrungsgemäß durch die gleichen Eingriffe modifizierbar ist wie Kapselbildung und Infektiosität, in strenger Korrelation zu diesen beiden steht.

Bekanntlich war es Preisz¹⁾, der Verlust von Infektiosität und Kapselbildung zuerst systematisch untersucht hatte und seine Angaben haben überall Bestätigung gefunden. Er bediente sich dabei abgeschwächter Kulturen, wie sie bei der Herstellung der Pasteurschen Vaccins zur Prüfung kamen, und züchtete auch selbst bei 42° eine Anzahl von „Rassen“ heraus, die nicht nur ihre Infektiosität eingebüßt hatten, sondern auch sonst in wesentlichen, namentlich kulturellen Eigenschaften verändert waren.

Statt der schon viel untersuchten Abschwächungsmethode der langdauernden Züchtung bei 42—43° C sollte gleichzeitig eine andere, seit ihrer Bekanntgabe durch Koch, Gaffky und Loeffler²⁾ kaum wieder angewendete Methode geprüft werden, die in einer sehr viel kürzeren Erwärmung auf höhere Temperaturgrade besteht. Eine Abschwächung soll danach bei ca. 48° C in einigen Stunden, bei über 50° C in noch kürzerer Zeit eintreten; es ist auch bekannt, daß die alte Toussaintsche Methode der Milzbrandimmunisierung mittels auf über 50° C erhitzten Blutes infizierter Tiere durch eine rasche Abschwächung der darin enthaltenen Bakterien erklärt wurde.

Wie im folgenden zu zeigen sein wird, erwies sich die Methode als durchaus unsicher, führte aber doch in einem Falle zum gewünschten Resultate. Alle Versuche sind mit dem einen Milzbrandstamme Buchner ausgeführt; derselbe wurde von Buchner zu Ende der 70er Jahre des vorigen Jahrhunderts an Gipspulver angetrocknet und im Jahre 1898 Verf. überlassen. Verimpfung auf Mäuse ergab tödliche Infektion. Seither ist der Stamm unter wiederholten Tierpassagen weitergezüchtet worden. Er verhält sich in allen Eigenschaften als typischer Milzbrand, bildet im allgemeinen in Agarkulturen nach 2 Tagen bei 37° C Sporen, ohne daß die Sporenbildung besonders reichlich wird. In Bouillon wächst er in der Regel am Grunde in Form sehr lockerer Wolken, die sich leicht zerschütteln und gleichmäßig verteilen lassen; bisweilen tritt in jungen Kulturen von vornherein mehr oder minder deutliche Trübung ein, die später durch Absetzen verschwindet. Auf flüssigem Serum bildet er sofort schöne Kapseln. Seine Infektiosität ist bei subkutaner Verimpfung in Hautschnitte von Mäusen und Meerschweinchen unbegrenzt: die Infektion geht sicher an, wenn sich noch Bakterien in der hohen Verdünnung der Impfflüssigkeit vermuten lassen. Auch Kaninchen erliegen einer solchen Impfung nach etwa 4 - 5 Tagen regelmäßig; nur als Ausnahme ist in den seit Jahren vorgenommenen Versuchen ein oder das anderemal ein subkutan geimpftes Kaninchen am Leben geblieben, während bei intraperitonealer und intravenöser Impfung ein Ueberleben öfter, wenn auch immer nur ausnahmsweise, zu beobachten war.

Das Ausgangsmaterial wurde aus einer ca. $\frac{3}{4}$ Jahre alten Agarkultur, welche nur noch freie Sporen mit Detritus enthielt, durch Ausstreichen auf Agarplatten gewonnen. Eine der nach 20 Stunden gewachsenen, ganz isolierten Kolonien wurde auf 3 Bouillonröhrchen verimpft, und

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. 44. Orig. p. 209; Bd. 47. p. 585; Bd. 58. p. 510.

2) R. Koch, Ges. Werke. Bd. I. p. 232.

diese wurden nach 16-stündigem Wachstum a) unverändert belassen, b) 2 und 4 Stunden auf 48—49°, c) $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ und 1 Stunde auf 52—53° C erwärmt. Zu den angegebenen Zeiten wurde je eine Oese auf Agarplatten ausgestrichen.

Es stellte sich dabei heraus, daß die sporenfreie Kultur gegen die Temperaturerhöhung eine sehr große Empfindlichkeit zeigte. Während die Ausgangsplatte a sehr dicht von etwa 3000 Kolonien besetzt war, waren in b nach 2-stündiger Erhitzung auf 48° C 13, nach 4-stündiger nur 2 Kolonien vorhanden; in c waren nach $\frac{1}{4}$ -stündiger Erwärmung auf 52° C 12, nach $\frac{1}{2}$ -stündiger 7, nach 1-stündiger 8 Kolonien aufgegangen.

Die entwickelten Kolonien wurden auf flüssiges Pferdeserum übertragen und nach etwa 16 Stunden untersucht. Alle (10) Kulturen der Ausgangsplatte und alle der Serie c wiesen typische Kapselbildung auf. Aus der Serie b wurde nach 2-stündiger Erhitzung ein Stamm gefunden, der neben vereinzelt tierischen, kapseltragenden Formen zahlreiche kapselfreie Bacillen aufwies; derselbe ergab aber schon in der nächsten Serumgeneration ausschließlich tierische Bacillen. Ein anderer Stamm, aus der einen der beiden bei 48° C nach 4-stündiger Erhitzung übrig gebliebenen Kolonien erwies sich in der 1. und 2. Generation als ganz kapselfrei wachsend. Er bildete auf Pferdeserum meist lange, oft gewundene Fäden, deren Zusammensetzung aus Einzelstäbchen zwar erkennbar, aber nicht deutlich war; die Dicke der Fäden war weit geringer als die von tierischen Bacillen, etwas größer als die der in Bouillonkulturen entstehenden Fäden. In geringerer Zahl fanden sich gut abgeteilte Fäden vor. Es sei hier sofort das Verhalten der auf Agar abgeimpften Kulturen aller untersuchten Kolonien erwähnt; am ersten Tage normal aussehend und sporenfrei, zeigten sich am zweiten mannigfache Degenerations- und Zerfallzustände und Sporenbildung, sowohl bei den Kulturen, die kapselbildend geblieben waren, als bei dem kapsellosen Stamme, der, wie gleich erwähnt sei, während der ganzen Dauer der Versuche mit ihm die Sporenbildung bewahrte; vielleicht war die Menge der entwickelten Sporen etwas geringer, bedeutend war der Unterschied jedenfalls nicht.

Die Weiterzüchtung des kapsellosen Stammes ergab Konstanz seines Wachstums in Serum jeder Art; die Tierimpfung lieferte den Beweis, daß außer der Kapselbildung auch die Infektiosität verschwunden war.

Die Impfung wurde an Meerschweinchen (350 g) mit einer Oese der ersten, zur Zeit des Versuches 4 Tage alten Serumkultur des kapsellosen und einer entsprechenden des Ausgangsstammes vorgenommen, die in eine Hauttasche am Bauche der Tiere eingerieben wurde. Das Versuchstier blieb nicht nur munter, sondern zeigte auch lokal keinerlei bemerkenswerte Reaktion; das Kontrolltier (Ausgangsstamm) starb nach 48 Stunden an typischem Milzbrand, nachdem schon nach 24 Stunden mächtiges weiches Oedem an der Impfstelle aufgetreten war.

Nachdem die Kultur unter beständiger Kontrolle der Kapselfreiheit durch 5 Generationen auf Serum fortgezüchtet war, wurden aus derselben mittels Agarplatte 5 Kolonien isoliert auf Pferdeserum verimpft, welche sämtlich sofort und in den späteren 3 Generationen kapsellos wuchsen. Genau die gleiche Eigenschaft zeigte der Stamm nach Züchtung durch 5 Generationen auf Agar. Impfung von Meerschweinchen in Hauttaschen mit der 6. Serum- und Agargeneration führte nicht zur Infektion. Die zur Kontrolle in genau gleicher Weise untersuchten 6 Generationen des

Ausgangsstammes auf Agar und Serum ergaben prompte Kapselbildung und Infektiosität (Tod an typischem Milzbrand nach weniger als 48 Stunden).

Der kapsellose und zur Kontrolle auch der Ausgangsstamm wurden dann neuerlich in isolierten Kolonien untersucht, nachdem sie 15 Generationen auf Pferdeserum, auf Agar und teils auf Agar, teils auf Serum durchgemacht hatten. Von jeder Serie wurden 6 Einzelkolonien untersucht. Die kapsellose Varietät blieb durchaus kapselfrei, infizierte Meerschweinchen nicht, bildete auf Agar am 2.—3. Tage mehr oder minder reichlich Sporen; sämtliche Kolonien der Ausgangskultur verhielten sich in bezug auf Kapselbildung und Infektiosität wie echter Milzbrand, und unterschieden sich in der Sporulation nicht wesentlich von der kapsellosen Varietät.

Nach 25 Serumgenerationen, wobei die einzelne Serumgeneration immer 24 Stunden dauerte, wurden vom kapsellosen und vom Ausgangsstamm je 30 Kolonien auf der Agarplatte isoliert. Sämtliche Kulturen der Varietät wuchsen einwandfrei kapsellos auf Serum, und 3 in Stichproben auf Meerschweinchen verimpfte erwiesen sich als nicht infektiös. Im Gegensatz dazu ergab der Ausgangsstamm durchaus Kapseln auf Serum und tötete Meerschweinchen bei subkutaner Impfung in 36—48 Stunden typisch.

Auch seither ist bis zur 52. Generation sowohl bei Weiterzucht auf Serum als in serumfreien Medien die kapsellose Varietät ganz unverändert geblieben. Die einmal erlangte Unfähigkeit zur Kapselbildung hat sich somit als ein vollständig konstantes Merkmal erwiesen, das durch lange fortgesetzte Züchtung auf verschiedenen Nährböden in keiner Weise verändert wurde. In strenger Korrelation mit dem Verluste der Kapsel steht der Verlust der Infektiosität, die ebensowenig als die Kapselbildung spontan wiederkehrt. Es liegt angesichts dieser engen Verbindung beider physiologischer Merkmale nahe, eine ursächliche Beziehung beider anzunehmen, wie es ja heute von den meisten Autoren angenommen wird.

Im gegebenen Falle handelte es sich ausschließlich um eine durch physiologische Besonderheiten gekennzeichnete Varietät. Morphologisch und kulturell wies der kapsellose Stamm zunächst keinen Unterschied gegen den Ausgangsstamm auf, er bildete, wie bereits erwähnt, auch in der gewöhnlichen Zeit Sporen. Zwischen Sporen und Kapselbildung besteht also keinerlei merkbare Korrelation, was bereits Preisz für eine Anzahl seiner abgeschwächten Stämme gefunden hatte. Erst etwa von der 20. Serumgeneration an waren die Kolonien des kapselfreien Stammes auf Agar etwas kleiner und dabei auch etwas glatter und glänzender geworden.

Was die hämolytische Fähigkeit der Bacillen beim Wachstum auf der Blutplatte betrifft, so hat sich gleichfalls kein Unterschied ergeben. Nach 24-stündigem Wachstum sind die mächtig entwickelten Impfstriche oder Einzelkolonien noch ganz ohne Hämolyse, die aber nach 48 Stunden sowohl bei der Varietät wie beim Ausgangsstamme einsetzt. Sie hat insofern eine Eigentümlichkeit, die bereits Uemura hervorgehoben hat, als sich nicht scharf umschriebene helle Höfe um die Striche bilden, sondern eine mehr diffuse, weitverbreitete Lösung der Zellen eintritt. Auch in Blutbouillon ergab sich ein bemerkenswerter Unterschied nicht. (Vgl. dazu Jarmai: Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 70. No. 1.)

Von großem Interesse war es nun, die Widerstandskraft der kapsel-

losen Varietät gegen milzbrandfeindliche Körpereinflüsse mit der des typischen Ausgangsstammes zu vergleichen. Bekanntlich nehmen einige Autoren (Preis, Gruber und Futaki) an, daß der kapselhaltige Milzbrand besser als der kapsellose den bakteriziden Wirkungen des Tierkörpers, eventuell auch sonstigen Schädlichkeiten widersteht. Demgegenüber haben andere Autoren einen bemerkenswerten Unterschied zwischen kapselloser Kultur und kapselhaltigen Tier oder Serumbacillen nicht auffinden können. Die Versuche wurden meist in der Weise an- gestellt, daß der gleiche Stamm aus einer Bouillonkultur (also kapselfrei) und aus einer Serumkultur oder dem Tierkörper vergleichend untersucht wurde. Dagegen läßt sich naturgemäß der Einwand erheben, daß die Bouillonkultur, auch wenn sie augenblicklich keine sichtbare Kapsel hat, doch die Fähigkeit zur Bildung derselben besitzt, also bei einem Serum- versuche etwa, sich mit einer Kapsel umgeben kann. Jetzt aber war Gelegenheit gegeben, den Ausgangsstamm mit normaler Kapselbildung und den daraus entwickelten kapselfreien zu vergleichen, wobei als Einsaatmaterial für beide eine gut entwickelte Serumkultur genommen werden konnte.

Tabelle I.

Zum Versuche wird Serum eines großen Meerschweinchens verwendet, welches 16 Stunden vor dem Verbluten eine intraperitoneale Injektion von 30 ccm steriler Bouillon erhalten hatte. Aus dem reichlich angesammelten Peritonealexsudate wurden die Leukocyten auf der Zentrifuge isoliert und gewaschen und derart verteilt, daß jedes Versuchsröhrchen 0,1 g (feucht gewogen) enthielt. Die Leukocyten wurden mit Serum vermischt und teils lebend, teils nach vorherigem 3-maligen Einfrieren verwendet. Zur Gewinnung der Einsaatbakterien wurde mit der 8. Serumgeneration des kapsel- freien und einer entsprechenden des Ausgangsstammes Agarplatten angelegt, eine Anzahl isolierter Kolonien auf Pferdeserum übertragen und diese Kulturen nach 16-stündigem Wachstum zur Einsaat verwendet, wobei die Einsaatgröße durch eine Agarplatte fest- gestellt wurde. Nach $4\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte der Versuchsröhrchen wurde ihr ganzer Inhalt zu Agarplatten verarbeitet.

	Einsaat	0,5 Serum	0,5 Ser. + Lyten	(0,5 Ser. + Lyten) gefroren
Kapselfrei I	3700	14 000	0	0
II	4200	16 000	2	0
III	3900	18 000	0	0
Ausgang I	4800	3 700	312	120
II	7000	14 000	72	320
III	5100	12 000	140	864

Das Meerschweinchenserum dieses Versuches hatte Vermehrung, vielleicht mit einiger Hemmung, zugelassen, und zwischen kapselfreien und kapselhaltigen Bacillen besteht kein Unterschied; jedenfalls wachsen die ersteren nicht schlechter. Leukocyten haben in lebendem oder totem Zustande mit Serum vermischt energisch gewirkt, doch sieht es ganz so aus, als ob die Wirkung derselben auf den kapselfreien Stamm noch deutlich stärker wäre als auf den kapselhaltigen, was die Annahme einer gewissen, allerdings recht beschränkten Resistenz der kapsel- bildenden Stämme stützen würde. Leider war in allen späteren Ver- suchen, mit der 14., 18. und 22. Serumgeneration, dieses Verhalten nicht mehr aufzufinden oder nur ganz schwach angedeutet, wie im folgenden Versuche, bei dem das Serum des sehr großen Tieres selbst stark anthra- koid wirkte.

Tabelle II.

Gewinnung und Verwendung der Versuchsproben wie im Versuche der Tabelle I. Das Einsaatmaterial wird durch Ausstreichen der 22. Serumgeneration des kapselfreien und des Ausgangsstammes auf Platten und Abimpfung isolierter Kolonien auf Serum gewonnen.

	Einsaat	0,5 Serum	0,5 Serum + Lyten	(0,5 Serum + Lyten) gefroren
Kapselfrei I	820	62	0	570
„ II	3040	3	0	67
„ III	4080	2	0	512
„ IV	5360	21	0	1732
„ V	5800	32	0	580
Ausgang I	4200	11	216	10
„ II	4568	58	129	182
„ III	5100	11	304	122
„ IV	5400	0	182	400
„ V	9000	101	82	248

Es mag sehr zweifelhaft sein, ob aus diesen Versuchen sich ein bestimmter Schluß ziehen läßt. Sicher läßt sich nur sagen, daß, wenn ein Unterschied in der Resistenz der beiden Varietäten überhaupt vorhanden ist, er sich im bakteriziden Reagensglasversuche nur sehr undeutlich erkennen läßt. Berücksichtigt man die später anzuführenden Ergebnisse des Tierversuches, die zeigen, daß der kapsellose und nicht mehr infektiöse Milzbrand dennoch tagelang im Meerschweinchen nachweisbar bleibt, so muß man seine Widerstandskraft als immerhin beträchtlich bezeichnen. Bis auf weiteres ergibt sich somit, daß in bezug auf die bloße Vitalität der beiden Varietäten ebensowenig ein durchgreifender Unterschied aufzufinden war, wie etwa in bezug auf ihre kulturellen Eigenschaften: Die Differenz betrifft nur die Kapselbildung und die Infektiosität für den Tierkörper.

Die nächste Aufgabe bestand darin, die kapsellos gewordene Varietät wieder zur Kapselbildung und damit auch zur Infektiosität zu bringen, Versuche, die bisher nicht gelungen sind, vielmehr die absolute Konstanz unter den gewählten Bedingungen ergaben. Daß die bloße Züchtung auf Serum, also die Gelegenheit zur Kapselbildung, welche vom Ausgangsstamm regelmäßig ausgenützt wird, keine Aenderung herbeiführt, geht bereits aus dem Angeführten hervor. Auch die Kultur in aktivem Schweine-, Rinder-, Pferde-, Kaninchen- und Meerschweinchenserum hatte bisher keinen Erfolg. Einer dauernden Kultivierung in aktivem Serum haben sich große Schwierigkeiten in den Weg gestellt, weniger dadurch bedingt, daß die Sera mitunter nicht dauernd steril blieben und fremde Keime ergaben, als vielmehr dadurch, daß schließlich spätere Generationen nicht mehr in aktivem Serum angingen, was sowohl bei der kapsellosen Varietät, wie beim Ausgangsstamm eintrat. Das hat bei Seren mit so hochgradiger Bakterizidie, wie das Kaninchenserum, nichts Auffallendes, es ereignete sich aber auch bei solchen, die nicht als bakterizid gelten können, wie z. B. Schweineserum. Immerhin ist es nach vielen Mühen gelungen, bei Schweineserum bis zur 15., bei Rinderserum bis zur 11., bei Meerschweinchen- und Pferdeserum bis zur 9., bei Kaninchenserum bis zur 3. Generation, überall ohne Kapselbildung, zu gelangen. Die Varietät wächst dabei meist nicht in längeren Ketten, und wenn solche vorkommen, sind sie vielfach gewunden und geknickt, sehr oft traten Aufquellungen auf, die zu sanft spindelförmiger Gestalt der Einzelstäbchen führten, aber Kapselbildung war ebensowenig als Infektiosität herbeizuführen. Ob eine längere Züchtung, wenn sie überhaupt durchführbar sein sollte, doch zum Ziele führen könnte, soll nicht von vornherein bestritten werden, erscheint aber sehr unsicher.

Ein anderer Versuch wurde mittels Einbringung der kapsellosen Varietät in den Meerschweinchenkörper gemacht. Man kann in jedem Handbuche lesen, daß abgeschwächter Milzbrand, mit dem eine Infektion

durch Anwendung großer Impfmengen erzwungen wird, wieder zum früheren Zustande zurückkehrt. Aber das Erzwingen einer Infektion hat sich bei dem beschriebenen Stamme bisher als ganz undurchführbar erwiesen. Da die Versuche in mehrfacher Hinsicht von beträchtlichem Interesse sind, seien sie kurz mitgeteilt.

Meerschweinchen a (200 g) erhielt 1 Oese junger, aus der 17. Serumgeneration angelegten Agarkultur intraperitoneal. Die sofortige Entnahme zeigt neben wenigen Leukocyten Mengen von kapsellosem Milzbrand, meist in mittellangen, oft verknäuelten Fäden. Nach 1 Stunde war die Zahl der Bacillen stark vermindert, doch waren sie nach 2 Stunden, manchmal stark verquollen, nachzuweisen, später wurden sie mikroskopisch nicht mehr aufgefunden.

Die mit je einem Tröpfchen der entnommenen Exsudatproben angelegten Platten ergaben:

Sofort: Ca. 3000 Kolonien, davon 20 auf Pferdeserum überimpft.

Nach 1 Stunde: 114 Kolonien, davon 20 auf Pferdeserum überimpft.

Nach 2 Stunden: 27 Kolonien, davon 20 auf Pferdeserum überimpft.

Nach 5 Stunden: 4 Kolonien, alle auf Pferdeserum überimpft.

Nach 20 Stunden: 14 Kolonien, alle auf Pferdeserum überimpft.

Nach 32 Stunden: 1 Milzbrandkolonie, neben mehreren fremden, auf Pferdeserum überimpft.

Nach 48 Stunden: 49 Kolonien, davon 15 auf Pferdeserum überimpft.

Nach 72 Stunden gelang es erst nach vorhergehender Injektion von 1 ccm steriler Kochsalzlösung Flüssigkeit aus der Bauchhöhle zu gewinnen. Die damit sowie eine später, nach 80 Stunden angelegte Platte blieb steril. Das Tier wies nie ein Krankheitszeichen auf und blieb dauernd munter.

Die Untersuchung sämtlicher auf Serum angelegter Kulturen ergab reichliches, ganz einwandfrei kapsellooses Wachstum, die Impfung von 2 Meerschweinchen mit zwei solchen Kulturen blieb resultatlos.

Meerschweinchen b (200 g) erhielt 5 ccm Bouillonkultur, welche aus der 18. Serumgeneration angelegt war, intraperitoneal. Die sofortige Untersuchung ergab sehr zahlreiche, kapsellose Ketten, die nach 1½ Stunden nur noch spärlich, nach 3 Stunden etwas reichlicher, nach 8 Stunden wieder nur ganz vereinzelt zu finden waren; Phagocytose wurde beobachtet. Nach 24 Stunden hatte das Tier am Bauche ausgebreitetes weiches Oedem, in dem mikroskopisch nichts zu finden war. Dasselbe war nach 30 Stunden schon merkbar, nach 36 Stunden stark zurückgegangen und nach 48 Stunden nur noch auf einen kleinen Umkreis der Injektionsstelle beschränkt, der am nächsten Tage verschwunden war. Das Tier zeigte sonst nichts Abnormes und blieb dauernd munter.

Die kulturelle Untersuchung auf Agarplatten ergab:

Sofort: Ca. 5000 Kolonien, davon 12 auf Pferdeserum abgeimpft.

Nach 1½ Stunde: 163 Kolonien, davon 12 auf Pferdeserum abgeimpft.

Nach 3 Stunden: 308 Kolonien, davon 12 auf Pferdeserum abgeimpft.

Nach 8 Stunden: 106 Kolonien, davon 12 auf Pferdeserum abgeimpft.

Nach 24 Stunden aus Exsudat: 21 Kolonien, davon 12 auf Pferdeserum abgeimpft.

Nach 24 Stunden aus Oedem: 250 Kolonien, davon 12 auf Pferdeserum abgeimpft.

Nach 30 Stunden aus Oedem: 7 Kolonien, davon alle auf Pferdeserum abgeimpft.

Nach 36 Stunden aus Exsudat: 15 Kolonien, davon 12 auf Pferdeserum abgeimpft.

Nach 36 Stunden aus Oedem: 0 Kolonien.

Nach 50 Stunden aus Exsudat: Ca. 40 Kolonien, davon 12 auf Pferdeserum abgeimpft.

Nach 50 Stunden aus Oedem: 10 Kolonien, davon alle auf Pferdeserum abgeimpft.

Durch spätere Entnahmen konnte Milzbrand nicht mehr erlangt werden. Sämtliche erhaltenen und gut gewachsenen Serumkulturen ergaben ausschließlich und einwandfrei kapsellose Bacillen.

Meerschweinchen c erhält 2 Oesen junger, mikroskopisch sporenfreier Agarkultur aus der 24. Serumgeneration des kapsellosen Stammes in 0,5 ccm NaCl-Lösung subkutan. Es kommt lediglich zur Ausbildung einer kleinen Verhärtung, nicht zum typischen Oedem, aus der von Zeit zu Zeit kleine Mengen entnommen und auf Agarplatten verimpft werden.

Sofort: Ca. 2000 Kolonien, von denen 15 auf Pferdeserum abgeimpft werden.

Nach 2 Stunden: 1200 Kolonien, von denen 15 auf Pferdeserum abgeimpft werden.

Nach 8 Stunden: 2 Kolonien, von denen alle auf Pferdeserum abgeimpft werden.

Nach 24 Stunden: 8 Kolonien, von denen alle auf Pferdeserum abgeimpft werden.

Nach 36 Stunden: 150 Kolonien, von denen 15 auf Pferdeserum abgeimpft werden.

Nach 50 Stunden: 121 Kolonien, von denen 15 auf Pferdeserum abgeimpft werden.

Nach 60 Stunden: 82 Kolonien, von denen 15 auf Pferdeserum abgeimpft werden.

Nach 80 Stunden: 1 Kolonie, welche auf Pferdeserum abgeimpft wird.

Weiterhin wurde kein Milzbrand mehr wahrgenommen. Die Unregelmäßigkeit der ziffermäßigen Ausbeute an Milzbrandkolonien ist wohl einzig auf mangelhafte Entnahme, nicht auf ein Absinken und eine spätere Vermehrung zurückzuführen. Die Entnahmen von 24 Stunden an ergaben eine dickeiterige Flüssigkeit. Das Tier blieb ohne jedes Krankheitszeichen, die Untersuchung aller Serumkulturen ergab ausnahmslos und einwandfrei Wachstum kapselloser Bacillen.

Nach dem Ablaufe trat eine deutliche Abmagerung des Tieres auf.

Meerschweinchen d (200 g) erhält eine junge, anscheinend sporenfreie aus der 27. Serugeneration angelegte, in 1 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmte ganze Agarkultur der kapsellosen Varietät intraperitoneal.

Die sofort angeschlossene Entnahme ergibt in der Bauchhöhle massenhaft kurze und mittellange Milzbrandfäden, fast keine Zellen. Nach 1 Stunde war das Bild unverändert, nach 2 Stunden traten Leukocyten mit Phagocytose auf, nach 3 Stunden war die Zahl der Bacillen bei stärkster Phagocytose der erst in mäßiger Zahl vorhandenen Zellen sehr vermindert, nach 4 1/2 Stunden fanden sich freie Bacillen nur noch vereinzelt, die Zahl der Leukocyten war außerordentlich gestiegen, die Phagocytose lebhaft, aber nach der Relativzahl der fressenden Zellen geringer als vorher. Nach 10 Stunden waren im Eiter nur noch relativ wenige Makrophagen, die von Bacillen ganz erfüllt waren, während die große Mehrzahl der kleinen polynukleären Leukocyten keine Phagocytose zeigte. Nach 24 Stunden hatte sich an der Injektions- bzw. Entnahmestelle ein subkutan Oedem ohne mikroskopischen Befund ausgebildet, das nach 36 Stunden gleichgeblieben, nach 48 Stunden eher stärker, dabei aber härter und derber geworden war und nach 72 Stunden auf ein kleines Infiltrat zusammenschrumpfte. Entnahmen des 48-stündigen Oedems ergaben eine eitrige Flüssigkeit, mikroskopisch wurden im Oedem nie Bacillen gefunden. In der Bauchhöhle wurden nach 48 Stunden noch phagocytierende Makrophagen gefunden.

Die kulturelle Untersuchung, bei der immer ein Tröpfchen Exsudat oder Oedem auf einer Agarplatte ausgestrichen wurde, ergab:

Sofort: Massenhaft Kolonien, davon 12 auf Serum abgeimpft.

Nach 1 Stunde: Massenhaft Kolonien, davon 12 auf Serum abgeimpft.

Nach 5 Stunden: 74 Kolonien, davon 12 auf Serum abgeimpft.

Nach 10 Stunden: 67 Kolonien, davon 12 auf Serum abgeimpft.

Nach 24 Stunden aus Oedem: 1 Kolonie, auf Serum abgeimpft.

Nach 24 Stunden aus Exsudat: 87 Kolonien, davon 12 auf Serum abgeimpft.

Nach 36 Stunden aus Oedem: 2 Kolonien, auf Serum abgeimpft.

Nach 36 Stunden aus Exsudat: 29 Kolonien, davon 12 auf Serum abgeimpft.

Nach 48 Stunden aus Oedem: 1 Kolonie, auf Serum abgeimpft.

Nach 48 Stunden aus Exsudat: 21 Kolonien, davon 12 auf Serum abgeimpft.

Eine Entnahme nach 72 Stunden lieferte weder aus Exsudat noch aus Oedem mehr Milzbrand, aus letzterem aber ziemlich zahlreiche weiße und mattgelbe Staphylokokken.

Die Untersuchung sämtlicher Serumkulturen ergab ausschließlich und einwandfrei Wachstum kapselloser Bacillen.

Bemerkt sei, daß die Kulturen nur zum Teil auf Pferdeserum, zum Teil aber auch auf Rinder- und Schweineserum angelegt waren; beide ergaben mindestens ebenso starke Kapselbildung wie Pferdeserum, lassen aber gleichzeitig ein viel intensiveres Wachstum zu.

Da somit auch die Anwendung einer ganzen Agarkultur keine Infektion veranlaßt hat, kann die Infektiosität des kapsellosen Milzbrandes wenigstens für Meerschweinchen als unwiederbringlich verloren bezeichnet werden. Ob nicht durch Verwendung von Mäusen ein Resultat zu erzielen gewesen wäre, konnte wegen Mangel an diesen Versuchstieren noch nicht untersucht werden. Es sei aber in dieser Hinsicht auf die alten Angaben von Koch, Loeffler und Gaffky verwiesen. Diese erhielten durch Abschwächung bei 42—43° eine Kultur, welche Meerschweinchen nicht mehr, wohl aber noch Mäuse tötete. Durch 17 Gene-

rationen hindurch wurde sie ohne Unterbrechung von Maus zu Maus fortgeimpft, ohne daß sie am Schlusse des Versuches imstande gewesen wäre, Meerschweinchen mit Sicherheit zu infizieren. Es scheint danach erwiesen, daß der einmal erlangte Infektionsverlust einer abgeschwächten Varietät ein absolut konstantes, nicht weiter mehr zu beeinflussendes Merkmal ist.

Es wurde aber noch versucht, bei anders infizierten oder sonst geschwächten Tieren die kapsellose Varietät wieder zur Kapselbildung und damit auch zur Infektiosität zurückzubringen.

Eine kleine Maus, welche früher mit Staphylokokken infiziert, zwar am Leben geblieben war, sich aber in sehr elendem Zustande befand, erhielt $\frac{1}{2}$ ccm der 35. Serumgeneration subkutan am Halse. Sie starb in der Nacht des zweiten Tages, zeigte einen alten Abszeß unter der Haut, an der Milzbrandinjektionsstelle starkes Oedem, je einen kleinen Abszeß in Leber und Milz, welche vergrößert war. Mikroskopisch ließen sich als Milzbrand anzusprechende, durchaus kapsellose Stäbchen in der Milz und im Oedem nachweisen, daneben auch Kokken. Von Oedem, Milz, Milzabszeß, Leber und Herzblut wurden Serumkulturen angelegt, von denen die aus Oedem und Herzblut am anderen Tage kapsellose Milzbrandbacillen neben Kokken enthielten. Durch Agarplatten wurden dann 18 Kolonien aus dem Herzblut, 20 aus der Oedemkultur abgeimpft und auf Serum kultiviert. Sie ergaben ausnahmslos und einwandfrei nur kapselfreie Bakterien.

Ein kleines, durch eine vorhergegangene intraperitoneale Staphylokokkeninfektion ganz elend gewordenes Meerschweinchen wurde wie die erwähnte Maus subkutan infiziert. Es bildete sich schon am nächsten Tage Oedem aus, das immer mehr zunahm, am 4. Tage über den ganzen Bauch reichte und so gespannt war, daß reichlich Flüssigkeit ausschwitzte. Das Tier starb nach $4\frac{1}{2}$ Tagen, zeigte aber außer dem mächtigen und ganz typisch aussehenden Oedem keine Veränderungen der inneren Organe; namentlich die Milz war ganz klein und blaß. Mikroskopisch wurden nur im Oedem in mäßiger Zahl ganz kapselfreie, aber öfters spindelförmig gequollene Milzbrandstäbchen neben zahlreichen Diplo- und Streptokokken gefunden. Die auf Agarplatten angelegten Kulturen ergaben:

Oedem: Ca. 700 Milzbrand, davon 20 auf Serum abgeimpft.

Milz: 61 Milzbrand, davon 10 auf Serum abgeimpft.

Leber: 6 Milzbrand, davon alle auf Serum abgeimpft.

Herz: 7 Milzbrand, davon alle auf Serum abgeimpft (aus 4 Oesen).

Sämtliche Kulturen ergaben ohne Ausnahme zweifellos kapselfreie Bacillen. Es ist natürlich kaum mit Sicherheit zu sagen, woran diese ganz herabgekommenen Tiere eigentlich gestorben sind. Die Oedembildung ist wohl ganz sicher auf die Milzbrandbacillen zurückzuführen, eine gewisse Ausbreitung, selbst ein Eindringen in die Blutbahn ist jedenfalls erfolgt, von einer wirklichen Milzbrandinfektion kann man aber schwerlich reden. Jedenfalls wäre in den so geschwächten Tieren, wo die Bacillen beim Meerschweinchen durch 4 Tage leben konnten, Gelegenheit zur Wiederannahme der Kapseln gegeben gewesen, die aber nicht ausgenützt wurde. Eine antagonistische Wirkung der Staphylokokken, welche lokal noch in den vorbehandelten Tieren vorhanden waren, ist nicht anzunehmen. Es hat sich somit auch dieser Weg, zu einer Regeneration des verlorenen Kapselbildungsvermögens zu gelangen, als unbrauchbar erwiesen.

Die Angabe, daß es gelinge, den abgeschwächten Milzbrandbacillus wieder infektiös zu machen, geht noch auf Pasteur zurück, der dazu ganz junge Meerschweinchen benutzte, die bei Koch aber ebenfalls versagt hatten. Da Pasteur ausschließlich mit Massenkulturen arbeitete, ist dieses Ergebnis durch Mischung mehr oder weniger in ihrer Infektiosität abgeschwächten Bacillen ohne weiteres verständlich. Rein, durch Individualauslese gewonnene, nicht mehr infektiöse Stämme bleiben konstant. Wie schwer es sein kann, ohne eine solche zu wirklich abgeschwächten Stämmen von Milzbrand zu gelangen, dafür bietet die Lektüre der Koch-Loeffler-Gaffkyschen Arbeit ein sehr gutes Beispiel.

Nicht minder von Interesse ist die Erscheinung, daß die kapsellose, ganz der Infektiosität beraubte Varietät dennoch sich im Tiere als recht beständig erweist und durch mehrere Tage, bei Verimpfung ganz kleiner Mengen von Körpermateriale noch als lebend nachzuweisen ist. Es ist von vornherein nicht zu bezweifeln, daß die Lebensdauer noch viel länger gefunden worden wäre, wenn der ganze Körper der Versuchstiere einer Untersuchung unterzogen worden wäre. Es hat somit nicht an Gelegenheit gefehlt, die Bacillen wieder zur Kapselbildung zu bringen, wenn der Tierkörper noch einen derartigen Einfluß auszuüben vermöchte. Er ist aber ausgeblieben und Kapselbildung und Infektiosität haben sich auch auf diesem Wege als in strenger Korrelation befindlich erwiesen.

Es sei noch ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, wie die kapsellos gewordene Varietät trotz Anwendung sehr großer Dosen für den Tierkörper ganz inoffensiv geblieben ist. So wenig man nach Injektion großer Mengen infektiösen Milzbrandes etwas von einer Giftigkeit der Bacillen merkt, ebensowenig zeigten die mit kapselfreien Bacillen geimpften Tiere auch nur Spuren von Krankheit; dadurch unterscheidet sich der Milzbrand aufs allerschärfste von den Pseudomilzbrandbacillen, bei denen Uémura¹⁾ ausnahmslos eine intensive Giftigkeit nachweisen konnte.

Nur in einer und zwar sehr merkwürdigen Hinsicht wurde doch bisweilen eine Beeinflussung des Meerschweinchens bemerkt, nämlich in der Ausbildung eines recht ansehnlichen subkutanen Oedems, welches in seinem Aussehen dem typischen Milzbrandödem vollständig glich und bei den als b und d bezeichneten Meerschweinchen gerade nach intraperitonealer Impfung auftrat. Darin waren, wenn auch meist nur in geringer Zahl, Milzbrandbacillen nachzuweisen, welche sich bei der Kultur ohne Ausnahme als kapsellos erwiesen. Es ist außerordentlich schwer, dieses Ereignis zu erklären, um so mehr als es nach subkutaner Impfung mit 1 Oese Serumkultur bei so zahlreichen Meerschweinchen nie nachzuweisen war und auch nach Einbringung von 2 Oesen Agarkultur unter die Haut nie eintrat; die Zahl der ins subkutane Gewebe gelangten Bacillen war in diesen Fällen doch unbedingt viel größer als die Zahl der aus der Bauchhöhle bei den Kapillarentnahmen dahin gelangten. Der Befund wird um so bedeutungsvoller, als sich bei der späteren Nachimpfung mit Kapselmilzbrand gerade nur diese beiden Tiere als immun erwiesen.

Ganz kurz soll über weitere Versuche zur Erlangung kapselloser Stämme durch kurzdauernde Erwärmung auf höhere Temperatur berichtet werden, bei denen nicht mehr Kulturen, sondern infektiöses tierisches Material verwendet wurde.

Zunächst wurde Herzblut eines an Milzbrand Buchner frisch gestorbenen Meerschweinchens verwendet, das mit Kochsalzlösung verdünnt war und in Menge durchaus kapselhaltige Bacillen, einzeln oder in ganz kurzen Fäden enthielt. Es ergab sich beim Ausstreichen auf Platten (je 1 Oese):

Ausgangsmaterial: 1300 Kolonien, von denen 10 auf Serum übertragen wurden.

Nach 1 Stunde bei 48°: 652 Kolonien.

Nach 2 Stunden bei 48°: 31 Kolonien, von denen 18 einwandfrei auf Serum übertragen werden konnten, während die übrigen aus 2 und 3 Kolonien konfluirt waren.

Nach 4-stündiger Erhitzung auf 48° wurden keine Kolonien mehr

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. H. 1.

erhalten, was wieder für die sehr große Empfindlichkeit auch der tierischen Bacillen spricht.

Die 10 Kolonien des Ausgangsmateriales bildeten sämtlich Kapseln, von den nach 2-stündiger Erhitzung erhaltenen waren 13 von vornherein bekapselt, 5 zeigten fast ausschließlich oder weit überwiegend Kulturfäden ohne Kapsel, meist so, daß einige zerfallene tierische Formen neben den langen gewundenen Kulturfäden vorhanden waren. Sie wurden auf frisches Serum übertragen, außerdem aber auch diejenige Kultur, die anscheinend am wenigsten tierische Bacillen enthielt, auf Agarplatte ausgestrichen. Von den Serumkulturen bildete die eine schon in der 2. Generation ausschließlich Kapseln, bei den übrigen, von denen wieder eine auf Agarplatte ausgestrichen wurde, fanden sich noch weit vorwiegend, aber nicht ausschließlich Kulturformen. In der 4. Generation überwogen bereits kapselhaltige Formen und in der 5. Generation war der Rückschlag ein vollständiger geworden, worauf die Kapselbildung durch weitere 7 Generationen auf Serum als konstant erkannt wurde. Was die Versuche von Isolierung kapselhaltiger und kapselloser Bacillen aus einer Kultur mit überwiegend Kulturformen betrifft, so ergab sich bei Untersuchung von 10 Einzelkolonien, daß 3 ausschließlich Kapseln lieferten; ebenfalls 3 wuchsen fast kapsellos, enthielten in der 1. Serumgeneration nur sehr wenige tierische Formen, schlugen aber schon in der nächsten Generation vollkommen zurück; die letzten 4 Kolonien ergaben in der 1. Generation auf Serum Mischung kapselhaltiger Formen, in der folgenden nur die ersteren. Der andere Isolierungsversuch, bei dem eine zweite, noch überwiegend Kulturformen aufweisende Serumgeneration zur Agarplatte verarbeitet wurde, ergab bei Untersuchung von 24 Kolonien nur 2, die nicht schon auf dem ersten Serum rein Kapseln gebildet hätten. Dieselben schlugen in der folgenden und nächstfolgenden Generation ganz zur Kapselbildung zurück.

Die Untersuchung auf Infektiosität mit der 1. Serumgeneration dreier fast kapselfreier Kulturen ergab Tod von Meerschweinchen mit einer geringen 8—12-stündigen Verzögerung gegenüber dem mit dem Ausgangsstamm geimpften Kontrolltiere.

Es war also in diesem Versuche nicht gelungen, durch 2-stündige Erhitzung auf 48° eine wirklich kapselfreie Varietät zu erzielen. Immerhin scheinen gewisse Andeutungen einer Abschwächung dieser Fähigkeit vorhanden zu sein, da die Kapselbildung in den ersten Generationen auf Serum bei einem Teile der Kulturen ganz auffallend schwach war. Aber die bloße Fortführung der Züchtung auf Serum allein genügte schon, um die Kapselbildung zu regenerieren. Wahrscheinlich handelte es sich um Zellen, die zwar schon schwer, aber nicht irreparabel geschädigt waren und deren Abkömmlinge dann nur noch zum kleinsten Teil diese Schädigung mitbekamen. Der Ausfall des Tierversuches hat bei dieser Erwägung nichts Ueberraschendes.

Einen ganz analogen Verlauf nahm ein Versuch, bei dem subkutane Oedemflüssigkeit eines infizierten Meerschweinchens auf 48° erhitzt wurde. Die Hinfälligkeit der darin enthaltenen Bacillen war besonders groß, wie durch folgende Zahlen illustriert wird.

Sofort: Ca. 7000 Kolonien, von denen 10 auf Serum übertragen wurden.

Nach $\frac{1}{4}$ Stunde: 360 Kolonien, von denen 25 auf Serum übertragen wurden.

Nach $\frac{1}{2}$ Stunde: 2 Kolonien, von denen alle auf Serum übertragen wurden.

Platten nach 1-, 2-, 4-stündiger Erhitzung bleiben vollkommen steril.

Die nach $\frac{1}{2}$ Stunde überlebenden Keime bildeten sofort reine Kapseln, von den $\frac{1}{4}$ Stunde überlebenden wuchsen 22 sofort kapselhaltig, eine ergab anscheinend gar keine Kapseln, zwei andere zeigten überwiegend kapselfreie Formen. Bei den letzteren erfolgte

aber in der nächsten, bei der ersteren in der 3. Serumgeneration vollkommener Rückschlag zur Kapselbildung.

Von Interesse war die Untersuchung der 10 vom Ausgangsmateriale erhaltenen Kulturen, von denen 3 in der 1. Generation fast ohne Kapseln wuchsen.

Infolgedessen wurden von der aufbewahrten Platte noch 15 weitere Kolonien abgeimpft, die wieder 3 überwiegend kapsellose Serumkulturen ergaben. Aber auch hier erfolgte Rückschlag, meist bis zur 4., in einem Falle erst in der 7. Generation vollständig. Die Meerschweinchenimpfung ließ keine wesentliche Verminderung der Infektiosität erkennen.

Es hatte also der geringste Grad der Abschwächung von Kapselbildung und Infektiosität schon im Tierkörper eingesetzt, ein Ergebnis, das deshalb nicht ohne Bedeutung ist, weil es Licht auf die Erscheinung werfen könnte, daß fortgesetzte Verimpfung von Pleuraexsudat in die Pleura frischer Kaninchen oder fortgesetzte Uebertragung subkutaner Gewebsflüssigkeit von milzbrandigen Mäusen auf frische schließlich zu einem Abbrechen der Infektionsreihe führt, wie Verf. und Preisz gefunden hatten.

Es ist aber bisher noch nicht gelungen, durch subkutane Infektion von Meerschweinchen, Entnahme von Proben des gebildeten Oedems und isolierte Untersuchung der auf Agarplatten angegangenen Kolonien zu Varietäten zu gelangen, die dauernd kapsellos gewesen wären; wohl aber ließen sich stets vereinzelt solche finden, die wenigstens in den ersten 2 Serumgenerationen vorwiegend ohne Kapseln blieben.

Auch Versuche mit verunreinigten Kulturen, welche auf Meerschweinchen überimpft wurden, hatten bisher noch keinen Erfolg, müssen aber noch weiter fortgesetzt werden; sie wurden veranlaßt durch die schon altbekannte, einer genaueren Untersuchung wohl würdige Erscheinung, daß gleichzeitige Impfung mit Milzbrand und anderen Bakterien (*Bac. Friedländer*, *Pyocyaneus*) die Milzbrandinfektion mehr oder weniger sicher verhindert. Es wäre nun von Interesse zu entscheiden, ob sich unter dem Einflusse dieses „Bakterienantagonismus“ im Tierkörper selbst eine abgeschwächte, kapselfreie Varietät ausbildet. Der Einfluß des Tierkörpers kann dabei auch zur Geltung kommen, wenn wirklich, wie die gebräuchliche Annahme zumeist lautet, die durch den „Antagonisten“ herbeigeführte Leukocytose die Ursache des Ausbleibens der Infektion darstellt.

Ein kleines Meerschweinchen erhielt ein durch wiederholtes Aufkochen in Wasser sterilisiertes Holzstückchen, das vorher mit einer Serumkultur des Ausgangsstammes befeuchtet wurde, in eine kleine Hauttasche. Das Tier hatte nach ca. 30 Stunden mächtiges Oedem. Es wurde getötet; das Holz lag in einer dünnen, weißen, eiterigen Schicht, die allseits von weitausgebreitetem typischen Oedem umgeben war. In den peripheren Teilen desselben wurden keine Zellen und spärliche, aber typisch kapselhaltige Bacillen gefunden. Eben solche fanden sich im Eiter zahlreich neben Zerfallstadien und leeren Schläuchen, sowie einer mäßigen Zahl von Diplokokken. Agarplatten von dem Holzstückchen ergaben ca. 2000 Milzbrand und viele, zarte Kokkenkolonien, von Milz 93, von Herzblut 46 reine Milzbrandkolonien. Die Detailuntersuchung von je 25 dieser Kolonien ergab keine dauernd kapseltreien Bakterien; über die 3. Serumgeneration hinaus war überall durchgehends Wachstum mit Kapsel eingetreten. Das Holzstückchen wurde nunmehr auf ein 2. Meerschweinchen übertragen, welches am nächsten Tage an der Impfstelle derbes Oedem hatte. Nach 48 Stunden war das Oedem über einen großen Teil des Körpers in typischer Weise verbreitet. Das anscheinend ganz muntere Tier wurde getötet und untersucht. Aus den peripheren Teilen des Oedems, die mikroskopisch keinen Befund gaben, gingen einzelne zarte Kokkenkolonien und wenige von kurzen Stäbchen auf. Der reichliche, etwas hämorrhagische Eiter, der das Holz umgab, ließ mikroskopisch nur Diplokokken neben zahlreichen Leukocyten, ohne Phagocytose erkennen. Die nicht deutlich vergrößerte Milz enthielt neben Kokken und Stäbchen Milzbrandbacillen mit schönen Kapseln. Plattenkulturen ergaben:

Peripheres Oedem: Fremde Kolonien, kein Milzbrand.

Zentrales, eiteriges Oedem: Neben zahllosen Kokkenkolonien und weniger solchen von kurzen Stäbchen 2 typische Milzbrandkolonien, die auf Serum übertragen werden.

Milz: Sehr zahlreiche Milzbrandkolonien, neben weniger fremden 25 abgeimpft.

Herzblut (4 Oesen): 63 Milzbrandkolonien, rein, davon 25 auf Serum abgeimpft.

In der 1. Generation zeigten alle beide Kolonien aus Oedem, 19 aus Milz und 15 aus Blut mehr oder minder reichliche Kulturformen neben wenigen tierischen Bacillen. In der 2. Serumgeneration erfolgte aber bereits der Rückschlag, indem nur noch 2 aus Blut erhaltene Kulturen teilweise kapsellos wuchsen, um in der 3. und 4. Generation völlig zurückzuschlagen.

Es ist also in diesem Versuche schon bei der zweiten Ueberimpfung von Milzbrandmaterial eine fast vollständige Unterdrückung des Milzbrandes an der Impfstelle eingetreten, wengleich der Uebertritt in die Organe und ins Blut nicht verhindert wurde. Die erlangten Kolonien erwiesen sich aber als normal oder doch so wenig in ihrer Kapselbildung verändert, daß von einem positiven Erfolg nicht gesprochen werden kann.

Im ganzen hat somit die Methode der Erhitzung von Kulturen oder von Tierbacillen auf höhere Temperatur, obwohl sie in hohem Grade ungünstig auf die Vitalität der Bacillen einwirkt, nur wenige Erfolge in bezug auf die Entstehung von kapselfreien und nicht-infektiösen Stämmen ergeben. Es ist mehr oder weniger ein Zufall, wenn unter nicht veränderten Bacillen eine einzelne Zelle die Kapselbildung verloren hat, geringere Grade der Abschwächung mögen häufiger vorkommen und es bleibt noch zu untersuchen, wie sich etwa Stämme, die wie das I. Vaccin Pasteurs oder die Stämme von Koch nur für Meerschweinchen, nicht aber für Mäuse abgeschwächt sind, in bezug auf die Kapselbildung verhalten. Soweit die Versuche bisher Aufschluß geben können, besteht zwischen Kapselbildung und Infektiosität strenge Korrelation.

Auch auf anderem Wege hat sich die Erzielung kapselfreier Stämme und damit die Abschwächung der Infektiosität als recht schwierig erwiesen. Obwohl es natürlich nicht zweifelhaft ist, daß sich eine derartige Umwandlung auf mehrfache Weise bewerkstelligen läßt, so ergeben doch die bisher angestellten und mitgeteilten Versuche aufs klarste, wie hartnäckig Kapselbildung als morphologisches Kennzeichen und ihr physiologisches Korrelat, die Infektiosität durch alle Schädigungen hindurch festgehalten wird; beides sind konstante und konstant vererbende Eigenschaften.

Nicht eigens erwähnt sind Versuche, bei denen einfach Kulturen in tierischen Flüssigkeiten lange Zeit bei 37° aufbewahrt wurden, so daß die Kapselbildung längst aufgehört hatte und starke Degeneration eingetreten war. Was überlebt hatte, ergab weder sofort durchgehends Kapselbildung oder wenigstens nach einigen Serumgenerationen. Auch die gleichzeitige Züchtung von Milzbrand und anderen Bakterien, namentlich *Bact. coli* in Serum, wodurch die Kapselbildung zwar nicht ganz unterdrückt, aber merkbar beeinträchtigt wird, und welche Kulturen bis über 1 Monat ausgedehnt wurden, ergab keine kapselfreie Varietät.

Es wäre nicht unmöglich, daß andere Milzbrandstämme zu derartigen Versuchen geeigneter sind, sich mehr in einer labialen, sensiblen Periode befinden; auch könnte die Untersuchung noch zahlreicherer Einzelkolonien als sie in dieser Versuchsreihe durchgeführt wurde, vielleicht bessere Resultate ergeben: geändert wird dadurch an der Konstanz von Infektiosität und Kapselbildung im Prinzipie nichts.

Von sehr großem Interesse und vielleicht auch von praktischer Bedeutung sind die Versuche, die mit kapselfreien Bacillen vorgeimpften

und überlebenden Meerschweinchen nachträglich mit dem infektiösen Ausgangsstamme zu infizieren. Im allgemeinen wurde dadurch eine Immunität nicht erzielt und namentlich die große Zahl von Tieren, welche zur Prüfung der Infektiositätsabschwächung 1 Oese Serumkultur subkutan erhalten und ganz reaktionslos vertragen hatten, erwiesen sich als vollkommen empfänglich und erlagen ohne jeden Widerstand der gleichen Impfung mit Kapselbacillen. Eine Ausnahme machten nur jene Tiere, welche mit Oedembildung reagiert hatten.

Meerschweinchen a (s. p. 165) erhielt 17 Tage nach der Injektion einer Oese kapselloser Bacillen 1 Oese Serumkultur des Ausgangsstammes subkutan. Schon nach 4 Stunden ergab eine Entnahme die Anwesenheit seltener, aber mit schönen Kapseln versehenen Bacillen, die nach 10 Stunden, bei schon fühlbarem Oedem, sehr zahlreich geworden waren. Nach 24 Stunden war das Oedem sehr ausgebreitet; nach 29 Stunden erfolgte der typische Milzbrandtod. Sämtliche aus Plattenkulturen nach 4, 10 und 24 Stunden mit Oedem angelegte Serumkulturen (im ganzen 60) ergaben ausschließlich Kapselbacillen.

Meerschweinchen b (s. p. 165) erhielt 15 Tage nach intraperitonealer Infektion mit 5 ccm Bouillonkultur kapselloser Bacillen, die gleiche subkutane Infektion wie Meerschweinchen a. Nach 4 Stunden fanden sich an der Impfstelle neben Leukocyten spärliche kapselhaltige Bacillen; die Platte lieferte 203 Kolonien. Nach 10 Stunden war der gleiche Befund bei etwas gesteigener Leukocytenzahl zu konstatieren; die Platte ergab ca. 800 Kolonien. Nach 24 Stunden waren im stark ausgebildeten Oedem sehr viele Leukocyten und zahlreiche, durchaus kapselhaltige Bacillen vorhanden. Als Seltenheit fand sich dabei Phagozytose oder Kontakt von zwar anscheinend kapselfreien, sonst aber sicher tierischen Bacillen; die Platte lieferte 450 Kolonien. Nach 32 Stunden hatte sich das Oedem noch weiter vergrößert, war aber dabei derber geworden. Leukocyten waren in großer Menge; Milzbrandbacillen, alle mit Kapseln, sehr zahlreich; die Kultur ergab ca. 500 Kolonien. Nach 48 Stunden war das Oedem sehr derb; die Entnahme lieferte blutigen Eiter, in dem durchaus tierische Bacillen leicht zu finden waren, aber vielfach Zerfall (leere Schläuche, Fragmentation) aufwies; die Platte ergab 62 Kolonien. Nach 72 Stunden war das Oedem viel kleiner und dabei abgegrenzt; im Eiter daraus wurde mikroskopisch nur ein leerer Schlauch, kulturell 7 Kolonien gefunden (neben mehreren Staphylokokken); nach 100 Stunden war nur noch ein hellergroßes Infiltrat vorhanden, aus dem 2 Kolonien gezüchtet wurden. Am nächsten Tage bestand an der Impfstelle noch eine kleine Verhärtung, die keine Bacillen mehr ergab. Von jeder der nach den erwähnten Zeiten angelegten Agarplatten wurden mindestens 20 Kolonien auf Serum überimpft. Aus allen Kulturen wurde kein einziger rein kapselfreier Milzbrand erhalten; nur einige Kulturen waren im Anfang überwiegend kapselfrei, um längstens nach 3 Generationen vollständig zur Kapselbildung zurückzuschlagen. Im ganzen waren 9 Kolonien von im ganzen 109 in dieser Weise vielleicht alteriert.

Ein zur Kontrolle in gleicher Weise subkutan geimpftes Meerschweinchen starb nach 31 Stunden mit typischem Befunde und lieferte ausschließlich kapselhaltige Bacillen an der Injektionsstelle.

Meerschweinchen c wurde nach der subkutanen Infektion mit 2 Oesen kapselloser Bacillen (s. p. 165), am 18. Tage mit einer Oese Serumkultur des Ausgangsstammes subkutan geimpft. Das Tier war nach der ersten Infektion deutlich abgemagert, hatte sich aber wieder ganz erholt. Am anderen Tage zeigte sich um die Impfwunde eine Verhärtung mit eiterigem Inhalte, aus dem ca. 500 Kolonien gezüchtet werden konnten. Nach 48 Stunden hatte sich deutliches Oedem ausgebildet, das viele Leukocyten und zahlreiche Bacillen, sämtlich mit starker, oft extremer Kapselbildung, auf der Platte zahlreiche Kolonien ergab. Am 3. Tage war das Oedem gewachsen, aber derb und ziemlich begrenzt, ergab viele Leukocyten und eine verringerte Menge von Bacillen, die aber alle kapselhaltig waren. Nach 4 $\frac{1}{2}$ Tagen starb das Tier mit typischem Milzbrandbefunde; nur das Oedem war zentral stark eiterig. Plattenkulturen wurden aus Oedem, Milz, Leber und Herzblut angelegt. Insgesamt wurden während des Infektionsverlaufes und aus dem toten Tiere 140 Einzelkolonien untersucht, die sich alle fast schon in der 1. Generation als typisch kapselbildend erwiesen. Nur aus der Entnahme des Oedems nach 24 Stunden ergaben sich 3 Kolonien, die erst bis zur 4. Generation vollständig kapselbildend geworden waren.

Meerschweinchen d (s. p. 166) wurde 13 Tage nach der intraperitonealen Injektion einer Agarkultur kapselloser Bacillen mit 1 Oese Serumkultur des Ausgangsstammes subkutan geimpft. Als Reaktion zeigte sich am nächsten Tage etwas Schwellung, später

eine bald verschwindende Verhärtung der Infektionsstelle. Durch Kultur waren schon am nächsten Tage keine Bacillen mehr zu erhalten.

Meerschweinchen b (siehe oben) wurde 12 Tage nach der 1. Impfung mit Kapselmilzbrand gleichzeitig mit Meerschweinchen c und d in gleicher Weise nochmals infiziert, ohne darauf anders als mit einer kleinen Verhärtung an der Impfstelle zu reagieren. Eine Entnahme des daselbst gebildeten kleinen Eiterdepots ergab nach 24 Stunden noch 2 Milzbrandkolonien, die sich sofort bei der Uebertragung auf Serum als kapselbildend erwiesen. Später war kein Milzbrand, sondern nur einige fremde Keime zu erlangen.

Ein unbehandeltes Kontrollmeerschweinchen erlag der gleichen Infektion nach 48 Stunden in typischer Weise. Die teils während des Lebens aus dem Oedem, teils nach dem Tode aus allen Organen und dem Blute isolierten, insgesamt 140 Kolonien, erwiesen sich sofort als kapselbildend, bis auf eine aus dem Oedem nach 24 Stunden gewonnene, die erst in der 4. Serumgeneration vollständig bekapselt wuchs.

Auf eine detaillierte Versuchsanalyse einzugehen, erübrigt sich angesichts der eindeutigen Resultate. Einzig die Tiere, welche auf die Impfung des kapsellosen Stammes mit Oedem reagiert hatten, erwiesen sich als immun. Da es sich um eine so hochempfindliche und dabei so überaus schwer zu immunisierende Tierart wie das Meerschweinchen handelt (vgl. die Versuche von Wernicke), so ist das Ergebnis nicht nur theoretisch, sondern auch praktisch von sehr hoher Bedeutung. Außerdem wies nur noch das Tier c Spuren von Widerstandskraft gegen die Impfung mit infektiösem Milzbrand auf. Bemerkenswert ist, daß auch im immunen Tiere, soweit eine Verfolgung möglich war, der injizierte Milzbrand keine Abschwächung seiner Infektiosität erlitten hatte, wenn man nicht die Erscheinung, daß einzelne Individuen Kulturen mit erst spät einsetzender Kapselbildung ergaben, als solche deuten will. Jedenfalls geht der größte Teil der injizierten Bacillen langsam ohne Aenderung seiner Infektiosität zugrunde; das stimmt mit der Erfahrung überein, daß man mit dem Blute oder mit Organen hochimmuner und dann infizierter Tiere, trotz deren vollständigen Wohlbefindens, andere normale Tiere erfolgreich infizieren kann.

Zusammenfassung.

Die Methode der Abschwächung der Infektiosität des Milzbrandbacillus durch kurzdauernde Erwärmung auf Temperaturen über 43° C kann zwar zur Abschwächung führen, ist aber in keiner Weise verlässlich.

Die etwa eintretende Abschwächung betrifft nur einzelne Individuen.

Verlust von Infektiosität und Kapselbildung bei der Serumkultur stehen in strenger Korrelation, während eine solche zwischen Kapsel und Sporenbildung nicht besteht.

Der einmal seiner Kapselbildung und Infektiosität beraubte Milzbrandbacillus ist konstant und der Verlust wird konstant weiter vererbt. Es ist bisher auf keine Weise gelungen, die Fähigkeit zur Kapselbildung wieder zu regenerieren.

Impfung mit der kapsellosen Varietät erzeugt im allgemeinen keine Immunität gegen Impfung mit kapselbildendem Milzbrand. Nur wenn sich an diese Vorimpfung Bildung und Resorption von Oedem anschließt, erweisen sich die Tiere als hochgradig immun.

Nachdruck verboten.

Ueber die agglutinatorische Kraft des Serums nach überstandener Typhusinfektion.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Rostock (Direktor: Geheimrat Pfeiffer).]

Von Stabsarzt Dr. **Donges**,
kommandiert zum Institut.

Erfahrungsgemäß läßt das Agglutinationsvermögen des Serums von Personen, die Typhus überstanden haben, im Laufe der Zeit nach; bisweilen jedoch bewahrt sich das Serum nach einmal überstandener Typhusinfektion noch lange Zeit agglutinierende Eigenschaften, und es kommen Fälle vor, in denen das Agglutinationsphänomen (Widalsche Reaktion) noch jahrelang fortbesteht.

Im Anschluß an eine Laboratoriumsinfektion, die sich ein Institutsdiener zuzog, habe ich das Serum des Betreffenden in verschiedenen Zeiträumen nach der Erkrankung — bis zu 6 Monaten nachher — auf Agglutinationshöhe und -dauer untersucht (Tabelle I), ferner die Sera von 9 anderen Personen, die früher Typhus durchgemacht hatten (Tabelle III).

Für vergleichende Versuche kommt es darauf an, daß die Bedingungen, unter denen die Ablesungen einer Reaktion ausgeführt werden, möglichst die gleichen sind. Ich habe für die Versuche die makroskopische Beobachtung (mit der Lupe) gewählt; als Beobachtungszeit 18 Stunden, weil ich annahm, daß nicht auszuschließen sei, daß bei den Seris, die vor Jahren mit Typhusbakterien in Berührung gekommen waren, die Avidität der eventuell noch vorhandenen Immunkörper nachgelassen hätte, und daß ein deutliches Resultat — sei es in positiver oder in negativer Hinsicht — erst bei längerer Beobachtungszeit erzielt würde; die Röhrchen standen bei 37° C (Brutschrank); die Verdünnungen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung angesetzt, die Versuche nach dem Verfahren von Kollé [Verreiben einer Normalöse (= 2 mg) frischer, 24-stündiger, lebender Typhuskultur (Agar) am Rande des Reagensglases in das in steigendem Grade verdünnte Serum].

Zuerst habe ich mehrere Normal-Menschen sera — von Personen, die angeblich nie Typhus durchgemacht hatten — auf Agglutinationsfähigkeit für Typhusbakterien untersucht (Tabelle II); der Agglutinationstiter schwankte zwischen 20—40; in einem Falle bestand ein Agglutinationswert von 50; dieser Fall betraf einen Medizinalpraktikanten, der früher einmal — vor 15 Jahren — einen fieberhaften Magen-Darmkatarrh(?) durchgemacht hatte, aber bestritt, jemals eine Infektionskrankheit, speziell Typhus, überstanden zu haben.

Wenn die Agglutinationshöhe von 1:40 oder 1:50 als die Wirkung von Normalserum gerechnet wird, dann finden sich in den Fällen h, k, l und o, in denen 6 Monate resp. 3, 4 und 24 Jahre nach Ueberstehen des Typhus vergangen waren, noch als positive Widalsche Reaktion zu zählende Agglutinationswerte; dagegen ist in den übrigen Fällen keine über den Agglutinationswert normaler Sera hinausgehende Agglutinationssteigerung mehr zu konstatieren.

Die Dauer des positiven Ausfalles der Widalschen Reaktion nach überstandener Typhuserkrankung ist nach diesen Untersuchungsergebnissen,

Tabelle I.
Agglutinationshöhe des Serums der Typhusrekonvaleszenten (a).

Gegen Typhusbakterien									
	100	200	300	400	800	1600	3200	6400	12 800
1 Monat nach d. Typhuserkrankung	+	+	+	+	+	+	+	+	±
2 Monate „ „	+	+	+	+	+	± bis +			
3 „ „ „	+	+	+	± bis +					
4 „ „ „	+	+	± bis +						
5 „ „ „	+	+	±						
6 „ „ „	+	+	—						

Tabelle II.
Agglutinationshöhe der Sera von Personen, die angeblich keinen Typhus durchgemacht haben (b—g).

Gegen Typhusbakterien				
	10	20	40	50
N (b)	+	± bis +		
W (c)	+	±		
M (d)	+	±		
B (e)	+	+	±	
Wu. (f)	+	+	±	
D. (g)	+	+	+	± bis +

Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen zusammengestellt.

Im Falle des Typhusrekonvaleszenten ist die Agglutinationshöhe des Serums, die
1 Monat nach Ueberstehen des Typhus 1: 6400 bis 1: 12 800 betrug,
bereits nach 2 Monaten auf 1: 800 „ 1: 1600,
„ 3 „ „ 1: 360 „ 1: 400,
„ 4 „ „ 1: 200 „ 1: 300,
„ 5 „ „ 1: 200,
„ 6 „ „ 1: 200 gesunken.

Tabelle III.
Agglutinationshöhe der Sera von Personen, die früher Typhus überstanden haben (h—q).

Gegen Typhusbakterien							
	Zeit nach Ueberstehen des Typhus	Bemerkungen	20	40	50	80	160 320
J. (h)	6 Monate		+	+	+	± bis +	
E. (i)	3 Jahre	Schwerer Typhus	+	+	± bis +		
R. (k)	3 „	Leichter Typhus	+	+	+	± bis +	
Ri. (l)	4 „		+	+	+	+	±
Be. (m)	10 „		+	+	±		
L. (n)	16 „		+	+	±		
Pi. (o)	24 „	1889 Typhus, 1890 Scharlach, 1891 Pneumonie, 1893 Masern, 1897 Appendicitis, 1898 Pneumonie	+	+	+	+	± bis +
Re. (p)	28 „		+	+	±		
Pf. (q)	36 „	1878 Typhus, 1900 Keuchhusten, alljährlich Bronchitis	+	±			

soweit diese wenigen Fälle ein Urteil zulassen, in Uebereinstimmung mit den Resultaten anderer Untersucher, vollkommen regellos; in einigen Fällen hält sich ein erhöhtes Agglutinationsvermögen viele Jahre und ist bei einzelnen Personen noch Jahre und Jahrzehnte später nachzuweisen, in anderen Fällen verschwindet es bereits nach längerer Zeit vollkommen.

Ueber die Gründe, welche ein Nachlassen und Aufhören der agglutinierenden Kraft des Serums veranlassen und bewirken, und weshalb in dem einen Falle ein Blutserum von Menschen, die einen Typhus abdominalis überstanden haben, das Agglutinationsphänomen lange Zeit bestehen bleibt und man in der Erhöhung des Agglutinationstiters über den normalen Wert hinaus noch die Residuen einer früheren Typhusinfektion erkennen kann, in dem anderen Falle nicht, darüber gehen die Theorien nach verschiedenen Richtungen auseinander.

Es wird angenommen, daß das Ueberstehen anderer Infektionskrankheiten nach der Typhuserkrankung durch Erzeugung anderer Stoffe im Blute die Agglutinine, die von der Typhuserkrankung her noch im Blute vorhanden sind, schädige und vernichte; es bewirke z. B. eine nach Ueberstehen des Typhus durchgemachte Pneumokokkenpneumonie ein Verschwinden der Agglutinine.

Im Falle o wurde nach dem Typhus Masern, Scharlach und 2mal Pneumonie überstanden, und zwar waren angeblich die beiden Pneumonien von ziemlicher Heftigkeit und Schwere; für den Fall o trifft die Theorie der Abnahme und Vernichtung der Typhusagglutinine durch Ueberstehen anderer Infektionskrankheiten nicht zu.

Ich habe 3 Kaninchen steigende Dosen — 1, 2 und 3 Oesen Kulturmasse auf 2 ccm Kochsalzlösung — von bei 60° C ½ Stunde abgetöteten Typhusbakterien intravenös injiziert; der Agglutinationstiter betrug nach 3 Injektionen 1:50000; darauf erhielt das I. Tier eine Aufschwemmung (2 Oesen auf 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung) von bei 60° C ½ Stunde abgetöteten Streptokokken intravenös injiziert; das II. Tier eine gleiche Aufschwemmung von Pneumokokken (*Streptococcus lanceolatus*), das III. Tier eine von *Bacterium dysenteriae* (Kruse). Nach 8 Tagen betrug der Agglutinationstiter für Typhusbakterien bei allen 3 Tieren 1:25000; der Agglutinationstiter für Streptokokken bei Tier I = 1:100, für Pneumokokken bei Tier II = 0, für *Bacterium dysenteriae* bei Tier III = 1:3200; darauf erhielt Tier I eine gleiche Aufschwemmung von Choleravibrionen und Tier II von Staphylokokken (*Staphylococcus pyogenes aureus*); das III. Tier blieb ohne Injektion. Der Titer für Typhusbakterien betrug bei allen 3 Tieren nach weiteren 8 Tagen 1:12800, für Choleravibrionen (Tier I) 1:400, für Staphylokokken (Tier II) 1:80; nach weiteren 8 Tagen betrug der Agglutinationstiter für Typhusbakterien bei den 3 Tieren 1:6400—1:12800 (Tabelle IV).

Ein deutliches, auffallendes Senken des Agglutinationstiters für Typhusbakterien war bei keinem Tiere nach resp. infolge der Injektion von Streptokokken bzw. Pneumokokken bzw. Ruhrbakterien zu beobachten; auch nach und infolge der II. Injektion von Choleravibrionen bzw. Staphylokokken ist der Agglutinationstiter für Typhusbakterien kaum gesunken, wenigstens nicht stärker als bei dem III. Tier, das nach der Injektion von Ruhrbakterien unbehandelt geblieben war.

Erfahrungsgemäß sinkt normalerweise ein Agglutinationstiter auch ohne jede weitere Beeinflussung des Tieres, wenn nicht neue Antigen-dosen gegeben werden; in unseren Versuchen lagen die letzten Dosen

Tabelle IV. (Tierversuche mit Kaninchen.)

		Tier I.	Tier II.	Tier III.
24. 4. 1914 1. 5. 1914 8. 5. 1914	Injektion (intraveneös) von bei 60° C 1/2 Stunde abgetöteten Typhus- bakterien	1 Oese } auf 2 ccm 2 Oesen } 0,85-proz. Koch- " } salzlösung 3 " }		
15. 5. 1914	Agglutinationstiter für	Typhusbakterien 1 : 50 000	1 : 50 000	1 : 50 000
16. 5. 1914	Injektion von 2 Oesen auf 2 ccm 0,85-proz. Koch- salzlösung bei 60° C 1/2 Stunde abgetöteter	Tier I. Streptokokken " II. Pneumokokken " III. Ruhrbacillen		
23. 5. 1914	Agglutinationstiter für	Typhusbakterien Streptokokken Pneumokokken Ruhrbacillen 1 : 25 000 1 : 100 . .	1 : 25 000 . . .	1 : 25 000 . 1 : 3200
24. 5. 1914	Injektion von 2 Oesen auf 2 ccm 0,85-proz. Koch- salzlösung bei 60° C 1/2 Stunde abgetöteter	Tier I. Cholera vibri- " II. Staphylokokken " III. "		
30. 5. 1914	Agglutinationstiter für	Typhusbakterien Cholera vibri- Staphylokokken " " "	1 : 12 800 1 : 80 .	1 : 12 800 . .
6. 6. 1914	Agglutinationstiter für	Typhusbakterien 1 : 6400 +, 1 : 12 800 ±	1 : 6400 +, 1 : 12 800 ±	1 : 6400 +, 1 : 12 800 ±

von Typhusbakterien ca. 30 Tage zurück. Die Theorie der Abnahme der Agglutinationshöhe des Serums für Typhusbakterien nach Ueberstehen von Typhus durch Ueberstehen anderer Infektionskrankheiten hat sich auch in diesen Versuchen nicht als zutreffend erwiesen.

Das Alter der Patienten soll keinen nachweisbaren Einfluß auf die Reaktion haben, jedoch soll nach Kassel und Mann bei Kindern die agglutinierende Kraft früher verloren gehen als bei Erwachsenen.

Das männliche Geschlecht soll stärker affiziert sein als das weibliche; French und Louisson fanden unter den Männern 11 Proz. mit vollständig positivem Ergebnis (1:200 binnen $\frac{1}{2}$ Stunde), während bei den weiblichen Kranken kein einziges als vollständig zu bezeichnen war.

Ferner sei die Agglutinationsdauer des Serums von Typhusrekoneszenten und Personen, die früher Typhus durchgemacht haben, davon abhängig, wie lange Typhusbakterien im Körper vorhanden sind resp. waren; verschwinden dieselben schnell aus dem Körper, so werden auch die Agglutinine nur eine gewisse Dauer haben; sind dagegen Typhusbakterien monatelang und noch länger im Körper, so werden auch die Agglutinine im Blute so reichlich gebildet, daß dadurch eine größere Dauer bewirkt wird.

Erfahrungsgemäß kommen mit Regelmäßigkeit im Knochenmark von Typhusleichen Typhusbakterien lange Zeit nach Ueberstehen von Typhus vor; solche typhöse Knochenherde können viele Jahre lang lebensfähige Typhusbakterien beherbergen; ferner ist eine feststehende Tatsache, daß in einzelnen Fällen wochen-, ja monate- und jahrelang nach überstandenen Typhus in der Galle Typhusbakterien in großer Zahl vorkommen können (Bacillenträger); in dem größten Teil der Fälle kreisen die Typhusbakterien nur kurze Zeit — etwa 2—3 Wochen — im Blute.

Auch die Zahl der im Blute kreisenden Typhusbakterien wird als von Einfluß auf die Agglutinationsbreite und -dauer angesehen.

Einzelne Autoren halten die Reaktion nach schwerem Typhus für länger fortbestehend als nach leichtem und glauben, daß die Fortdauer der spezifischen Agglutinationskraft im Blute der Typhusrekoneszenten abhängig ist von der Menge der während der Krankheit gebildeten Agglutinine; es soll die Fortdauer der Agglutinationskraft nach der Typhuserkrankung abhängig sein, wenn auch nicht ausschließlich, so doch zum Teil von der Höhe derselben während der Krankheit; es wäre demnach zu erwarten, daß die Serumreaktion nach Ablauf des Typhus in leichten Fällen weniger lange anhält als bei schweren Fällen; ferner bestehe, wenn die Agglutinationskraft über 1 Jahr erhalten geblieben sei, dieselbe noch für mehrere Jahre fort; man könne fast sagen, daß der positive Zustand, wenn einmal vorhanden, in absehbarer Zeit sich nicht ändere; die Zeitdauer nach dem Ueberstehen des Typhus übe alsdann sehr wenig Einfluß auf den Ausfall der Reaktion aus; im ersten Jahre nach Ueberstehen des Typhus soll in vielen Fällen das Agglutinationsvermögen noch erhöht gefunden werden; andere Autoren nehmen zwischen der Schwere der Krankheit und der Höhe und Dauer des Agglutinationsvermögens des Blutes keine Beziehungen an.

Ferner geht eine Theorie dahin, es sei nicht auszuschließen, daß, wenn längere Zeit im Blute nachweisbare Immunkörper waren, dieselben nicht ausschließlich als die Residuen eines akuten, in wenigen Tagen sich abspielenden Abstoßungsprozesses von Zellrezeptoren aufzufassen sind, sondern daß es sich hier um einen dauernden Sekretionsvorgang

handelt, der, einmal durch den Immunisierungsreiz angeregt, langsam abklingend längere Zeit fort dauert.

Es finden sich in der Literatur Beobachtungen, daß auch Typhusfälle vorkommen können, in denen die Reaktion sowohl während der ganzen Krankheit als auch nach derselben dauernd fehlt; auch sind Fälle angegeben, in denen andere Krankheiten — Chlorose, Ikterus, Sepsis, Carcinom, Tuberkulose, septische Diphtherie, Influenza, Endocarditis, Morbus Weili etc. — ein relativ hohes Agglutinationsvermögen erzeugen; es werden Fälle angeführt, in denen eine sicher nicht-typhöse Erkrankung eine deutliche positive Widalsche Reaktion erzeugte. Bigelow berichtet, daß er imstande war, in einer Anzahl von Fällen durch positive Widalsche Reaktion festzustellen, daß die untersuchten Personen Typhusbacillenträger waren.

Welche der angeführten Gründe und Theorien für das Fortbestehen des Agglutinationsphänomens nach überstandem Typhus in Betracht kommen, mag dahingestellt sein; sicherlich spielen dabei auch noch andere Momente eine Rolle; die Gesetze, denen die Fortdauer der Agglutinationskraft nach dem Typhus unterliegt, entziehen sich unseren Kenntnissen. Mir erscheint die Theorie als die wahrscheinlichste, daß ein einmal im Körper infolge irgendeines Reizes angeregter und bestehender Sekretionsprozeß — in unserem Falle die Bildung von Typhusagglutininen infolge Typhusinfektion — nach dem Aufhören des auslösenden Reizes nicht sofort aufhört, sondern erst allmählich abklingt, und zwar individuell verschieden schnell oder langsam; in einzelnen Fällen mag das Fortbestehen von Typhusbakterien im Knochenmark etc. von Zeit zu Zeit durch Einbrechen und Kreisen von Typhusbakterien in der Blutbahn den spezifischen Reiz erneuern, so daß der Sekretionsvorgang immer wieder unterhalten wird und aufflackert und das Agglutinationsphänomen noch jahrelang und jahrzehntelang nach überstandem Typhus bei solchen Personen zu beobachten ist.

Literatur.

- 1) Krause, Ein Beitrag zur Kenntnis von der Dauer des Bestehens der Widalschen Reaktion nach überstandem Typhus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904.)
- 2) Pfeiffer u. Friedberger, Ueber den Verbleib der bakteriolytischen Immunkörper im tierischen Organismus nach der passiven Immunisierung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. 1904.)
- 3) Iversen, Ueber die Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Serums im Verlaufe des Typhus abdominalis. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 49. 1905.)
- 4) Meister, Ein Beitrag zur Kenntnis von der Dauer der Widalschen Reaktion nach überstandem Typhus. [Inaug.-Diss.] Breslau 1903.
- 5) Kasel u. Mann, Beiträge zur Lehre von der Gruber-Widalschen Serumdiagnose des Unterleibstyphus. (München. med. Wochenschr. 1899. No. 18.)
- 6) French u. Louisson, Ueber die Dauer des Fortbestehens der Widalschen Reaktion nach überstandem Ileotyphus. (München. med. Wochenschr. 1907. No. 33.)
- 7) Bigelow u. Clutton, Der Wert der Widalschen Reaktion bei der Entdeckung von Typhusbacillenträgern. (München. med. Wochenschr. 1912. No. 42.)
- 8) Kühnau, Ueber die Bedeutung der Serodiagnostik beim Abdominaltyphus. (Berlin. klin. Wochenschr. 1897. No. 19.)
- 9) Welz, Ostitis fibrosa nach Typhus abdominalis. (Dtsche med. Wochenschr. 1914. No. 6.)

Nachdruck verboten.

A Study of the "Tellurite Reaction" with the Colon-Typhoid Group and other Organisms¹).

[From the Research Laboratory, Parke, Davis & Co., Detroit, Michigan.]

By **Lewis Davis, S.M.**

With 1 plate.

Introduction.

In a previous paper on "Potassium Tellurite as an Indicator of Microbial Life"²), by W. E. King and the writer, attention was called to apparent differences in the action of the tellurite towards *B. coli communis* and towards *B. typhosus*, which seemed to warrant further study. As stated at that time, not only did the typhoid bacillus seem to be peculiarly sensitive to the antiseptic action of potassium tellurite, but the results obtained differed materially among various strains. With the cultures then used, the colon bacillus gave a strong reaction even when the concentration of tellurite was one part in 5000, while with *B. typhosus*, very little action occurred with amounts of the salt stronger than 1:50 000.

The present study has been extended to include the action of potassium tellurite on the more important members of the so-called "Colon-Typhoid" group, and also a few other bacterial species. This experimental work was carried out with the view of determining the following:

- a) Differences in the antiseptic action of potassium tellurite on the various members of the group.
- b) Variations in the macroscopical appearance, character and velocity of the "tellurite reaction" under optimum conditions.
- c) The effect of treatment with tellurite as regards the biochemical activities of the organism.

Altogether, twenty different bacterial species were investigated, including some of the more uncommon types, and several not belonging to the Colon-Typhoid group, but closely related to it biochemically. The organisms have been arranged in the same order as they were studied, rather than according to any definite classification.

Experimental Data.

A. The antiseptic Action of Potassium Tellurite.

In determining the antiseptic action of the tellurite on the various bacteria, essentially the same technique was employed as in the previous work. Briefly, this consisted in adding aseptically to plain bouillon in tubes sufficient potassium tellurite to give concentrations of the salt ranging from 1:1000 to 1:300 000. Triplicate tubes at each concentration were then inoculated with 0.1 c.c. of a well-shaken culture of the organism to be studied, grown for 48 hours in plain bouillon. These, together with "control" tubes, containing no tellurite, were incubated for

1) Read before the Society of American Bacteriologists, Montreal, P. Q., Dec. 1913.

2) Read before the Laboratory Section, Americ. Publ. Health Assoc., Colorado Springs, Col., Sept. 1913.

at least 96 hours at 37° C before recording results. Where "check" results failed to give agreement, additional sets were run until confirmatory tests were obtained.

1. *B. coli communis*.

Five different strains of this organism were examined, including one isolated from a tubercular hip and one from a case of osteomyelitis, the remainder being from urine and faeces. With one strain (# 0429 isolated from tubercular hip) a concentration of 1:2500 of potassium tellurite failed to prevent growth and reduction, while the remaining strains gave practically no growth with amounts stronger than 1:5000. At the latter concentration, there was heavy growth and strong reduction of the tellurite in 24 hours with every one of the five strains studied. It would seem, then, that with the colon bacillus as ordinarily encountered, potassium tellurite acts as an antiseptic in amounts stronger than 1:5000.

2. *Bact. (lactis) aërogenes*.

Both of the cultures of this bacterium gave very little growth at 1:5000, but heavy reduction at 1:10 000 and weaker in less than 24 hours. It is probable that the antiseptic action of tellurite on this organism begins with concentrations greater than about 1:5000.

3. *B. capsulatus*.

The two strains of this organism gave a moderate growth at 1:2500 and above, but practically none at 1:1000. Heavy growth appeared in less than 24 hours at 1:20 000 and weaker. Between 1:1000 and 1:2500 seems to be the limit for the antiseptic action on *B. capsulatus*.

4. *B. pneumoniae* (Friedländer).

The pneumobacillus of Friedländer, in spite of its being capsulated as were the two preceding organisms, showed great susceptibility to the antiseptic action of tellurite. Both of the strains studied gave practically no growth or reduction with concentrations of potassium tellurite stronger than 1:40 000. Even at 1:300 000 growth was very slow and apparent only after 48 hours' incubation. It is very probable that 1:30 000 of tellurite acts antiseptically with this organism.

5. *B. acidilactici*.

Three strains of the lactic acid bacillus were studied, all of which were obtained from milk. Two gave practically no growth with amounts of the salt stronger than 1:30 000, while the other strain gave a feeble reaction at 1:20 000. The "control" tubes in all three cases showed rather a light growth so that only a moderate reduction of the tellurite could be expected where vegetation was permitted. Apparently the tellurite begins to act as an antiseptic at 1:20 000 with this organism.

6. *B. rhinoscleromatis*.

About 1:30 000 seems to be the limiting antiseptic concentration of tellurite for this organism, no growth occurring with greater amounts of the salt. The growth at 1:30 000 is very slow and apparent only after 96 hours' incubation.

7. *Paracolon Bacillus*.

Both strains of the paracolon bacillus used were obtained from feces, but from widely divergent localities. One strain gave practically no growth with concentrations stronger than 1:30 000, while the other gave a moderate growth at 1:30 000 but none at 1:10 000. In all probability, 1:20 000 is the limiting antiseptic concentration.

8. *B. enteritidis*.

Between 1:10 000 and 1:20 000 of potassium tellurite seems to be

the concentration necessary to exert an antiseptic action with this bacterial race. Three strains were examined, one of which — a subculture of the original organism isolated by Gaertner — seemed to be more resistant than the other two, giving growth and reduction at 1:20 000 while the others did not.

9. *B. cholerae suis*.

All three cultures of the bacillus of hog-cholera, so-called, gave no growth with concentrations of tellurite stronger than 1 part in 20 000. Up to 1:50 000 the growth and reduction were very slow and apparent only after 72 hours' incubation.

10. *Bacillus of swine plague*.

This organism which, strictly speaking, belongs to the Hemorrhagic Septicaemia group, has been included by some in the Colon-Typhoid Group. Both strains of the bacillus showed practically the same resistance to potassium tellurite. About 1:10 000 seems to be the strength at which antiseptic action first appears. With one strain, concentrations up to 1:50 000 gave a very peculiar, amorphous, black sediment which was rather heavy, although slow in making its appearance.

11. *B. paratyphosus "A"*.

Concentrations greater than 1:20 000 had an antiseptic action on both of the strains of *B. paratyphosus "A"* which were studied. In fact, heavy growth and reduction were obtained only with 1:50 000 and weaker. The action is rather slow and appears only after 48 hours' incubation.

12. *B. paratyphosus "B"*.

The two strains of this organism appeared to be more resistant to potassium tellurite than *B. paratyphosus "A"*. Growth and reduction occurred at 1:10 000 of tellurite with this type as compared with feeble growth at 1:20 000 with type "A". The control cultures with no tellurite showed apparently the same growth as type "A".

13. *B. icteroides*.

Very little growth and reduction were obtained with *B. icteroides* using concentrations of potassium tellurite stronger than 1:50 000. At this latter strength, heavy growth and a typical reaction were obtained, so that in all probability the antiseptic value lies between 1:40 000 and 1:50 000.

14. *B. Zopfii*.

Check results with this organism showed it to be very susceptible to the action of tellurite. Practically no growth occurred at 1:100 000 and stronger, and only very little with one part of potassium tellurite in 300 000 parts of bouillon even after 96 hours' incubation. The control tubes, however, gave a heavy, typical growth.

15. *B. typhosus*.

Five strains of the typhoid bacillus were studied, including two from the United States Hygienic Laboratory. As noted in the previous work with this organism, there was quite a variation among the different strains. About 1:20 000 seemed to be the antiseptic concentration for three of the strains, while one (# 0190) gave growth at 1:10 000 and the other (Hopkins) at first only at 1:50 000 and weaker.

Transplantations were made from some of the tubes containing the Hopkins strain and tellurite 1:50 000 into fresh, plain bouillon. These cultures were incubated for the usual 48 hours and 0,1 c.c. of the resultant suspension added to other bouillon containing the various con-

centrations of tellurite. Growth now occurred at 1:20000. By successive treatments as above, it was finally found possible to grow this apparently weak strain of *B. typhosus* in a bouillon containing potassium tellurite 1:2500.

It would seem, then, that as ordinarily met with, one part of tellurite in 20000 parts of bouillon or other suitable diluent acts as an antiseptic on *B. typhosus*. Some strains may be encountered which are more sensitive. However, as true with some other antiseptics, it is possible, by cultivation in media containing tellurite, and successive transplantations to make the typhoid bacillus so resistant to this salt that it can be grown in concentrations that ordinarily act as germicides. Similar experimentation gave parallel results with the colon and other bacilli, so that the above facts, in all probability, hold true for the action of potassium tellurite on micro-organisms in general.

16. *Bact. dysenteriae* (Shiga).

17. *Bact. dysenteriae* (Flexner).

Two strains of each of the above bacteria were tested, both of which appeared sensitive to the action of tellurite. About 1:40000 seems to act as an antiseptic with the Shiga type, while the Flexner type gives practically no growth at 1:50000. In all cases where growth and reduction did occur, it was not apparent until after 72 hours' incubation. The Shiga bacterium would seem to be more resistant to potassium tellurite than the Flexner organism.

18. *B. proteus vulgaris*.

The *Bacillus proteus vulgaris* is fairly resistant to potassium tellurite, the two strains studied showing heavy growth and reduction at 1:10000, but not at 1:5000. Where growth did occur, it was rapid and occurred in less than 24 hours' incubation.

19. *B. cloacae*.

One strain of this organism was studied, isolated from an abdominal fistula. It showed even greater resistance to potassium tellurite than did *B. proteus vulgaris*, as heavy growth occurred at 1:5000 and weaker in less than 24 hours.

A review of the preceding data shows that, arranged according to the antiseptic action of potassium tellurite on them, the organisms studied would appear as shown in Table I. From this it is seen that the capsulated bacteria, — as *B. (mucosus) capsulatus* — are the most resistant, and the *Bacillus Zopfii* the most susceptible to the antiseptic action of potassium tellurite.

Considering the principal organisms of the group, it is found that the colon bacillus and the closely allied *Bact. (lactis) aërogenes* show the strongest resistance; *B. enteritidis*, paracolon bacillus and the paratyphoid bacilli would come next, the typhoid bacillus after these, and the dysentery bacteria the last. Theoretically, then, it would seem that a medium containing potassium tellurite could be devised analogous to that proposed by Conradi and Troch¹⁾ for the diagnosis of diphtheria, which would be of service for differentiation between the colon, typhoid and dysentery organisms. Studies along this line would undoubtedly prove of value.

1) G. Wagner, München. med. Wochenschr. 1913. p. 457.

Schürmann, W., u. Hajos, E., Deutsch. med. Wochenschr. 1913. p. 786.

Table I.
Antiseptic Action of Potassium Tellurite on Bacteria of the Colon-
Typhoid Group and Allied Organisms.

Organism	No. of strains examined	Antiseptic Concentration of Potassium Tellurite
1 <i>B. capsulatus</i>	2	Bet. 1:100—1:2500
2 <i>B. coli communis</i>	5	About 1:500
3 <i>Bact. (Lactis) aerogenes</i>	2	" 1:500
4 <i>B. cloacae</i>	1	" 1:500
5 <i>B. proteus vulgaris</i>	2	Bet. 1:500—1:10000
6 <i>B. paratyphosus "B"</i>	2	About 1:1000
7 <i>B. adwinae plague</i>	2	" 1:1000
8 <i>B. enteritidis</i>	3	Bet. 1:1000—1:20000
9 <i>B. typhosus</i>	5	About 1:2000
10 <i>B. paratyphosus "A"</i>	2	" 1:2000
11 <i>Paracolon bacillus</i>	2	" 1:2000
12 <i>B. acid lactici</i>	3	" 1:2000
13 <i>B. cholerae suis</i>	3	" 1:2000
14 <i>B. rhinoscleromatia</i>	1	" 1:3000
15 <i>B. pneumoniae</i>	2	" 1:3000
16 <i>Bact. dysenteriae (Shiga)</i>	2	" 1:4000
17 <i>B. heteroides</i>	2	Bet. 1:4000—1:50000
18 <i>Bact. dysent. (Flexner)</i>	2	About 1:50000
19 <i>B. Zopfii</i>	1	" 1:100000

II. The "Tellurite Reaction" with the Colon-Typhoid Group and allied Organisms under Optimum Conditions.

It was readily apparent that for studying the action of potassium tellurite on bacteria under optimum conditions, the organisms would have to be in a state of active metabolism. Accordingly, the procedure adopted was to take a 24 hour culture of each strain, grown for two generations in 9 c.c. of plain bouillon. To this was added without subsequent mixing 1.0 c.c. of aseptic solutions of potassium tellurite giving final strengths ranging from one part of tellurite in 2500 parts of bouillon to one part in 300000.

The usual number of "check" and "control" tests were run, using the same bacterial strains and the same number of tubes as in the preceding study of the antiseptic action. Results were noted after half an hour, after fifteen hours, and finally after 96 hours of incubation at 37°C. The 30 minute results were taken at room temperature, but if no action took place at the end of this period, a second observation was made after three hours at 37°C. The various types investigated have been arranged in accordance with Table I.

1. *B. proteus vulgaris capsulatus*.

This organism gave a distinct brown ring within 15 minutes after the addition of the tellurite. As would be supposed, it was strongest at 1:50000, and weakest at 1:4000. After 15 hours, the strongest concentration still showed a dark sediment, while the super-saturated solution showed a brown sediment. At 1:10000 and 1:25000, the sediment was brown, and at 1:5000 and 1:1000, it was brownish.

2. *B. coli communis*.

This organism gave a distinct brown ring within 15 minutes after the addition of the tellurite. As would be supposed, it was strongest at 1:50000, and weakest at 1:4000. After 15 hours, the strongest concentration still showed a dark sediment, while the super-saturated solution showed a brown sediment. At 1:10000 and 1:25000, the sediment was brown, and at 1:5000 and 1:1000, it was brownish.

Table I.
Antiseptic Action of Potassium Tellurite on Bacteria of the Colon-Typhoid Group and allied Organisms.

Organism	No. of Strains Examined	Antiseptic Concentration of Potassium Tellurite
1. <i>B. capsulatus</i>	2	Bet. 1:1000—1:2500
2. <i>B. coli communis</i>	5	About 1:5000
3. <i>Bact. (lactis) aërogenes</i>	2	" 1:5000
4. <i>B. cloacae</i>	1	" 1:5000
5. <i>B. proteus vulgaris</i>	2	Bet. 1:5000—1:10 000
6. <i>B. paratyphosus "B"</i>	2	About 1:10 000
7. <i>B. of swine plague</i>	2	" 1:10 000
8. <i>B. enteritidis</i>	3	Bet. 1:10 000—1:20 000
9. <i>B. typhosus</i>	5	About 1:20 000
10. <i>B. paratyphosus "A"</i>	2	" 1:20 000
11. <i>Paracolon bacillus</i>	2	" 1:20 000
12. <i>B. acidilactici</i>	3	" 1:20 000
13. <i>B. cholerae suis</i>	3	" 1:20 000
14. <i>B. rhinoscleromatis</i>	1	" 1:30 000
15. <i>B. pneumoniae</i>	2	" 1:30 000
16. <i>Bact. dysenteriae (Shiga)</i>	2	" 1:40 000
17. <i>B. icteroides</i>	2	Bet. 1:40 000—1:50 000
18. <i>Bact. dysent. (Flexner)</i>	2	About 1:50 000
19. <i>B. Zopfii</i>	1	" 1:100 000

B. The "Tellurite Reaction" with the Colon-Typhoid Group and allied Organisms under Optimum Conditions.

It was readily apparent that for studying the action of potassium tellurite on bacteria under optimum conditions, the organisms would have to be in a state of active metabolism. Accordingly, the procedure adopted was to take a 24 hour culture of each strain, grown for two generations in 9 c.c. of plain bouillon. To this was added without subsequent mixing 1.0 c.c. of aseptic solutions of potassium tellurite giving final strengths ranging from one part of tellurite in 2500 parts of bouillon to one part in 300 000.

The usual number of "check" and "control" tests were run, using the same bacterial strains and the same number of tubes as in the preceding study of the antiseptic action. Results were noted after half an hour, after fifteen hours, and finally after 96 hours of incubation at 37° C. The 30 minute results were taken at room temperature, but if no action took place at the end of this period, a second observation was made after three hours at 37° C. The various types investigated have been arranged in accordance with Table I.

1) *B. (mucosus) capsulatus*.

This organism gave a distinct brown ring within 15 minutes after the addition of the tellurite. As would be supposed, it was strongest at 1:2500, but still apparent at 1:40000. After 96 hours, the strongest concentrations show a thick, stringy, black sediment with the supernatant liquid nearly black. With increasing dilution, the color gradually becomes lighter, so that there is very little reaction at 1:100 000 and none at 1:300 000.

2) *B. coli communis*.

The reaction with the colon bacillus, especially in the stronger concentrations, was extremely rapid, being apparent either as a ring or darkening within several minutes after the addition of the tellurite so-

100-

Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3789177
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

P
m
id
re
o
r
g
f



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. A. Gillet in Jena

lution. After half an hour, there was a distinct darkening with all of the strains studied at dilutions as high as 1:100 000. The reduction is practically complete in 24 hours, and is shown by the entire tube being thick and black with 1:10 000 of tellurite and stronger. The reaction at 1:20 000 is characteristic, and appears as a black, clumpy sediment, with the supernatant bouillon brown and turbid. (Plate Ia.) Reduction is apparent even at 1:300 000.

3) *Bact. (lactis) aërogenes*.

The two strains of this bacterium which were studied showed a rapid and vigorous reaction with potassium tellurite. A distinct darkening was obtained in fifteen minutes with all dilutions up to 1:100 000. The reaction is complete in less than 24 hours, and appears as a black, viscous sediment with dark brown supernatant liquid, growing lighter toward the top. The reduction grows weaker with decreasing concentration, no reaction being apparent at 1:300 000.

4) *B. cloacae*.

5) *B. proteus vulgaris*.

Both of the above organisms gave practically the same "tellurite reaction". Reduction took place at all concentrations with *B. proteus vulgaris* and up to 1:100 000 with *B. cloacae*, being apparent within half an hour, either as a ring or darkening. The final reaction appeared as a heavy, flaky, black sediment with the liquid above very dark brown, nearly black. There was the usual decrease of color with the dilution, the typical reaction appearing at 1:30 000 as uniformly yellowish-brown and turbid.

6) *B. paratyphosus* "B".

A strong ring or darkening was obtained within fifteen minutes with both strains of this bacillus in all concentrations up to 1:100 000. The completed reaction is shown by a compact, black sediment with the supernatant liquid very dark brown in strengths of tellurite up to 1:20 000. At the latter concentration and weaker, the sediment is yellow, while the liquid is nearly clear and brown. (Plate Ie.) The reaction at 1:100 000 is very faint.

7) *Bacillus* of swine plague.

A faint darkening was apparent in half an hour with one strain of this organism and in three hours with the other strain. The reduction is not as vigorous as with the preceding types, and appears finally as a compact black sediment with a supernatant, brown, liquid zone which grows clearer and lighter colored toward the top in concentrations up to 1:10 000. From 1:30 000 on, the liquid is uniformly turbid and brown, while the sediment is colored gray. No reduction takes place at 1:300 000.

8) *B. enteritidis*.

All three strains of *B. enteritidis* showed either a brown ring or darkening in half an hour up to 1:100 000. The reaction is rather vigorous in the concentrations stronger than 1:10 000, the entire tube being almost a uniform greyish-black. At 1:20 000 and weaker, there is a thick, brown to black sediment with the liquid yellowish brown and only slightly turbid. (Plate Ic.) The reduction at 1:100 000 is very weak.

9) *B. typhosus*.

As noted in the previous experimentation with this organism, there was some variation in the final appearance of the reaction among the

different strains investigated. All, however, gave either a ring or darkening in concentrations including 1:50 000 within 30 minutes. The reduction is much slower than with *B. coli communis* and while rather heavy in concentrations greater than 1:5000, the tubes from 1:10 000 on show a brownish sediment with the liquid above light brown in color and moderately turbid. (Plate Ib.) Although both the typhoid and colon bacilli appear brown colored and turbid in dilutions of 1:20 000 and greater, the macroscopical appearance of the tubes, particularly at this strength, differs materially with each organism and can be readily distinguished by one at all familiar with the reaction.

10) *B. paratyphosus* "A".

With concentrations of tellurite up to 1:20 000 and stronger, the reaction is somewhat similar to that obtained with *B. paratyphosus* "B" — a heavy black sediment with the supernatant liquid very dark brown and turbid. With 1:20 000 and weaker, it appears as a heavy yellowish-brown sediment with black specks, while the bouillon is colored a light brown and is slightly turbid (Plate Id). Reduction is apparent at 1:100 000, but not at 1:300 000. Both strains of the organism showed a darkening within half an hour in all strengths up to 1:100 000.

11) *Paracolon Bacillus*.

The reaction with the paracolon bacillus is very similar to that obtained with *B. paratyphosus* "A". In the stronger concentrations, a ring appeared in about fifteen minutes, and a darkening was apparent up to 1:100 000 in half an hour. Complete reaction takes place in about 48 hours and is shown in the amounts stronger than 1:20 000 by a heavy, black sediment with a dark, brown liquid layer above and a lighter zone near the top. At 1:30 000 and weaker, the sediment is yellow with black specks, while the supernatant liquid is uniformly light brown and turbid.

12) *B. acidilactici*.

Compared with the preceding organisms, *B. acidilactici* is much slower in its reaction with potassium tellurite. Only one strain showed darkening within half an hour, but all three strains studied gave distinct reduction in fifteen hours. The stronger concentrations particularly (1:2500—1:5000) apparently exert a germicidal action, as reduction seemed stronger from 1:30 000 on than with the greater strengths. The typical appearance is a moderately heavy, black, powdery sediment with the liquid above browned and usually clear. There is very little reaction at 1:100 000.

13. *B. cholerae suis*.

All three strains of this bacillus showed darkening or rings with concentrations up to 1:100 000 in half an hour. At 1:10 000 and stronger, the tubes appeared nearly black, while at 1:20 000 and weaker, the tubes were uniformly brown and turbid, but growing lighter colored as the dilution increased. Only one strain gave any reduction at 1:300 000.

14) *B. rhinoscleromatis*.

15) *B. pneumoniae* (of Friedländer).

Both of the above seem to react slowly with tellurite, very little reduction occurring before fifteen hours. The reaction is quite similar in both cases but more vigorous with the bacillus of Friedländer than with *B. rhinoscleromatis*. In strengths of 1:10 000 and stronger, the tubes show a flaky sediment with the supernatant bouillon nearly

clear but browned. At 1: 20000 and dilutions greater, the color grows successively lighter, until at 1:100000 there is practically no reaction with either organism.

16. *Bact. dysenteriae* (Shiga).

The reaction with this bacterium did not begin to appear before three hours in the stronger concentrations while with the weaker strengths of tellurite, it was not apparent before fifteen hours. The final appearance of the tubes somewhat resembled those obtained with the Friedländer's bacillus, showing a black, powdery sediment and the liquid above browned but nearly clear. At 1:40000 and weaker, the brown coloration and sediment began to decrease in intensity, so that at 1:100000 there was very little indication of any action.

17) *B. icteroides*.

Only a slight darkening occurred with both strains of *B. icteroides* in fifteen hours. As with *B. lactici acidi*, there is a heavier reduction at 1:30000 and weaker than with greater concentrations of tellurite. Macroscopically, the reaction appears as a powdery black or dark brown sediment with a slightly turbid, brown supernatant liquid. No reduction was apparent at 1:300000.

18) *Bact. dysenteriae* (Flexner).

Contrary to expectations, the Flexner strain of dysentery bacterium gave a stronger reaction with tellurite than did the Shiga strain. All concentrations, including 1:100000, showed either a ring or darkening in half an hour. At 1:10000 and stronger, the tubes showed a compact, black sediment with a dark brown, clouded zone above while the remainder of the liquid was clear but browned. With 1:20000 and weaker, the sediment was brown, and the whole liquid was nearly clear and colored a yellowish-brown. No reaction was apparent at 1:300000.

19. *B. Zopfii*.

Comparable with the weak resistance displayed in the antiseptic tests, *B. Zopfii* showed less reaction with potassium tellurite than any of the preceding organisms. The reduction at 1:50000 was nearly as intense as at 1:2500, and was apparent in all cases only after 24 hours. The completed reaction appeared as a small, powdery black sediment with the supernatant liquid clear and only slightly darkened. Practically no reduction of the tellurite took place at 1:100000 and weaker.

From the foregoing, the close relationship between the capacity of an organism for reducing potassium tellurite and its resistance to the antiseptic action of the latter salt is quite apparent. Those bacteria which require a relatively strong concentration of tellurite (1:5000 or more) to inhibit their growth are found to give a rapid and vigorous reaction, while the sensitive types require a much longer period, and the amount of reduction is small.

Not only is the intensity of the "tellurite reaction" dependent upon the reacting organism, but is directly influenced by the amount of the salt present. As would naturally be supposed, for any specific microbe, the greater the amount of potassium tellurite present which can be acted upon, the more will be the extent of the reduction. The "modus operandi", so to speak, can be conceived to be as follows. Assuming an organism to be in an active state of metabolism and adding to it a strong "dose" of tellurite, two opposing tendencies come into play. On the one hand, there is the "positive" tendency toward continuance of growth and consequent reduction of the potassium tellurite, while on

the other hand, there is the "negative" influence tending to inhibit the metabolism of the organism. If the organism be sensitive, the resultant effect will be more reduction with smaller amounts of tellurite present than with greater. This was actually found to be the case with *B. acidilactici*, *B. Zopfii*, and *B. rhinoscleromatis*. In fact, with *B. Zopfii*, which is very sensitive towards potassium tellurite, concentrations of 1:5000 and stronger permit a reduction at first, but the reaction soon ceases owing to the stronger antiseptic effect assuming the mastery. This is analogous to the findings of Belfanti¹⁾, who obtained a black spot in less than four hours with the typhoid bacillus and the strongly germicidal concentration of one percent of potassium tellurite.

Where the two influences above mentioned are nearly equal, the intensity of the reaction will be about the same with all concentrations, except the very weak ones. Such a behavior is displayed by the dysentery bacteria and Friedländer's bacillus. Finally, there is the condition obtained with the more common members of the "Colon-Typhoid" group where the organism is fairly resistant to the antiseptic action of potassium tellurite. In this case, the action quickly begins to take place, is very intense in the stronger concentrations, and appears to be completed within twenty-four hours.

Apparently, the velocity with which potassium tellurite is reduced is a specific function of the reacting organism apart from its resistance to the antiseptic action of the salt, and is dependent upon the concentration of tellurite present only within very broad limits. Most of the organisms studied showed the reaction to begin within thirty minutes, with dilutions of salt up to 1:50000, while even the most sensitive showed reduction and formation of characteristic, black compounds in twenty-four hours. The "tellurite reaction" with the colon bacillus is especially rapid, being almost instantaneous, or appearing within a few moments as a brown ring or darkening in all concentrations except the very weak ones. (Insert Plate I.)

In Table II, some of the more important organisms under investigation have been grouped in accordance with their reaction to potassium tellurite. From this, it is seen that *B. coli communis* is in a division by itself, as is also *B. typhosus*. A third group is made up of the paratyphoid bacilli and paracolon, while the capsulated bacteria and *Bact. (lactis) aërogenes* comprise a fourth group. The dysentery bacteria fall into another class and *B. cholerae suis* with *B. enteritidis* make up another group.

As may be also noted from the accompanying Plate I, the turbidity and intensity of color are greatest with the colon bacillus, *B. typhosus* coming next. However, the color in case of *B. coli communis* is a greyish-brown while with the typhoid bacillus, it is a dark brown. There are also differences in turbidity and color intensity between *B. paratyphosus* "A" and *B. paratyphosus* "B". Turbidity, color, and sediment are all characteristic in the case of *B. enteritidis*, more so than with *B. cholerae suis*. Altogether, the variations both in antiseptic action and the reaction under optimum conditions seem to be sufficient to suggest the experimental use of potassium

1) S. Belfanti, Zeitschr. f. Chemother. u. verw. Gebiete. 1912. Pt. 2. p. 113.

Table II.
The Reaction with Potassium Tellurite of the Intestinal Bacteria and Allied Organisms.

Organism	Charakter of Reaction	Macroscopical Appearance in Stronger Concentrations (1:10 000—1:20 000)
<i>B. coli communis</i>	Extremely rapid and vigorous	Black, clumpy sediment; liquid above greyish-brown to black and always turbid
<i>B. typhosus</i>	Moderately rapid, but vigorous	Brown to black, powdery sediment; supernatant liquid always brown and moderately turbid.
<i>B. paratyphosus</i> "A"	Moderately rapid and vigorous.	Small, compact brown to black sediment; supernatant liquid dark brown and almost clear.
<i>B. paratyphosus</i> "B"	Strongest action with <i>B. paratyphosus</i> "B" and least with paracolon bacillus	Turbidity least and color strongest with paracolon bacillus.
<i>Paracolon bacillus</i>		
<i>Bact. (lactis) aërogenes</i>	Rapid and vigorous	Thick, viscous, black sediment with brownish-black liquid above.
<i>B. (mucosus) capsulatus</i>		
<i>B. enteritidis</i>	Rapid and vigorous	Thick, brownish sediment, with liquid above nearly uniform greyish-black to yellow and slightly turbid. Color more nearly brown with <i>B. cholerae suis</i> .
<i>B. cholerae suis</i>		
<i>Bact. dysenteriae</i> (Flexner and Shiga)	Slow with Shiga strain, but more rapid with Flexner. Medium intensity in both.	Compact, brown to black powdery sediment with liquid above yellowish brown to dark brown and nearly clear.

tellurite as an aid in the differentiation of organisms in the "Colon-Typhoid" group.

C. The Effect of "Tellurization" on the Bio-Chemical Activities of the "Typhoid-Colon" Group.

Microscopical examination of various species of micro-organisms seemed to indicate that the process of "tellurization" is essentially a reduction of the potassium tellurite with actual deposition of metallic tellurium, or a black hydrogenated compound within the microbic cell. The appearance of different bacteria so treated has been described in the previous paper on this subject. Aside from altering the morphological characteristics, it seemed as if treatment with tellurite, by introducing foreign substance within the bacterial body, might possibly affect the biological properties of an organism. The bacterial types included in the present study appeared to be well adapted for validating the above hypothesis owing to their biochemical activities.

Dextrose, lactose and saccharose bouillon respectively, and litmus milk were used for determining the bacterial activity before and after treatment with tellurite. The technique consisted in taking a 48 hour culture of the organism to be studied, grown in plain bouillon, and

adding to it sufficient potassium tellurite to permit the maximum reduction to take place, with the minimum of germicidal action. For most of the types, a concentration of 1:2500 of tellurite was satisfactory, but for some of the weaker strains, a strength of 1:10000 gave better results. The "tellurization" was allowed to go on for 48 hours, after which the supernatant liquid was pipetted off, and two heavy loopfuls of the blackened sediment were used for inoculating the different culture

Table III.
The Influence of Potassium Tellurite on the Bacterial Fermentation of Dextrose.

Organism	Action before Tellurization	Action after Tellurization
1. <i>B. (mucosus) capsulatus</i>	a, 80	a, 80
2. <i>B. coli communis</i>	a, 40	a, 40
3. <i>Bact. (lactis) aërogenes</i>	a, 60	a, 60
4. <i>B. cloacae</i>	a, 40	a, 40
5. <i>B. proteus vulgaris</i>	a, 30	a, 30
6. <i>B. paratyphosus "B"</i>	a, 50	a, 60
7. <i>B. of swine plague</i>	a	a
8. <i>B. enteritidis</i>	a, 40	a, 60
9. <i>B. typhosus</i>	a	a
10. <i>B. paratyphosus "A"</i>	a, 60	a, 60
11. <i>Paracolon Bacillus</i>	a, 40	a, 40
12. <i>B. acidi lactici</i>	a	a
13. <i>B. cholerae suis</i>	a, 10	a, 10
14. <i>B. pneumoniae (Friedländer)</i>	a	a
15. <i>Bact. dysenteriae (Shiga)</i>	a	a
16. <i>B. icteroides</i>	a	a
17. <i>Bact. dysenteriae (Flexner)</i>	a	a

Note: a = acid, but no gas formation.
Numerals refer to percentage of gas in closed vial.

Table IV.
The Influence of Potassium Tellurite on the Bacterial Fermentation of Lactose.

Organism	Action before Tellurization	Action after Tellurization
1. <i>B. (mucosus) capsulatus</i>	a, 90	a, 90
2. <i>B. coli communis</i>	a, 20	a, 20
3. <i>Bact. (lactis) aërogenes</i>	a, 50	a, 90
4. <i>B. cloacae</i>	a, 40	a, 40
5. <i>B. proteus vulgaris</i>	+	+
6. <i>B. paratyphosus "B"</i>	+	+
7. <i>B. of swine plague</i>	+	+
8. <i>B. enteritidis</i>	+	+
9. <i>B. typhosus</i>	+	+
10. <i>B. paratyphosus "A"</i>	+	+
11. <i>Paracolon bacillus</i>	+	+
12. <i>B. acidi lactici</i>	a, 30	a, 30
13. <i>B. cholerae suis</i>	+	+
14. <i>B. pneumoniae (Friedländer)</i>	a	a
15. <i>Bact. dysenteriae (Shiga)</i>	+	+
16. <i>B. icteroides</i>	+	+
17. <i>Bact. dysenteriae (Flexner)</i>	+	+

Note: a = acid, but no gas formation.
Numerals refer to percentage of gas in closed vial.
+ = growth with neutral reaction and no fermentation.

media. Control tubes were similarly inoculated using 96 hour cultures of the organism without tellurite.

For the carbohydrate media, inverted vial tubes were used in place of the regular Smith fermentation tubes. Examination was made at the end of 48 hours and again after 96 hours of action. The results obtained with the more important organisms are given in the following tables, using the nomenclature appended in the note with each table,

Table V.
The Influence of Potassium Tellurite on the Bacterial Fermentation of Saccharose.

Organism	Action before Tellurization	Action after Tellurization
1. <i>B. (mucosus) capsulatus</i>	a, 90	a, 90
2. <i>B. coli communis</i>	a, 90	a, 90
3. <i>Bact. (lactis) aërogenes</i>	a, 50	a, 50
4. <i>B. cloacae</i>	a, 40	a, 40
5. <i>B. proteus vulgaris</i>	a, 40	a, 40
6. <i>B. paratyphosus "B"</i>	+	+
7. <i>B. of swine plague</i>	+	+
8. <i>B. enteritidis</i>	+	+
9. <i>B. typhosus</i>	a (slight)	a (slight)
10. <i>B. paratyphosus "A"</i>	+	+
11. <i>Paracolon bacillus</i>	+	+
12. <i>B. acidi lactici</i>	+	+
13. <i>B. cholerae suis</i>	+	+
14. <i>B. pneumoniae (Friedländer)</i>	+	+
15. <i>Bact. dysenteriae (Shiga)</i>	+	+
16. <i>B. icteroides</i>	+	+
17. <i>Bact. dysenteriae (Flexner)</i>	+	+

Note: a = acid, but no gas formation.
Numerals refer to percentage of gas in closed vial.
+ = growth with neutral reaction and no fermentation.

Table VI.
The Influence of Potassium Tellurite on the Bacterial Fermentation of Litmus Milk.

Organism	Action before Tellurization	Action after Tellurization
1. <i>B. (mucosus) capsulatus</i>	a, c	a, c
2. <i>B. coli communis</i>	a, c	a, c
3. <i>Bact. (lactis) aërogenes</i>	a, c	a, c
4. <i>B. cloacae</i>	a, c	a, c
5. <i>B. proteus vulgaris</i>	a, c	a, c
6. <i>B. paratyphosus "B"</i>	alk.	alk.
7. <i>B. of swine plague</i>	a (slight)	alk. then a
8. <i>B. enteritidis</i>	a, then alk.	a, then alk
9. <i>B. typhosus</i>	a (very slight)	a (very slight)
10. <i>B. paratyphosus "A"</i>	a (slight)	a (slight)
11. <i>Paracolon bacillus</i>	a	a
12. <i>B. acidi lactici</i>	a (slight), c	a (slight), c
13. <i>B. cholerae suis</i>	a, then alk.	alk.
14. <i>B. pneumoniae (Friedländer)</i>	a	a
15. <i>Bact. dysenteriae (Flexner)</i>	alk.	alk.
16. <i>B. icteroides</i>	alk.	alk.
17. <i>Bact. dysenteriae (Flexner)</i>	alk.	alk.

Note: a = acid reaction to the litmus.
alk. = alkaline reaction to the litmus.
c = coagulation.

and arranged as in Table I. Acid formation with the sugar media was tested by the coloration imparted to sterile azolitmin solution.

The preceding tables seem to show that treatment with potassium tellurite has but little effect on the bio-chemical activities of an organism. As might be supposed, the "tellurited" organisms grow more slowly and hence show less fermentative power within the first twenty-four hours than do the untreated bacteria. However, at the end of 48 hours, or, better, at the end of 96 hours, some types appear even more vigorous after treatment with tellurite than before. This was shown by increased gas formation in the case of dextrose with *B. enteritidis* and *B. paratyphosus* "B", and with lactose and *B. lactis aërogenes*. Practically no difference was apparent in the behavior of the "tellurited" organisms and the untreated "controls" both with saccharose and with litmus milk.

Conclusions.

1. The bacteria of the "Colon-Typhoid Group" show differences in resistance to the antiseptic action of potassium tellurite and in the appearance of their reaction with this salt. These variations are sufficient to suggest the experimental use of potassium tellurite for differential diagnosis in the group.

2. The intensity of bacterial action on potassium tellurite depends upon the individual resistance of the bacterium and the concentration of the salt present. The velocity of reduction of the tellurite is apparently a specific function of an organism, apart from its resistance to antiseptic action. With the colon bacillus, the "tellurite reaction" is almost instantaneous.

3. Treatment with potassium tellurite has practically no influence on the biological characteristics of an organism.

Inhalt.

Baill, Oskar, Veränderungen der Bakterien im Tierkörper. IX. Ueber die Korrelation zwischen Kapselbildung, Sporenbildung und Infektiosität des Milzbrandbacillus, p. 159.

Davis, Lewis, A Study of the "Tellurite Reaction" with the Colon-Typhoid Group and other Organisms, p. 180.

Donges, Ueber die agglutinatorische Kraft des Serums nach überstandener Typhusinfektion, p. 174.

Hall, Walker I., and **Nicholls, F.**, Earlier indications of gas formation by coliform organisms, with description of a modified fermentation tube, p. 140.

Mittel, Hans, Untersuchungen über latente Infektion der Leber und Milz

tuberkulöser Schlachtrinder; ein Beitrag zur fleischbeschaulichen Beurteilung tuberkulöser Tiere, p. 113.

Prowazek, S. v., und **Miyaji, S.**, Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus, p. 144.

Prsibram, Karl, Bemerkung zu S. v. Prowazeks Arbeit: "Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus", p. 158.

Salzmann, M., Ein Beitrag zur Bakterienmutation, p. 105.

Toenniessen, Erich, Ueber Vererbung und Variabilität bei Bakterien. Weitere Untersuchungen über die Fluktuation, insbesondere über ihre Entstehungsweise, ihre Erbllichkeit und ihre Bedeutung für die Artbildung, p. 97.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 75. Heft 3.

Ausgegeben am 10. Dezember 1914.

Nachdruck verboten.

Ueber die Einzigartigkeit und Polyvalenz des Trypsins, studiert mit der Präzipitations- und Komplementablenkungsmethode.¹

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Sassari.]

Von Dr. **Francesco Marras**, Privatdozent und Hilfsarbeiter.

Verschieden und widersprechend sind, wie Fischer und Abderhalden und Fermi¹⁾ erklärten, die Meinungen über die so außerordentlich schwierige Frage der Spezifität der Ektoproteasen, ob diese nämlich einheitliche Körper sind oder ein Gemisch von glutinolytischen, fibrinolytischen, kaseinolytischen, serolytischen usw. Eigenschaften.

Pollak²⁾ und Hattori³⁾ behaupteten, eine spezifische Glutininase gefunden zu haben, während Ascoli und Neppi⁴⁾ sie verneinten, indem sie sagten, daß die Glutininase nichts anderes sei als eine der verschiedenen Eigenschaften der tryptischen Fermente.

Fermi löste diese so schwierige Frage, indem er nachforschte, ob in der Natur, d. h. im Tier- und Pflanzenreiche, ausschließlich albumolytische oder serolytische Enzyme vorhanden sind, d. h. solche, die nicht gleichzeitig fibrinolytisch, kaseinolytisch und glutinolytisch wären.

Er untersuchte besagte Teilenzyme während der Ontogenese, der Absonderung der Proteasen, die Aktivierung der Zymogene, indem er versuchte, die Teilproteasen mittelst der verschiedenen physikalisch-chemischen Agentien (Wärme, Licht, Filtration, Dialyse, chemische Substanzen usw.) zu isolieren dadurch, daß er die Absonderung einiger hemmte und diejenige anderer förderte. Er griff dann zu den sogenannten natürlichen Antifermenten, forschte auch nach, ob in der Natur die Gegenwart der verschiedenen Teilproteasen immer vom Vorhandensein der entsprechenden Verdauungseiweißkörper begründet sei, und schloß:

Daß es, im Gegensatz zu dem, was sich hätte bewahrheiten müssen, wenn die Proteasen spezifisch oder monovalent wären, niemals gelungen ist, ein Enzym nachzuweisen, das nur mit albumolytischem oder serolytischem Vermögen begabt und frei von allen anderen wäre, weder in den unzähligen Tier-, Pflanzen und Mikrobenarten, noch bei den autolytierten Organsäften, noch während des ontogenetischen Auftretens (Tierembryonen, Samenkeimung); auch nicht während der Aktivierung der Proenzyme. Es ist auch nicht gelungen, die hypothetischen ausschließlich albumolytischen oder serolytischen Proteasen zu zeigen, dadurch, daß man versuchte, sie zu trennen, sei es daß man, mittelst der Einwirkung von Wärme, Licht und zahlreichen chemischen Substanzen die

1) Fermi, Sulla specificità dell' ectoproteasi et altre questioni riguardanti le medesime. (Arch. Farm. sperim. Bd. zu Ehren von A. Celli. No. 2 f. 1913.)

2) Pollak, Zur Frage der einheitlichen und spezifischen Natur des Pankreas-trypsins. (Hofmeisters Beitr. Bd. 6. 1905. p. 95.)

3) Hattori, Kann die Gelatinemethode zur Wertbestimmung des Trypsins angewendet werden? (Arch. int. Pharm. Bd. 18. p. 255; B. C. Bd. 8. 1909. p. 1014.)

4) Ascoli e Neppi, Ricerche sulla specificità della cosiddetta glutinasi. (Società Milanese di med. e biol. Vol. 3. 1908. Fasc. 3.)

einen zerstörte und die anderen erhielt, sei es daß man versuchte, sie mittels Filtrierung, Dialyse, Fällung zu trennen, daß man durch Konzentration versuchte, die Erscheinung des Aktivitätsverlustes der Proteasen zu erklären und somit durch ihre Veranlagung. Auch nicht dadurch, daß man versuchte, mittels chemischer Substanzen die Absonderung der glutinolytischen und kaseinolytischen Proteasen zu hemmen und diejenige der serolytischen und albumolytischen zu fördern, daß man zu natürlichen Antienzymen griff, daß man mit dem vorgeblichen Antikörper von Pollak experimentierte (der vollkommen als nicht vorhanden nachgewiesen ist), daß man die Trennung oder Isolierung der hypothetischen Teilproteasen versuchte, indem man sie in den tierischen Organismus einspritzte und sie dann in den Höhlen erforschte, in den Sekreten, den Exkreten und den Organen. Ferner nicht dadurch, daß man die Trennung versuchte durch Fixierung an die angenommenen entsprechenden und spezifischen Albuminoide. Man versuchte auch die Frage zu lösen, ob dieselbe Dose Proteasen fähig sei (wie sie es müßte, wenn die Proteasen ein Gemisch von Teilenzymen wären), gleichzeitig die größte Dosis von allen Albuminoiden zu verdauen, auf die Protease wirksam ist. Man hat schließlich nachgewiesen, daß das Vorhandensein der verschiedenen Teilhypthesen in Wirklichkeit durchaus nicht durch die Gegenwart der entsprechenden Verdauungsproteine gerechtfertigt ist, und endlich, daß die Spezifität oder Vielwertigkeit der Proteasen von schwerem Schaden für das Leben, die Verbreitung und die Wanderung der Tiere wäre.

Er wiederholte dann am Schlusse, daß, wenn man das Trypsin als ein Gemenge von soviel vielwertigen glutinolytischen, kaseinolytischen, fibrinolytischen, serolytischen, albumolytischen Katalysatoren betrachten wollte, man dasselbe tun müßte für das Pepsin, indem man so allmählich dazu gelangte, so viel neue peptische Enzyme zu schaffen, als es verschiedene albuminoide, vom Pepsin gelöste Substanzen gibt, d. h. sovieler Peptoglutinasen, Peptofibrinlasen, Peptokaseasen, Peptosarkolasen, Peptoserolasen, Peptoalbumasen usw.

Dasselbe müßte man konsequentermaßen auch tun für das Papaïn und für alle die proteolytischen Sekrete oder Säfte von Tieren oder Pflanzen, indem man so (in Anbetracht der ungeheuren Anzahl der proteolytischen Sekrete oder Säfte und der albuminoiden Substanzen) bei einer Zahl von vielwertigen Katalysatoren anlangte, die alle Vorstellung überstiege.

Und andererseits, ist es je möglich, daß ein auf das Eiweiß wirksames Enzym es nicht auch sei auf die Gelatine, das Fibrin, das Kasein usw., d. h. auf Albuminoide, die unter sich so ähnlich sind, sogar (verschiedene) Gemische derselben Proteine und umgekehrt?

Um einen neuen Beitrag zur Frage der Einzigartigkeit der Ekto-proteasen zu liefern, stellte ich einige Versuche in Verbindung mit den biologischen Reaktionen an, indem ich nämlich in dem durch Immunisierung erhaltenen Serum die Präzipitine und die Antikörper untersuchte, die das Vermögen haben, das Komplement in Gegenwart der betreffenden Antigene abzuleiten.

Mit der Fällungsmethode von Wassermann, Schütze und Uhlenhuth differenzierten sich die Proteinsubstanzen und ließen die Spezifizierung deutlich hervortreten.

Ueberdies wiesen Bordet und Gengou nach, daß nicht nur die Zellenantigene im Immunisierungsprozeß mit gelöstem Eiweiß Präzipitine verursachen, sondern auch nachweisbare Ambozeptoren mit Bindung des Komplements bilden können.

Die Experimente von Moreschi, Neisser, Sachs haben dann gezeigt, daß mit dieser Methode kleinste Mengen Eiweiß aufgespürt werden können, die vielfach die Präzipitation nicht entdeckt.

Verfahren: Man immunisierte eine Reihe von Hunden durch die Adern, indem man einigen 1 ccm 1-proz. aktiven Trypsins in steriler physiologischer Lösung einspritzte, anderen 1 ccm 1-proz. 1 Stunde lang bei 50° C in aktivierter Trypsinlösung, zu dem Zwecke, nur die gelatolytische Fähigkeit zu erhalten, da es bekannt ist, daß bei dieser Temperatur das Trypsin das fibrinolytische, kaseinolytische, albumolytische und serolytische Vermögen verliert.

Die Einspritzungen wurden 1 Monat lang fortgesetzt, und nach einer Woche wurden die Hunde zur Ader gelassen; ihr Serum wurde im Dunkeln aufbewahrt, und zwar bei niedriger Temperatur.

Ich habe die Experimente mit den mit vollständig inaktivem Trypsin bei hoher Temperatur erzielten Seris weggelassen, weil wir wissen, daß das immune Serum, das man mit gekochtem Eiweiß erzielt, nicht nur bei gekochtem aktivem und inaktiviertem Eiweiß ganz und gar auf Wärme reagiert, sondern auch bei einer Reihe von Umsatzprodukten, auf die das Immunserum wegen des normalen Eiweißes nicht reagiert.

Die nachstehenden Tabellen bringen Experimente und diesbezügliche Resultate:

I. Originalität und Polyvalenz des mit der Fällungsmethode studierten Trypsins.

1-proz. Trypsinlösung von Grübler	Serum	Ergebnisse	
		früher als 30 Min.	nach 1 Stunde
0,2 ccm	Antitrypsin, erhalten immunisierend mit aktivem Trypsin 0,2 ccm	Farbenspiel zwischen Serum und Antitrypsin	Trübung und Niederschlag
0,2 ccm	Antitrypsin, erhalten, nachdem es 1 Stunde lang 55° C ausgesetzt war 0,2 ccm	Idem	Idem
0,2 ccm	Normales Hundeserum 0,2 ccm	Klar	Klar

II. Originalität und Polyvalenz des mit der Fällungsmethode studierten Trypsins.

1-proz. Trypsinlösung von Grübler, 1 Stunde lang unter 55° C gehalten	Serum	Ergebnisse	
		früher als 30 Min.	nach 1 Stunde
0,2 ccm	Antitrypsin, erhalten, immunisierend mit 1 Stunde lang 55° C ausgesetztem Trypsin 0,2 ccm	Farbenspiel zwischen Serum und Antitrypsin	Trübung u. Niederschlag
0,2 ccm	Antitrypsin, erhalten, immunisierend mit aktivem Trypsin 0,2 ccm	Idem	Idem
0,2 ccm	Normales Hundeserum 0,2 ccm	Klar	Klar

III. Originalität und Polyvalenz des Trypsins, studiert mit der Komplementablenkungsmethode.

Antigene	Serum	Komplement (Meer- schweinchen- serum) 1:10	Physiologi- sche Lösung 0,9 Proz.		Hämolyisin Titer 1:900	Rote Hammelblut- körperchen 1 Proz.	Ergebnis
Trypsin Grüb- ler 1 Prom.	Antitrypsin, erhalten immunisierend mit aktivem Trypsin 0,1 ccm	0,5	0,6	1 Stunde im Brutschrank bei 37° C	0,5	0,5	Abwesenheit v. Hämolyse
	Antitrypsin, erhalten immunisierend mit 1 Stunde lang 55° C ausgesetztem Tryp- sin 0,1 ccm	0,5	0,6		0,5	0,5	Idem
	Normales Hunde- serum 0,1 ccm	0,5	0,6		0,5	0,5	Hämolyse

IV. Originalität und Polyvalenz des Trypsins, studiert mit der Komplementablenkungsmethode.

Antigene	Serum	Komplement (Meer- schweinchen- serum) 1:10	Physiologi- sche Lösung 0,9 Proz.		Hämolyisin Titer 1:900	Rote Hammelblut- körperchen 1 Proz.	Ergebnis
Trypsin Grüb- ler 1 Prom., 1 Stunde lang 55° C ausge- setzt	Antitrypsin, erhalten immunisierend mit 1 Stunde lang 55° C ausgesetztem Tryp- sin 0,1 ccm	0,5	0,6	1 Stunde im Brutschrank bei 37° C	0,5	0,5	Abwesenheit v. Hämolyse
	Antitrypsin, erhalten immunisierend mit aktivem Trypsin 0,1 ccm	0,5	0,6		0,5	0,5	Idem
	Normales Hunde- serum 0,1 ccm	0,5	0,6		0,5	0,5	Hämolyse

Ergebnis.

Aus diesen Experimenten ergeben sich folgende hochwichtige Tatsachen:

1) Das Serum, erhalten durch Lösung von aktivem Trypsin, das gelatinolytische, fibrinolytische, albumolytische und kaseinolytische Fähigkeit besitzt, und das Serum, erhalten durch Lösung von in der Hitze abgeschwächtem Trypsin, das also manche der genannten Fähigkeiten verloren haben dürfte, reagierten bei Berührung mit verschiedenen Lösungen von aktivem und inaktivem Trypsin bei 50° C gleichmäßig,

indem sie die Erscheinung der Präzipitation und Ablenkung des Komplements hervorriefen.

2) Diese Reaktionen sind spezifisch. In der Tat treten bei Nachprüfung mit normalem Serum die genannten Erscheinungen nicht ein.

Man kann also schließen, daß, wie Fermi erschöpfend nachgewiesen hat, das Trypsin ein einzigartiges Ferment ist, aber polyvalent, denn wenn Trypsin ein Gemisch von Teilproteasen wäre, hätten die Präzipitine und die Antikörper, die von der hypothetischen Glutinasen (auf 50° C erhitztes Trypsin) hervorgebracht sind, nur bei Gegenwart des nur die Gelatine enthaltenden Trypsins reagieren müssen, d. h. mit dem auf 50° C erhitzten und nicht mit dem aktiven Trypsin, nämlich mit der hypothetischen Fibrinase, Kasease, Sierase und Albumase.

Nachdruck verboten.

Le microbe de Bordet et Gengou, agent étiologique de la coqueluche.

Par le docteur **E. Renau x**, Bruxelles.

A la suite d'un travail de Poleff paru dans le Centralblatt für Bakteriologie (Abt. I. Orig. Bd. 69. H. 1/2), nous nous sommes proposé de faire quelques recherches sur le bacille de Bordet-Gengou en clinique, d'étudier la spécificité de cet élément que l'auteur mettait assez fortement en doute. Nous nous étions étonné, notamment de voir reproduire dans le travail de Poleff un tableau (Tabelle II) de 36 cas de réaction de fixation au cours de la coqueluche parmi lesquels 5 seulement donnaient un résultat positif. Il n'était pas signalé d'ailleurs à quelle période de la maladie le prélèvement de sang avait été effectué, ni si plusieurs essais successifs avaient été pratiqués chez un même malade. Ce sont là cependant des points qui présentent une importance capitale, et l'absence d'indications à ce sujet empêche toute appréciation justifiée.

Depuis un an, nous avons rencontré des cas de coqueluche relativement peu nombreux; c'est ce qui a retardé la publication de cette note. Nos recherches ont porté sur 73 cas seulement (coquelucheux et non coquelucheux), mais certains d'entre eux, particulièrement démonstratifs, justifient, nous semble-t-il cette modeste contribution à l'étude de la spécificité du bacille de Bordet et Gengou.

Technique.

La technique employée est la technique classique de la réaction de fixation: le sérum du sujet est inactivé par le chauffage: 20 minutes à 56°.

L'antigène. Nous avons utilisé deux souches de bacille coquelucheux qui nous ont été obligeamment remises par M. le professeur Bordet et qui nous ont donné d'ailleurs des résultats concordants. Une culture de 48 heures sur gélose au sang est émulsionnée soigneusement dans 10 c. c. d'eau physiologique. Il faut pratiquer cette dilution avec le plus grand soin pour éviter que toute parcelle du milieu, si minime

soit-elle, puisse être incorporée à l'émulsion; aussi faut-il bien se garder d'inonder la culture et de la râcler ensuite. La nappe microbienne doit être enlevée par petites portions au moyen d'une mince baguette de verre et portée alors dans l'eau physiologique stérile. L'émulsion opalescente doit être blanchâtre et ne pas présenter la moindre coloration rosée; ce fait indiquerait sans conteste qu'une partie du milieu de culture a été enlevée.

L'antigène ainsi préparé peut être utilisé tel quel. Nous avons cherché à le rendre plus maniable en le tuant par chauffage à 56° pendant une heure. Dans ces conditions, ses qualités ne sont nullement altérées, et, conservé à la glacière, il donne encore des réactions parfaites après 6 et 7 mois. Il nous est arrivé même, accidentellement, de laisser un tube d'antigène pendant 24 heures au bain-marie à 56°. Des essais ultérieurs nous ont montré que le produit n'avait nullement perdu de sa valeur. Une réserve cependant: lorsqu'on pratique la réaction d'agglutination, il est désirable d'utiliser l'antigène non chauffé. Toutefois les quelques essais que nous avons pratiqués ne nous ont pas encouragés à persévérer dans cette recherche et nous nous en sommes tenu par la suite à la réaction de fixation, beaucoup plus fidèle et que nous exécutons de la façon suivante:

On mélange 0.2 c. c. de sérum du malade, 0.2 et 0.3 c. c. d'antigène, 0.1 c. c. alexine 50% (sérum frais de cobaye neuf) et de l'eau physiologique pour faire 1,5 c. c. Comme contrôles: un tube contenant 0.4 c. c. de sérum et 0.1 c. c. alexine 50%, sans antigène; puis des tubes contenant 0.2, 0.3, 0.4 et 0.5 c. c. d'antigène et 0.1 c. c. alexine sans sérum. Les tubes restent 1 heure et demie à 37° puis on y ajoute une goutte d'un système hémolytique lapin antimouton. On obtient ainsi des réactions d'une netteté absolue.

73 sérums ont été étudiés par cette méthode.

32 d'entre eux provenaient de malades en cours de coqueluche ou récemment guéris de cette infection;

11 étaient examinés dans le but de rechercher une coqueluche éventuelle (coqueluche fruste);

30 étaient prélevés chez des enfants bien portants, n'ayant jamais eu la coqueluche ou chez des adultes qui n'avaient pas présenté de coqueluche depuis 9 ans au moins.

Des 32 sérums du premier groupe, 23 donnèrent une réaction de fixation positive; 17 d'entre eux provenaient de sujets atteints de coqueluche depuis 3 semaines au moins, 5 depuis 15 à 20 jours, 1 depuis 10 jours (au dire des parents). Les neuf cas négatifs étaient tous des malades présentant des signes de coqueluche depuis moins de 15 jours. L'un d'entre eux, négatif le 11^{ème} jour (renseignement fourni par les parents) fut trouvé positif à un examen ultérieur le 27^{ème} ou 28^{ème} jour. Un autre, compté deux fois comme négatif (environ 14^{ème} et 20^{ème} jour) fut trouvé positif vers le 35^{ème} jour. Il reste donc parmi les cas négatifs 6 sujets examinés avant le 15^{ème} jour et que nous n'eumes pas l'occasion de revoir par la suite.

Parmi les 11 cas examinés pour établir le diagnostic, 4 furent positifs et 7 négatifs. Voyons d'abord en détail les cas positifs qui nous paraissent particulièrement démonstratifs.

Le premier est celui d'un enfant de 8 à 10 mois présentant une toux quinteuse sans reprises depuis 10 jours environ. Le sérodiagnostic fut positif faible (hémolyse partielle). Deux jours après, l'enfant pré-

sentait des crises de coqueluche tout à fait caractéristique; le séro-diagnostic ne put malheureusement être pratiqué non plus que la recherche du bacille de Bordet et Gengou dans l'expectoration.

Le deuxième cas se rapporte à une petite fille de 6 ans qui ne présenta jamais d'autres signes qu'une toux sèche non quinteuse pendant 6 semaines environ. L'enfant, qui nous donne un sérodiagnostic positif, avait été séparée quelques jours plus tôt de ses frères et sœurs qui présentaient des quintes de coqueluche typiques. Jamais elle ne présenta de quintes de coqueluche franche, même lorsque par la suite, vu son s—d positif, elle fut renvoyée parmi ses frères et sœurs convalescents.

Le No. 3 est un homme de 32 ans dont le bébé avait présenté 2 mois auparavant une coqueluche caractéristique. Cet homme présentait une petite toux sèche quinteuse, sans reprises, et qui n'avait pas encore rétrocedé après 2 mois. Le sérodiagnostic positif justifiait chez lui le diagnostic de coqueluche fruste présumé par le médecin traitant. Enfin, 4^{ème} cas, nous avons eu l'occasion de pratiquer un examen de sang chez la femme d'un sculpteur qui avait posé quelque temps auparavant, tenant dans ses bras un bébé étranger qui toussait et que l'on dut isoler peu de jours après pour coqueluche. Cette femme, examinée environ 3 semaines plus tard, toussait fréquemment mais sans reprises. Ses deux enfants qui nous furent amenés en même temps présentaient une coqueluche caractéristique depuis 10 à 15 jours. Le sérodiagnostic de la mère fut fortement positif, celui de la fillette le fut faiblement, celui du petit garçon fut négatif. Le s—d de la fillette, recommencé 15 jours plus tard fut fortement positif. Nous n'eumes pas l'occasion de faire une nouvelle recherche chez le frère de cette petite malade. Dans ce cas, les examens de sang avaient permis non seulement d'établir le diagnostic chez la mère, mais encore de fixer tout le mode de propagation de l'infection.

Des 7 cas négatifs, 5 furent reconnus par la suite exempts de toute infection coquelucheuse, 2 furent perdus de vue.

Restent enfin les 30 sérums provenant de sujets n'ayant jamais eu la coqueluche ou n'en ayant pas eu depuis plusieurs années. 29 furent négatifs. Le 30^{ème}, faiblement positif (hémolyse partielle), se rapportait à un ouvrier qui ne se rappelait pas avoir eu la coqueluche ni y avoir été exposé. Il faut reconnaître d'ailleurs que la faible intensité de la réaction ne permettait pas de poser un diagnostic ferme; d'autre part, il est assez difficile d'affirmer que l'on n'a pas été exposé à une infection en somme fréquente lorsque l'on habite, comme c'était le cas pour cet homme, un quartier très peuplé.

Conclusions.

Les résultats signalés plus haut se passent, nous semble-t-il de tout commentaire: d'une part, tous les malades atteints de coqueluche présentent la réaction de fixation vis-à-vis du bacille de Bordet et Gengou à condition que cette recherche soit pratiquée un temps suffisamment long après le début de l'affection. D'autre part, les sujets qui n'ont pas eu la coqueluche ne présentent pas la réaction. Un seul de ces derniers (sur 30) donnait une réaction partielle, et encore n'était-il pas possible d'éliminer avec certitude la notion de contagion coquelucheuse.

Il nous paraît donc indiscutable que le bacille de Bordet et Gengou

est bien l'agent étiologique de la coqueluche. La pratique de la séro-réaction à même permis d'établir avec précision le diagnostic chez des personnes ne présentant qu'une toux rebelle non caractéristique et qui avaient transmis à d'autres la coqueluche classique.

Certains médecins et même des bactériologistes ont émis l'avis que la coqueluche pourrait être occasionnée par des éléments microbiens divers. Cette opinion ne peut guère être défendue en présence de la régularité d'apparition de la réaction de fixation vis-à-vis du bacille de Bordet et Gengou au cours de la coqueluche. Il est possible que certaines infections puissent simuler dans une certaine mesure le tableau clinique de la coqueluche; nous n'en avons pas rencontré de semblables. Mais ce fait fût-il certain qu'il n'infirmerait nullement le rôle étiologique du bacille coquelucheux, de même qu'il ne viendrait à la pensée de personne de soutenir que la fièvre typhoïde puisse être provoquée par un agent microbien autre que le bacille d'Eberth sous prétexte que certaines infections non typhoïdiques peuvent simuler cette infection d'une façon parfois très troublante.

Bruxelles, 9 juin 1914.

Nachdruck verboten.

Chromidia and Cancer.

By **J. Jackson Clarke**, M. B. London, F. R. C. S.,

Senior Surgeon to the Hampstead and North-West London Hospital; Surgeon to the Royal National Orthopaedic Hospital; Consulting Surgeon to St. Monica's Hospital for Children and to St. Peter's Home Kilburn.

With 3 Figures.

Chromidia are extra-nuclear collections of chromatin and the term chromidial is applied to the condition of organisms in which the chromatin is scattered throughout the cytoplasm. All bacteria are said to be in the chromidial condition.

Chromidia have been most closely studied in some of the sarcodina, in which class of the protozoa the chromidium is of great importance in reproduction. In some of the Foraminifera the faculty of binary fission appears to have become obsolete, its place having been taken by chromidial reproduction.

The first critical study of Chromidia, that of R. Hertwig was published in 1902¹). The term chromidium which now denotes the whole collection of extranuclear chromatin present in any one organism was first applied to the individual grains of extranuclear chromatin. Minchin²) suggests that the individual elements of the chromidium be called 'Chromidiosomes', but where the condition is very fully developed no separate grains of chromatin can be recognised under the microscope, the nuclear and cytoplasmic elements being so intimately mixed together.

1) Hertwig, R., Arch. f. Protistenk. H. 1. p. 1 f.

2) Minchin, E. A., An introduction to the Study of the Protozoa. 1912.

Many of the Foraminifera exhibit an alternation of an asexual with a sexual generation and in both the young broods are formed by free nucleus- and free cell-formation from chromidia, that is to say, previous to subdivision the chromatin leaves the nuclei and new nuclei are formed from the Chromidium thus constituted, the protoplasm adjoining each new nucleus then separates from the rest and thus by free cell-formation the animalcule becomes subdivided into some hundreds of new beings.

Two examples of well-known chromidia that of *Mastigella Vitrea* and the early microgamete phase of a *Coccidium* are reproduced in Fig. I and with them I have placed another from a human cancer of rapid growth. In not one of the three is a complete nucleus present. Goldschmidt, as stated by Doflein¹⁾, has described Chromidia in the tissue

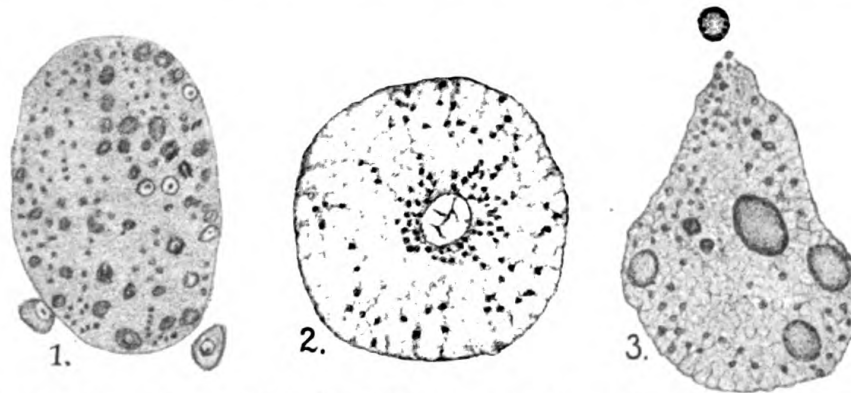


Fig. 1. Chromidia: 1 of *Mastigella Vitrea*, a mastigamoeba, Enlarged from Doflein after Goldschmidt; 2 Microgametocyte of *Coccidium Schubergi*, from Doflein after Schaudinn; 3 a chromidial protozoon $\times 2000:1$ from the choriocarcinoma described in the text.

cells of many metazoa. On p. 66 of the work already referred to Minchin has written: "In the tissue-cells of Metazoa as a general rule and in many protozoa the chromatin is concentrated entirely in the nucleus or nuclei and chromidia do not occur".

It may prove that the more specific products of the highly specialised cells of metazoa, the secretion elements of gland cells, for instance, are chromidial in their origin. I find that I described what has since become known as the chromidial condition in certain cells of cancer and sarcoma and in the early microgamete stage of *Coccidium oviforme* twenty-one years ago. Of one of the cells I regard as protozoa in a cancer²⁾ I wrote: "This phase of the parasite seems thus to be due to a generalisation of the chromatin preparatory to subdivision"; again of the early microgametic stage of *Coccidium oviforme*: "In this phase the parasite appears to be wholly nuclear in constitution".

I will now pass to the consideration of the minute structure of the section of a cancerous tumour in which the body drawn in Fig. 1c. occurs. The section, which I owe to the kindness of Prof. Alexander Primrose³⁾ of Toronto, who described the tumour as a Choriocarcinoma is one of the best histological preparations of Cancer that I have ever

1) Doflein, J., Lehrb. d. Protozoenkunde. 1909.

2) J. J. C., Med. Press and Circul. Sep. 20. 1893. p. 297.

3) Primrose, Alexander, Choriocarcinoma. (Annals of Surgery. June 1910.)

seen. It was taken from a portion of the tumour fixed in Zenker's fluid and is stained with Mallory's phosphotungstic acid-hæmatoxylin.

A body similar to that shown in Fig. I, 3, is referred to in Dr. O. R. Mabee's pathological report embodied in Prof. Primrose's article as a "Large multinucleated irregular deep-staining mass of protoplasm".

A portion of this Choriocarcinoma drawn carefully with the help of a Leitz's drawing-eye-piece is shown in Fig. II. The arrow 'a' points to a large body which lies near the middle of the drawing and which I have already described as a Chromidium and drawn under a higher power as Fig. I, 3. The arrow 'b' in Fig. II points to a spiral body the lower end of which is globular. Somewhat similar structures occur frequently among

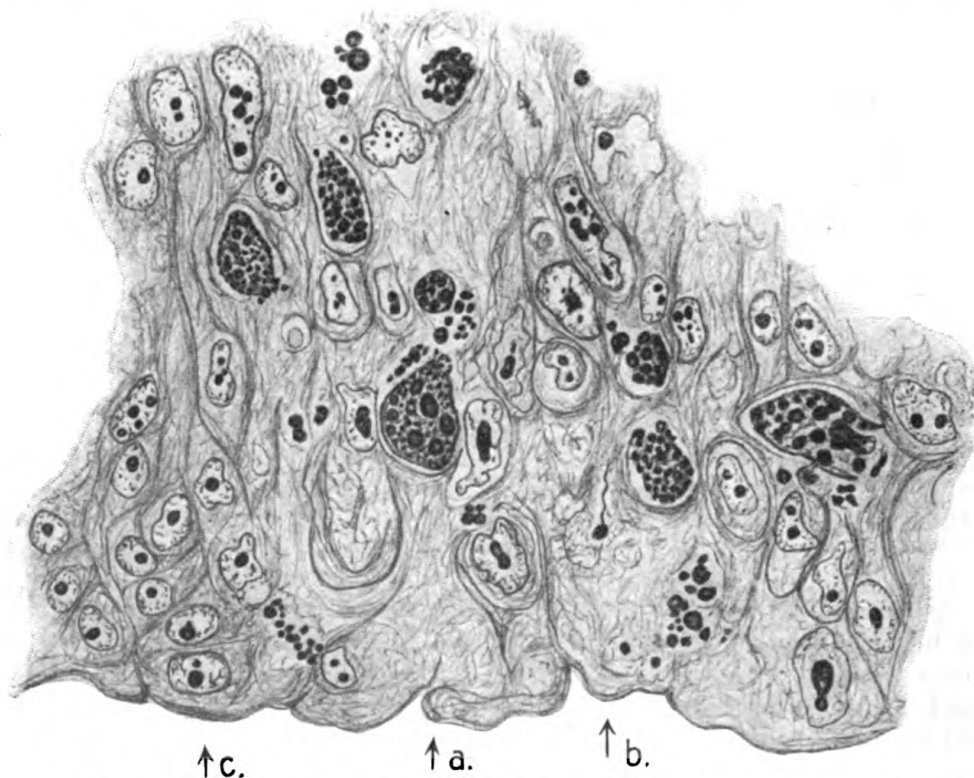


Fig. 2. A portion of a choriocarcinoma $\times 800:1$ outlines drawn under Leitz's $\frac{1}{12}$ o. i. and drawing eyepiece, details described in the text.

the Spirochætæ of syphilis and the occurrence of spiral bodies in this case is worthy of notice since Spirochætæ have been met with in human and in mouse-cancer, and in the infective sarcoma of dogs.

The arrow 'c' in the same figure points to the dense intranuclear bodies which are usually considered to be nucleoli in malignant growths, and which are considered in some detail below.

What is the origin of the protoplasmic masses such as are shown in Fig. I, 3 and in various places in Fig. II? By careful examination of the section under a $\frac{1}{12}$ -inch oil objective some of them are found to have been on the point of escaping from nuclei and such evidently began their career as dense so-called nucleoli which escape into the cytoplasm, thence into intracellular spaces. In this particular section many such bodies are stained a pale reddish colour and some of them show a vacuolated appearance as in Fig. III, 2, often noticeable in their intranuclear stage also. This escape of pseudo-nucleoli to form the larger chromidial bodies

is not so plainly seen in this choriocarcinoma as it was in that alveolar sarcoma of the breast which I described in this *Centralblatt* in 1903.

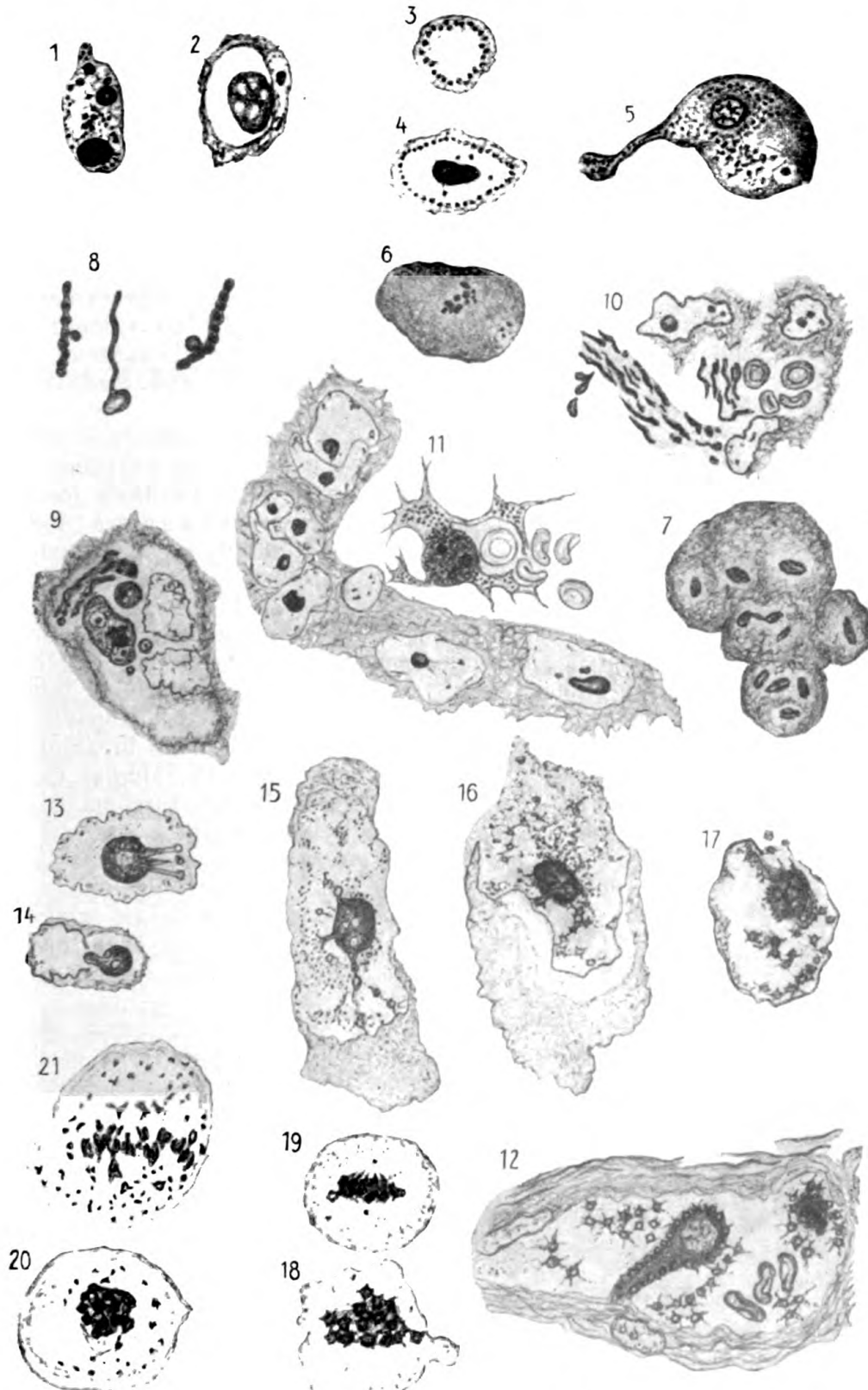


Fig. 3. Various structures from a choriocarcinoma, details described in the text.

At a later stage chromatin appears in the form of strands or granules. Such granules may be peripherally arranged as in Fig. III, 3 or both a central mass of chromatin and peripheral granules may both be present, Fig. III, 4.

Or a more definitely nucleus-like body may appear among chromidial granules as in Fig. III, 5. As in Fig. III, 6 the chromatic particles may appear in groups resembling chromosomes during mitosis, or they may be widely separated as in Fig. III, 7. In Fig. III, 8 the spirochæte-like body already referred to in Fig. I is drawn on a larger scale together with two other structures, in which minute spheroids are contiguous to filaments, and the latter contain round points of chromatin at regular intervals. The chromatin in some of the chromidia is filamentous as in some of the bodies shown in Fig. III, 9 and 10. In '9' spiral forms of the parasites are shown side by side with globular and irregular forms and two empty nuclear membranes and some cytoplasmic remains. In '10' tumour cells and red blood corpuscles are shown together with filamentous subdivisions of a parasite containing chromatic filaments and three ovoid bodies in which no chromatin has separated.

In this choriocarcinoma I have found a definite structure which, even when regarded as an isolated object, can hardly be anything save an amœboid protozoon, Fig. III, 11. It approaches the *Leydenia* form of *Chlamydophrys stercorea* as described by Schaudinn and of which Doflein (Lehrb. p. 584) has written that it was the first body to be established as a protozoon by an eminent protozoologist in a condition declared to be cancerous by a clinical authority. The body I now describe lies within an intercellular space in the tumour with some blood-cells. Its central part has the same character as the chromidia I have described above, its periphery consists of expansions containing minute but definite chromatic particles and terminating in fine pseudopodia.

Other protoplasmic masses or chromidia I found to be breaking up into stellate subdivisions as for instance in Fig. III, 12, similar to but smaller than those I have previously described in the sarcoma of the breast referred to above, and of which this choriocarcinoma recalls another feature: the possession of knobbed tentacles by some of the intranuclear bodies, e. g. Fig. III, 13. Many years ago similar structures led me to suspect that the parasites in the sarcoma of the breast might be suctoria, but prolonged study has led me to recognise them as belonging to the sarcodina, though many points in their life-history remain to be cleared up.

Not all the intranuclear parasites in this choriocarcinoma escape from the nucleus before they undergo further change: in many of them further development occurs whilst they are still within the nuclear membrane. In some instances Fig. III, 15, 16, and 17, I found that they give off peripheral extensions which subdivide into stellate amœbulæ which fill the nuclear membrane and pass beyond it, the nucleus and the whole cell becoming greatly enlarged. This mode of formation of Amœbulæ like that referred to above within the small blood-vessels recalls the mode of subdivision seen in some of the Foraminifera, for instance, in *Poly-stomella crispa*.

It remains now to add a few words on the mitotic figures seen in this section. They differ from those of normal human cells that I am familiar with, the regular stages of such mitosis being absent: there is, for example, no spireme stage, and the chromosomes have polygonal outlines;

and their mode of origin is different as Fig. III, 18 shows: here are chromosomes being formed by the loosening of a previously dense intranuclear body. The mitotic figure is complete with centrosomes in Fig. III, 19. In the same figure nos. 20 and 21 show mitoses in cells in which there are within the cytoplasm numerous particles which stain darker than the chromosomes, black as compared with blue.

The mode of origin of the chromosomes in these mitoses and their polygonal form confirm me in the opinion that they belong to parasites as I have previously stated of similar mitoses in other malignant growths.

London, 18. März 1914.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. Helminthen und Protozoen.

XVIII. Mitteilung¹⁾.

Von Dr. E. Saul, Berlin.

Mit 3 Tafeln.

Virchow hat als erster den Nachweis erbracht, daß das Carcinom, ebenso wie die meisten Infektionskrankheiten, Perioden gesteigerter Frequenz zeigt (Med. Reform. 1849. N. 49. p. 264). In Uebereinstimmung mit Marc d'Espine (Écho méd. 1858) gelangte er zu dem Ergebnis, daß die Carcinom- und die Tuberkulosemortalität bei Eintritt der warmen Jahreszeit eine Art epidemischer Steigerung darbietet, und zwar bringt der Sommer (Juli, August, September) das Maximum, der Herbst (Oktober, November, Dezember) das Minimum der Krebsmortalität, während Frühling und Winter mit fast gleichen Zahlen zwischen dem Maximum und dem Minimum stehen (Virchows Arch. Bd. 27. 1863. p. 427). Virchow hebt hervor, daß seine Feststellungen sich über einen Zeitraum von 4 Jahren erstreckt und zu konstanten Ergebnissen geführt hätten. In diesem Zusammenhang ist daran zu erinnern, daß nach den Beobachtungen Griesingers die durch Bilharzia-Würmer hervorgerufenen Infektionen des Menschen in den Monaten Juni, Juli, August sich häufen. Dieselbe Periode gesteigerter Frequenz besitzen die endemisch auftretenden Adenome der menschlichen Schilddrüse (vgl. v. Eiselsberg, Deutsche Chirurgie. Bd. 38. 1901. p. 60). Dagegen zeigt das Carcinom der Mäuse im Frühjahr und im Herbst die größte Frequenz, wie Nègre im Laboratorium Borrels konstatiert hat (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1910. p. 125). — Die durch Protozoen, Helminthen oder Milben hervorgerufenen Infektionen der Pflanzen, die Tumoren zur Folge haben, geschehen hauptsächlich im Monat Mai.

Eberth²⁾ war der erste, der die Möglichkeit ätiologischer Beziehungen, die zwischen Helminthen und Tumoren bestehen, in Erwägung zog. Da er zahlreiche Distomen und Nematoden in den Hautdrüsen eines Frosches fand, der multiple Adenome der äußeren Körperdecke

1) Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913; ebenda Bd. 66. 1912 usw.

2) Virchows Arch. Bd. 44. 1863. p. 12.

darbot, so erörterte Eberth, daß die genannten Helminthen für die Aetiologie der Adenome in Betracht kämen. Seit der Beobachtung Eberths hat die helminthologische Forschung steigende Bedeutung für die Geschwulstätiologie gewonnen. Z. B. erzeugt der Wurm *Strongylus convolutus*, den etwa 90 Proz. aller Rinder beherbergen, wie v. Ostertag¹⁾ (im Jahre 1890) feststellen konnte, in dem Magen dieser Tiere Papillome. Und Löwenstein²⁾ zeigte (im Jahre 1910), daß als Erreger von Papillomen der Harnblase und der Nieren bei Ratten der Wurm *Trichodes crassicauda specifica* zu gelten hat. Derselbe dürfte mit der *Filaria rhytipleurites* identisch sein, die Fibiger³⁾ (im Jahre 1913) als Erreger von gutartigen und bösartigen Harnblasentumoren bei Ratten beschrieben hat. Ich selbst⁴⁾ konnte in Versuchen, für die der *Cysticercus fasciolaris*, ein Schmarotzer der Mäuseleber, als Testobjekt diente, nachweisen (im Jahre 1908), daß mit demselben chronische Intoxikationen oder Tumoren der Subcutis bei Mäusen experimentell hervorgerufen werden können; dieselben stimmen histologisch überein mit den sarkomatösen Tumoren, die der Bilharzia-Wurm in der Submucosa der menschlichen Harnblase verursacht.

Tritt im Gefolge der Helminthiasis Tumorentwicklung ein, so ist dieselbe an Prozesse des Abbaues und Aufbaues lebender organischer Substanz geknüpft, wie die folgenden Photogramme lehren:

Fig. 1. Schnittpräparat von der Harnblasenschleimhaut einer Ratte, die mit dem Wurm *Trichodes crassicauda specifica* infiziert war. (Nach Löwenstein.) Färbung: Hämatoxylin-Eosin.

Man erkennt auf der Oberfläche der Harnblasenschleimhaut ein Ei des genannten Wurmes. Nach den Untersuchungen von Beijerinck⁵⁾ haftet der Wucherungsreiz an Stoffwechselprodukten des lebenden Eies. Diese können, wie die Abbildung lehrt, die Epithelien der Harnblasenschleimhaut zur Proliferation reizen, bevor das Ei in die Mucosa eingedrungen ist.

Fig. 2. Schnittpräparat von der Harnblasenschleimhaut einer Ratte, die mit dem Wurm *Trichodes crassicauda specifica* infiziert war. (Nach Löwenstein.) Färbung: Hämatoxylin-Eosin.

Das Ei liegt in einer Lücke der Mucosa; um seine Lagerstätte haben Zellenproliferationen stattgefunden. Nach den Untersuchungen von Weidel⁶⁾ entsteht die Lücke, in der das Ei ruht, dadurch, daß die Stoffwechselprodukte des letzteren die zur Proliferation gereizten Zellen der Mucosa nachträglich zur Auflösung bringen.

Fig. 3. Schnittpräparat von der Harnblasenschleimhaut einer Ratte, die mit dem Wurm *Trichodes crassicauda specifica* infiziert war. (Nach Löwenstein.) Färbung: Hämatoxylin-Eosin.

Man bemerkt zahlreiche Helminthen, die in großen Lücken der Mucosa liegen; in der Umgebung derselben haben sich Epithelproliferationen entwickelt.

1) Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1890. H. 1.

2) Beitr. z. klin. Chir. Bd. 69. 1910 u. Bd. 76. 1911.

3) Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 13. 1913; ebenda Bd. 14. 1914.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 444; ebenda Bd. 49. 1909. p. 80 ff.; ebenda Bd. 50. 1909. p. 438.

5) Abhandl. d. Kgl. niederländ. Akad. d. Wissensch. Bd. 22. 1882. u. Bot. Zeitg. 1888. N. 1.

6) Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und vergleichenden Anatomie der Cynipiden-Gallen. (Allgem. Botan. Zeitschr. 1911. N. 1 u. 2.)

Die folgenden Photogramme lehren, daß die in den Fig. 1—3 dargestellten Vorgänge auch beobachtet werden können, wenn geschwulst-erregende Insekten pflanzliches Gewebe zur Tumorbildung reizen.

Fig. 4. Schnittpräparat einer Knospe, die mit einem Gallwespen-*ovum* belegt ist. (Nach Weidel.) Färbung: nach Flemming. Vergr. 1:40. Die Abbildung zeigt zwischen den Falten eines Knospenblattes ein Gallwespen-*ovum*.

Fig. 5. Schnittpräparat einer Knospe, die mit einem Gallwespen-*ovum* belegt ist. (Nach Weidel.) Färbung: nach Flemming. Vergr. 1:100.

Das Präparat läßt die ersten Anfänge der Tumorentwicklung erkennen. An der Stelle, wo das Ei liegt, haben Stoffwechselprodukte desselben die pflanzlichen Zellen zur Hypertrophie gereizt. Kern und Protoplasma der hypertrophischen Zellen sind infolge ihrer gesteigerten Tinktionsfähigkeit von den angrenzenden normalen Zellen sicher zu unterscheiden.

Fig. 6. Schnittpräparat einer Knospe, die mit einem Gallwespen-*ovum* belegt ist. (Nach Weidel.) Färbung: nach Flemming. Vergr. 1:100.

Die Zellen, die durch das *Wespen-ovum* zur Hypertrophie gereizt waren, sind unter fortgesetzter Einwirkung der Stoffwechselprodukte des Eies der Auflösung verfallen. Die cystische Höhle, die auf diese Weise entsteht, dient zur Aufnahme des *Wespen-ovums*. Allmählich entwickeln sich in der Umgebung des letzteren Zellenproliferationen, aus denen der pflanzliche Tumor resultiert.

Die Fig. 4—6 lehren, daß die Vorgänge, aus denen unter Einwirkung eines geschwulsterregenden Insektes ein pflanzlicher Tumor hervorgeht, den Vorgängen gleichen, die im Gefolge der Helminthiasis bei Tieren Tumoren herbeiführen. Derartige Erfahrungen erinnern an Betrachtungen, die Virchow¹⁾ an den Schluß der Cellularpathologie gesetzt hat: „Der Pathologe gewinnt durch die Kenntnis der botanischen Vorgänge die wertvollsten Anknüpfungspunkte für das Verständnis der Krankheiten.“

Ich wende mich nunmehr zu den Protozoen. Unter diesen haben insbesondere die Coccidien das Interesse der Tumorforscher gefesselt. M. Askanazy²⁾, Marchand³⁾ und R. Pfeiffer⁴⁾ berichten übereinstimmend, daß Coccidien Gallengangsadenome bei Kaninchen hervorrufen können, eine Erfahrung, die dadurch an Bedeutung gewinnt, daß nach den Untersuchungen von M. Goldzieher und v. Bokay⁵⁾ hyperplastische Wucherungen der Gallengänge eine wesentliche Vorbedingung für die Genese des Leberkrebses sind.

Nach meinen Beobachtungen wirken die Coccidien auf die Epithelien der Gallengänge nicht proliferierend, sondern destruierend, wie auch Lubarsch⁶⁾ hervorhebt. Dagegen rufen sie im periportalen Bindegewebe der Leber ausgedehnte hyperplastische Prozesse hervor, eine Wirkung, die an den Stoffwechselprodukten der Coccidien haften dürfte. Die folgenden Photogramme bringen die betreffenden Befunde zur Darstellung.

1) Cellularpathologie. 4. Aufl. 1871. p. 574.

2) Lehrb. d. pathol. Anat., herausg. v. L. Aschoff. Bd. 1. 1913. p. 222.

3) Handb. d. allgem. Pathol. Bd. 1. 1908.

4) Die Coccidienkrankheit der Kaninchen. Berlin 1892.

5) Goldzieher, M., u. v. Bokay, Der primäre Leberkrebs. (Virchows Arch. Bd. 203. 1911.)

6) Patholog. Anatomie u. Krebsforschung. Wiesbaden 1902. p. 25.

Fig. 7. Schnittpräparat einer Kaninchenleber. Fall von Coccidiose. Giemsa-Färbung. Vergr. 1:40. Im Gesichtsfeld erscheint der Querschnitt eines Gallenganges; die Umgebung des letzteren ist kleinzellig infiltriert, das periportale Bindegewebe gewuchert.

Fig. 8. Dasselbe Präparat in stärkerer Vergrößerung (1:150). — Man erkennt, daß die kleinzellige Infiltration hauptsächlich durch Lymphocyten bedingt wird. Im Lumen des Gallenganges liegen Coccidiencysten, die durch die Fixierung und Färbung fast bis zur Unkenntlichkeit entstellt sind. Da die jungen Coccidien innerhalb der Epithelien als Granula erscheinen, so können sie von Derivaten ihrer Wirtszellen nicht sicher unterschieden werden, wie bereits R. Pfeiffer¹⁾ hervorgehoben hat.

Fig. 9. Schnittpräparat einer Kaninchenleber. Fall von Coccidiose. Giemsa-Färbung. Vergr. 1:40. Das Gesichtsfeld zeigt vier Coccidienkolonien, die sich in Lücken des periportalen Bindegewebes entwickelt haben. Aehnlich wie die Eier geschwulsterregender Tiere können die Coccidien vermöge ihrer Stoffwechselprodukte das Gewebe der nächsten Umgebung zur Auflösung bringen, während sie in der weiteren Umgebung nicht destruierend, sondern proliferierend auf das periportale Bindegewebe wirken. Ihr physiologisches Analogon finden diese Prozesse bei der Gravidität; denn an der Stelle, wo das befruchtete Ovulum der Uteruswand anliegt, verfällt nach den Untersuchungen von Graf Spee²⁾ die Mucosa der Auflösung, während in der weiteren Umgebung die Stoffwechselprodukte des befruchteten Ovulums die hypertrophischen und hyperplastischen Prozesse des Uterus und seiner Adnexe herbeiführen, die die Gravidität begleiten.

Fig. 10. Schnittpräparat einer Kaninchenleber. Fall von Coccidiose. Giemsa-Färbung. Vergr. 1:40. Man erkennt im periportalen Bindegewebe eine dreikammerige, cystische Höhle. Unter Einwirkung der Coccidien ist die Auflösung des periportalen Bindegewebes derart fortgeschritten, daß die einzelnen Coccidienherde nur durch schmale Bindegewebssepten gegeneinander begrenzt werden. An der Wandung jeder cystischen Höhle bemerkt man Aggregate von Coccidien.

Fig. 11. Schnittpräparat einer Kaninchenleber. Fall von Coccidiose. Giemsa-Färbung. Vergr. 1:200.

In einer breiten Lücke des gewucherten periportalen Bindegewebes liegt eine Coccidienkolonie. Die Coccidien sind in regelmäßigen Reihen angeordnet und so dicht gelagert, daß sie sich, ähnlich wie Epithelien, gegenseitig abplatteten und polyedrische Formen gewinnen. Befunde dieser Art machen erklärlich, daß die Coccidien im Beginn der ätiologischen Aera von pathologischen Anatomen als Epithelien gedeutet wurden.

Ich wende mich nun nochmals zu den Helminthen.

Fig. 12. Das Präparat entstammt einem etwa wallnußgroßen Tumor, der in dem Magen eines Kaninchens gefunden wurde. Der Tumor saß breitbasig an der großen Kurvatur des Magens, hatte glatte Oberfläche und prallelastische Konsistenz. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß die Neubildung durch einen *Cysticercus* hervorgerufen war, der in einem Hohlraum des Tumors lag. Wie die Abbildung lehrt, wird das Tumorgewebe von den gewucherten Wandungen eines verödeten Blutgefäßes gebildet. Der Wucherungsreiz haftet ebenso wie bei den

1) l. c.

2) Anat. Anz. 1896. p. 132 ff.

Coccidien und den geschwulsterregenden Insekten an den Stoffwechselprodukten des *Cysticercus*, wie ich in früheren Veröffentlichungen¹⁾ darlegen konnte. Im Lumen des verödeten Blutgefäßes erkennt man Kopf, Hals und Schwanzblase des *Cysticercus*. — Giemsa-Färbung. Vergr. 1:30.

Fig. 13. Dasselbe Präparat in stärkerer Vergrößerung (1:100). Im Gesichtsfelde erscheinen Kopf, Hals und Schwanzblase des *Cysticercus*. Am Kopf des *Cysticercus*: die Haken des Hakenkranzes und die vier Saugnapfe.

Fig. 14. Randteil des in Fig. 12 dargestellten Präparates in starker Vergrößerung (1:200). — In der Wandung des Tumors unterscheidet man Intima, Media und Adventitia; letztere zeigt den Querschnitt eines Vas vasorum. Intima, Media und Adventitia erscheinen stark gewuchert und kleinzellig infiltriert. Nur selten erfolgt unter Einwirkung eines *Cysticercus* eine so erhebliche Zellenproliferation; meistens bleibt diese auf die Intima beschränkt, während Media und Adventitia atrophieren. Die folgenden Photogramme mögen zur Erläuterung dienen.

Fig. 15. Schnittpräparat von der Kapsel eines *Cysticercus fasciolaris*, die durch die Wandungen eines verödeten Blutgefäßes gebildet wird. Man unterscheidet im Uebersichtsbild die wellenförmigen Linien der Intima, darauf folgen Media und Adventitia. Gieson-Färbung. Vergr. 1:30.

Fig. 16. Dasselbe Präparat in stärkerer Vergrößerung (1:100).

Die Abbildung lehrt, daß die Reizung zur Gewebsproliferation auf die Intima beschränkt blieb, während Media und Adventitia atrophisch erscheinen. Die kleinzellige Infiltration betrifft Intima und Media. Befunde dieser Art erinnern an arteriitische Prozesse, wie sie bei nicht infizierter Thrombose oder nicht infizierter Embolie beobachtet werden. In dem vorliegenden Falle ist der Embolus der *Cysticercus fasciolaris*.

Ich wende mich nun nochmals zu den Protozoen. Alle diejenigen, die behaupteten, daß Protozoen für die Aetiologie bösartiger Tumoren in Betracht kommen, stützten sich auf die Befunde von Woronin²⁾ und Nawaschin³⁾.

Diese Forscher zeigten, daß die *Plasmodiophora brassicae* an der Wurzel vieler Cruciferen, insbesondere an der Kohlwurzel, Anschwellungen und echte parasitäre Geschwülste erzeugt. Da die *Plasmodiophora*-Parasiten in den infizierten Pflanzenzellen als Granula oder als Vakuolen erscheinen, so waren einige Autoren geneigt, die Granula und Vakuolen, die häufig in Carcinomzellen nachgewiesen werden können, als Parasiten zu deuten. Gegen diese Auffassung hat Lubarsch⁴⁾ mit Recht den Einwand erhoben, daß in jungen carcinoma-tösen Metastasen oft weder Granula noch Vakuolen nachweisbar sind. Die Granula und Vakuolen, die insbesondere in Zellen älterer carcinoma-töser Tumoren gefunden werden, müssen deshalb als Sekretionsprodukte des Protoplasma, bzw. als Lücken desselben gedeutet werden. Auch ist hervorzuheben, daß intracelluläre Mikroorganismen erfahrungsgemäß

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. 47. 1908. p. 444; ebenda Bd. 49. 1909. p. 80 u. ff.; ebenda Bd. 50. 1909. p. 438. — Berl. klin. Wochenschr. 1908. No. 49. p. 2206.

2) Pringsheime Jahrb. Bd. 11. 1878.

3) Flora. 1899.

4) Pathol. Anat. u. Krebsforsch. Wiesbaden 1902. p. 59.

menschliche oder tierische Zellen nicht zur Hyperplasie, sondern lediglich zur Hypertrophie reizen. — Die folgenden Photogramme bringen hypertrophische Prozesse zur Darstellung, die durch intracelluläre Protozoen bei Tieren hervorgerufen wurden.

Fig. 17. Schnittpräparat durch das extracranielle Hauptganglion des Nervus vagus von *Lophius piscatorius*. [Nach Weissenberg¹.] Färbung mit Saffranin und Delafields Hämatoxylin. Vergr. 1:40. Neben Ganglienzellen normaler Größe (*g*) erkennt man fünf hypertrophische Ganglienzellen. Zwei von ihnen (*h*₁ und *h*₂) sind im Zusammenhang mit ihren Glugea-Parasiten getroffen. Bei den anderen drei Ganglienzellen liegen die zugehörigen Glugea-Parasiten nicht in der Schnittebene. In der Umgebung der infizierten Ganglienzellen haben die Stoffwechselprodukte der Glugea-Parasiten Bindegewebsproliferationen hervorgerufen.

Fig. 18. Hypertrophische Ganglienzelle, die mit Glugea-Parasiten infiziert ist, isoliert aus einem extracraniellen Hauptganglion des Nervus vagus von *Lophius piscatorius*. (Nach Weissenberg.) Färbung nach Heidenhain. Vergrößerung 1:40. — Man unterscheidet an der isolierten Ganglienzelle den Zellkern, die dendritenartigen Fortsätze des Zellkörpers und das Plasma der Ganglienzelle. Im Plasma: drei Glugea-Parasiten (*a*, *b*, *c*).

Bei den Glugea-Parasiten entsteht, ebenso wie bei den Coccidien, die Frage: Wie können Mikroorganismen, die der Bewegungsorgane ermangeln, in fixe Gewebelemente eindringen, und wie vollziehen sie ihre Wanderungen in den Organen des Wirtes? Die hier in Betracht kommenden Vorgänge sind durch die Untersuchungen von Neeresheimer²) unserem Verständnis näher gerückt. Dieser Autor zeigte, daß Protozoen den Außenkontur von Metazoenzellen vermöge ihrer Stoffwechselprodukte partiell zur Auflösung bringen und dadurch Eintritt in die Metazoenzellen gewinnen können. Die folgenden Abbildungen erläutern die betreffenden Prozesse.

Fig. 19. Verschiedene Stadien des Eindringens von *Lankesterella specifica* in das Froschblutkörperchen. (Nach Neeresheimer.) Färbung nach Giemsa. Vergr. 1:500.

Zeichnung 1—3: Stadien des Eindringens von *Lankesterella specifica* in das Froschblutkörperchen.

Zeichnung 5—9: Umformung der *Lankesterella*-Parasiten, nachdem sie in das Froschblutkörperchen eingedrungen sind.

Zeichnung 10: Ein Froschblutkörperchen, in dem vier *Lankesterella*-Parasiten liegen.

Fig. 20. Verschiedene Stadien des Eindringens von *Lankesterella specifica* in das Froschblutkörperchen. (Nach Neeresheimer.) Färbung nach Giemsa. Vergr. 1:500.

Die Zeichnungen 1—6 zeigen die Formveränderungen, die das Froschblutkörperchen durch die Stoffwechselprodukte des *Lankesterella*-Parasiten erfährt, sobald dieser sich dem Erythrocyten nähert.

Die tägliche Erfahrung lehrt, daß ähnlich wie die *Lankesterella*-Parasiten oder wie die Coccidien oder wie die Eier geschwulsterregender

1) Arch. f. mikroskop. Anat. Bd. 78. 1911.

2) Arch. f. Protistenk. Bd. 16. 1909.



Fig. 1.

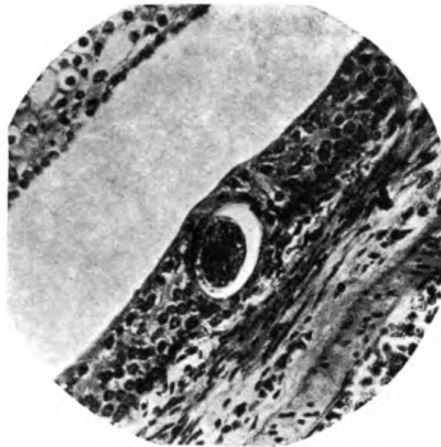


Fig. 2.



Fig. 3.

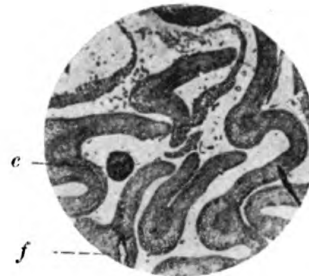


Fig. 4.

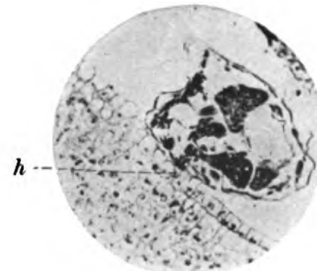


Fig. 5.



Fig. 7.

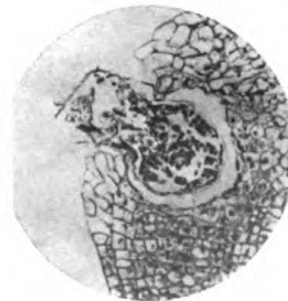


Fig. 6.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

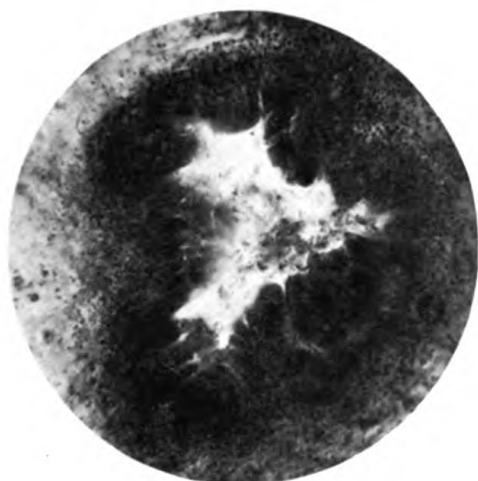


Fig. 8.

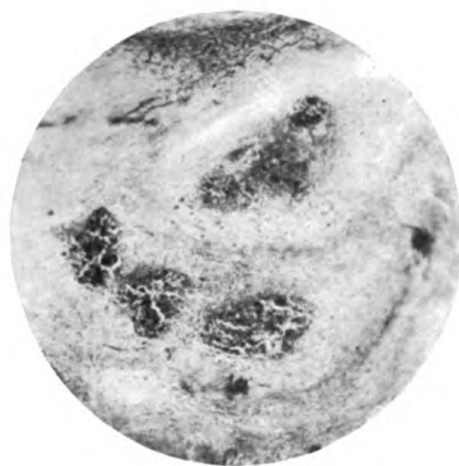


Fig. 9.

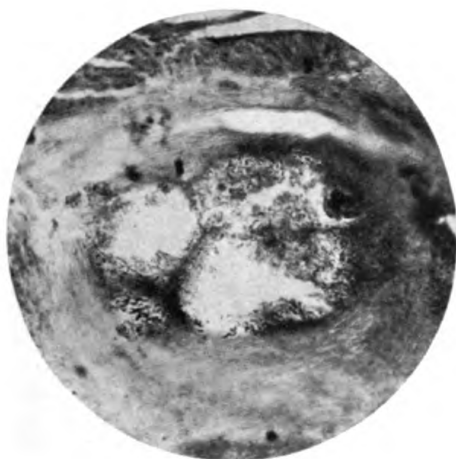


Fig. 10.

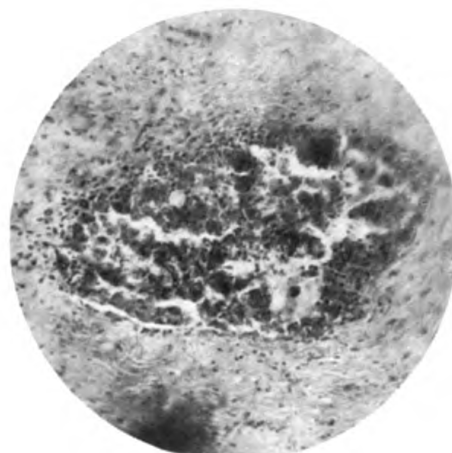


Fig. 11.



Fig. 12.

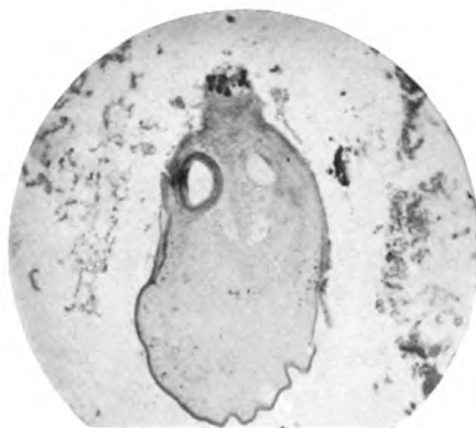


Fig. 13.



Fig. 14.

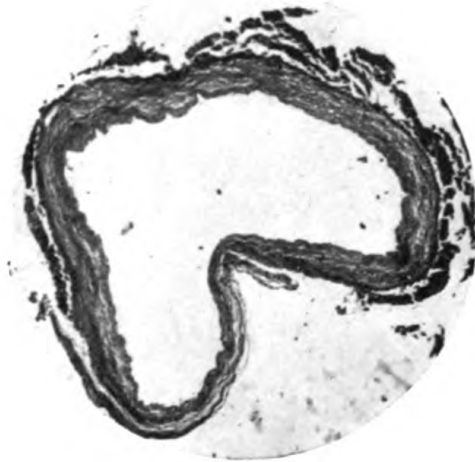


Fig. 15.

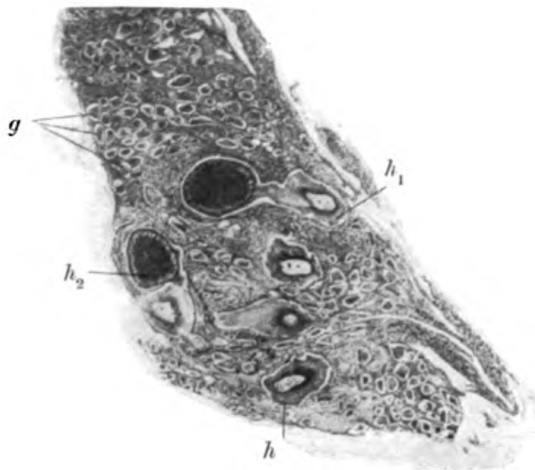


Fig. 17.

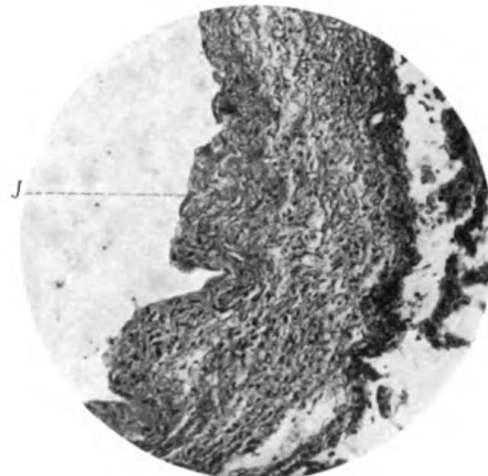


Fig. 16.



Fig. 18.

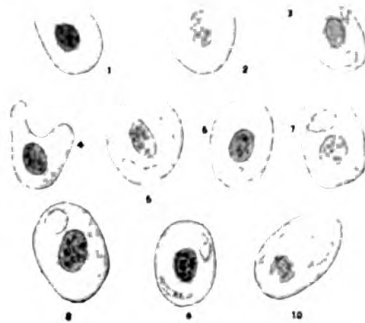


Fig. 19.



Fig. 20.

Helminthen oder wie die Eier geschwulsterregender Insekten, auch die Zellen bösartiger Tumoren auflösend auf die Zellen angrenzender Gewebe wirken. Als Ursache dieses verhängnisvollen Chemismus, auf dem die Fähigkeit der malignen Geschwülste beruht, infiltrierend und destruierend zu wachsen, kommen in Betracht:

- 1) Parasiten, bzw. ihre Stoffwechselprodukte. (Vgl. Centralbl. f. Bakt. Bd. 71. 1913. p. 59 ff.)
- 2) Präformierte Gifte, z. B. Produkte der Anilinfarbenindustrie. (Vgl. Arch. f. klin. Chir. Bd. 50. 1895. p. 588 ff.)
- 3) Photo-chemische Schädlichkeiten, z. B. Röntgenstrahlen.

Nachdruck verboten.

Contribution à l'étude de l'étiologie du goître endémique. Goîtres expérimentaux produits chez des rats blancs par alimentation avec de l'eau d'une zone à goître.

[Institut d'Hygiène expérimentale et de Parasitologie de l'Université de Lausanne (Prof. Dr. B. Galli-Valerio).]

Par le Dr. Fr. Messerli.

Avec 8 figures.

Dans une thèse¹⁾ faite à l'institut d'hygiène de l'université de Lausanne, j'avais indiqué le fait que des rats blancs, animaux déjà employés surtout par E. Bircher pour les recherches sur le goître, avaient été soumis à des expériences afin de déterminer le rôle génétique de l'eau, particulièrement de l'eau souillée, dans l'endémie goitreuse. Pour ces expériences j'ai utilisé l'eau de Payerne²⁾, que j'ai distribué comme unique boisson à des rats blancs, tandis que des rats témoins recevaient de l'eau de Lausanne, provenant du Pays-d'Enhaut, qui a toujours donné des résultats négatifs avec l'agar au Neutralrot d'Oldekop³⁾.

Par une statistique militaire⁴⁾ portant sur six années de recrutement (1907—1912) j'ai démontré que la région de Payerne présentait le plus fort pourcentage de recrues goitreuses du canton de Vaud, soit 9.7 %, tandis que la ville elle-même comptait 21 cas autochtones.

Une enquête faite sur les captages et provenances des eaux de cette ville m'a démontré qu'il s'agissait d'eau de drainage d'origine totalement superficielle. Les analyses chimiques et bactériologiques de ces eaux donnent des résultats confirmant leur origine superficielle et leur infection. En effet elles contiennent jusqu'à 35,9 mgr, de matières organiques par litre avec présence d'ammoniaque et de nitrites, jusqu'à 15340 colonies bactériennes par centimètre cube avec présence de *B. coli*, de *B. paratyphi B*, de *B. fluorescens liquefaciens* et de *B. proteus*; en outre, cette eau présente de fortes oscillations dans le nombre des colonies.

Voici d'ailleurs un graphique montrant le nombre des colonies trouvées par centimètre cube dans une chambre de captage lors de différentes analyses.

1) Messerli, Fr. Contribution à l'étude de l'étiologie du goître endémique. Lausanne 1913. p. 73.

2) Payerne, ville située dans la vallée de la Broye, (canton de Vaud, Suisse).

3) Consulter Galli-Valerio, B. et Bornand, M., Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 36. 1912. p. 567—573.

4) Ouvrage cité, p. 57.

Graphique du nombre de colonies par centimètre cube de l'eau utilisée (Payerne) dans les expériences suivantes.

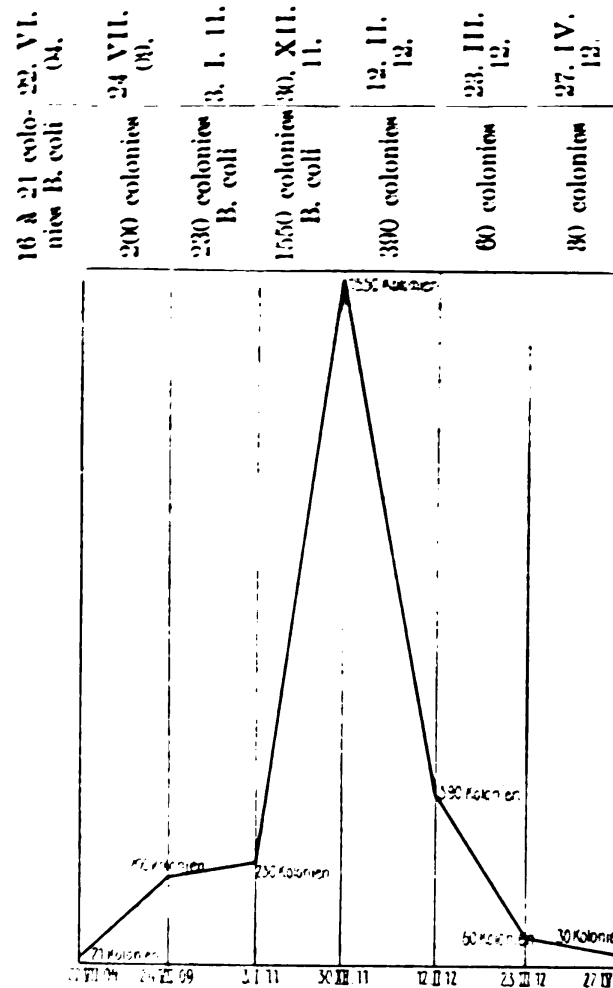


Fig. 1. Les analyses chimiques de cette eau indiquent toujours de fortes quantités de matières organiques (jusqu'à 35,0 mgr par litre), la présence d'ammoniaque (de 0,15 à 0,20 au moyenne) et de faibles traces de nitrites.

Voici en résumé les résultats des expériences faites sur les rats:
A. Expériences commencées le 10 déc. 1912.

I^{re} série: 10 rats, âgés de 2 à 3 mois environ, d'égale grandeur et paraissant en bon état et bonne santé.

Ces rats, à part un seul, qui survécut huit mois, sont morts en moins de trois mois.

I^{er} groupe: 3 rats, buvant de l'eau de Payerne ordinaire à partir du 10 déc. 1912.

Rat No. 1: mort le 19 déc. 1912
Rat No. 2: mort le 6 janv. 1913
Rat No. 3: mort le 22 janv. 1913

Tous après symptômes
de diarrhée et paralysie
des membres postérieurs.

A l'autopsie: dans les trois cas, rate visible à l'ouverture de l'abdomen, 3 à 5 fois plus volumineuse que normalement; intestin hyperhémicié; glande thyroïde: petite, normale.

II^e groupe: 3 rats blancs buvant de l'eau de Payerne cuite à partir du 10 déc. 12.

Rat No. 4: mort le 4 janv. 1913.
Rat No. 5: mort le 17 janv. 1913.
Rat No. 6: mort le 12 févr. 1913.

Pas de diarrhée, ni paralysie des membres postérieurs.
A l'autopsie: rate de grandeur normale; intestin normal; thyroïdes: petites, normales.

III^e groupe: 2 rats buvant de l'eau de Lausanne ordinaire à partir du 10 déc. 1912.

Rat No. 7: mort le 17 janv. 1913. } Pas de diarrhée, ni paralysie
 Rat No. 8: mort le 23 janv. 1913. } des membres postérieurs.

A l'autopsie: rate légèrement augmentée de volume: intestin un peu hyperhémicié contenant des „Trichomonas muris-Galli-Vallerio“; glandes thyroïdes: normales.

IV^{me} groupe: 2 rats buvant de l'eau de Lausanne ordinaire du 10 déc. 1912 au 10 mars 1913; puis de l'eau de Payerne ordinaire.

Rat No. 9: mort le 16 mars 1913, après symptômes de diarrhée et paralysie des membres postérieurs.

A l'autopsie: rate visible à l'ouverture de la cavité péritonéale (4 fois trop volumineuse); intestin légèrement hyperhémicié; corps thyroïde de grandeur normale.

Rat No. 10: mort le 10 août 13, après symptômes de diarrhée et paralysie des membres postérieurs.

A l'autopsie: rate volumineuse (4 à 5 fois plus grande que normalement), visible à l'ouverture de l'abdomen; intestin ballonné et légèrement hyperhémicié; corps thyroïde très volumineux, dont voici les dimensions:

Largeur (transversalement)	lobe dr.	= 3 mm
	lobe g.	= 3,5 „
	2 lobes + isthme	= 9 „
Epaisseur (antéro-postérieure)	lobe dr.	= 3,5 „
	lobe g.	= 3 „
Hauteur (verticalement)	lobe dr.	= 8 „
	lobe g.	= 7,5 „

d'où le diagnostic macroscopique: „d'hypertrophie générale de la thyroïde“.

B. Expériences commencées le 18 janv. 1913.

II^{me} série: 7 rats blancs, provenant de la même nichée et nés à Lausanne au début de novembre 1912. Parents nés et ayant toujours vécu à Lausanne.

I^{er} groupe: 4 rats buvant de l'eau de Payerne ordinaire à partir du 18 janv. 1913.

Rat No. 11: mort le 30 sept. 1913, après avoir présenté des symptômes intestinaux (diarrhée et paralysie des membres postérieurs).

A l'autopsie: rate très volumineuse (3 à 4 fois la grandeur normale) visible déjà à l'ouverture du péritoine; masse gastro-intestinale ballonnée, intestin hyperhémicié; corps thyroïdes volumineux avec les dimensions suivantes:

Largeur	lobe dr.	= 3,5 mm
	lobe g.	= 3,5 „
	2 lobes + isthme	= 8,5 „
Epaisseur	lobe dr.	= 3,5 „
	lobe g.	= 4 „
Hauteur	lobe dr.	= 8,5 „
	lobe g.	= 8,5 „

Diagnostic macroscopique: „hypertrophie générale de la thyroïde“.

Rat No. 12. Tué le 12 janv. 1914.

Autopsie: Poids du corps 190 gr.

Rate normale (poids 0,425 gr).

Intestin un peu ballonné, aspect normal.

Corps thyroïdes très volumineux, dimensions:

Largeur	lobe dr.	= 6 mm
	lobe g.	= 5 „
	2 lobes + isthme	= 18 „
Epaisseur	lobe dr.	= 5,5 „
	lobe g.	= 5 „
Hauteur	lobe dr.	= 15 „
	lobe g.	= 13 „

Diagnostic macroscopique: „hypertrophie générale de la thyroïde.“

Rat No. 13. Tué le 12 janv. 1914.

Autopsie: Poids du corps: 270 gr.

Poids de la rate: 0,525 gr (normale).

Intestin ballonné, teinte normale.

Corps thyroïdes très volumineux, dimensions:

Largeur	lobe dr.	= 5,5 mm
	lobe g.	= 5 „
	2 lobes + isthme	= 18 „
Epaisseur	lobe dr.	= 5 „
	lobe g.	= 4,5 „
Hauteur	lobe dr.	= 13 „
	lobe g.	= 11 „

Diagnostic macroscopique: „hypertrophie générale de la thyroïde.“

Rat No. 14. Tué le 12 janv. 1914.

Autopsie: Poids du corps: 250 gr.

Poids de la rate: 0,450 gr.

Intestin ballonné, teinte normale.

Corps thyroïde hypertrophié, dimensions:

Largeur	lobe dr.	= 7	mm
	lobe g.	= 5	"
	2 lobes + isthme	= 13	"
Epaisseur	lobe dr.	= 5,5	"
	lobe g.	= 5	"
Hauteur	lobe dr.	= 11	"
	lobe g.	= 12	"

Diagnostic macroscopique: „hypertrophie générale de la thyroïde.“



5 Mon.



8 Mon.

(après 3 mois d'eau de Lausanne)

Fig. 2. Projections antéro-postérieures de corps thyroïdes de rats blancs ayant bu de l'eau de Payer ne pendant 5 et 8 mois.

II^{me} groupe: 3 rats buvant de l'eau de Lausanne ordinaire (eau provenant du Pays d'Enhaut) depuis le 18 janv. 1913.

Rat No. 15. Tué le 12 janv. 1914.

Autopsie: Poids du corps: 300 gr.

Rate normale, poids: 0,450 gr.

Intestin normal.

Corps thyroïde petit, normal comme dimensions:

Largeur	lobe dr.	= 3	mm
	lobe g.	= 2	"
	2 lobes + isthme	= 8	"
Epaisseur	lobe dr.	= 4	"
	lobe g.	= 3,5	"
Hauteur	lobe dr.	= 7,5	"
	lobe g.	= 7	"

Rat No. 16. Tué le 12 janv. 1914.

Autopsie: Poids du corps: 200 gr.

Poids de la rate: 0,425 gr (normale).

Intestin normal.

Corps thyroïde petit, normal; dimensions:

Largeur	lobe dr.	= 2	mm
	lobe g.	= 1,5	"
	2 lobes + isthme	= 7,5	"
Epaisseur	lobe dr.	= 3,5	"
	lobe g.	= 3	"
Hauteur	lobe dr.	= 9	"
	lobe g.	= 8	"

Rat No. 17. Tué le 12 janv. 1914.

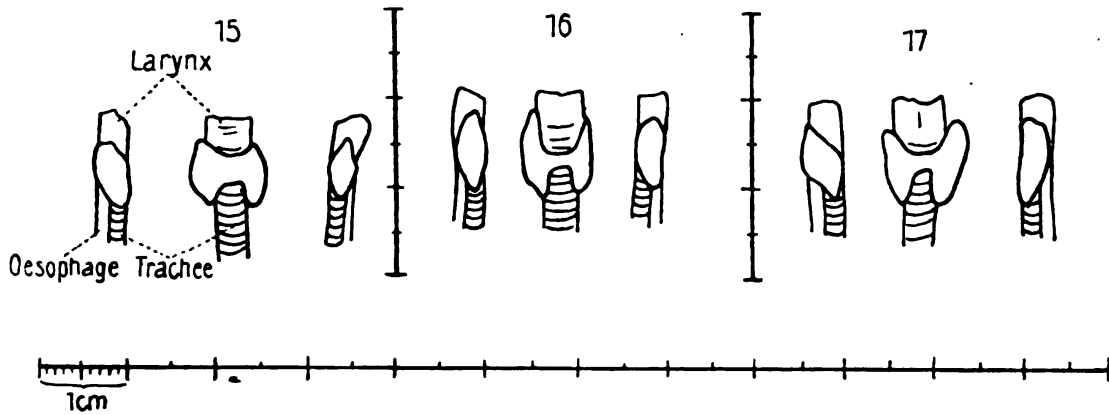
Autopsie: Poids du corps: 180 gr.

Poids de la rate: 0,360 gr (normale).

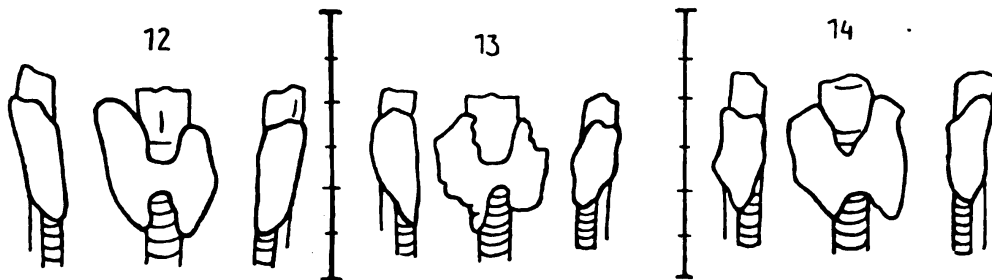
Intestin normal.

Glande thyroïde normale; dimensions:

Largeur	lobe dr.	= 3	mm
	lobe g.	= 4	"
	2 lobes + isthme	= 9	"
Epaisseur	lobe dr.	= 4,5	"
	lobe g.	= 3,5	"
Hauteur	lobe dr.	= 8,5	"
	lobe g.	= 9,5	"



Corps thyroïdes des rats blancs ayant bu de l'eau de Lausanne pendant 1 an.
(Projections antéro-postérieures et latérales des corps thyroïdes avec larynx, trachée et oesophage.)



Corps thyroïdes des rats blancs ayant bu de l'eau de Payerne pendant 1 an.

Fig. 3.

Tableau des dimensions des corps thyroïdes de la série II
(tués le 12 jan. 1914).

		Rats buvant l'eau de Lausanne			
		No. 15	No. 16	No. 17	Moyenne
Largeur	lobe dr.	3 mm	2 mm	3 mm	2,6 } 3,0 mm
	lobe g.	2 "	1,5 "	4 "	
	2 lobes + isthme	8 "	7,5 "	9 "	8,1 mm
Epaisseur	lobe dr.	4 "	3,5 "	4,5 "	4 } 3,6 mm
	lobe g.	3,5 "	3 "	3,5 "	
Hauteur	lobe dr.	7,5 "	9 "	8,5 "	8,3 } 8,2 mm
	lobe g.	7 "	8 "	9,5 "	

		Rats buvant l'eau de Payerne			
		No. 12	No. 13	No. 14	Moyenne
Largeur	lobe dr.	6 mm	5,5 mm	7 mm	6,1 } 5,6 mm
	lobe g.	5 "	5 "	5 "	
	2 lobes + isthme	18 "	18 "	13 "	16,1 mm
Epaisseur	lobe dr.	5,5 "	5 "	5,5 "	5,3 } 5,1 mm
	lobe g.	5 "	4,5 "	5 "	
Hauteur	lobe dr.	15 "	13 "	11 "	13 } 12,6 mm
	lobe g.	13 "	11 "	12,5 "	

C. Expériences commencées le 18 mars 1913.

III^{ème} série: 4 rats, provenant de la même nichée, nés à Lausanne au début de février 1913. — Parents nés et ayant toujours vécu à Lausanne.

I^{er} groupe: 2 rats buvant de l'eau de Payerne ordinaire, à partir du 18 mars 1913.

Rat No. 18: Tué le 13 janv. 1914.

Autopsie: Poids du corps: 130 gr.

Rate grandeur normale: 0,300 gr.

Intestin un peu hyperhéméié.

Corps thyroïde hypertrophié, dimensions:

Largeur lobe dr. = 3,5 mm

lobe g. = 3 "

2 lobes + isthme = 8,5 "

Epaisseur lobe dr. = 6 "

lobe g. = 5 "

Hauteur lobe dr. = 11 "

lobe g. = 10,5 "

Diagnostic macroscopique: „hypertrophie générale de la thyroïde“.

Rat No. 19: Tué le 13 janv. 1914.

Autopsie: Poids du corps: 140 gr.

Rate normale: 0,300 gr.

Intestin normal.

Corps thyroïde hypertrophié, dimensions:

Largeur lobe dr. = 3,5 mm

lobe g. = 3,5 "

2 lobes + isthme = 9 "

Epaisseur lobe dr. = 4,5 "

lobe g. = 4,5 "

Hauteur lobe dr. = 8,5 "

lobe g. = 9,5 "

Diagnostic macroscopique: „hypertrophie générale de la thyroïde“.

II^{ème} groupe: 2 rats buvant de l'eau de Lausanne ordinaire, à partir du 18 mars 1913.

Rat No. 20: Tué le 13 janv. 1914.

Autopsie: Poids du corps 180 gr.

Rate normale, poids 0,350 gr.

Intestin normal.

Glande thyroïde petite, dimensions:

Largeur lobe dr. = 2 mm

lobe g. = 2 "

2 lobes + isthme = 6 "

Epaisseur lobe dr. = 3,5 "

lobe g. = 3,5 "

Hauteur lobe dr. = 6,5 "

lobe g. = 7 "

Rat No. 21: Tué le 13 janv. 1914.

Autopsie: Poids du corps: 140 gr.

Poids de la rate: 0,275 gr (normale).

Intestin normal.

Glande thyroïde petite, dimensions:

Largeur lobe dr. = 2 mm

lobe g. = 1,5 "

2 lobes + isthme = 5,5 "

Epaisseur lobe dr. = 3 "

lobe g. = 3 "

Hauteur lobe dr. = 6 "

lobe g. = 5 "

J'ai fait une série de préparations microscopiques de ces corps thyroïdes, tant de ceux des rats buvant l'eau de Lausanne, que de ceux des rats buvant l'eau de Payerne. M. le professeur Dr. Beitzke, directeur de l'Institut pathologique de Lausanne, a bien voulu examiner ces coupes et en a tiré les observations suivantes: „Une différence très nette existe entre les coupes des corps thyroïdes de rats buvant l'eau de Lausanne et celles des rats buvant l'eau de Payerne; dans les premières, toutes les

alvéoles sont à peu près d'égale grandeur, l'aspect de la glande est normal; dans les secondes, des alvéoles petites et d'autres hypertrophiées voisinent, la substance colloïde est augmentée, les cellules ne sont pas dégénérées. Il s'agit donc dans le second cas de signes d'hypertrophie nette de la thyroïde, pouvant déjà faire classer cette dernière dans les goîtres."

Photographies des corps thyroïdes.

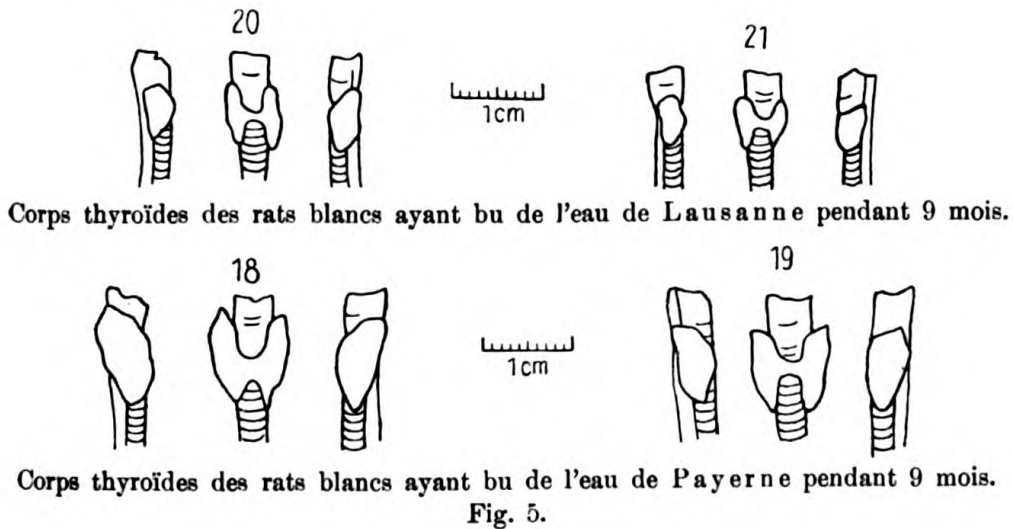
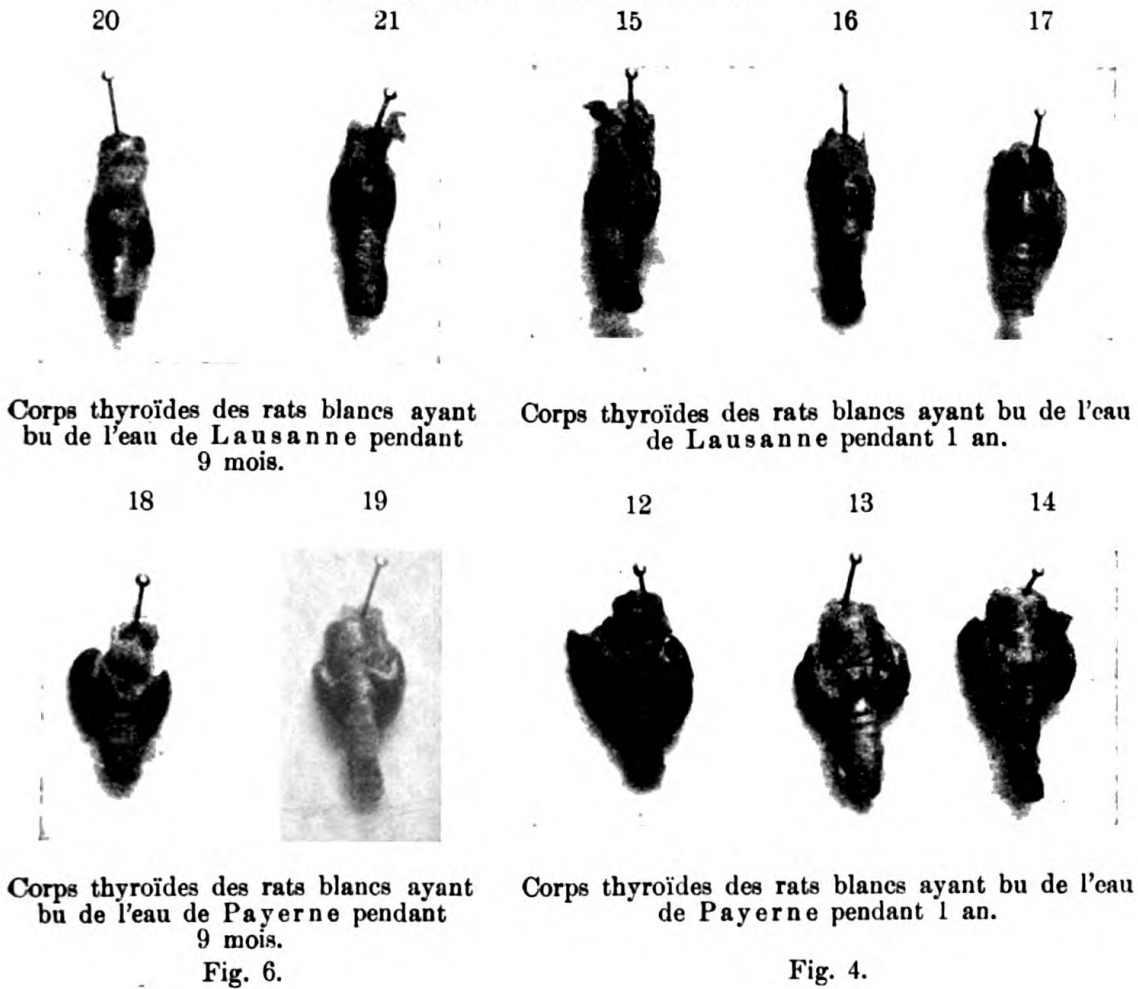


Tableau des dimensions des corps thyroïdes de la série III.

		Rats buvant l'eau de Lausanne			Rats buvant l'eau de Payerne		
		No. 20	No. 21	Moyenne	No. 18	No. 19	Moyenne
Largeur	lobe dr.	2 mm	2 mm	2 } 1,8 mm	3,5 mm	3,5 mm	3,5 } 3,4 mm
	lobe g.	2 "	1,5 "	1,75 }	3 "	3,5 "	3,25 }
	2 lobes + isthme	6 "	5,5 "	5,75 mm	8,5 "	9 "	8,75 mm
Epaisseur	lobe dr.	3,5 "	3 "	3,25 } 3,25 mm	6 "	4,5 "	5,25 } 5 mm
	lobe g.	3,5 "	3 "	3,25 }	5 "	4,5 "	4,75 }
Hauteur	lobe dr.	6,5 "	6 "	6,25 } 6,1 mm	11 "	8,5 "	9,25 } 9,6 mm
	lobe g.	7 "	5 "	6 }	10,5 "	9,5 "	10 }

Photographies des coupes microscopiques.

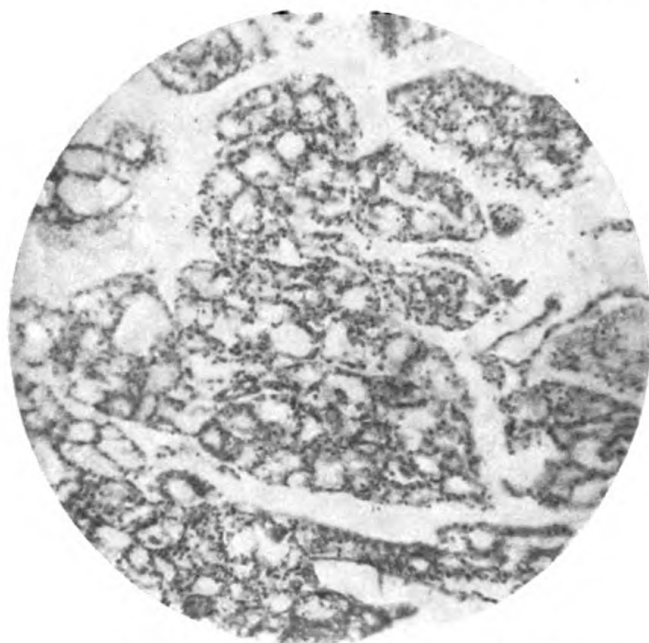


Fig. 7. Coupe microscopique du corps thyroïde d'un rat ayant bu de l'eau de Lausanne.

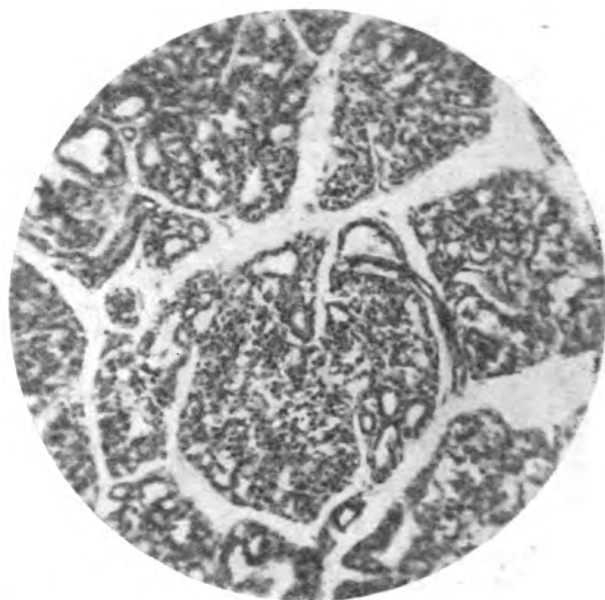


Fig. 8. Coupe microscopique du corps thyroïde d'un rat ayant bu de l'eau de Payerne.

Je puis donc conclure que tous les corps thyroïdes des rats alimentés par l'eau de Lausanne sont macroscopiquement et microscopiquement normaux, tandis que ceux des rats alimentés par l'eau de Payerne sont très nettement hypertrophiés et doivent être classés, aussi après examen microscopique parmi les goîtres.

Il est quelques points qui méritent encore d'être spécialement relevés dans les expériences ci-dessus:

Parmi les rats de la première série, ce sont ceux buvant l'eau de Payerne ordinaire qui sont morts les premiers; ils présentèrent tous des symptômes abdominaux (diarrhée et paralysie des membres postérieurs); leur rate était toujours très hypertrophiée et leur intestin hypertrémié. Dans la deuxième série un rat buvant l'eau de Payerne est mort après avoir également présenté des symptômes abdominaux. Un Bac. para-

typhi B¹) fut isolé dans la rate de l'un de ces rats lors de son autopsie (Rat No. 3). Ces faits sont très importants quand on songe aux cas assez fréquents de typhoïde qu'on signale à Payerne, et au degré d'infection des eaux de cette ville.

Les rats buvant l'eau de Lausanne, qui avaient une nourriture identique aux précédents (à part l'eau), ont manifesté plus de résistance. L'eau de Lausanne (du pays d'Enhaut) a toujours donné des réactions négatives avec l'agar au neutralrot d'Oldekop.

Les corps thyroïdes de la première série n'ont point présenté, à part le dernier cas, d'hypertrophie, les rats étant morts très tôt. Dans les deuxièmes et troisièmes séries, dont les rats résistèrent, les résultats sont très nets.

J'ai tenu à décrire ici toutes mes expériences, afin qu'on puisse juger de la résistance réciproque des rats buvant l'eau de Lausanne ou l'eau de Payerne, des manifestations et symptômes qu'ils ont présenté, ainsi que de toutes les différences de leurs glandes thyroïdes.

Je conclurai ces expériences comme suit: Tous les rats qui ont bu de l'eau de Payerne, qui est fortement infectée et dont l'origine est totalement superficielle (eau de drainage), ont présenté de fortes hypertrophies de la thyroïde. Les rats buvant l'eau de Lausanne (donnant une réaction négative avec l'agar d'Oldekop) n'ont pas présenté d'hypertrophie de la thyroïde.

C'est cette nouvelle preuve que le goitre peut être produit par suite d'ingestion d'eau souillée, provenant d'une zone à goitre, théorie que j'ai soutenue dans mes précédents travaux²) à l'appui des vues du Mc Carrison³).

Qu'il me soit permis ici d'exprimer ma vive reconnaissance à M. le professeur Dr. B. Galli-Valerio pour ses bienveillants et précieux conseils. C'est sous sa direction que j'ai exécuté ces recherches, ainsi que celles des deux précédents travaux que j'ai publiés sur ce sujet.

Lausanne, 8 mai 1914.

Nachdruck verboten.

The influence of milk and carbohydrate feeding on the intestinal flora of white rats.

[From the Sheffield Laboratory of Bacteriology and Hygiene,
Yale University.]

By Thomas G. Hull and Leo F. Rettger.

The investigation upon which this paper is based is a continuation of the work of Rettger and Horton⁴) on the intestinal flora of albino rats as influenced by the substitution, for ordinary mixed food, of certain experimental diets containing definite proportions of starch, lard, protein-free milk and pure proteins isolated by Osborne.

1) Straeb, R., Thèse de l'Institut d'Hyg. Lausanne 1913.

2) Thèse de Lausanne citée, et Revue Suisse de médecine. 1914. No. 13.

3) The etiology of endemic goitre. London 1913.

4) Rettger and Horton, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914. p. 362.

In transferring the rats from the mixed to the pure-protein diets a marked transformation in the character of the intestinal flora invariably took place. The flora became more simplified, very few types of bacteria being found after an interval of two or three days following the change of food. Two closely-related organisms designated Bac. X and Bac. Y, which unquestionably belong to the acidophilus group of bacilli, and which will be referred to as *B. acidophilus*; were always numerous, particularly Bac. X, and often predominated to such an extent as to exclude all other types with the exception of *B. bifidus* of Tissier. *B. bifidus* was also much more abundant in the rats receiving the diets containing pure protein than in the control animals.

While the acidophilus type (X and Y) was regularly present in such large numbers in the pure-protein rats, it was by no means absent from the feces of the stock-room rats; in fact, it was often quite abundant, but the flora was always of a more composite nature than that of the experimental animals.

In the present investigation 65 white rats were employed. In this number are included several rats, however, which have been used in two or more experiments, and which are thus counted at least twice. Of the above number 7 were employed in the grain feeding, 8 received milk, 35 carbohydrates, 12 were fed pure cultures of *B. bulgaricus* (with or without milk), and 3 were given *B. coli* in pure culture (with or without lactose).

The cages in which the rats were kept during the different feeding experiments were constructed of rather coarse wire net, and were supported at some distance over a tray which was covered daily with clean paper. In this way it was possible to collect feces which were relatively free from dirt and other matter which might lessen the value of the results. Samples of feces were collected at regular intervals, in some instances daily. From 0.2 to 0.4 g of the samples was vigorously shaken in stout test tubes containing 8–10 c. c. of sterile water and a little broken glass until a uniform suspension was obtained. From these suspensions agar plates and Veillon tubes were prepared in the desired dilutions. Smears were also made on slides and stained by the Gram method.

For plate-pouring different kinds of agar media were used, namely plain agar, dextrose agar (1.0 % dextrose), acid dextrose agar (1.0 % dextrose, 0.5 % acetic acid) and whey agar (neutral whey, 1 l, peptone, 10 g, agar, 15 g, and Liebig's meat extract, 3 g). The dextrose agar was used almost constantly, especially in the Veillon tubes.

Early in the present investigation certain results were obtained which were not in harmony with those of Rettger and Horton. Instead of being found in large numbers in the feces of the ordinary stock-room rats, which was a common observation in the past, *B. acidophilus* was either absent, or it occurred in very small numbers only. An inquiry into the methods of feeding revealed the fact that at this time the diet consisted essentially of bread and vegetables (mostly celery and lettuce), whereas in the earlier work the regular mixed diet was made up of sunflower seed, dog-bread, carrots and small amounts of meat which were fed twice a week. The following experiments clearly demonstrate that the difference in the character of the intestinal flora was due to a difference in the diet.

When rats which had been on the bread and vegetable regime were supplied with food which was made up largely of raw cereal (wheat,

oats and cracked corn), *B. acidophilus* became firmly established in the intestine, the transformation being effected within a period of three or four days. The same results were obtained with four different rats. Three additional rats were provided with a similar diet, but which contained only one raw cereal (oats or corn) in place of the mixture. The results were essentially the same as when a mixed cereal diet was supplied; that is, *B. acidophilus* came into prominence.

It has thus been shown that a comparatively slight change in the composition of the diet may bring about very marked changes in the intestinal flora, particularly of the albino rat. Since bread is a cereal product and is rich in starch and other plant substances, the results obtained with it as compared with those of raw cereal feeding were somewhat surprising. That the substitution of a meat for a bread diet should cause a marked change in the intestine, as Lembke¹⁾ and others have shown, may well be anticipated. Furthermore, abundant milk and carbohydrate feeding might also be expected to have some determinative influence.

Milk-feeding.

Eight rats were employed in this series of experiments. All were given the same diet of bread and vegetable food. In addition to this, four of the rats received ordinary cow's milk which was poured over the dry bread crumbs or in the water dish, in place of the water. The milk was not supplied until examination of the feces showed that *B. acidophilus* and *B. bifidus* were apparently absent from the feces, or that they were comparatively rare.

Rats No. 1, 2 and 3 received 20—30 c.c. of milk three times a week for four weeks, while No. 4, 5 and 6 were given the bread and vegetable diet only. During the entire period *B. acidophilus* was practically absent from the feces of the control rats, while in the milk-fed rats it was abundant, and remained so after the first few days. One week after the milk-feeding was discontinued the acidophilus group was again absent.

The experiment was repeated with rats No. 2 and 3, which received, in addition to the usual bread and vegetable diet, 10 c.c. of milk daily for a period of ten days. On the third day *B. acidophilus* appeared, and numerous colonies were obtained on the agar plates. This organism was also very abundant in smears prepared from the feces, although various other types were present in small numbers.

In another experiment rat No. 23 received 50 c.c. of milk daily for 40 days. After the first two or three days *B. acidophilus* became very numerous, which was shown by the large numbers of colonies on the agar plates, and by the absence of other types. Furthermore, the microscopic films consisted chiefly of large, gram-positive rods resembling this organism. The smears also contained numerous rods which were smaller than the others and showed evidence of branching (*B. bifidus*). Very few other organisms, besides *B. acidophilus* and *B. bifidus*, were present. In Veillon tubes *B. acidophilus* was quite abundant throughout the length of the tubes in the form of the usual shaggy colonies, while *bifidus* colonies in their typical smooth, disk form were quite conspicuous in the deeper portions of the tubes. As the

1) Lembke, Arch. f. Hyg. Bd. 26. 1896. p. 294—328; Bd. 29. 1897. p. 304—353.

experiment progressed *B. bifidus* increased in numbers and in a large measure supplanted *B. acidophilus* even.

At the end of the forty days the rat took but very little milk, and although milk was regularly supplied for the next ten days, little of it was consumed. As a consequence, *B. bifidus* apparently disappeared from the intestine and *B. acidophilus* was greatly reduced in numbers, while other types again became common.

Post mortem examinations were made of rats No. 2 and 3 after they had been on the bread, vegetable and milk diet ten days. Cultural and microscopic tests were made of the gastro-intestinal tract. The acidophilus group was not found in the stomach, while in the small intestine it was abundant and almost pure. *B. acidophilus* was very abundant also in the large intestine, but here it was mixed with various other organisms.

Carbohydrate feeding.

Seven different carbohydrates were employed in the following experiments. They were fed to 35 different rats. Sixteen of the rats received lactose, five sucrose, four dextrose, three maltose, three dextrine, two levulose, and two galactose.

The regular diet was the same as in the milk-feeding experiments, namely bread crumbs (ground in a meat grinder) and vegetables. At first the carbohydrate was supplied as a concentrated aqueous solution, and was poured over the bread crumbs, but later three to four grams of the carbohydrate in question were placed on the bread and moistened with a small quantity of water.

The lactose experiments were carried on for periods varying from one to seven weeks. Rat No. 13 was kept on lactose for fifteen days. On the second or third day *B. acidophilus* was observed in appreciable numbers in smears and in agar plates, after which it practically disappeared, and *B. bifidus* was found to be abundant and almost pure in the smears.

Rat No. 12 received lactose for thirty days, but little change took place in the intestinal flora, and neither *B. acidophilus* nor *B. bifidus* was found in the smears, plates or Veillon tubes.

Rats No. 16 and 17 were kept on the same food as No. 12 for eleven days. *B. bifidus* became quite apparent on the second day and continued to the end of the period. *B. acidophilus* was also present in small numbers. No. 25 was given milk sugar for thirteen days. At the outset *B. acidophilus* became abundant, but soon diminished in numbers, while *B. bifidus* increased to such an extent as to almost exclude all other forms.

Rat No. 26 received lactose for 50 days. For a little while the intestinal flora consisted largely of *B. bifidus* and, to a lesser extent, of *B. acidophilus*. Later *B. bifidus* was practically the only organism present.

Rats No. 21 and 22 were fed milk sugar for sixteen days; No. 14, 15 and 16 for twenty two days; No. 17 and 19 for eight days; No. 23, 27 and 28 for seven days, and rat No. 9 for 10 days. In every instance *B. bifidus* became abundant soon after the addition of the lactose to the diet. In general, the following changes took place in the intestine. By the second or third day *B. bifidus* and *B. acidophilus* began to make their appearance, as indicated by the microscopic smears and by

the cultural tests. *B. acidophilus* did not increase much in numbers; but on the contrary, decreased after some time and was practically absent at the close of some of the experiments. *B. bifidus* increased very fast, however. In all cases it became the predominating form, and often with very few other bacteria accompanying it. The organisms that persisted in small numbers were principally *B. acidophilus* and yeasts.

Several of the lactose rats were killed for the purpose of making bacteriological examinations of different parts of the digestive tract. In rat No. 9 no colonies of *B. acidophilus* or *B. bifidus* were obtained from the stomach by the usual agar plate and Veillon tube methods. A small number of *B. acidophilus* were found in the duodenum; while in the jejunum, ilium and large intestine *B. bifidus* was abundant, associated with a small number of *B. acidophilus*. In rat No. 26 (lactose 50 days) *B. bifidus* was found to occur in large numbers in the stomach, the small intestine below the duodenum, and in the large intestine. *B. acidophilus* was also present, but to a limited extent. Rat No. 15, which required an unusual length of time for *B. bifidus* to become established, contained *B. acidophilus* in the stomach and throughout the small and large intestine, while *B. bifidus* was found in abundance in the ilium and large intestine, and in smaller numbers in the jejunum.

The foregoing results demonstrate most conclusively that both milk and lactose, when fed in sufficient quantities to white rats, have a most pronounced influence on the character of the intestinal flora. Milk owes this property undoubtedly to the lactose which is normally present and constitutes almost half of the total milk solids, or 5%. The following experiments were undertaken for the purpose of determining whether other carbohydrates besides lactose bring about marked changes in the intestinal flora of rats, especially such as lead to a simplification of the flora and to the establishment of the *acidophilus* group or the *bifidus* type of bacteria which is so characteristic of the intestinal flora of the breast-fed infant.

The different carbohydrates were fed in the same manner as the lactose. The following were given to 19 different rats; sucrose (5), dextrose (4), maltose (3), dextrine (3), levulose (2) and galactose (2). Little apparent change was brought about in the flora of rats that were fed any of these seven carbohydrates. In the sucrose rats there were slight indications of a bacterial transformation in which *B. acidophilus* become somewhat prominent, as seen in the dextrose agar plates. The differences were so slight, however, that they could not be detected in the stained preparations which were made directly from the fecal suspensions. Furthermore, the changes were only temporary. The experiments extended over periods of one to four weeks.

In order to determine whether the negative results obtained in the preceding experiments were due, at least in some instances, to an inhibitive action of the individual carbohydrates, a few feeding experiments were conducted in the following manner. Rats which had been receiving lactose, and in which *B. bifidus* and *B. acidophilus* had become firmly established, were fed, besides the customary amounts of lactose (three to four grams daily), an equal amount of the carbohydrate in question. All of the seven carbohydrates mentioned in the preceding paragraph were employed. No decrease was observed in the numbers of *B. bifidus* and *B. acidophilus* in any of these rats, nor was

there any other visible change. Hence, the failure of the intestinal flora to respond to the feeding of any of the carbohydrates, besides lactose, can not be ascribed to any inhibitory action which they or their products may exert.

A bacteriological examination was made of the gastro-intestinal tract of one of the rats which had been fed sucrose. The stomach contained a mixed flora; the duodenum and jejunum were apparently sterile, while in the ilium and large intestine a typical mixed flora was found.

The influence of the ingestion of *B. bulgaricus* on the character of the intestinal flora.

Sour milk has been advocated for many years as an important diet for the prevention of certain types of intestinal putrefaction. Recently the substitution of milk that has been soured by *B. bulgaricus* for naturally-soured milk has been quite generally practiced. In fact, so general has the use of so-called sour-milk tablets become that the market is flooded with powders and tablets which contain as their active principle the organism which has been shown to be the most important souring agent in the sour-milk products of the orient, as for example Matzun, Yoghurt, etc., namely *B. bulgaricus*. Not only is it claimed that the ingestion of milk which has been soured by such tablets has a most beneficial action, as Metchnikoff holds, but that the tablets themselves, when eaten with or without milk, exert the same favorable influence on the physiological processes which are carried on in the intestine.

The view seems to be held by many that the ingestion of *B. bulgaricus* brings about a displacement of the harmful intestinal microorganisms and in this way leads to an improved bodily condition. Hence, numerous makes of tablets containing the active milk-souring organism, *B. bulgaricus*, are being sold as valuable agents in allaying intestinal disturbances. Not only is it claimed that great benefit is derived from them by employing them in the preparation of sour milk for consumption, but by the ingestion of the tablets as such, without the use of milk.

Leva¹⁾, after having experimented upon himself, arrived at the conclusion that the ingestion of Metchnikoff's lactobacilline brought about an acclimatization of *B. bulgaricus* in the intestine. *B. bulgaricus* was found to be present in the feces after the fifth day following the use of the tablets, and not before. He also observed that during the investigation the amounts of aromatic oxy-acids, hippuric acid and phenol in the urine were decreased.

In an extensive investigation in which 30 different patients were employed as subjects, besides the author himself, Cohendy²⁾ was led to conclude that the use of milk which is soured by *B. bulgaricus* causes a marked transformation of the intestinal flora, which is made apparent by the deodorization of the feces and by a decrease in the amount of conjugate sulphates in the urine. He ascribed the change to the lactic acid bacillus, without due regard to the milk itself.

Belonowsky³⁾ experimented with mice. The diet consisted of sterilized wheat grain to which cultures of *B. bulgaricus* had been

1) Leva, Berlin. klin. Wochenschr. Bd. 45. I. 1908. p. 922—924.

2) Cohendy, Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. 60. 1906. p. 602--604.

3) Belonowsky, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 21. 1908. p. 991—1004.

added. Twelve days after the beginning of the experiment a marked difference was noted between the feces of the mice receiving the *B. bulgaricus* cultures and of the controls. There was a large increase in the number of gram-positive organisms in the feces of the *B. bulgaricus* animals, and a corresponding decrease of the gas-producing forms. Similar results, although less marked, were obtained with mice which were fed sterilized wheat and killed cultures of *B. bulgaricus* (heated four hours at 56° C). Furthermore, the author states that in young nursing mice the intestinal flora was of the same character as in older mice that received the *B. bulgaricus* cultures. Direct microscopic examination of the feces of the *B. bulgaricus* mice failed to reveal a predominance of the *B. bulgaricus* type over other organisms. In fact, it is to be inferred that bacilli of this description were very few. The author claims that the beneficial action of *B. bulgaricus* is not due wholly to the bacilli or to the lactic acid produced, but to other products as well.

In the present investigation the feeding of *B. bulgaricus* was accomplished in two ways. In some instances the rats were fed milk cultures of the organism. These were prepared by inoculating sterilized skimmed milk and incubating the flasks 24 hours at 37° C. By the other method large surfaces of dextrose agar (in bottles) were inoculated with *B. bulgaricus*. After an incubation period of 24 hours the surface growth of the organism was washed off with sterile water. The water suspensions were given as such, in small dishes, or they were poured over the bread crumbs. Care was always taken to supply the rats with only as much as they could dispose of.

In all of the *B. bulgaricus* feeding the regular diet of bread and vegetables was employed. In certain of the experiments sterile milk was fed to a rat at the same time that others received the milk cultures of *B. bulgaricus* or the water suspensions of the organism.

At the outset it was difficult to distinguish between *B. bulgaricus* and *B. acidophilus* as they occurred in the feces, since they resembled each other so closely in most particulars, and especially in their colony form in the dextrose-agar plates. Certain marks of distinction were noted, however, but the final identification was never regarded as satisfactory without a milk acidification test. *B. bulgaricus* rapidly produces enough acid to coagulate the milk, while *B. acidophilus* does so only after more prolonged incubation. In some of the experiments, however, neither of the two organisms was met with in the feces.

Special precautions had to be taken to minimize the chances of contamination of the feces by the *B. bulgaricus* bacilli that were used in the feeding experiments. This was accomplished with some effort.

In the first experiment six rats were employed. Rats No. 1 and 4 received the stock diet of bread and lettuce together with a water suspension of *B. bulgaricus*; No. 2 and 5 were given the washings of sterile bottled agar in addition to the regular food; while No. 3 and 6 received the bread and lettuce diet only. The feeding continued for four weeks, daily. *B. acidophilus* was occasionally present in the feces in very small numbers. *B. bulgaricus* was observed but twice in the feces of the rats receiving *B. bulgaricus*. Furthermore, no difference could be observed in the character of the intestinal flora of rats No. 1 and 4 in Gram-stained films, as compared with the feces of the other rats. In all of the six rats the typical mixed flora prevailed.

Post-mortem examinations were made of rats No. 1 and 4 eighteen hours after the last feeding of *B. bulgaricus*. The results were essentially the same in both cases. In the stomach and duodenum a very small number of organisms resembling *B. bulgaricus* were found, while from the jejunum, ilium and colon not a single colony of this organism could be obtained.

The second feeding experiment lasted a month. Rat No. 21 received the stock diet together with a washed culture (water suspension) of *B. bulgaricus*; No. 22 was given the regular diet plus 50 c.c. of milk fermented by the *bulgaricus* bacillus; while rat No. 23 received the same diet plus 50 c.c. of sterile milk. In the feces of rat No. 21 single colonies resembling those of *B. bulgaricus* were obtained three times; from No. 22 a few colonies of the *bulgaricus* or *acidophilus* type were seen but four times. In the plates from rat No. 23 such colonies were much more abundant than in No. 22, though no *bulgaricus* bacilli had been fed.

The third experiment extended over a period of ten days. Rat No. 13 received the bread and vegetable diet plus the water suspension of *B. bulgaricus*; No. 32 was given the regular diet plus 50 c.c. of sterile milk and the *bulgaricus* bacillus suspension; rat No. 23 received the stock diet plus 50 c.c. of the sterile milk. *B. bulgaricus* could at no time be observed in the feces of the rats (13 and 32) that were fed the cultures of the organism; nor was there any apparent difference between the intestinal flora of rats No. 32 and 23.

Post-mortem examinations for the presence of *B. bulgaricus* in different parts of the intestinal tract gave the following results. Of three different rats which had been fed *B. bulgaricus* in water suspensions one failed to show any evidence of this organism in any portion of the digestive tract. In the second a very small number of *B. bulgaricus* was recovered from the jejunum and ilium, but none from the stomach, duodenum and colon. The third rat had been receiving lactose for some time before the *bulgaricus* feeding was begun. *B. bulgaricus* could not be recovered, while *B. bifidus* was found in large numbers.

The above experiments indicate that *B. bulgaricus* is unable to establish itself in the intestine, even after long-continued ingestion of large numbers of the organism.

It has been shown in a similar manner that even *B. coli*, a normal inhabitant of the intestine of man and animal, does not appreciably increase in numbers in the intestine of the white rat when ingested in countless numbers, especially when milk constitutes a large part of the diet. Two rats the intestinal flora of which had been simplified by continued lactose feeding were given, in addition to bread, vegetables and lactose, twenty-four-hour cultures of *B. coli* suspended in water daily for periods of two and three weeks, respectively. At no time were *coli* colonies obtained on the agar plates, nor was the simplified character of the intestinal flora changed, in so far as microscopic examination could determine. Even in a rat which had not received lactose for three weeks, and which possessed the usual mixed flora, liberal feeding of *B. coli* for four days did not bring about a perceptible increase in the number of colon bacilli. Similar results were obtained in the investigation¹⁾ of

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914. p. 362.

the previous year. Bacteriological examinations of the contents of the stomach and intestine of the last-mentioned rat revealed the presence of but very few colon bacilli in these organs.

General Discussion.

B. acidophilus is a common inhabitant of the intestinal tract of white rats under certain conditions of diet. This organism may be so abundant as to exclude practically all other types of bacteria. The acidophilus group of bacilli contains organisms which differ from each other in various details, but have sufficient properties in common with Moro's bacillus, or at least resemble it to such an extent, that the name *Bacillus acidophilus* may well be applied to them.

The number of acidophilus bacilli in the rat's intestine is increased by the following articles of diet; mixed grain feed (particularly oats and corn), milk and lactose. Its preponderance over other organism may be brought about in as short a period as two to three days after a change from a diet of bread and vegetables, for example, to one of mixed grain and milk. When lactose is fed the transformation period is short, but the acidophilus phase may soon give way to *B. bifidus*, which in several of our experiments became established and remained the predominating organism as long as the lactose diet was continued. In milk feeding the acidophilus phase was, as a rule, more permanent and final, and *B. bifidus* seldom gained the ascendancy, though its number was markedly increased.

Our results fully accord with certain observations which Sittler and Schiller¹⁾ and Distaso²⁾ have recently made. It is a well-known fact that the intestinal flora of normal, breast-fed infants, is practically constant, and that it consists largely of one type of organism, *B. bifidus* of Tissier. When cow's milk is substituted for mother's milk the flora becomes more complex, and the bifidus bacillus becomes to a large extent supplanted. Sittler found that when lactose was given, in addition to the cow's milk, the typical bifidus flora of breast-fed infants was established. Similar results were obtained with so-called "malt-soup". On the other hand, cane sugar did not bring about any transformation in the nature of the flora. The limited experiments which were carried on with dextrose seemed to indicate that it played the same role as lactose. This observation could not be substantiated by us.

Distaso and Schiller claim to have shown that the feeding of either milk, lactose or dextrin to white rats which have been subsisting on a diet of bread and meat, brings about a change in the intestinal flora from the ordinary mixed to the bifidus type. No mention is made in their brief publication of *B. acidophilus*. They further demonstrated that the ingestion of large numbers of *B. bulgaricus* by rats which are receiving milk or lactose does not result in the establishment or acclimatization of this organism in the intestine, but that *B. bifidus* persists as the predominating type of bacteria.

It is surprising that so little attention has been given in past investigations to the occurrence of *Bacillus acidophilus* and to the conditions that influence its numbers in the intestine, especially of the

1) Sittler and Schiller, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 14—30.
2) Distaso, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 76. 1914. p. 243—244.

white rat. It is possible that it may have been overlooked, or that its presence has frequently been obscured by *B. bifidus*. In our study of the influence of diet on the flora of the rat *B. acidophilus* has at all times been given the prominence which it seemed to deserve, and while Tissier's bacillus was almost invariably present at the same time as *B. acidophilus* the latter was as a rule by far the more prominent. Exceptions to this rule occurred, however, in some of the lactose-feeding experiments.

With the exception of the data bearing on the feeding of dextrose (Sittler) and dextrin (Distaso and Schiller) our results are in perfect agreement with those of the above-mentioned authors, aside from the fact that our chief emphasis was placed on *B. acidophilus*, while *B. bifidus* alone was the organism of special interest to them. Of particular significance is the fact that the results obtained by us in the feeding of cultures of *B. bulgaricus* were essentially the same as those of Distaso and Schiller. In other words, it has been shown by two independent groups of investigators that the acclimatization of *B. bulgaricus* can not be brought about in the intestine of the white rat by the ingestion of this organism, even when taken in enormous numbers. These observations are also in accord with those of Herter and Kendall¹⁾ who found that in a monkey which was killed three and a half hours after it had been fed 500 c. c. of milk that had been well-soured by bacillus very few *B. bulgaricus* bacilli were present in the large intestine. In an earlier experiment with this same monkey they failed to detect *B. bulgaricus* in the feces after feeding the sour milk daily for three days.

It is of interest to note also in the work of the same investigators²⁾, that the intestinal flora of cats and monkeys was rapidly altered when a diet of meat or eggs was followed by one of milk and dextrose. The most important change was the substitution of an acidophilic, non-proteolyzing type of flora for one that was strongly proteolytic.

It is impossible to offer any satisfactory explanation for the marked change which takes place in the intestinal flora of the white rat when the diet is changed from bread and lettuce, for example, to one containing milk or lactose. Milk undoubtedly owes this property to the lactose which constitutes such a large proportion of its ingredients. Lactose alone of all the carbohydrates that were employed by us is responsible for the bacterial transformation in the intestine. Why lactose should be able so to influence the character of the intestinal flora, and dextrose, which is so readily attacked by bacteria, is of no consequence in this respect, cannot be explained at this time. It may be that dextrose is too rapidly decomposed or absorbed from the digestive tract to exert any apparent influence on the microorganisms in the intestine. This can not be said, however, of cane sugar, which requires inversion before it is utilized.

It also remains to be determined why the feeding of mixed grain, particularly oats and corn, should have a strong tendency to increase the number of acidophilus bacilli in the intestine, while a diet of bread and vegetables does not encourage such a flora, but has the same general influence of an ordinary protein diet.

1) Herter and Kendall, Journ. Biol. Chem. Vol. 5. 1908—1909. p. 293—302.

2) Idem. Vol. 7. 1909—1910. p. 203—217.

In conclusion it may be said that in the white rat an intestinal flora which under certain conditions of diet resembles that of the human adult may be converted into one that is indistinguishable from the typical flora of the breast-fed infant, by the addition of lactose to the diet. Not only may *B. bifidus* be brought into great prominence, but at certain stages, and at nearly all times when milk is fed in not too large quantities, or when mixed grain is supplied, *B. acidophilus* becomes the predominating organism, and the flora may most justly be termed an *acidophilus* flora.

Nachdruck verboten.

Ueber die bakteriologische Diphtheriediagnose und die grosse Rolle, welche *Bacillus Hofmanni* dabei spielt.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität Amsterdam.

(Vorstand: Prof. Dr. R. H. Saltet).]

Von Fräulein **M. van Riemsdijk**,

Assistentin am Bakteriolog.-hygien. Institut der Universität Amsterdam.

Mit 2 Tafeln.

Im Herbst des Jahres 1911 wurden von Herrn Dr. med. Stokvis und mir im Auftrage des Gemeinde-Gesundheitsamtes der Stadt Amsterdam einige bakteriologische Diphtherieuntersuchungen unternommen. — Zuerst wurde unsere Hilfe angerufen für eine Schule, wo Diphtherie ausgebrochen war und sowohl die kranken Kinder, wie auch die zur Schule gehenden Hausgenossen einer bakteriologischen Kontrolle unterworfen werden mußten. — Dann sollte auch bei Kindern, die nach einer Diphtherieerkrankung genesen aus dem Krankenhaus entlassen waren, und auch bei den zur Schule gehenden Hausgenossen, ehe sie die Schule wiederum besuchen durften, konstatiert werden, ob sie bacillenfrei waren und keine Gefahr mehr für ihre Umgebung boten. Im ganzen wurden 33 Kinder untersucht, von denen 19 an Diphtherie gelitten hatten; die übrigen 14 waren gesunde Hausgenossen. — Bei 24 Kindern (sowohl Ex-Diphtheriepatienten als auch gesunde Hausgenossen) wurden mittels der Capaldischen Eidotter-Agarplatte diphtherieähnliche Stäbchen aus der Nase isoliert. 2 dieser Kulturen erwiesen sich durch das Tierexperiment als echte Diphtheriebacillen, 22 Kulturen waren avirulent und bei den übrigen 9 Kindern wurden sowohl in der Nase als auch aus dem Rachen Coccaceae gefunden. Wir standen hier vor einer schwierigen Frage. Hatten wir es hier mit avirulent gewordenen typischen Diphtheriebacillen zu tun, oder waren es Organismen, die nichts mit Diphtherie zu tun hatten? Um darüber Klarheit zu erlangen, entschlossen wir uns, eine Anzahl von Kindern bakteriologisch zu untersuchen, und zwar aus einer Gegend (Veluwe und Limburg), wo in den letzten 10 Jahren kein Diphtheriefall vorgekommen war, und also jeder Diphtherieverdacht ausgeschlossen werden konnte. Selbstverständlich beschränkten wir uns auf eine Gegend, die uns diesbezüglich völlige Sicherheit bieten konnte, was in einer Großstadt niemals möglich ist. Nasen und Rachen von 50 gesunden Kindern aus verschiedenen Orten dieser diphtheriefreien Gegend wurden bakteriologisch untersucht.

Bei 50 Proz. dieser Kinder fanden wir dasselbe avirulente Stäbchen. Sowohl die isolierten Kulturen aus der Hauptstadt als auch die aus der diphtheriefreien Gegend wurden von mir einer gründlichen bakteriologischen Untersuchung unterworfen.

Die erzielten Erfolge, welche meines Erachtens für die Praxis von Wert sind, will ich hier mitteilen.

Zur Erleichterung werde ich weiterhin die avirulenten Organismen mit dem Namen Pseudodiphtheriebacillen bezeichnen.

Jeder, der sich mit der bakteriologischen Diphtheriediagnose, besonders bei Diphtherierekonvaleszenten, beschäftigt hat, weiß aus Erfahrung, auf welche große Schwierigkeiten man dabei stößt.

Zunächst denke ich dabei an den Bac. Hofmanni, der von Loeffler zuerst gefundene, von Hofmann-Wellenhof später gründlich beschriebene Bac. pseudodiphtheriae, über den die Meinungen noch immer sehr geteilt sind. Die 2 großen Schulen, die der Unicisten, welche in dem sogenannten Pseudodiphtheriebacillus ein avirulent atoxisch gewordenes Diphtheriestäbchen sehen (Roux und Yersin, Martin, Schanz, Fraenkel, Abbott, v. Behring, Lambotte u. a.), und die der Dualisten, welche die Pseudodiphtheriebacillen als selbständige Organismen betrachten (Loeffler, Hofmann-Wellenhof, Zarnico, Escherich, Beck, Fraenkel, Spronck, Graham Smith u. a.), bestehen noch immer, obwohl die dualistische Theorie mehr und mehr Anhänger gewinnt. Daß Fraenkel 1893 Unicist, 1896 Dualist wurde, ist wohl ein schlagender Beweis für die große Schwierigkeit dieses Problems.

Da ich vermutete, daß die von mir isolierten Kulturen größtenteils zu B. Hofmanni gehörten, stellte ich mir als erste Aufgabe, eine genügende Anzahl typischer Diphtheriekulturen zu isolieren, damit ich vor allem über genügendes vergleichendes Material zu verfügen hatte. — Dank der freundlichen Vermittelung von Dr. med. Bertha Sorgdrager (damalige Labor.-Assistentin von Prof. Ruitinga), die mich immer mit größter Bereitwilligkeit mit diphtheritischem Material versehen hat (wofür ich ihr hier meinen herzlichen Dank ausspreche), war ich imstande, viele Diphtheriestämme isolieren zu können. Ueber die Art und Weise, wie ich diese Stämme isolierte, noch folgendes: In den 2 letzten Jahren war es in unserem Laboratorium zur Gewohnheit geworden, die Eidotter-Agarnährböden von Capaldi zu benutzen (geschmolzen bei 40° C, abgekühlter Agar-Agar + 2—3 Flöckchen steriler Eidotter; gründlich mischen, ausgießen in Petri-Schalen und erstarren lassen), weil die reingezüchteten Diphtheriebacillen darauf üppig wachsen und weil dieser Nährboden so leicht und schnell zu erhalten ist.

Ein Vergleich mit dem klassischen Loefflerschen Nährboden war bis jetzt in unserem Laboratorium noch nicht vorgenommen worden. Ich faßte deswegen den Entschluß, neben der Loeffler-Platte die von Capaldi und die Bouillon-Serum-Tellurnährböden von Conradi und Troch miteinander zu vergleichen. Für die Bereitung der Loeffler-Nährböden wurde Pferdeserum vorher fraktioniert, nach der Methode von Tyndall sterilisiert, d. h. 3—4 Tagen nacheinander täglich 1 Stunde lang auf 58—60° C erwärmt; während der Zeit zwischen 2 Sterilisationen

wurden die Kolben bei 37° C in den Brutschrank gestellt, damit die eventuell noch nicht abgetöteten Sporen zur Entwicklung kämen und die daraus entstandenen vegetativen Formen bei der nächsten Sterilisation getötet werden konnten.

Das auf diese Weise behandelte Serum erwies sich vollständig steril. Der diphtherische Belag wurde mittels steriler Wattetupfer aus dem Rachen entnommen. Gern hätte ich auch über Material aus den Nasen von kranken Kindern verfügt, aber da die Kinder sich schon mit Mühe der Rachenbehandlung unterworfen hatten, war weiteres Eingreifen schier unmöglich. Der Wattetupfer wurde jetzt auf 3 verschiedenen Nährböden (Petri-Schalen) ausgestrichen. Die Platten wurden 24 Stunden bei 37° C in den Brutschrank gesetzt und dann untersucht. Mehrere Forscher empfehlen, schon nach 12—18 Stunden die Platten nachzusehen, weil die Coccaceae sich dann noch nicht so vermehrt haben. Nach meiner Erfahrung ist nach 12—18 Stunden meistens sehr wenig Wachstum zu konstatieren, vielmehr ist die beste Untersuchungszeit nach 24 Stunden im Brutschrank bei 37° C; in einigen Fällen habe ich sogar die Platten noch länger im Brutschrank stehen lassen müssen.

Verschiedene Bakteriologen empfehlen für die mikroskopische Untersuchung der Platte das Klatschpräparat. Anfangs habe ich auch diese Methode angewendet, habe dieselbe aber bald als unzweckmäßig aufgeben müssen. Erstens findet man die korrespondierende Stelle auf der Platte nur mit großer Mühe wieder, zweitens fließen die fast immer nahe beieinander liegenden Kolonien durch das Andrücken des Deckglases ineinander über. Durch die Technik des Ausstreichens entstand meistens eine große Anzahl isolierter Kolonien auf der Platte. 10 derselben, den am meisten auseinanderliegenden Stellen der Platten entnommen, wurden mikroskopisch untersucht. Als Farbstoff benutzte ich das Loefflersche Methylenblau, das durch seinen sauren Komponenten, auch bei Diphtheriebacillen, die schönsten Differenzierungen ermöglicht. Konnte ich in einem dieser Präparate deutlich diphtherieähnliche Stäbchen nachweisen, so wurde vorsichtig mit einer dünnen Platinnadel von der betreffenden Kolonie, die numeriert war, etwas abgenommen und auf eine Röhre mit Loeffler- oder Capaldi-Nährböden geimpft. Es ist von hohem Werte, wie ich später noch nachzuweisen hoffe, von mehr als 1 Kolonie abzuimpfen und mit dieser Reinkultur weiterzuarbeiten. Auf diese Weise wurde der Rachenbelag von 23 Kindern bakteriologisch untersucht, nachdem klinisch die Diagnose Diphtherie festgestellt war. Schon bald erwies es sich, daß der Conradi-Trochsche Nährboden keineswegs den von den Forschern gestellten Forderungen entsprach. Die Diphtheriekolonien waren sowohl grau wie schwarz; es war auch kein Unterschied bemerkbar zwischen den Diphtheriekolonien und denen der Coccaceae.

Vom differential-diagnostischen Standpunkt aus ist dieser Nährboden nach meiner Meinung gar nicht zu empfehlen. Wohl aber ist diese Platte sehr schön zu verwerten für Demonstrationszwecke u. a. m., um das reduzierende Vermögen von den Organismen der Mundhöhle darzustellen. Von den 8 diphtherischen Membranen, welche ich auf der Loeffler- und Capaldi-Platte ausstrich, konnte ich nach 24 Stunden bei Bruttemperatur auf der Loeffler-Platte ohne Mühe und in großer Anzahl in allen 8 Fällen Diphtheriebacillen nachweisen. Die Capaldi-sche Platte war in 6 Fällen von den 8 negativ; bei den 2 übrigen Fällen war die Anzahl der Diphtheriebacillen unendlich geringer als bei der

Loeffler-Platte. Bei der Capaldischen Platte konnte ich eine deutliche Entwicklungshemmung der Kokken konstatieren, was bei der Loeffler-Platte niemals vorkam. Obwohl die Bereitung des Loeffler-Bodens etwas umständlich ist, bleibt sie doch für die Diphtheriediagnose die einzig zuverlässige. Sind die Diphtheriebacillen reingezüchtet, so wachsen sie üppig auf dem Capaldischen Boden und viel voluminöser, wie auf gewöhnlichem Nähragar. Ich habe es mir deswegen angewöhnt, meine Reinkulturen immer auf Capaldi-Agar weiter zu impfen, wo die Diphtheriebacillen zweifellos auch länger lebensfähig bleiben.

Ehe die Wattetupfer auf den Platten ausgestrichen wurden, machte ich noch ein Ausstrichpräparat, das nach Gram gefärbt wurde, um daraus ersehen zu können, in wie vielen Fällen ich die Diphtherieorganismen vom Rachenbelag schon direkt mikroskopisch würde nachweisen können. Von den 23 Membranen, woraus ich die Diphtheriebacillen leicht habe reinzüchten können, konnte ich nur in 12 Fällen deutlich direkt mikroskopisch die Bacillen nachweisen, auch wieder ein Beweis, wie vorsichtig man sein muß, um eine bakteriologische Diphtheriediagnose nur nach mikroskopischen Befunden zu stellen.

Diese von mir aus den Membranen isolierten Kulturen gehören alle zu den klassischen Klebs-Loefflerschen Organismen, wie ich noch näher ausführen werde.

Die sogenannten Pseudostämme und die typischen Diphtheriestämme wurden nun einem gründlichen vergleichenden Studium unterworfen, in der Hoffnung, eine zuverlässige Methode finden zu können, wodurch diese 2 Organismen auf praktische und bequeme Weise voneinander zu unterscheiden wären. Hierdurch würde man imstande sein, eine genauere bakteriologische Diphtheriediagnose zu stellen, besonders bei Diphtherierekonvaleszenten und gesunden Bacillenträgern, wodurch man der großen Gefahr entgehen würde, Kinder zu isolieren, welche am Ende nichts mit Diphtherie zu tun haben, und die deswegen gar keine Gefahr für ihre Umgebung sind.

Vergleichende Versuche mit den sogenannten Pseudodiphtheriebacillen und den echten Diphtheriebacillen.

Morphologie.

Zur morphologischen Untersuchung benutzte ich 24 Stunden alte Loeffler-Kulturen. Sofort fiel mir die große Variabilität in der Form der typischen Diphtheriekulturen auf, und zwar nicht nur bei den verschiedenen Stämmen untereinander, sondern auch bei den Bacillen einer und derselben Kultur. Ueberall war sowohl die Keulenform deutlich sichtbar, als auch die für Diphtherie so typische Lagerung Fig. 1—3. Untersuchte ich dieselben Kulturen nach einiger Zeit (auch wieder 24 Stunden alte Loeffler-Kultur), so sah ich in den meisten Fällen ein ganz anderes morphologisches Bild. Die Bacillen, die sich bei der ersten Beobachtung hauptsächlich als langgestreckte Formen gezeigt hatten, traten bei dem zweiten mikroskopischen Präparat größtenteils als kleine, kurze Formen auf, und umgekehrt.

Eine Klassifikation nach der Form, wie Martin vornimmt, scheint mir deshalb bei einem so starken Polymorphismus unmöglich; ebenso wenig kann man von einer bleibenden kurzen oder langen Form während verschiedener Generationen reden, wie das u. a. Williams tat.

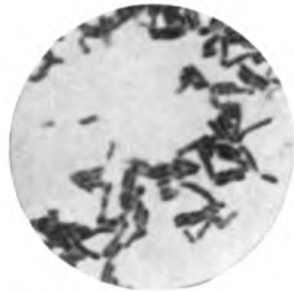


Fig. 1. Bac. diphtheriae.
Färbung nach Gram.



Fig. 2. Bac. pseudodiphth.
Färbung nach Gram.



Fig. 3. Bac. diphtheriae.
Färbung mit Loefflers Methylenblau.



Fig. 4. Bac. pseudodiphth. K. Els.
Färbung mit Loefflers
Methylenblau.



Fig. 5. Bac. pseudodiphth.
Von einer 2 Monate alten Agar-
kultur. Färbung nach Loeffler.

Photo D. de Gijselaar.

Daß die typische Keulenform deutlicher sichtbar ist in Kulturen von Loeffler oder Capaldi, als in irgendeinem anderen Agar, ist mir auch aufgefallen. Die mikroskopischen Präparate wurden mit Loefflers Methylenblau gefärbt, und auch hier war die meist verschiedene Farbstoffaufnahme wahrzunehmen. Man sah Bacillen, die sich nur an den keulenförmig angeschwollenen Polen färbten, während das langgestreckte Mittelstück fast ungefärbt blieb. Bei anderen waren es wieder Bröckchen von Protoplasma, die sich intensiv färbten, während das Uebrige ungefärbt blieb. Bei einzelnen kurzen Formen färbte sich der ganze Bacillus, außer einem schmalen, transversalen Septum, machte also den Eindruck, als bestände der Bacillus aus 2 isolierten Teilen. Einige Male sah ich selbst bei dieser Färbemethode eine außerordentlich schöne „Polfärbung“, welche aber dieselben Kulturen nach einiger Zeit nicht mehr zeigten. Diese große Variabilität in der Farbstoffaufnahme haben denn auch Westbrook, Wilson und Mac Daniel und Cobbett veranlaßt, die Diphtheriebacillen lieber zu klassifizieren nach der Art und Weise, in welcher sie die Farbstoffe in sich aufnehmen, als nach der Form. Diese Eigenschaften dem Farbstoffe gegenüber schwanken aber auch sehr bei einer und derselben Kultur.

Bei Färbung mit Karbolgentianaviolett sind diese großen Schwankungen nicht so ausgeprägt; die Bacillen färben sich damit meistens homogen.

Bei den Pseudodiphtheriekulturen sprangen gleich große morphologische Differenzen gegenüber den echten Diphtheriebacillen ins Auge. Bei allen Stämmen beobachtete ich kleine, kurze, plumpe Stäbchen, die an einem Pol keulenförmig angeschwollen waren, in der typischen Diphtherielage (Fig. 2). Diese typische Lage ist noch viel deutlicher und regelmäßiger wahrzunehmen bei den Pseudodiphtheriebacillen als bei den echten Diphtheriebacillen; sowohl die Bacillenform der verschiedenen Kulturen als auch die Bacillen einer und derselben Kultur zeigen geringe Verschiedenheiten. Ueberall sieht man das kurze, plumpe Stäbchen. Die große Variabilität in der Aufnahme des Loefflerschen Methylenblaus sah ich bei keiner von den Kulturen; die Organismen färbten sich sehr regelmäßig, ausgenommen ein kleines, transversales Septum. Mit Karbolgentianaviolett färbt sich alles, auch das transversale Septum. Eine neue mikroskopische Untersuchung ergab selbst ein Jahr nachher nur sehr geringe Differenzen, weder morphologisch noch dem Farbstoff gegenüber. Bei Kulturen, die 2 Monate auf Agar gewachsen waren, konstatierte ich viel größere Aehnlichkeit mit dem echten Diphtheriebacillus; hier langgestreckte, bisweilen an 2 Polen stark angeschwollene Organismen, die sich auch sehr heterogen färbten (Fig. 5), bei anderen Kulturen bemerkte ich eher die Neigung, einzuschumpfen.

Zweimal isolierte ich Stäbchen aus der Nase von 2 an Diphtherie leidenden Kindern (Stamm N. 2–9), die dem Pseudodiphtheriebacillus ganz ähnlich waren; die Tierprobe (Taf. IV) erwies aber, daß wir es hier mit echten Diphtheriebacillen zu tun hatten. Scheinbar sind diese kurzen Formen dieselben, welche Scheller und Reichenbach bei Nasendiphtherie wahrgenommen haben. Die Bacillen boten aber bei Scheller und Reichenbach durchaus keine Schwierigkeit bei der Feststellung der Diagnose, da immer in derselben oder einer anderen Kolonie die langgestreckte Form sichtbar war. Bei meiner Untersuchung war dies aber nicht der Fall, und nur die Tierprobe brachte mich auf sichere Bahn.

Babes-Ernstsche Körnchen.

Die Bacillen, die der Neisserschen Polfärbung unterworfen wurden, waren dem Loeffler- oder Capaldischen Boden entnommen, da ich mehrmals konstatiert hatte, daß die Bacillen aus diesen Nährböden die Körner viel schöner hervortreten ließen, als die von gewöhnlichem Agar. Die Färbemethode, die ich anwandte, war die letzte Neissersche, die von Scheller etwas modifiziert worden ist. Zu empfehlen ist es sogar, die erste Färbung nicht 15, sondern 20 Sekunden dauern zu lassen. Mir gefiel auch die Methode von Cobbett, die bei reichem ausgedehnten Material sehr einfach und ökonomisch ist und schöne Resultate gibt. Das Präparat wird auf einem Deckglase gemacht und 1 Tropfen verdünnten Loefflerschen Methylenblaus 1—15 auf ein Objektglas gebracht, das Deckglas darauf mit Filtrierpapier angedrückt, was den überflüssigen Farbstoff aufsaugt. Man betrachtet dann das Präparat unter dem Mikroskop; sind es diphtherieartige Organismen, so gießt man unter das Deckglas eine Lösung von 5-proz. Acid. acet., läßt die überflüssige Säure ablaufen und drückt das Deckglas aufs neue mit Filtrierpapier an. Sodann zeigt sich mikroskopisch eine schöne Polfärbung. Das Protoplasma hat sich durch die Säure entfärbt, aber die Polkörner haben den Farbstoff behalten.

Diese Methode, das Präparat in den Farbstoff einzuschließen, ist bei Diphtherie sehr zu empfehlen, weil Kanadabalsam den Diphtheriebacillus schon nach einigen Wochen gänzlich entfärbt. Bei den Diphtheriekulturen sah ich gleich eine große Verschiedenheit der Polkörner. Auch hier wieder die starken Schwankungen, welche ich schon bei der Morphologie und der Färbung beschrieben habe. In jeder Kultur konnte ich verschiedene Organismen nachweisen, in welchen keine Polkörner vorkamen. 5mal sah ich sogar eine außerordentlich schwache Polfärbung, hier und da einen Bacillus, worin ein Körnchen zu sehen war. Später zeigten zwei von diesen Kulturen wieder eine sehr deutliche und schöne Polfärbung.

Daß das Vorhandensein oder Fehlen von „Polkörnern“ in engem Zusammenhang stehen würde mit der Virulenz des Bacillus, wie von mehreren Forschern behauptet worden ist, habe ich nicht bestätigen können. Bei den Kulturen mit schwacher Neisser-Färbung konnte ich eine ebenso große Virulenz konstatieren, wie bei denen mit ausgeprägten Polkörnern (Reichenbach, Kurtz, Graham Smith, Lesieur, Schumburg etc.).

Die Pseudodiphtheriekulturen, welche auf dieselbe Weise untersucht wurden, gaben größtenteils ein anderes Bild. Während die typischen Diphtheriekulturen meistens eine schöne deutliche Polfärbung zeigten, sah ich bei den Pseudodiphtheriestämmen fast konstant eine ganz schwache Neisser-Färbung. Begreiflich ist es, daß diese stark herabgesetzte Polfärbung bei dem Pseudodiphtheriebacillus Untersucher, wie Neisser, Fraenkel, Scheller, Richardière und Tollemer, Bronstein, Schabad u. a., veranlaßt hat, dieser Reaktion einen großen differentialdiagnostischen Wert zwischen den beiden Organismen zuzuschreiben. Die 5 typischen Diphtheriekulturen, die sich sehr schwach mit Neisser färbten, und ein einziger Fall, wo ich bei einer Pseudodiphtheriekultur eine außerordentlich schöne Polfärbung konstatierte (Kultur N. 3, isoliert aus der Nase eines gesunden Kindes), haben mich veranlaßt, dieser

Methode keinen differential-diagnostischen Wert zuzuschreiben (Slawijk und Manicatide, De Simoni, Lesieur, Gromakowsky, Schanz, Graham Smith u. a.). Es so weit treiben, wie Cadiot-Cathoire und Henry, welche diese Methode gar nicht mehr gebrauchen wollen, weil sie sie für wertlos und unzuverlässig halten, will ich nicht. Die Neissersche Polfärbung ist sehr wertvoll für die Unterscheidung diphtherieähnlicher Stäbchen von anderen Bacillenarten. Meines Erachtens steht diese Methode voran in der Reihe der Reaktionen, welche man bei jeder Diphtherieuntersuchung zu machen hat. Findet man einen langen, keulenförmigen Bacillus mit deutlich ausgeprägten Polkörnern, so weist dies wohl auf den echten Diphtheriebacillus hin, obwohl man nie absoluten Wert darauf legen darf.

Merkwürdig ist es, daß ich bei all meinen Pseudodiphtheriekulturen nie eine absolute negative Polfärbung habe konstatieren können; bei scharfer Beobachtung konnte ich immer einige Bacillen sehen, in denen die Polkörner nachzuweisen waren.

Wachstum auf Nähragar.

Das Wachstum der Diphtheriekulturen auf Agar war auch ein sehr verschiedenes. Bei frisch isolierten Kulturen war es meist ganz dünn, nebelig und farblos. Nach einigen Ueberimpfungen wuchsen die Bacillen schneller und voluminöser, die Farbe wurde dann meistens auch mattweiß. Ganz deutlich war zu sehen, daß die Diphtheriebacillen sich erst an diesen Nährboden gewöhnen müssen, denn erst nach mehreren Ueberimpfungen wird das Wachstum üppiger. Bei den auf Agar einmal gut wachsenden Kulturen sieht man jedoch noch große Schwankungen; das eine Mal wuchs die Kultur dünn und farblos, bei einer folgenden Impfung aber war sie üppig und mattweiß.

Die Pseudodiphtheriebacillen wachsen im allgemeinen leichter und voluminöser auf Agar: Hier waren sehr wenig Wachstumsschwankungen bei einer und derselben Kultur zu bemerken. Daß dieser Nährboden einigen Wert für die Differentialdiagnose hat, wie unter anderen Escherich behauptet, muß ich verneinen, da die Wachstumsart beider Organismen auf diesem Nährboden viel zu schwankend ist, um auch nur den geringsten Wert für die Diagnose zu haben.

Ueber eine Wachstumseigentümlichkeit einiger Kulturen auf Agar sei noch folgendes gesagt: Mehrmals sah ich bei beiden Mikrobenarten auf Agar zwei ganz verschiedene Kolonien in einer und derselben Kultur auftreten: Die eine Kolonie war klein, transparent, farblos, mit wellenförmigem Rand und das Zentrum war etwas matter in der Farbe. Die andere Kolonie war viel größer, mattweiß, feucht und voluminös. Ich nahm an, es mit einer Verunreinigung durch *Staphylococcus pyogenes aureus* zu tun zu haben. Ich machte daher von den beiden so verschiedenen Kolonien ein mikroskopisches Präparat und sah jetzt, daß beide Kolonien aus denselben keulenförmigen Bacillen bestanden und daß es unzweifelhaft eine Reinkultur war. Zuerst haben Zupnik und später Graham Smith auch diese 2 Sorten von Kolonien in einer Kultur auf Agar beschrieben und ich bin ganz derselben Meinung wie der letztgenannte, daß die Bacillen von diesen zwei verschiedenen Kolonien weder morphologisch noch biologisch noch auch sonst voneinander verschieden sind. Nach einiger Zeit hatten diese Kulturen diese Eigenschaft auf Agar wieder gänzlich verloren.

Wachstum auf Loeffler- und Capaldi-Böden.

Das Wachstum der Diphtheriekulturen auf Loefflers Boden war immer sehr voluminös. Bei allen meinen Diphtheriekulturen konnte ich die kleinen, runden, glattrandig-voluminösen, feucht-grauweißen Kolonien konstatieren. Bei längerem Wachstum wurden die Kolonien sehr groß und verloren ihren Glanz.

Das Wachstum auf dem Capaldischen Nährboden ist dem auf dem Loefflerschen sehr ähnlich, bei frisch isolierten Kulturen nur nicht so voluminös.

Die Pseudodiphtheriebacillen wachsen auf den beiden Nährböden ähnlich wie die Diphtheriebacillen, womöglich noch etwas üppiger.

Den großen Wert, welchen Scheller differential-diagnostisch diesem Nährboden zuspricht, habe ich nicht ermitteln können; die Differenzen, welche Graham Smith und Lewandowsky angeben, habe ich auch nie deutlich wahrnehmen können.

Die Differenzierungsmethode von Kresling.

Kresling behauptet nämlich, daß schon bei dem Anfertigen des mikroskopischen Präparates der Unterschied zwischen den beiden Organismen deutlich zutage tritt; die Diphtheriebacillen würden sich kaum in dem Wassertropfen zerreiben lassen und man erhält dadurch das Bild einer positiven Agglutination. Die Pseudodiphtheriebacillen dagegen geben sofort eine schöne homogene Emulsion. Diesen Unterschied konnte ich auch konstatieren, aber er war gar nicht konstant; die Diphtheriebacillen zeigten lange nicht immer die Körnchen. Differential-diagnostisch ist daher dieser Methode nicht zu trauen.

Eigenbewegung.

Bei den Diphtherie- und Pseudodiphtheriekulturen konnte ich keine Eigenbewegung feststellen. Die Brownsche Molekularbewegung war vorhanden.

Färbung nach Gram.

Alle Organismen entfärbten sich nicht nach Gram.

Wachstum auf Bouillon.

Das Wachstum der Diphtheriekulturen in alkalischer Bouillon war meistens gut. Oft sah ich das für Diphtherie so typische Wachstum, klare Bouillon mit weißen Granula, die allmählich auf den Boden sinken und dann und wann ein zartes, grauweißes Häutchen auf der Oberfläche. Konstant war dies aber nicht, und öfters sah ich eine homogene Trübung, welche die Diphtheriekulturen aber gar nicht unterscheiden ließen von den Pseudodiphtheriestämmen. Es ist hier wie beim Agar-Agar; die Diphtheriebacillen müssen sich erst an diese Nährflüssigkeit gewöhnen. Bisweilen sah ich erst nach 3 Tagen anfangendes Wachstum, durchschnittlich aber am 2. Tage. Nach einigen Ueberimpfungen wurde das Wachstum meistens schneller und Zusatz von Glykose ergab eine viel üppigere und schnellere Vermehrung.

Die Pseudodiphtheriekulturen gaben meistens in Bouillon eine homogene Trübung mit oder ohne Haut an der Oberfläche.

Gasbildung.

Die Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen erzeugten aus Glykosebouillon kein Gas.

Säurebildung.

Seitdem Roux und Yersin zuerst die Spaltung des Muskelzuckers der Bouillon in Säure durch die Diphtheriebacillen konstatiert haben, ist dies ein Problem geworden, woran fast jeder Diphtherieuntersucher seine Kräfte erprobt hat, und zwar um so mehr, weil der Pseudodiphtheriebacillus die Neigung hat, die Bouillon alkalisch zu machen, was von vielen Forschern als ein differential-diagnostisches Kennzeichen angesehen wird.

Im Jahre 1893 konstatierte Theobald Smith, daß die Säureproduktion der Diphtheriebacillen in Bouillon ganz abhängig war von der darin vorhandenen Glykosequantität. 1895 folgten die wertvollen Experimente von Spronck, welcher mit Bouillon von frischem, altem und faulem Fleisch die Schwankungen der Säureproduktion hat erklären können, wonach auch die 3 großen Gruppen der Diphtheriebacillen, nach der Säureproduktion klassifiziert, (Madsen-Jacobson), erklärt wurden.

1896 wurden diese Versuche von Th. Smith bestätigt. Bald darauf wurden neben der Glykose alle möglichen anderen Zuckerarten benutzt (Martin, Th. Smith, Knapp, Graham Smith, Cadiot-Cathoire und Henry, Neisser und Gins u. a.).

Als ein differential-diagnostisches Kennzeichen zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen wird die Säureproduktion angenommen von Zarnico, Escherich, Neisser, Knapp, Graham Smith, Benham, Hamilton Horton, Th. Smith, Bronstein und Grünblatt, Omeliansky, Prochaska, de Martini, Biggs-Park und Beebe, Trump u. a.

Peters, Kurth, v. Behring, Lesieur, Scheller, Cadiot-Cathoire und Henry, Schmitz u. a. fanden dagegen die Säureproduktion für die Differentialdiagnose nicht zuverlässig.

Von mir wurden auch verschiedene Versuche gemacht über die Säurebildung der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen.

In Lackmusbouillon mit verschiedenen Zuckerarten (Glykose, Maltose, Saccharose, Lävulose, Laktose) und Mannit, sowohl als auch in Lackmusmolke mit diesen Zuckern hatte ich die verschiedensten, wenig konstanten Resultate, welche natürlich für die Differentialdiagnose völlig unbrauchbar sind. Auch erprobte ich das Mankowskysche Reagens, das so äußerst empfindlich sein soll.

Die gewöhnliche, gegenüber Lackmus alkalisch reagierende Bouillon, die von Mankowsky als Nährflüssigkeit empfohlen worden ist, reagiert mit diesem Indikator sauer. Diesem Uebelstande wäre zwar leicht abzuhelpfen, aber noch aus einem anderen Grunde ist die Bouillon in diesem Falle unbrauchbar. Die neutrale Farbe (blau) ist besonders, wenn die Flüssigkeit durch Wachstum trübe geworden ist, nicht mehr zu beurteilen. Darum benutzte ich eine hellere Flüssigkeit, nämlich eine gewöhnliche Pepton-NaCl-Lösung, wodurch die Beurteilung der Farbe auch nach starkem Wachstum erleichtert wurde. Die Resultate waren jedoch nicht einwandfrei, ist doch das Reagens so äußerst empfindlich, daß schon bei kurzem Verweilen bei Zimmertemperatur die Farbe wechselt.

Die abweichenden Resultate der Forscher sind nach meiner Meinung dem Umstande zuzuschreiben, daß die Nährmedien zur Beurteilung der Säureproduktion viel zu kompliziert sind; meistens werden entweder Bouillon oder Serumbouillon oder Modifikationen derselben benutzt. Will man die fermentativen Eigenschaften von Organismen einem bestimmten Stoffe gegenüber erforschen, so müssen so viel wie möglich

alle die anderen Stoffe ausgeschaltet werden, welche auch umgesetzt und abgespalten werden können, damit man eine einwandfreie konstante Reaktion erzielt. Da Spronck nachgewiesen hat, daß Bouillon viel, wenig oder gar keine Glykose enthält, je nach dem Alter des Fleisches, scheint mir diese inkonstante Grundflüssigkeit am wenigsten geeignet, um Säurebildung damit festzustellen. Dasselbe gilt vom Serum, von Glycerinbouillon und derartigen Grundflüssigkeiten, die von anderen so warm empfohlen worden sind (Knapp, Omeliansky, Rothe, Thiel u. a.). Für meine neuen Versuche benutzte ich daher die gewöhnliche, neutralisierte 1-proz. Pepton (Witte-Rostock)- $\frac{1}{2}$ -proz. NaCl-Lösung + 6 Proz. Lackmustinktur (Kahlbaum) + 1 Proz. Glykose, sowie eine andere Reihe mit 1 Proz. Saccharose anstatt 1 Proz. Glykose¹⁾.

Die gewöhnliche Pepton-NaCl-Lösung reagiert gegenüber Lackmus etwas alkalisch; ich neutralisierte sie deswegen (acid. Lact.), weil ich auch die Spuren von Säure nachweisen wollte. Die Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen wuchsen sehr gut in dieser Flüssigkeit, und es war, wie Tabelle I zeigt, nur mit einer Ausnahme (D. Aubertyn) innerhalb 24 Stunden bei 37° C eine deutliche Säureproduktion der Diphtheriebacillen und eine unveränderte Lackmusfarbe bei den Pseudodiphtheriebacillen zu konstatieren.

Tabelle I.

Diese Kulturen einige Wochen bei Zimmertemperatur gehalten, ohne daß eine Veränderung in Farbe auftrat.

		Nach 24 Std. bei 37° C	Nach 48 Std. bei 37° C			Nach 24 Std. bei 37° C	
Neutralisierte Pepton-NaCl-Lackmuslösung + 1 Proz. Glykose.							
Typische Diphtherie- kulturen	D. Willer	+++		Aus der Nase von Kindern aus diphtheriefreier Gegend	N 11 Hage	—	
	D. Klein	+++				N 24 Sonnen	—
	D. Randuast	+++					
	D. Barsens	+++		Aus der Nase und Rachen von Diphtherie- rekoneszenten	A	—	
	D. Josientje	+++				K 3	—
	D. Hassoldt	+++					
	D. Beukers	+++					
	D. Emster	+++					
	D. Aubertyn	—	+++				
D. Hutberg	+++		Aus der Nase von Kind mit Angina	N Carla	—		
Neutralisierte Pepton-NaCl-Lackmuslösung + 1 Proz. Saccharose.							
	D. Willer	+		N 11 Hage		—	
	D. Klein	++		N 24 Sonnen		—	
	D. Randuast	(+)		A		—	
	D. Barsens	++		K 3		alkal.	
	D. Josientje	+		N Carla		—	
	D. Hassoldt	+					
	D. Beukers	+					
	D. Emster	+					
	D. Aubertyn	—	—				
	D. Hutberg	+					

+++ = starke Säureproduktion; hellrote Farbe.

++ = weniger starke Säureproduktion; rote Farbe.

+ = Säureproduktion.

(+) = sehr wenig Säureproduktion.

1) Der sterilisierten und filtrierten Pepton-NaCl-Lösung wurde 6 Proz. Lackmustinktur und 1 Proz. Glykose zugesetzt, danach Neutralisieren mit Acid. lact., Abfüllen in Reagensröhrchen und 1 Stunde auf 100° C sterilisieren.

Ein Jahr nachher (siehe Tab. II) wiederholte ich denselben Versuch und nahm noch einige andere Pseudodiphtheriestämme dazu, und zwar mit demselben guten Erfolge. 24 Stunden im Brutschranke bei 37° C waren genügend, wenn die Röhrrchen hinreichend geimpft waren.

Tabelle II.

Neutralisierte Pepton-NaCl-Lackmuslösung + 1 Proz. Glykose.

Dieselben Kulturen wie in Tabelle I, 1 Jahr nachher wieder in dieser Lösung geprüft.

Diese Kulturen einige Wochen bei Zimmertemperatur gehalten, ohne daß eine Veränderung in Farbe auftrat.

	Nach 24 Stunden bei 37° C		Nach 24 Stunden bei 37° C
D. Willer	+++	Pseudodiphtherie- kulturen aus der Nase von Kindern aus diphtheriefreier Gegend	N 11 Hage
D. Klein	+++		N 24 Sonnen
D. Randuast	+		N 33 Dupont
D. Barsens	+++		N 25 Dupont
D. Hassoldt	++		N 32 Dupont
D. Beukers	++		N 27 Dupont
D. Emster	+		N 28 Dupont
D. Aubertijn	+		
D. Hutberg	+++	Pseudopiphtherie- kulturen v. Diphtherie- rekonvaleszenten	A
D. Král	+++		N Els
D. Ben	+		K Els
			N Carla

Während ich bei dem ersten Versuche (Tabelle I) nach 24 Stunden bei 37° C eine absolut hellrote Farbe konstatiert hatte, war sie nach 1 Jahre bei einigen Kulturen nicht mehr so frappant, die Säurebildung war jedoch noch sehr deutlich zu sehen. Für die Praxis ist das aber von keiner Wichtigkeit, weil man da nur mit ganz frisch isolierten Kulturen zu arbeiten hat. Diese Differenzen der Säuregrade habe ich auch öfters bei verschiedenen Typhuskulturen beobachten können.

Bei dem zweiten Versuche behielt ich die Saccharose bei, weil die Diphtheriebacillen hieraus sehr wenig, eine Kultur sogar keine Säure bildete. Wo der Unterschied zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen mit Glykose schon ein so frappanter ist, reicht diese Zuckerart für die Differentialdiagnose völlig aus. Die Ansichten von Th. Smith, Knapp, Graham Smith, Cadiot-Cathoire und Henry u. a., daß die Diphtheriebacillen aus Saccharose keine Säure bilden, muß ich an der Hand von Tabelle I für unzutreffend erklären. Daß die Organismen in dieser Nährflüssigkeit so gut wachsen, ist meiner Ansicht nach dem Zusatz von Glykose zu verdanken, der in Bouillon auch das Wachstum so begünstigt.

Die neutrale Reaktion dieser Nährflüssigkeit ist besonders für die Differentialdiagnose von großer Wichtigkeit, da man imstande ist innerhalb 24 Stunden der Säureproduktion von Diphtheriebacillen zu konstatieren, was bei alkalischer Reaktion erst nach einigen Tagen möglich ist. — Die viel größere Empfindlichkeit dieser Methode, wodurch man imstande ist gerade die Spur Säure nachzuweisen, macht eben das sie für die Praxis von großem Wert sein kann.

Virulenz und Toxizität.

Schon seit der Entdeckung des Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillus ist die Pathogenität für Meerschweinchen bei Diphtherie mit dem typischen pathologisch-anatomischen Befund gegenüber der Nicht-

pathogenität des Hofmannschen Bacillus bekannt, welche Tatsache jetzt noch als einziges zuverlässiges Kriterium zwischen den beiden Organismen gilt. Die Pathogenität der Pseudodiphtheriebacillen für Vögel, besonders Finkenarten, ist schon durch Salter, Simonin und Benoit u. a. bekannt geworden; Lesieur und Spronck haben aber auch eine geringe Pathogenität für Meerschweinchen feststellen können.

Die Diphtherie- und Pseudodiphtheriekulturen wurden auch dem Tierexperimenten unterworfen; über die angewandte Methode will ich noch Näheres mitteilen. Schon 1888 konstatierte Roux, daß die Toxinproduktion der Diphtheriebacillen mit der alkalischen Reaktion der Bouillon anfängt. Später folgten die Experimente von Th. Smith, Spronck, Madsen, welche feststellten, daß die Säurebildung der Diphtheriebacillen in Bouillon, die von den Bacillen gebildeten Toxine stark schwächt und weitere Toxinproduktion unmöglich macht. Nachher erfolgten die zuckerfreien Nährböden, welche auf sehr verschiedene Weise hergestellt wurden (Smith, Martin, Dean, Spronck usw.).

Anfangs benutzte ich selbst die gewöhnliche alkalische Bouillon, später aber die alkalische zuckerfreie Hefeextrakt-Peptonlösung von Spronck, welche mir gut gefallen hat. Diese Flüssigkeit, welche trübe ist, konnte ganz klar gemacht werden durch wiederholtes Filtrieren durch dickes Filtratpapier No. 596. Für diese Nährflüssigkeit gilt dasselbe, wie für die Bouillon; bei der ersten Impfung wachsen frisch isolierte Diphtheriebacillen oft gar nicht oder sehr langsam in dieser Flüssigkeit. Nach einigen Ueberimpfungen wird aber das Wachstum besser, und ich konnte oft schon nach 24 Stunden eine deutliche Vermehrung konstatieren. Meines Erachtens hat Spronck aus diesen Gründen empfohlen, erst die Diphtheriebacillen auf ein Röhrchen mit dieser Hefeextraktlösung zu impfen; kann man hier ein gutes Wachstum konstatieren, so kann man von hier aus in einen Kolben mit dieser Nährflüssigkeit impfen mit möglichst großer Oberfläche. Jedenfalls muß man die Kolben 2—3 mal 24 Stunden bei 37 ° C im Brutschrank stehen lassen, um ein wirksames Toxin zu bekommen.

Ich will hier noch nachdrücklich betonen, daß man nur gut gewachsene Kulturen den Tieren injizieren soll. Dies ist aber bei Diphtherie nicht immer so leicht zu konstatieren, weil man oft nichts anderes sieht, als eine ganz klare Flüssigkeit mit weißen Granula auf dem Boden. Diese Granula für sich darf man aber nicht als ein genügendes Wachstum ansehen, um ein Tierexperiment danach beurteilen zu können. Ich schüttelte eine derartige Kultur tüchtig, wonach meistens ein homogenes, diffuses Wachstum mit oder ohne Häutchen an der Oberfläche eintrat. Man injiziere also nur eine flüssige Kultur, bei der über ein genügendes Wachstum kein Zweifel besteht. Auf diese Weise bekam ich sehr wirksame Toxine; die Nährflüssigkeit selbst blieb auch sehr gut alkalisch. Ich benutzte Caviae von \pm 3—400 g Gewicht, welche 1 ccm von einer 3—4 mal 24 Stunden alten Hefeextraktkultur subkutan injiziert bekamen. Absichtlich injizierte ich Toxine und Bacillen, weil ich nicht nur die Ekto-toxine, sondern auch die Endotoxine, welche bei der Diphtherie eine so große Rolle spielen, einspritzen wollte.

Die Seruminjektionen wurden 12 Stunden zuvor vorgenommen, damit ich die Zuverlässigkeit des Spronckschen Phänomens prüfen konnte. Spronck behauptet nämlich, daß das nach der Injektion der fraglichen Kultur entstandene Oedem an der Impfstelle, bei den mit Antidiphtherie-

serum vorbehandelten Meerschweinchen der Pseudodiphtherie entspricht; die Kontrollserum-Cavia, welche mit echten Diphtheriebacillen injiziert wurde, würde dieses Oedem an der Impfstelle nicht zeigen. Am nächsten Morgen überzeugte ich mich, daß bei den Caviae, welche den Abend zuvor Antidiphtherieserum bekommen hatten, keine Spur von Oedem an der Injektionsstelle nachzuweisen war.

Wie aus Tabelle III zu ersehen ist, war bei der Kultur Randuast und Barsens ein kleines Infiltrat an der Impfstelle bei der Kontrollserum-Cavia aufgetreten. Daß ich zu wenig Serum injiziert hätte, kommt mir unwahrscheinlich vor, weil die meisten Untersucher höchstens 1 bis 2 ccm injizieren und Spronck nur den 0,005. bis 0,001. Teil des Cavia-körpergewichtes an Antidiphtherieserum, zusammen mit 1 ccm Bouillonkultur injiziert hat. Diese Methode ist für die Diagnose also nicht zuverlässig. Auf eine andere, aus der Tabelle ersichtliche Tatsache wünsche ich noch die Aufmerksamkeit zu lenken, nämlich daß 5 von den Kontrollserum-Caviae (2, 4, 6, 8, 14) auch sukumbierten, wenn auch einige Zeit später als die Nichtserum-Caviae. Das pathologisch-anatomische Bild gibt hier auch keinen Aufschluß. Ob es die nicht völlig neutralisierten Toxine sind, welche das Nervensystem angegriffen haben und so den akuten Tod zur Folge hatten, oder ob der Exitus nichts mit der Injektion zu tun hatte, ist meiner Meinung nach nicht nachzuweisen.

Bei der Diphtheriekultur Emster beobachten wir die Eigentümlichkeit, daß die Kontrollserum-Cavia sukumbiert, wogegen die Nichtserum-Cavia, welche sehr krank ist, am Leben blieb und vollständig gesund wurde. Das Sektionsbild der Serum-Cavia (Cavia 6) gibt auch keine deutliche Erklärung. Hätte ich jetzt dem Tierexperimente allein den vollen Wert für die bakterielle Diagnose zugesprochen, so würde dieser Fall zu großen Schwierigkeiten Anlaß gegeben haben. Morphologie, Säurebildung in Pepton-NaCl-Lackmusglykoselösung und Agglutination machen aber, daß dieser Stamm ohne Zweifel zu den typischen Diphtheriekulturen gerechnet werden muß (Tabelle I—VII). Möglich ist es, daß in diesem Falle das Serum als fremdes Globulin abschwächend und irritierend gewirkt hat.

Diphtheriekultur Josientje, welche nicht von mir, sondern von Dr. med. Sorgdrager isoliert wurde und anfangs virulent war, aber bei der zweiten Untersuchung des damals rekonvaleszenten Kindes avirulent geworden war, wurde von mir auch im Tierexperiment erprobt. Das Kind hatte eine klinisch-typische Diphtherie durchgemacht. In diesem Falle würde man mit dem Tierexperiment allein keinen einzigen Unterschied gegenüber dem Pseudodiphtheriebacillus gefunden haben. Die Säurebildung bewies aber genügend, daß man es mit einer echten Diphtherieart zu tun hatte. Leider konnte ich diese Kultur später nicht der Agglutination unterwerfen, weil dieser Stamm in der Zeit stark abgeschwächt war, so daß schon das Wachstum auf Agar, Hefeextraktlösung und Peptonlösung sehr abgenommen hatte.

Diphtheriekultur Aubertyn, auch von Dr. Sorgdrager isoliert, welcher sie einige Wochen vorher im Tierexperiment prüfte und avirulent befunden hatte, hat jetzt, wie auch Tabelle III deutlich zeigt, die volle Virulenz zurückbekommen, wieder ein Beweis für die großen Schwankungen in der Virulenz bei Diphtheriebacillen, welche schon von so vielen Forschern konstatiert worden sind, und die bei der bakteriologischen Diphtheriediagnose, wo man oft so großen Wert auf das Tierexperiment legt, zur Vorsicht mahnen müssen.

Tabelle III.

Cavia 1			
Diphtherie- kultur Hutberg	5. 12. 12 1 ccm 4 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	6. 12. 12 † Sektionsbild: An der Impfstelle hämorrhagisch- gelatinöses Oedem. — Viel Transsudat in der Pleura- höhle. — Kein Transsudat in der Peritonealhöhle. — Nebennieren stark hyperämisch, nicht vergrößert. — Milz normal. — Leber fettig degeneriert. — Lungen anämisch, mit Stasen.	Diphtherie
Cavia 3			
Diphtherie- kultur Willer	5. 12. 12 1 ccm 4 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	7. 12. 12 † Sektionsbild: An der Impfstelle starke Adhäsion von der Haut mit dem untenliegenden Muskel- gewebe; hämorrhagisch-gelatinöses Oedem. — Viel Transsudat in der Pleurahöhle, kein Transsudat in der Peritonealhöhle. — Nebennieren stark hyper- ämisch und vergrößert. — Nieren normal. — Lungen anämisch, mit Stasen.	Diphtherie
Cavia 5			
Diphtherie- kultur Emster	5. 12. 12 1 ccm 4 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	6. 12. 12 Tier sehr krank 7. 12. 12 Tier etwas besser 9. 12. 12 Wieder ganz munter. Großes Infiltrat vom Sternum bis zur Regio pubica 14. 12. 12 Infiltrat wird deutlich weniger 16. 12. 12 Vom Infiltrat fast nichts mehr übrig; Tier vollständig geheilt	
Cavia 7			
Diphtherie- kultur Hassoldt	14. 12. 12 1 ccm 4 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	16. 12. 12 † Sektionsbild: An der Impfstelle hämorrhagisch- gelatinöses Oedem. — Viel Transsudat in der Peri- tonealhöhle; wenig in der Pleurahöhle. — Nieren und Nebennieren stark hyperämisch und vergrößert. — Axilläre Lymphdrüsen stark injiziert und ver- größert. — Peritonitis.	Diphtherie
Cavia 9			
Diphtherie- kultur Randuast	14. 12. 12 1 ccm 4 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	16. 12. 12 † Sektionsbild: An der Impfstelle hämorrhagisch- gelatinöses Oedem. — Wenig Transsudat in der Peritonealhöhle. — Nieren und Nebennieren stark hyperämisch und vergrößert. — Cor stark injiziert. — Axilläre und inguinale Lymphdrüsen hyper- ämisch. — Peritonitis.	Diphtherie
Cavia 11			
Diphtherie- kultur 32	14. 12. 12 1 ccm 4 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	16. 12. 12 † Sektionsbild: An der Impfstelle hämorrhagisch- gelatinöses Oedem. — Viel Transsudat in der Pleurahöhle. — Nieren und Nebennieren stark hyperämisch und vergrößert. — Cor stark inji- ziert. — Lungen anämisch, mit Stasen. — Peri- tonitis.	Diphtherie
Cavia 13			
Diphtherie- kultur Barsens	14. 12. 12 1 ccm 4 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	16. 12. 12 † Sektionsbild: An der Impfstelle hämorrhagisch- gelatinöses Oedem. — Viel Transsudat in der Pleurahöhle; wenig in der Peritonealhöhle. — Nieren- und Nebennieren stark hyperämisch und vergrößert. — Axilläre und inguinale Lymphdrüsen hyperämisch und vergrößert. — Lungen anämisch. — Cor stark injiziert. — Peritonitis.	Diphtherie

Tabelle III.

Cavia 2

4. 12. 12 abends 3 ccm anti-diphtherisches Serum subkutan in der Schenkelgegend	5. 12. 12 morgens 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan	6. 12. 12 bis 21. 12. 12 an der Impfstelle nichts zu fühlen	22. 12. 12 † Sektionsbild: Nichts Besonderes. An der Impfstelle wenig zu sehen. — Sehr wenig Transsudat in der Pleurahöhle und Peritonealhöhle. — Organe normal. — Inguinale und axilläre Lymphdrüsen etwas injiziert.
--	--	---	---

Cavia 4

4. 12. 12 abends 3 ccm anti-diphtherisches Serum subkutan in der Schenkelgegend	5. 12. 12 morgens 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan	7. 12. 12 bis 16. 12. 12 an der Impfstelle nichts zu fühlen	22. 12. 12 † Sektionsbild: An der Impfstelle nichts Besonderes zu sehen. — Inguinale und axilläre Lymphdrüsen hyperämisch und vergrößert. — Kein Transsudat. — Die Organe ganz normal.
--	--	---	---

Cavia 6

4. 12. 12 abends 3 ccm anti-diphtherisches Serum subkutan in der Schenkelgegend	5. 12. 12 morgens 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan	7. 12. 12 †	Sektionsbild: An der Impfstelle Hämorrhagieen. — Viel Transsudat in der Peritonealhöhle; kein Transsudat in der Pleurahöhle. — Nebennieren anämisch, nicht vergrößert. — Lungen hyperämisch mit Stasen. — Hyperämie von Leber und Milz.
--	--	-------------	---

Cavia 8

13. 12. 12 abends 3 ccm anti-diphtherisches Serum subkutan in der Schenkelgegend	14. 12. 12 morgens 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan	16. 12. 12 an der Impfstelle nichts zu fühlen	6. 1. 13 † Sektionsbild: An der Impfstelle nichts Besonderes zu sehen. — Organe normal. — Kein Transsudat. — Axilläre und inguinale Lymphdrüsen hyperämisch und vergrößert. — Eine Nebenniere leicht injiziert.
---	---	---	--

Cavia 10

13. 12. 12 abends 3 ccm anti-diphtherisches Serum subkutan in der Schenkelgegend	14. 12. 12 morgens 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan	16. 12. 12 an der Impfstelle kleines Infiltrat	Tier normal geblieben.
---	---	--	------------------------

Cavia 12

13. 12. 12 abends 3 ccm anti-diphtherisches Serum subkutan in der Schenkelgegend	14. 12. 12 morgens 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan	16. 12. 12 an der Impfstelle nichts zu fühlen	Tier normal geblieben.
---	---	---	------------------------

Cavia 14

13. 12. 12 abends 3 ccm anti-diphtherisches Serum subkutan in der Schenkelgegend	14. 12. 12 morgens 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan	16. 12. 12 ganz kleines Infiltrat an der Impfstelle	6. 1. 13 † Sektionsbild: Organe normal. — Eine Nebenniere leicht injiziert. — Lymphdrüsen normal. — Kein Transsudat.
---	---	---	---

Cavia 15			
Diphtherie- kultur Ben	1. 2. 13 1 ccm 4 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	3. 2. 13 † Sektionsbild: An der Impfstelle wenig gelatinöses Oedem. — Kein Transsudat. — Nebennieren leicht hyperämisch. — Axilläre Lymphdrüsen hyperämisch und vergrößert. — Organe normal.	} Diphtherie
Cavia 17			
Diphtherie- kultur Beukers	4. 2. 13 1 ccm 4 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	6. 2. 13 † Sektionsbild: An der Impfstelle hämorrhagisch- gelatinöses Oedem. — Transsudat in der Pleura- und Peritonealhöhle. — Nebennieren stark hyper- ämisch und vergrößert. — Axilläre und inguinale Lymphdrüsen hyperämisch und vergrößert.	} Diphtherie
Cavia 19			
Diphtherie- kultur Aubertyn	23. 5. 13 1 ccm 7 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	25. 5. 13 † Sektionsbild: An der Impfstelle hämorrhagisch- gelatinöses Oedem. — Viel Transsudat in der Pleura- und Peritonealhöhle. — Nebennieren hyper- ämisch und vergrößert.	} Diphtherie
Cavia 20			
Diphtherie- kultur Josientje	23. 5. 13 1 ccm 7 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	25. 5. 13 Kein Filtrat an der Impfstelle. Tier normal geblieben.	

Bei allen Tierexperimenten mit echten Diphtheriebacillen konstatierte ich noch, daß das pleurale und peritoneale Transsudat in engem Zusammenhang steht mit der Injektionsstelle. Injizierte ich subkutan in die Sternalgegend, so war im Sektionsbilde sehr reiches Transsudat in der Pleurahöhle zu finden, bei Injektion unter die Bauchhaut aber viel Transsudat in der Peritonealhöhle.

Um eine definitive Diagnose durch das Tierexperiment zu stellen, wartete ich immer 7 Tage nach der Injektion, weil ich einmal einen typischen Diphtherieorganismus aus der Nase einer Diphtherierekonvaleszentin isoliert habe (No. 9, Tabelle IV), wo das Tier erst nach 5 Tagen unter typischen Symptomen verschied. Lesieur rät denn auch, 8 Tage zu warten, ehe man sich eine definitive Beurteilung erlauben darf.

Auch die Pseudodiphtheriekulturen wurden dem Tierexperiment unterworfen. Größtenteils erwiesen sie sich gar nicht oder äußerst wenig pathogen für Meerschweinchen. Wie oben schon gesagt, hatten alle diese Kulturen morphologisch den Pseudodiphtheriecharakter. Oft sah ich, daß die Caviae 24 Stunden nach der Injektion (1 ccm von 4mal 24 Stunden alter Hefeextraktkultur subkutan) nicht munter waren, nicht fressen wollten und einen kränklichen Eindruck machten. Bei vielen konnte ich ein geringes Infiltrat an der Injektionsstelle konstatieren; meistens gingen aber diese Symptome schnell vorüber, und die Tiere waren nach 24 Stunden wieder völlig gesund. Bezüglich einiger Stämme, welche morphologisch den Pseudodiphtherietypus zeigten, verweise ich auf Tabelle IV.

Mit Kultur K. 3 injizierte ich aufs neue eine Cavia und eine Kontrollserum-Cavia, die auch mit derselben Kultur injiziert war. Beide Tiere blieben jetzt völlig gesund.

Cavia 16

1. 2. 13 abends 3 ccm anti- diphtherisches Serum subkutan in der Schenkel- gegend	2. 2. 13 mor- gens 1 ccm 4 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	3. 2. 13 an der Impf- stelle nichts zu fühlen	Tier normal geblieben.
--	---	--	------------------------

Cavia 18

3. 2. 13 abends 3 ccm anti- diphtherisches Serum subkutan in der Schenkel- gegend	4. 2. 13 mor- gens 1 ccm 4 Tage alte Hefe- extraktkultur subkutan	6. 2. 13 an der Impf- stelle nichts zu fühlen	Tier normal geblieben.
--	---	--	------------------------

Hätte ich nun das 1. Mal auch mit einer Kontrollserum-Cavia experimentiert, so würde diese aller Wahrscheinlichkeit nach am Leben geblieben sein; die Diagnose wäre dadurch sehr erschwert worden, um so mehr, als wir wissen, daß der typische pathologisch-anatomische Befund bei Diphtherie, nämlich die hyperämischen Nebennieren etc., nicht immer deutlich ausgesprochen ist. Dazu kommt noch die stark bakterizide und schützende Kraft des normalen Pferdeserums, welche ich noch weiter in einem Experiment nachzuweisen wünsche, alles Faktoren, welche große Schwierigkeiten verursachen bei einer bakteriologischen Diphtheriediagnose, wo man vom Tierexperiment alles erwartet. Nach 1 Monat ungefähr wollte ich eine Cavia mit dieser Kultur immunisieren. Nach der 3. Injektion (in Zwischenräumen von 10 Tagen) sukumbierte die Cavia. Im Sektionsbilde viel hämorrhagisches Transsudat in der Peritonealhöhle und anämische Lungen.

Kultur No. 2 glaube ich zu der Diphtheriegruppe rechnen zu dürfen. Eigentümlich ist es, daß nur beim 2. Experiment (Cavia No. 24) die hyperämischen Nebennieren hervortraten.

Bei Kultur No. 3 blieb das Tier bei der 1. Injektion am Leben, die zweite Cavia No. 26, mit 1 ccm injiziert, sukumbierte. Ein 2. Experiment nach 4 Tagen mit der Kontrollserum-Cavia zeigte nichts Besonderes. Beide Tiere sind am Leben geblieben und waren gar nicht krank. Die Polkörperchen waren bei dieser Kultur sehr schön und deutlich ausgeprägt.

Kultur No. 9 muß meiner Ansicht nach zu der Diphtherie gerechnet werden, und zwar um so mehr, weil hier progressive Paralyse konstatiert werden konnte. Merkwürdig ist es aber, daß erst die 3. Cavia (No. 29) hyperämische Nebennieren zeigt. Wenn bei Cavia No. 27 die progressive Paralyse sich nicht gezeigt hätte, würde die Diagnose in diesem Falle

Tabelle IV.

Morphologie	Poltörner		
<p>Kultur K 3, isoliert aus der Nase von Diphtherierekonvalesz. Kultur N 2, isoliert aus der Nase von Diphtherierekonvalesz.</p>	<p>Kurzes, plumpees, diphtherieähn. Stäbchen Gram +</p>	<p>Schwach +</p> <p>6. 10. 11 Cavia 21 1/2 ccm Bouillonkultur subkutan</p> <p>14. 10. 11 Cavia 22 1/2 ccm Bouillonkultur subkutan</p>	<p>7. 10. 11 Tier ganz normal</p> <p>8. 10. 11 † Sektionsbild: Cavia sehr abgemagert. — Kein Transsudat in Pleura- oder Peritonealhöhle. — Organe normal. — Nieren und Nebennieren ganz normal. — Eingeweide leicht injiziert.</p> <p>17. 10. 11 † Sektionsbild: An der Impfstelle nichts Besonderes zu sehen. — Kein Transsudat in Pleura- od. Peritonealhöhle. — Lungen ödematös und mit Hypostasen. — Milz und Leber normal. — Eine Nebenniere verkäst.</p> <p>30. 10. 11 Cavia ganz normal und am Leben geblieben.</p>
<p>Kultur N 3, isoliert aus der Nase von normal. Kind aus Diphtherie-Umgebung</p>	<p>Kurzes, plumpees, diphtherieähn. Stäbchen Gram +</p>	<p>+ sehrdeutliche und schöne Polkörner</p> <p>14. 10. 11 Cavia 25 1/2 ccm Bouillonkultur subkutan</p> <p>1. 11. 11 Cavia 26 1 ccm Bouillonkultur subkutan</p>	<p>30. 10. 11 † Sektionsbild: Transsudat in Peritonealhöhle. — Nieren- u. Nebennieren stark vergrößert u. hyperämisch. — Milz u. Leber normal.</p> <p>16. 10. 11 Cavia ganz normal und am Leben geblieben.</p> <p>11. 11. 11 † Sektionsbild: Hämorrhagisches Transsudat in Peritoneal- u. Pleurahöhle. — Inguinale Lymphdrüsen hyperämisch. — Lungen anämisch u. Stasen. — Nieren vergrößert u. hyperämisch. — Nebennieren normal. — Leber normal. — Hydropericard.</p> <p>9. 11. 11 morgens: Paralyse am linken Hinterbein. — Mittags: Paralyse an der ganzen linken Seite.</p> <p>24. 11. 11 † Sektionsbild: Transsudat in Peritonealhöhle. — Nieren hyperäm. — Linke Nebenniere vergröß.</p> <p>15. 11. 11 † Sektionsbild: Kein Transsudat in den Höhlen. — Nieren u. Nebennieren hyperämisch und vergrößert. — Milz und Leber normal.</p> <p>18. 1. 12 † Sektionsbild: Hämorrhagisches Exsudat in Peritonealhöhle. — Nieren u. Nebennieren nicht hyperämisch. — Alle Organe normal.</p>
<p>Kultur N 9, isoliert aus der Nase von Diphtherierekonvalesz.</p>	<p>Kurzes, plumpees, diphtherieähn. Stäbchen Gram +</p>	<p>Schwach +</p> <p>4. 11. 11 Cavia 27 1/2 ccm Bouillonkultur subkutan</p> <p>21. 11. 11 Cavia 28 1/2 ccm Toxine subkutan</p> <p>9. 11. 11 Cavia 29 1/2 ccm Bouillonkultur subkutan</p>	<p>9. 11. 11 † Sektionsbild: An der Impfstelle nichts Besonderes zu sehen. — Transsudat in Peritonealhöhle. — Lungen anämisch. — Nieren normal. — Nebennieren nicht hyperämisch, aber vergrößert. — Andere Organe normal.</p>
<p>Kultur N 15, isoliert aus der Nase von Diphtherierekonvalesz. Kultur N 18, Sonnen isol. a. d. Nase von Kind aus diphtheriefreier Gegend</p>	<p>Kurzes, plumpees, diphtherieähn. Stäbchen Gram +</p>	<p>+</p> <p>10. 1. 12 Cavia 30 1/2 ccm Bouillonkultur subkutan</p> <p>2. 2. 12 Cavia 31 1 ccm Bouillonkultur subkutan</p>	<p>9. 2. 12 † Sektionsbild: An der Impfstelle Hämorrhagieen. — Nieren und Nebennieren etwas hyperämisch, aber nicht vergrößert. — Sehr wenig Transsudat in Pleurahöhle.</p>

Public Domain in the United States; Digitized by Google

sehr schwierig gewesen sein, auch wenn eine Kontrollserum-Cavia da-
gewesen und diese am Leben geblieben wäre.

Kultur No. 15 ist Stamm No. 3 sehr ähnlich, nur mit dem Unter-
schiede, daß das 1. Tier No. 30 sukumbierte, aber nachher 2 andere
Tiere völlig gesund blieben. Kultur No. 18 Sonnen gibt im Sektions-
bilde der Cavia No. 31 kein deutliches Resultat.

Sollen diese Stämme nun zur typischen Diphtheriegruppe gerechnet
werden oder nicht? Daß die Kulturen einige Pathogenität zeigten, ist
meiner Meinung nach nur bei N 2 und N 9 erwiesen, die anderen Re-
sultate sind viel zu schwankend. Um festzustellen, ob diese Stämme
wirklich typische Diphtheriebacillen waren oder nicht, nahm ich mir vor,
Caviae mit diesen Kulturen zu immunisieren, um sie danach mit der
Dosis letalis minima einer echten Diphtheriekultur zu injizieren. Zu
diesem Experiment benutzte ich auch noch die folgenden 3 Kulturen:

N 11, isoliert aus der Nase von einem Diphtherierekonvaleszenten.

A, isoliert aus der Nase von einem Diphtherierekonvaleszenten.

B, isoliert aus der Nase von einem gesunden Kinde aus Diphtherie-
umgebung.

Im ganzen hatte ich also 8 Kulturen (K 3, N 2, N 3, N 9, N 11,
N 15, A, B).

Die Caviae bekamen total 9 ccm einer 4 mal 24 Stunden alten Hefe-
extraktkultur subkutan in 3 Dosen; zum 1. Male 1 ccm, 7 Tage später
3 ccm, wieder nach 7 Tagen 5 ccm.

Diese Injektionen wurden von den Tieren gut ertragen. 14 Tage
nach der letzten Injektion wurden alle Tiere mit der Dosis letalis minima
($\frac{1}{10}$ ccm Hefeextraktkultur) eines sehr virulenten toxischen Diphtherie-
stammes subkutan injiziert, Als Dosis letalis minima wurde $\frac{1}{10}$ ccm
gewählt, weil die Tiere (No. 43—44), mit $\frac{1}{20}$ injiziert, erst nach 5 bis
7 Tagen sukumbierten. Ohne Ausnahme starben die Tiere in 3 oder
5 Tagen an typischer Diphtherie, ebenso die Kontroll-Caviae, welche
nur die Dosis letalis minima des echten Diphtheriestammes bekommen
hatten. Das pathologisch-anatomische Bild ließ keinen Zweifel zu
(Tabelle V).

Dieses negative Resultat war für mich nicht genügend, um die Nicht-
Diphtherienatur dieser Kulturen anzunehmen, jedenfalls war die Möglich-
keit nicht ausgeschlossen, daß ein avirulent (atoxisch) gewordener Di-
phtheriestamm überhaupt nicht immunisierte für einen virulent-toxischen
Stamm, obgleich Experimente bekannt sind, wo mit durch Hitze abge-
schwächten Toxinen Antikörper beim Tiere hervorgerufen worden sind
(Cartwright Wood und Fraenkel). Beispiele, daß man mit abge-
schwächten, sogar abgetöteten Kulturen sehr gut instande ist, gegen
virulente Kulturen zu immunisieren, gibt es viele. Die großen Schwierig-
keiten, mit denen man zu kämpfen hat beim Immunisieren mit Diphtherie-
bacillen, sind aus der Literatur genügend bekannt (Cruveilhiers,
Van de Velde, Klein, Lipstein, Aviraguet, Block Michel,
Dorlencourt usw.).

Man hat es bei diesen Organismen mit zwei völlig verschiedenen
Körpern zu tun, den Endotoxinen, welche thermostabil sind, und den
Ektotoxinen, welche schon bei 50° C bedeutend abgeschwächt werden
und bei 100° C ganz unwirksam sind.

Ich unternahm nun folgenden Versuch:

Eine Reihe von Caviae wurde injiziert mit durch Hitze abgetöteten
Diphtheriebacillen, bei denen also die dem Bacillenkörper anhaftenden

Tabelle V.

Cavia 32.	
Kultur K 3 aus dem Rachen von Diphtherierekonvalesz.	25. 9. 13. 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan in der Bauchgegend 2. 10. 13. 3 " 4 " " " " " " " " 9. 10. 13. 5 " 4 " " " " " " " " 22. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm (Dosis letalis minima) Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan 25. 10. 13. †. Sektionsbild: Typische Diphtherie
Cavia 33.	
Kultur N 2 aus der Nase von Diphtherierekonvalesz.	25. 9. 13. 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan in der Bauchgegend 2. 10. 13. 3 " 4 " " " " " " " " 9. 10. 13. 5 " 4 " " " " " " " " 22. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm (Dosis letalis minima) Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan 24. 10. 13. †. Sektionsbild: Typische Diphtherie
Cavia 34.	
Kultur N 3 aus der Nase von einem normalen Kinde aus Diphtherieumgebung	25. 9. 13. 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan in der Bauchgegend 2. 10. 13. 3 " 4 " " " " " " " " 9. 10. 13. 5 " 4 " " " " " " " " 22. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm (Dosis letalis minima) Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan 26. 10. 13. †. Sektionsbild: Typische Diphtherie
Cavia 35.	
Kultur A aus der Nase von Diphtherierekonvalesz.	25. 9. 13. 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan in der Bauchgegend 2. 10. 13. 3 " 4 " " " " " " " " 9. 10. 13. 5 " 4 " " " " " " " " 22. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm (Dosis letalis minima) Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan 27. 10. 13. †. Sektionsbild: Typische Diphtherie
Cavia 36.	
Kultur B aus der Nase von einem normalen Kinde aus Diphtherieumgebung	25. 9. 13. 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan in der Bauchgegend 2. 10. 13. 3 " 4 " " " " " " " " 9. 10. 13. 5 " 4 " " " " " " " " 22. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm (Dosis letalis minima) Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan 27. 10. 13. †. Sektionsbild: Typische Diphtherie
Cavia 37.	
Kontrollversuch mit Diphtheriekultur Klein	22. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm (Dosis letalis minima) Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan in der Bauchgegend 24. 10. 13. †. Sektionsbild: An der Impfstelle hämorrhagisch-gelatinöses Oedem. — Transsudat in der Pleurahöhle und Peritonealhöhle. — Nieren und Nebennieren stark hyperämisch und vergrößert } Diphtherie

Toxine durch Hitze untätig geworden waren. Diese immunisierten Caviae wurden zuletzt mit lebendigen Diphtheriebacillen von einer Serumkultur injiziert.

Eine gleiche Anzahl von Caviae wurde auf dieselbe Weise mit Pseudodiphtheriebacillen vorbehandelt und zuletzt auch mit lebendigen Diphtheriebacillen injiziert.

Für diesen Versuch benutzte ich folgende Kulturen: Diphtherie Hassoldt* und Diphtherie Klein (typische toxische Diphtheriekulturen), Pseudodiphtherie N 11 Hage und N 24 Sonnen (isoliert von normalem Kinde aus diphtheriefreier Gegend). Für jede Kultur wurden 2 Meerschweinchen benutzt (Tabelle VI).

Tabelle V.

Cavia 38.	
Kultur N 9 aus der Nase von Diphtherie- rekonvalesz.	29. 9. 13. 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan in der Bauchgegend
	2. 10. 13. 3 " 4 " " " " " " "
	9. 10. 13. 5 " 4 " " " " " " "
	22. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm (Dosis " letalis minima) Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan
	24. 10. 13 †. Sektionsbild: Typische Diphtherie
Cavia 39.	
Kultur N 11 aus der Nase von Diphtherie- rekonvalesz.	25. 9. 13. 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan in der Bauchgegend
	2. 10. 13. 3 " 4 " " " " " " "
	9. 10. 13. 5 " 4 " " " " " " "
	22. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm (Dosis " letalis minima) Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan
	26. 10. 13 †. Sektionsbild: Typische Diphtherie
Cavia 40.	
Kultur N 15 aus der Nase von Diphtherie- rekonvalesz.	25. 9. 13. 1 ccm 4 Tage alte Hefeextraktkultur subkutan in der Bauchgegend
	2. 10. 13. 3 " 4 " " " " " " "
	9. 10. 13. 5 " 4 " " " " " " "
	22. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm (Dosis " letalis minima) Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan
	25. 10. 13 †. Sektionsbild: Typische Diphtherie
Cavia 41.	
Versuch, um die Dosis letalis minima von Diphth. Klein fest- zustellen	14. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan in der Bauchgegend
	16. 10. 13 †. Sektionsbild: An der Impfstelle hämorrhagisch-gelatinöses Oedem. — Transsudat in Pleurahöhle. — Nieren und Nebennieren stark hyperämisch und vergrößert } Diphtherie
Cavia 42.	
	14. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan in der Bauchgegend
	15. 10. 13 †. Sektionsbild: An der Impfstelle hämorrhagisch-gelatinöses Oedem. — Transsudat in Pleurahöhle und Peritonealhöhle. — Nieren und Nebennieren stark hyperämisch und vergrößert } Diphtherie
Cavia 43.	
	14. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan in der Bauchgegend
	19. 10. 13 †. Sektionsbild: Diphtherie
Cavia 44.	
	14. 10. 13. $\frac{1}{10}$ ccm Hefeextraktkultur von Diphtherie Klein subkutan in der Bauchgegend
	21. 10. 13 †. Sektionsbild: Diphtherie

Cavia 45 zeigt keine Spur von Resistenz der Injektion von lebendigen Diphtheriebacillen gegenüber. Merkwürdig ist es, daß hier die hyperämischen Nebennieren fehlen, welche aber die Kontroll-Cavia No. 49 zeigt.

Bei Cavia 46 sehen wir deutlich die Wirkung der Endotoxine, welche, wie Loeffler schon zuerst konstatiert hat, große Abszesse geben können. Daß man diese Abszesse bei den Tieren, welche mit lebenden Diphtheriebacillen injiziert sind, so selten sieht, ist wohl dem Umstande zuzuschreiben, daß die viel schneller wirksamen Ektotoxine die Tiere schon getötet haben, ehe die Endotoxine ihre Wirkung entfalten können. Hier sind aber die Ektotoxine durch die Erwärmung untätig gemacht.

Tabelle VI.

	Cavia 45.	Cavia 46.
Diphtherie- kultur Klein	<p>3. 11. 13 1 Oese D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan</p> <p>10. 11. 13 3 Oesen D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan</p> <p>20. 11. 13 1 Oese D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, nicht erwärmt, subkutan</p> <p>21. 11. 13 an der Impfstelle sehr kleines Infiltrat</p> <p>22. 11. 13 †. Sektionsbild: An der Impfstelle hämorrhagisch-gelatinöses Oedem. — Axilläre Lymphdrüsen hyperämisch. — Transsudat in Pleurahöhle. — Nieren und Nebennieren normal</p>	<p>3. 11. 13 1 Oese D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan.</p> <p>10. 11. 13 3 Oesen D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan.</p> <p>13. 11. 13 Cavia sehr krank; großes, hartes Infiltrat an der Impfstelle; ein anfängender oder sich formender Abszeß.</p> <p>16. 11. 13 †. Sektionsbild: Großer Abszeß mit Nekrose. — Die Haut an dieser Stelle ganz nekrotisch und leicht mit Pinzette abzunehmen; darunter viel Eiter mit Nekrose des unterliegenden Gewebes. — Inguinale Lymphdrüsen stark vergrößert und hyperämisch. — Wenig Transsudat in Peritonealhöhle. — Nieren und Nebennieren normal.</p>
Diphtherie- kultur Hassoldt	<p>5. 11. 13. 1 Oese D. Hassoldt-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan</p> <p>10. 11. 13 3 Oesen D. Hassoldt-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan</p> <p>20. 11. 13 1 Oese D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, nicht erwärmt, subkutan</p> <p>21. 11. 13 an der Impfstelle kleines Infiltrat</p> <p>22. 11. 13 deutliches, hartes Infiltrat an der Impfstelle</p> <p>24. 11. 13 großes Infiltrat an der Impfstelle</p> <p>26. 11. 13 †. Sektionsbild: An der Impfstelle gelatinöses Oedem. — Transsudat in Pleurahöhle. — Nieren vergrößert, Nebennieren hyperämisch</p>	<p>5. 11. 13 1 Oese D. Hassoldt-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan.</p> <p>10. 11. 13 3 Oesen D. Hassoldt-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan.</p> <p>20. 11. 13 1 Oese D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, nicht erwärmt, subkutan.</p> <p>22. 11. 13 kleines Infiltrat.</p> <p>24. 11. 13 großes Infiltrat.</p> <p>27. 11. 13 †. Sektionsbild: An der Impfstelle gelatinöses Oedem. — Transsudat in Pleurahöhle. — Nieren vergrößert, Nebennieren hyperämisch. } Diphtherie</p>
Diphtherie- kultur Klein	<p>18. 11. 13 1 Oese tüchtig gewaschene D. Klein-Bacillen subkutan</p> <p>19. 11. 13 weiches Infiltrat</p> <p>20. 11. 13 †. Sektionsbild: An der Impfstelle gelatinöses Oedem. — Transsudat in Pleurahöhle. — Nieren vergrößert, Nebennieren hyperämisch</p>	<p>20. 11. 13 1 Oese D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, nicht erwärmt, subkutan.</p>

<p>Pseudo-diphtheriekultur N 11 Hage, isoliert aus der Nase von einem Kinde aus diphtheriefreier Gegend</p>	<p>Cavia 50.</p> <p>3. 11. 13 1 Oese Ps.-D. N 11 Hage-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan</p> <p>9. 11. 13 †. Sektionsbild: Wenig Abnormales zu sehen</p> <p>Cavia 52.</p> <p>3. 11. 13 1 Oese Ps.-D. N 11 Hage-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan</p> <p>10. 11. 13 3 Oesen Ps.-D. N 11 Hage-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan</p> <p>20. 11. 13 1 Oese D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, nicht erwärmt, subkutan</p> <p>21. 11. 13 weiches Infiltrat an der Impfstelle</p> <p>22. 11. 13 großes, hartes Infiltrat an der Impfstelle</p> <p>24. 11. 13 †. Sektionsbild: An der Impfstelle gelatinöses Oedem. — Transsudat in Peritonealhöhle. — Nebennieren vergrößert und hyperämisch</p>	<p>Cavia 51.</p> <p>4. 11. 13 1 ccm Ps.-D. N 11 Hage-Hefeextraktkultur, subkutan.</p> <p>11. 11. 13 2 ccm Ps.-D. N 11 Hage-Hefeextraktkultur, subkutan.</p> <p>20. 11. 13 1 Oese D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, nicht erwärmt.</p> <p>21. 11. 13 sehr kleines Infiltrat an der Impfstelle.</p> <p>24. 11. 13 großes Infiltrat; Cavia krank.</p> <p>27. 11. 13 Cavia wieder munter.</p> <p>1. 12. 13 deutlicher Abszeß mit Nekrose an der Impfstelle.</p> <p>10. 12. 13 Abszeß wird nekrotisch, die Haut abgestoßen; der Abszeß heilt.</p>
<p>Pseudo-diphtheriekultur N 24 Sonnen, isoliert aus der Nase von einem Kinde aus diphtheriefreier Gegend</p>	<p>Cavia 53.</p> <p>3. 11. 13 1 Oese Ps.-D. N 24 Sonnen-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan</p> <p>10. 11. 13 3 Oesen Ps.-D. N 24 Sonnen-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan</p> <p>16. 11. 13 †. Sektionsbild: Wenig Abnormales zu sehen</p> <p>Cavia 55.</p> <p>3. 11. 13 1 Oese Ps.-D. N 24 Sonnen-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, 1 Std. auf 60° C erwärmt, subkutan</p> <p>4. 11. 13 †. Sektionsbild: An der Impfstelle Hämorrhagien. — Transsudat in Peritonealhöhle. — Inguinale und axillare Lymphdrüsen hyperämisch. — Peritonitis. — Organe hyperämisch.</p>	<p>Cavia 54.</p> <p>4. 11. 13 1 ccm Ps.-D. N 24 Sonnen-Hefeextraktkultur, subkutan.</p> <p>11. 11. 13 2 ccm Ps.-D. N 24 Sonnen-Hefeextraktkultur, subkutan.</p> <p>20. 11. 13 1 Oese D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung, nicht erwärmt, subkutan.</p> <p>21. 11. 13 weiches Infiltrat an der Impfstelle.</p> <p>22. 11. 13 †. Sektionsbild: An der Impfstelle gelatinöses Oedem. — Transsudat in Pleurahöhle. — Axillare und inguinale Lymphdrüsen geschwollen und hyperämisch. — Nebennieren vergrößert und hyperämisch.</p>

Obgleich Cavia 47 und 48 später sukkumbierten als die Kontroll-Cavia No. 49, glaube ich doch nicht, dies der durch die Immunisierung erhöhten Resistenz zuschreiben zu müssen, da das pathologisch-anatomische Bild ganz dem der Diphtherie ähnlich ist. Die verschiedene normale Resistenz der Tiere kommt hier auch in Betracht, welche eben einen so großen Einfluß auf die Dauer der Infektion ausüben kann. Auch Tabelle V gibt davon ein gutes Beispiel.

Bei den Pseudodiphtheriestämmen sehen wir auch wieder Merkwürdiges:

Cavia 50 sukkumbiert, ehe die lebenden Diphtheriebacillen injiziert wurden. Das Sektionsbild gibt gar keine Andeutung.

Bei Cavia 51 dasselbe wie bei Cavia 46, nur mit dem Unterschiede, daß das Tier am Leben bleibt.

Cavia 52 zeigt keine Spur von Resistenz und sukkumbiert an Diphtherie.

Bei Kultur N 24 Sonnen sehen wir Cavia No. 53 und auch Cavia No. 55 sukkumbieren, ehe sie mit echten Diphtheriebacillen injiziert wurden; hier glaube ich jedoch entschieden, eine gewisse Giftigkeit der Bacillen annehmen zu dürfen.

Das Sektionsbild gibt leider in keinem von diesen Fällen eine Andeutung.

Cavia 54, welche mit nicht erwärmten Bacillen vorbehandelt wurde, erträgt diese Injektionen gut und sukkumbiert erst nach der Injektion von lebenden Diphtheriebacillen. Möglicherweise hat bei Cavia 53—55 gerade die Erwärmung die Endotoxine freigemacht und in Lösung gebracht.

Aus diesem Versuch geht also hervor, daß die Cavia, mit typischen Diphtheriebacillen vorbehandelt, keine Spur von größerer Resistenz geben als die mit typischen Pseudodiphtheriebacillen vorbehandelten. Merkwürdig ist es eben, daß die Tiere, welche nach der Immunisierung alle mit derselben Diphtheriekultur injiziert wurden, darauf so verschieden reagierten.

Aus diesen zwei Immunisierungsversuchen (Tabelle V und VI) geht hervor, daß ich also nicht imstande war, die Diphtherie- oder Nichtdiphtherienatur von dem dubiösen Stamme (K 3, N 2, N 3, N 9, N 11, N 15, A, B) auf diese Weise festzustellen.

Außer Kultur K 3 und A konnte ich leider die Kulturen nicht mehr auf Säurebildung und Agglutination untersuchen, weil sie, nachdem ich diese Methoden völlig ausgearbeitet und erprobt hatte, nicht mehr am Leben waren.

Kultur K 3 und A haben sich als Pseudostämme erwiesen (Tabelle I und VIII).

Pfeiffersche Serumreaktion.

In die Arbeit von Cadiot, Cathoire und Henry, wurde die Pfeiffersche Serumreaktion als Differentialdiagnostikum zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen allen anderen Reaktionen vorgezogen. Bevor ich zum eigentlichen Pfeifferschen Versuch mit Diphtheriebacillen übergang, wollte ich zuerst feststellen, wie der Diphtheriebacillus sich im normalen Meerschweinchenperitoneum verhielt, ein Kontrollversuch, welchen ich vergebens in der schon erwähnten Abhandlung zu finden gehofft hatte. Zu diesem Zweck wurde einer Cavia eine Oese einer Kultur von Diphtherie-Klein-Bacillen in 1 ccm Bouillon intraperitoneal injiziert.

10. 10. 13. Nach 15 Minuten wurde etwas Peritonealexsudat der Bauchhöhle entnommen und mikroskopisch im hängenden Tropfen untersucht.

Nur ein einziger intakter Bacillus war noch zu sehen, dagegen viele kleine Granula mit ausgesprochener Brownscher Molekularbewegung, welche sehr große Aehnlichkeit mit den Pfeifferschen Körnchen zeigten. Auch war eine ausgesprochene Leukocytose zu konstatieren.

Nach 45 Minuten: Aufs neue Entnahme von Peritonealexsudat. Mikroskopischer Befund wie das erstemal.

Nach 5 Stunden: Keine intakten Bacillen mehr, nur Granulae. Exsudat getrübt. Starke Leukocytose.

11. 10. 13. Seropurulenten Exsudat. Starke Leukocytose. Hier und da Granulae.

12. 10. 13. Cavia †. Sektionsbild: Ausgesprochene Peritonitis mit viel hämorrhagischem Exsudat in der Peritonealhöhle. — Nebennieren hyperämisch und vergrößert. — Inguinale Lymphdrüsen hyperämisch und geschwollen. — Lungen anämisch. } Diphtherie.

Wenn diese Granulae also wirklich Diphtheriebacillen wären, welche allmählich aufgelöst wurden, so müßte dies eine spontane Bakteriolyse im normalen Tiere sein; der Pfeiffersche Versuch würde also gar keinen Wert haben. Natürlich wollte ich mich überzeugen, ob diese Granulae in irgendwelchem Zusammenhang ständen mit den injizierten Diphtheriebacillen.

Ich injizierte deswegen eine Cavia 1 ccm steriler Bouillon intraperitoneal. Die Peritonealflüssigkeit wurde wieder auf dieselbe Weise im hängenden Tropfen untersucht, und zu meiner großen Verwunderung konstatierte ich auch hier dieselben Granulae in großer Anzahl. Das Peritonealexsudat wurde auch allmählich trübe, nur war die Leukocytose nicht so deutlich ausgesprochen. Das Tier blieb gesund.

Durch dieses Experiment ist wohl der genügende Beweis geliefert worden, das diese Granulae nichts mit den injizierten Diphtheriebacillen zu tun hatten. Die Diphtheriebacillen waren also spontan und sehr schnell im normalen Caviaperitoneum zugrunde gegangen, und die freigesetzten Toxine haben das Tier getötet. Möglicherweise sind diese Granulae eine Reaktion auf den durch die injizierte Flüssigkeit hervorgerufenen Reiz oder vielleicht sind es Detritusmassen der Leukocyten.

Die Pseudodiphtheriekultur N 11 Hage, welche auf dieselbe Weise injiziert wurde, ging nicht so schnell zugrunde wie die echten Diphtheriebacillen; das Tier blieb gesund.

Weitere Versuche in dieser Richtung nahm ich nicht vor, weil die Diphtheriebacillen, welche bekanntlich im tierischen Organismus schnell zugrunde gehen, was auch für das Peritoneum zu gelten scheint, völlig unverwendbar für den Pfeifferschen Versuch sind.

Intrakutane Impfung.

Meine geringe Zufriedenheit mit der subkutanen Injektion von Hefextraktkulturen von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen, wobei man eigentlich nur angewiesen ist auf den pathologisch-anatomischen Befund der sukkumbierten Cavia (hyperämische Nebennieren und Transsudat in der Pleura- oder Peritonealhöhle) und wobei man, wenn derselbe nicht deutlich ausgesprochen ist, sofort an der Diagnose zu zweifeln hat, weiter das Sukkumbieren von Tieren nach Injektion von einigen Pseudodiphtheriekulturen (N 11 Hage, N 24 Sonnen, N 18 Sonnen, K 3, K Els), ohne daß der Sektionsbefund uns darüber irgendeine Auskunft gibt, die lange Zeit u. m. 7 Tage, die man warten soll, ehe man die bakterielle Diagnose dem Tierexperimente folgen lassen darf, sind alles Faktoren, welche mich gezwungen haben, eine andere Reaktion am Tiere zu versuchen, u. m. die intrakutane Impfung.

Von 3 Cavia wurde die Bauchhaut ganz rasiert.

Cavia 56¹⁾ (Fig. 6) wurde von 6 verschiedenen typischen Diphtheriekulturen ein wenig von den Loeffler-Kulturen auf abliegenden Stellen in die Haut gebracht, auf dieselbe Weise, wie man gegen Variola vacciniert, also mit einer Vaccinenadel.

Cavia 57¹⁾ (Fig. 7) bekam 3 Stunden zuvor 1 ccm Antidiphtherieserum an jeder Seite der Bauchhaut subkutan injiziert, also im ganzen 2 ccm. Nach \pm 3 Stunden war das Serum vollständig resorbiert und füllte die Haut ganz normal an. Diese Cavia wurde jetzt auch mit denselben 6 verschiedenen Diphtheriekulturen in derselben Weise intrakutan geimpft.

Cavia 58¹⁾ (Fig. 8) wurde auf dieselbe Weise wie Cavia 56 mit 6 Pseudodiphtheriekulturen intrakutan geimpft.

Schon nach 24 Stunden konnte ich bei Cavia 56 eine deutliche, auffallende Reaktion konstatieren, nämlich 6 gut entwickelte Impfpusteln; im Stichkanal etwas Eiter, um den Nadelstich herum war eine hyperämische, geschwollene Zone. Nach 2mal 24 Stunden gingen die Pusteln schon in Nekrose über; man konnte ein deutliches Infiltrat nachweisen, die Pusteln waren alle mit einer Kruste versehen, und die geschwollene Zone um die Pustel war noch viel ausgesprochener. Nach einer Woche wurden die Krusten abgestoßen, und das Tier genas langsam.

Bei Cavia 57 war nichts zu konstatieren, keine Reaktion irgendwelcher Art, selbst nicht nach einer Woche.

Cavia 58 zeigte auch gar keine Reaktion, auch nicht nach einigen Tagen.

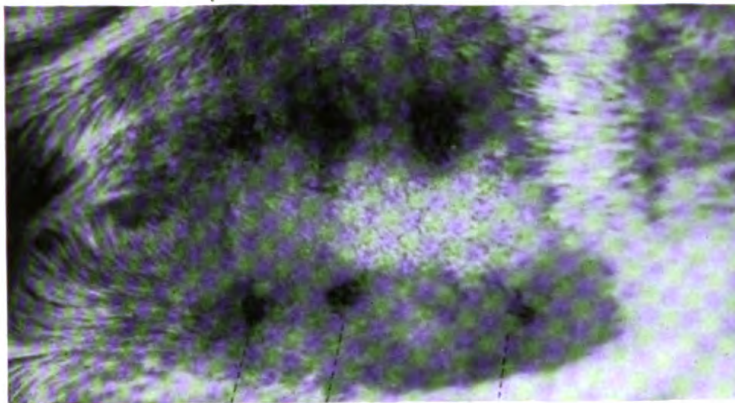
Diese Methode halte ich für besser als die, welche Römer beschrieben hat, um allein die Diphtherietoxine intrakutan zu injizieren. Wenn man nur die Diphtherietoxine in die Haut bringt, so vernachlässigt man die Endotoxine, welche bei Diphtherie eine so große Rolle spielen; wo man es mit Kulturen zu tun hat, welche wenig oder ganz schwache Toxine produzieren, können gerade die Endotoxine für die Diagnose von großem Werte sein. Dazu kommt noch, daß bei einer auf Loeffler-Boden gut gewachsenen Kultur wohl genügend Toxin an den Bacillenleibern haftet, daß die Haut, welche doch ein so empfindliches Reagens ist, darauf reagieren wird, nicht einmal zu reden von den Toxinen, welche die Diphtheriebacillen noch in der Haut bilden.

Merkwürdig ist es, daß Kultur N 11 Hage, noch auch Kultur N 24 Sonnen bei dieser Methode die geringste Reaktion geben, während bei der subkutanen Injektion die Tiere sukumbierten. Es ist eigentlich nicht zu verwundern, daß in einer Kultur, die in einem flüssigen Medium lange Zeit wächst, eine so starke Autolyse der Bacillenkörper vor sich geht und so viele Stoffe frei und vielleicht noch weiter abgespalten werden, daß das Tier an einer Proteinevergiftung eingeht, und der Tod nicht herbeigeführt worden ist durch die Pathogenität des Bacillus.

Ein anderer großer Vorteil dieser intrakutanen Methode ist, daß es sich um eine rein lokale Reaktion handelt, und daß die Tiere mit dem Leben davonkommen. Wenn eine Cavia nicht völlig gesund ist (was selten nachzuweisen ist), kann eine subkutane Injektion von 1 ccm Flüssigkeit, welche eine große Masse autolyzierter Bacillenleiber enthält, oft genügen, um den Tod herbeizuführen, ohne daß der primäre Grund des Todes in dem spezifischen Gifte der injizierten Bacillen liegt. Die große

1) Cavia 56, 57, 58 aus dem Text korrespondieren mit Cavia 43, 44, 45 auf Taf. II. Aus technischen Gründen war es leider unmöglich, diese Korrektur noch anzubringen.

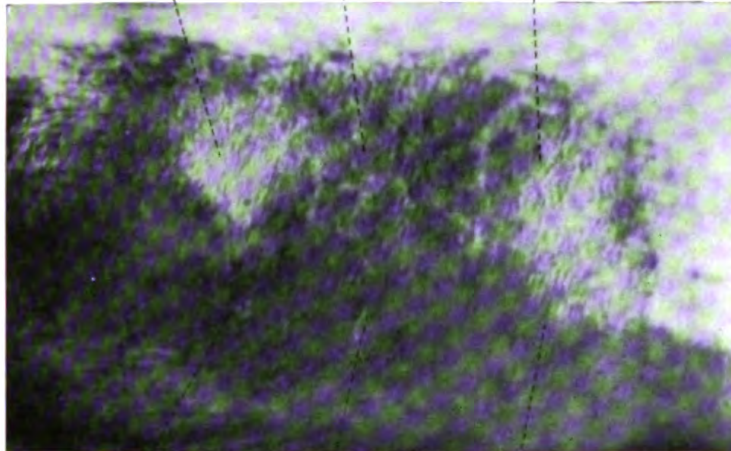
Fig. 6. Cavia 43.
Nach 6 typischen Diphth.-Kulturen.



D. Barsens
D. 32 D. W. Miller

D. Klein D. Hutberg D. Hassoldt

Fig. 7. Cavia 44.
3 Stunden zuvor 1 cem Anti-Diphth.-Serum
subkutan an jeder Seite von der Bauchhaut.

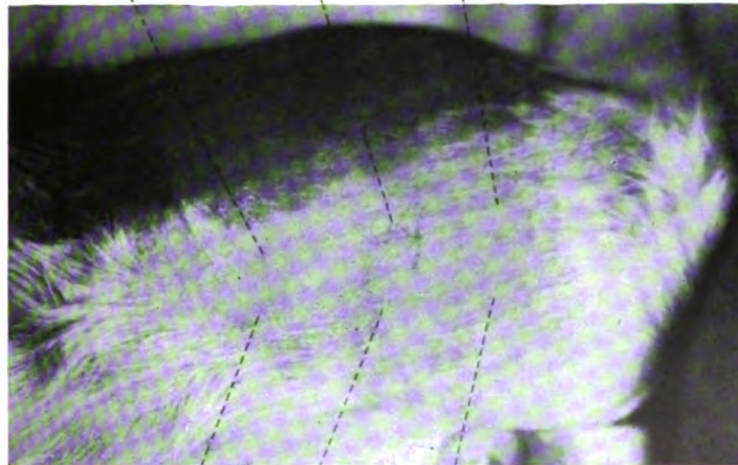


D. 32 D. Barsens D. W. Miller

D. Klein D. Hutberg D. Hassoldt

Intrakutane Impfung.

Fig. 8. Cavia 45.
Nach 6 Pseudo-Diphth.-Kulturen.



Ps.-D. A Ps.-D. K. Els Ps.-D. N. 11 Hage

Ps.-D. N. 33 Dupont Ps.-D. N. 24 Sonnen
Ps.-D. N. 28 Dupont

1
C
A
L
I
F
O
R
N
I
A
U
N
I
V
E
R
S
I
T
Y
O
F
L
I
B
R
A
R
Y
S
A
N
D
A
R
C
H
I
V
E
S
P
R
I
N
G
2
0
1
9

Ersparnis bei dieser Methode braucht nicht näher angedeutet zu werden, da man mindestens 6 verschiedene Kulturen auf ein Tier impfen kann. Auf diese Weise ist es möglich, nach 1mal, höchstens 2mal 24 Stunden die Reaktion am lebendigen Tiere nachzuweisen, während man bei der subkutanen Injektion 7 Tage warten muß auf das definitive Ergebnis, und noch 2- bis 3mal 24 Stunden dazu, welche die Kultur erst in Hefeextraktlösung oder Bouillon wachsen muß, bevor man die Injektion machen darf. Für die intrakutane Impfung kann man hier sofort von der Loeffler-Platte ein wenig Kultur abnehmen.

Einen kleinen praktischen Wink möchte ich noch für diese Methode geben: 1) daß man nur Tiere mit weißer Bauchhaut gebraucht, weil man sonst die Hyperämie nicht gut konstatieren kann; 2) für die Enthaarung der Tiere Calcium Sulfhydrat zu benutzen; 3) die Impfungen nicht zu dicht nebeneinander zu machen, so daß die Schwellungen nicht ineinander übergehen können und man jede Kultur ganz getrennt am Tiere beobachten kann.

Man sollte annehmen, daß, wenn ein mit diphtheriebacillenähnlichen Stäbchen subkutan injiziertes Meerschweinchen sukumbiert und die mit derselben Kultur injizierte Kontrollserum-Cavia am Leben bleibt, man nur dann Diphtherie diagnostizieren darf, wenn das pathologisch-anatomische Bild der sukumbierten Cavia keinen einzigen Zweifel zuläßt. Ist dagegen das Sektionsbild nicht schön ausgeprägt und deutlich, so darf man allein aus dem Amlebenbleiben der Kontrollserum-Cavia keinen positiven Schluß ziehen und muß mit dem Stellen der Diagnose äußerst vorsichtig sein. Folgendes Experiment kann als Beispiel dienen:

12. 12. 13. Cavia 59, subkutan 1 Oese Diphth. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung.
 13. 12. 13. Starkes Infiltrat an der Impfstelle, Tier macht keinen sehr kranken Eindruck.
 14. 12. 13 †. Sektionsbild: Typische Diphtherie.
 12. 12. 13. Cavia 60, subkutan 1 Oese Diphth. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung
 + 3 ccm normales Pferdeserum.
 13. 12 13. Starkes, schmerzhaftes Infiltrat, Tier krank.
 16. 12. 13. Tier sehr krank. -
 19. 12. 13. Starkes Infiltrat, Tier erholt sich.
 22. 12. 13. Tier fast wieder ganz normal.
 30. 12. 13 †. Sektionsbild: Diphtherie.

Aus diesem Experiment kann man sich von der großen schützenden Kraft des normalen Pferdeserums überzeugen, und man kann sich hier gegenüber einer so äußerst virulenten, toxischen Kultur wohl denken, daß einem schwach virulenten Stamme gegenüber, auch wenn es keine Diphtherie ist, normales Pferdeserum wohl imstande wäre, das Tier vor dem Tode zu schützen. Die schützende Kraft des Antidiphtherieserums kommt wohl für einen großen Teil schon den normalen Bakteriolytinen des Pferdeserums zu. Interessant ist auch die Tatsache (Tabelle III), daß von den 9 mit antidiphtherischem Serum vorbehandelten Tiere 5 sukumbierten, obwohl viel später als die nicht mit Serum behandelten Tiere. Ich hoffe dies aber noch weiter auszuarbeiten. Ist also der pathologisch-anatomische Befund der eingegangenen Cavia nicht außer allem Zweifel deutlich und die Kontrollserum-Cavia noch am Leben, so sei man vorsichtig mit dem Stellen einer Diagnose.

Für Cholera ist diese stark bakterizide Kraft des Pferdeserums schon durch Pfeiffer und Isaëff bekannt, und bei Diphtherie wird sogar der Pharynx lokal mit sehr gutem Resultat mit normalem Pferdeserum behandelt (Lorey).

Das Tierexperiment läßt also überhaupt nur erkennen, ob ein Organismus virulent ist oder nicht. Die große Gruppe der avirulenten

Diphtheriebacillen aber kann man auf diese Weise unmöglich diagnostizieren, und doch sind gerade diese Organismen bei Diphtherierekonvaleszenten öfters zu erwarten. In diesen Fällen gibt die Säureproduktion in Pepton-NaCl-Lackmus-Glykose-Lösung aber Klarheit (siehe D. Josientje und Kultur Pat. X).

Agglutination.

Mit der Agglutination geht es ebenso, wie mit den anderen Eigenschaften des Diphtheriebacillus. Die Resultate aus der Literatur sind sehr widersprechende (Nicolas, Nicolle, Fraenkel, Lubowsky, Schwoner, Schick u. Ersetzig, Lesieur, Lipstein u. a.). Die große Schwierigkeit der Agglutination bei Diphtherie liegt in der Zubereitung der Emulsion, weil die Diphtheriebacillen große Neigung zeigen, spontan zusammenzuklumpen, weswegen sie für die Agglutination durchaus unverwertbar ist. Ich versuchte verschiedene Methoden zur Herstellung von Emulsionen, unter anderem die von Lubowsky etc., aber ohne zuverlässiges Resultat. Dann versuchte ich, eine Suspension von Diphtheriebacillen in NaCl-Lösung einige Stunden lang im Wasserbade bei 60° C zu stellen; nach 19 Stunden war bei dieser Temperatur die Emulsion sehr schön homogen. Um festzustellen, ob die Agglutinabilität des Organismus durch die Erhitzung geschädigt worden ist, unterwarf ich einen bekanntlich gut agglutinierenden Typhusstamm derselben Methode, wobei es sich zeigte, daß die Agglutinabilität sehr zurückgegangen war und erst nach 24 Stunden sichtbar wurde. Eine kürzere Erhitzungsdauer auf 60° C, nämlich von 3 Stunden, gab wieder für Diphtherie eine viel weniger gute Emulsion. Zu meinem großen Erstaunen sah ich aber, daß bei 2 $\frac{1}{2}$ -stündigem Verweilen der Diphtheriesuspension im Wasserbade bei 50° C eine außerordentlich schöne, homogene Emulsion entstand, und daß der derselben Erhitzung unterworfenen Typhusstamm keine Spur von Herabsetzung der Agglutinabilität zeigte.

Das agglutinierende Serum wurde erzielt durch 2 Kaninchen, die intravenös injiziert wurden mit einer Loeffler-Diphtheriekultur, die 1 Stunde in NaCl-Lösung auf 60° C erhitzt war, auf folgende Weise:

- | | | | |
|-------------|-------------|--|---------------------------------------|
| Kaninchen A | 10. 11. 13. | 1 Oese D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung | 1 Std. auf 60° C erhitzt, intravenös. |
| | 18. 11. 13. | 2 Oesen D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung | 1 Std. auf 60° C erhitzt, intravenös. |
| | 25. 11. 13. | 3 Oesen D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung | 1 Std. auf 60° C erhitzt, intravenös. |
| | 1. 12. 13. | Blut entnommen. | |
| Kaninchen B | 10. 11. 13. | 1 Oese D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung | 1 Std. auf 60° C erhitzt, subkutan. |
| | 18. 11. 13. | 2 Oesen D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung | 1 Std. auf 60° C erhitzt, subkutan. |
| | 25. 11. 13. | 3 Oesen D. Klein-Bac. in 1 ccm NaCl-Lösung | 1 Std. auf 60° C erhitzt, subkutan. |
| | 1. 12. 13. | Blut entnommen. | |

Serum Kaninchen A ist scheinbar absolut univalent, und agglutiniert nur D. Klein sehr deutlich bis zur Serumverdünnung $\frac{1}{950}$ D. Hassoldt, mit diesem Serum zusammengebracht, zeigt keine Spur von Agglutination.

Serum Kaninchen B agglutiniert weder D. Klein, noch einen anderen Diphtheriestamm. Die subkutane Injektionsmethode ist also wertlos zur Hervorrufung von Diphtherie-Agglutinin.

Kaninchen A wurde jetzt weiter immunisiert und bekam 2mal 4 Oesen von 4 anderen Diphtheriekulturen:

Kaninchen A 3. 12. 13. 1 Oese D. Hutberg }
 1 Oese D. Barsens } 4 Oesen Diphtheriebacillen in 1 ccm
 1 Oese D. 32 } NaCl-Lösung 1 Std. auf 60° C er-
 1 Oese D. Beukers } hitzt, intravenös.
 9. 12. 13. 1 Oese D. Hutberg }
 1 Oese D. Barsens } 4 Oesen Diphtheriebacillen in 1 ccm
 1 Oese D. 32 } NaCl-Lösung 1 Std. auf 60° C er-
 1 Oese D. Beukers } hitzt, intravenös.
 17. 12. 13. Blut entnommen aus der Ohrvene.

Mit Serum Kaninchen A vom 17. 12. 13 wurde die Agglutination gemacht, welche in Tabelle VII und VIII verzeichnet ist.

Tabelle VII.
 Agglutination mit polyvalentem Diphtherie-Kaninchen-
 Immunserum.

	Kontrolle (Emul- sion)	Serumverdünnungen				
		1/25	1/50	1/100	1/250	1/500
D. Klein	nach 21/2 St. — nach 24 St. —	+	+			
D. Hutberg	—	Klar.	Klar.	Klar.	Klar.	++
D. Barsens	—	+	+	+	+	+
D. 32	—	Klar.	+++	+++	+++	+++
D. Beukers	—	+	(+)	+	+	+
D. Hassoldt	—	Klar.	Klar.	Klar.	Klar.	Klar.
D. Willer	—	(+)	+	+	+	+
D. Randuast	—	+	+	+	+	+
D. Emster	—	Klar.	+++	+++	+++	+++
D. Ben.	—	+	+	+	+	+
	—	+++	+++	+++	+++	+++

Klar. = Klarifikation; klare Flüssigkeit, mit Bodensatz von Bacillenklumpen.
 +++ = klare Flüssigkeit mit noch kleinen, darin suspendierten Flöckchen.
 ++ = deutliche Agglutination.
 + = Agglutination.
 (+) = schwache, anfangende Agglutination.

Die Diphtherie-Emulsionen müssen natürlich mit der größtmöglichen Sorgfalt und Genauigkeit hergestellt werden. Zuerst müssen es junge, 18 Stunden alte Kulturen von Loeffler-Serum sein (Agar ist zu diesem Zwecke nicht zu verwenden, weil die Diphtheriebacillen hier nicht voluminös wachsen und auf diesem Nährboden ganz besonders die Neigung haben, zusammenzuklumpen). Das Zerreiben der Bacillen der Glaswand des Reagenzglases entlang muß lange und sorgfältig vorgenommen werden, auch Schütteln ist zu empfehlen. Diese Suspensionen werden dann 2—2 1/2 Stunden auf 50° C im Wasserbade erhitzt. Diese Zeit ist genügend, daß alle gröberen Flöckchen zu Boden sinken können. Für die Agglutination wurde die oben genannte Flüssigkeit gebraucht, welche

Tabelle VIII.
Agglutination mit polyvalentem Diphtherie-Kaninchen-
Immunserum.

	Kontrolle (Emul- sion)	Serumverdünnungen				
		$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{250}$	$\frac{1}{500}$
Ps.-D. N 33 Dupont	nach 2 $\frac{1}{2}$ St. —	—	—	—	—	—
	nach 24 St. —	—	—	—	—	—
Ps.-D. N 28 Dupont	—	—	—	—	—	—
Ps.-D. N 27 Dupont	—	—	—	—	—	—
Ps.-D. K 25 Dupont	—	—	—	—	—	—
Ps.-D. K Els	—	—	—	—	—	—
Ps.-D. N Els	—	—	—	—	—	—
Ps.-D. N 11 Hage	—	—	—	—	—	—
Ps.-D. N 24 Sonnen	—	—	—	—	—	—
Ps.-D. A	—	—	—	—	—	—
Ps.-D. Carla	—	—	—	—	—	—

jetzt schön homogen und sehr gut für diesen Zweck zu verwerten ist. Nach 24 Stunden waren die Bacillen etwas zu Boden gesunken, was bei Typhus und Cholera auch immer zu ersehen ist. Durch ein wenig Schütteln trat wieder eine schöne homogene Emulsion ein, was niemals möglich ist bei den Emulsionen, wo Agglutination eingetreten war.

Wie die Tabellen VII und VIII zeigen, sind die Resultate dieser Agglutination ganz überraschende; die 10 typischen Diphtheriekulturen agglutinierten ohne Ausnahme sehr schön. Dabei ist noch zu bemerken, daß Kultur D. Emster, welche sich bei dem Tierexperimente (Tab. III) so eigentümlich verhielt, bei der Agglutination keinen Zweifel hinterließ. Die Säurebildung dieser Kultur war auch positiv.

Daß die Verhältnisse bei der Diphtherie-Agglutination verschieden sind als bei Typhus, Cholera, Dysenterie usw., ist sofort zu ersehen. Die Reaktion ist hier eine viel langsamere; erst nach 2—2 $\frac{1}{2}$ Stunden fängt die Agglutination an, und das erst bei ziemlich starker Serumkonzentration ($\frac{1}{25}$ — $\frac{1}{50}$). Was hier auch völlig zu fehlen scheint, ist die „Hemmung der Agglutination“, welche man oft bei Typhus und Cholera in den stärkeren Serumkonzentrationen beobachten kann. Bei Diphtherie ist es eben, von den stärkeren Serumkonzentrationen an, ein progressiver Prozeß. Die Polyvalenz des Serums bei Diphtherie scheint auch besonders wichtig zu sein; bei Typhus und Cholera ist die Polyvalenz des Agglutinationsserums für diagnostische Zwecke sehr vorzuziehen, notwendig scheint sie aber nicht. Bei subkutanem Impfmodus bekommt man Typhus- und Cholera Agglutinenen, was bei Diphtherie nicht möglich ist. — Resumierend sind die Agglutinationsverhältnisse bei Diphtherie

schwieriger als bei Typhus, Cholera usw.; doch sind diese Schwierigkeiten, meiner Meinung nach, zu überwinden.

Von den Pseudodiphtheriekulturen agglutinierten keine irgendwie. Die Pseudodiphtheriebacillen haben viel weniger Neigung spontan zusammenzuklumpen, die Emulsionen sind hier leichter herzustellen als bei Diphtherie; doch müssen sie erhitzt werden.

Die Agglutinationsverhältnisse sind für diagnostische Zwecke meiner Meinung nach bei dieser Bacillengruppe viel günstiger als bei der Enteritisgruppe, wo man es doch immer mit einer Gruppenagglutination der nahverwandten Organismen zu tun hat, welche bei Diphtherie und Pseudodiphtherie völlig fehlt. Ich halte daher diese Reaktion für die Diphtheriediagnose für außerordentlich wichtig, da man bei dieser Methode gar nichts mit der Virulenz oder Vitalität des Organismus zu schaffen hat und es sich nur um eine spezifische Reaktion auf das umhüllende Protein des Organismus handelt. Mit dem therapeutischen Antidiphtherieserum war eine Agglutination von Diphtheriebacillen unmöglich.

Auf Kultur K Els möchte ich noch ausführlicher eingehen, weil gerade bei ihr die großen Vorteile der intrakutanen Impfung, der Säurebildung in der Pepton-NaCl-Glykose-Lackmus-Lösung und der Agglutination, vor dem subkutanen Impfmodus deutlich hervortreten.

Das Kind wurde von mir bakteriologisch untersucht, als es Diphtherierekonvaleszent und klinisch ganz geheilt war. Aus Nase und Rachen wurde auf der Loeffler-Platte fast eine Reinkultur von diphtherieähnlichen Stäbchen gebildet.

Im mikroskopischen Präparat sah ich eine Reinkultur der bekannten kurzen, plumpen Stäbchen, aber doch auch sporadisch hier und da einen längeren Bacillus, welcher dem typischen Diphtheriebacillus sehr ähnlich war. Ich versuchte, diesen längeren Bacillus zu isolieren, was mir aber nicht gelang. Sicherheitshalber ließ ich das Kind noch isoliert halten, bis ich die weiteren bakteriologischen Reaktionen beendet hatte. Das kurze Stäbchen wurde auf Hefeextraktlösung geimpft; nach 2mal 24 Stunden war das Wachstum genügend, um davon einem Meerschweinchen A 1 ccm subkutan zu injizieren. Cavia B bekam 1 ccm Hefeextraktkultur + 3 ccm Antidiphtherieserum subkutan. Bei beiden Tieren war in den nächsten Tagen keine Spur von Infiltrat an der Impfstelle nachzuweisen. Nach 10 Tagen sukumbierte Cavia A. Das Sektionsbild zeigte nur hyperämische, axilläre Lymphdrüsen, sonst weiter nichts Besonderes.

Bei der intrakutanen Impfung war, wie Fig. 8 zeigt, keine Spur von Reaktion, Säurebildung in neutraler Pepton-NaCl-Glykose-Lackmus-Lösung auch negativ (Tab. II), Agglutination ebenso völlig negativ (Tab. VIII).

Diese Kultur ist also nichts anderes als ein Pseudodiphtheriebacillus, wie er bei ganz normalen Kindern aus diphtheriefreier Gegend in so großer Anzahl gefunden wurde.

Die subkutane Injektionsmethode würde uns in diesem Falle bei der Cavia irregeführt haben.

Daß Cavia B am Leben geblieben ist, darf uns nicht wundern, da wir oben schon die stark bakterizide Kraft des Pferdeserums kennen gelernt haben.

Auch das mikroskopische Präparat würde uns hier keinen Aufschluß gegeben haben, und die vielen Forscher, welche jetzt noch behaupten,

daß man auf den mikroskopischen Befund in den meisten Fällen ohne Schwierigkeit die Diagnose stellen kann, würden vielleicht gerade um der längeren Formen willen, welche zu sehen waren, und die mich selbst auch zur Vorsicht mahnten, das Kind isoliert gehalten haben.

Merkwürdig ist es, daß die kurze Form nach einigen Generationen auf Agar wieder die längere Form angenommen (s. Fig. 4) und bis jetzt behalten hat. Kultur N 2 und N 9, wo ich dasselbe kurze plumpe Stäbchen fand, erwies das Tierexperiment allerdings als echte Diphtherieart (vgl. Tabellen).

Ich betone dies nochmals mit Nachdruck, weil ich nach meinen vielfachen Erfahrungen überzeugt bin, daß man äußerst vorsichtig sein muß, bevor man eine definitive Diagnose stellt allein auf Grund des mikroskopischen Befundes, desgleichen auch nach Züchtung des Bacillus, weil man sonst oft in den großen Fehler verfallen wird, auch ganz gesunde Kinder, bei denen man derartige Stäbchen findet, zu isolieren, während man vielleicht diejenigen Kinder freiläßt, welche für die Umgebung gefährlich sind.

Das Fräulein, welches das Kind pflegte, hatte dieselben Stäbchen in der Nase, welche nicht pathogen für Meerschweinchen waren. Merkwürdig ist es, daß ich nur in 2 Fällen die Pseudodiphtheriebacillen im Rachen nachweisen konnte, in allen anderen Fällen ausschließlich in der Nase. Dies wurde auch von Neumann in 98 Proz. der von ihm untersuchten gesunden Personen gefunden.

Da bei den meisten Untersuchern, welche die Pseudodiphtheriebacillen bei gesunden Kindern nachweisen konnten, die Kinder aus Großstädten oder Krankenhäusern stammten, wo man natürlich nie die Verbindung mit Diphtherie auszuschließen vermag, haben Stokvis und ich diesen Fehler vermeiden wollen und deswegen gesunde Kinder aus einer Gegend untersucht, wo in den letzten 10 Jahren kein Diphtheriefall vorgekommen war; bei 50 Proz. dieser normalen Kinder wurde dasselbe Stäbchen gefunden.

Ustvedt hat 1906 in Norwegen dasselbe unternommen und die Pseudodiphtheriebacillen in 70 Proz. der normalen Kinder gefunden.

Man hat es bei der bakteriologischen Diagnose von Diphtherie mehr mit diesen Organismen zu tun, als man sich denkt, besonders bei Diphtherierekonvaleszenten, wo die Schleimhäute wieder normal geworden sind und wo die Nasenuntersuchung gerade von so großer Bedeutung ist, weil echte Diphtheriebacillen nach der Erkrankung gern darin zurückbleiben. Daß man bei Diphtherierekonvaleszenten alle Grade von Virulenz der Diphtheriebacillen erwarten kann, ist verständlich, allein mit der intrakutanen Injektion würde man hier auch nicht auskommen; dazu dienen die anderen Reaktionen, Säurebildung und Agglutination. Die großen Virulenzschwankungen bei Diphtherie sind uns klar geworden bei Kultur D. Josientje und Aubertyn und müssen zu großer Vorsicht mahnen.

Folgenden Fall, welcher noch gerade zur rechten Zeit eintraf, will ich hier ausführlich behandeln. Patient X (Erwachsener) erkrankte unter diphtherieähnlichen Symptomen. Im Rachenausstrichpräparat, nach Gram gefärbt, wurden so viele $G +$ langgestreckte, keulenförmige Bacillen mit schönen Polkörnern angetroffen, daß der behandelnde Arzt großen Verdacht auf Diphtherie hatte und Patient ohne Verweilen mit antidiphtherischem Serum einspritzte. Die Symptome besserten sich sofort (Temperatur sinkt, die Membranen lösen sich). Die weitere bakteriologische Untersuchung von Rachenbelag wurde von mir ausgeführt. Nach Züchtung auf Loefflers Serumplatte

zeigt sich nach 24 Std. auf 37° C fast eine Reinkultur von diphtherieähnlichen Kolonien. Der inzwischen isolierte Bacillus hat die für Diphtherie typische Form (langgestreckt, keulenförmig, mit schönen Polkörnern); die Säureproduktion in neutraler Pepton-NaCl-Glykose-Lackmus-Lösung ist nach 24 Std. bei 37° C deutlich positiv. — Das Tierexperiment wurde nicht unternommen.

Nachdem Patient geheilt war, wurde aufs neue der Rachen und auch die Nase bakteriologisch untersucht. Im Rachen fanden sich nach Züchtung noch dieselben typischen diphtherieähnlichen Stäbchen mit schönen Polkörnern; die Säureproduktion aus Glykose ist wieder nach 24 Std. deutlich positiv. Das Tierexperiment, mittels subkutaner Injektion (1 ccm 2mal 24 Std. alte Bouillonkultur), mit Kontrollserum-Cavia dazu, war nach 8 Tagen noch völlig negativ; beide Tiere zeigten auch keine Spur von Infiltration an der Impfstelle. Der intrakutane Versuch war auch negativ. In der Nase nur Kokken.

Wahrscheinlich ist dies ein avirulenter Diphtheriebacillus gewesen, wenn man die durchstandene Diphtherie, die typische Form und die Säureproduktion aus Glykose in Betracht zieht. Das Tierexperiment läßt uns hier völlig im Stiche; die Säureproduktion aber gibt einen Halt. Einen solchen Rekonvaleszenten, obgleich der bei ihm gefundene Bacillus für die Cavia avirulent scheint, würde ich, die so stark schwankende Virulenz des Diphtheriebacillus in Betracht ziehend, nie dem freien Verkehr überlassen. Hieraus ersieht man wieder, daß nur, wenn das Tierexperiment positiv ist, mit deutlich ausgeprägtem pathologisch-anatomischen Bilde, diese Methode für die Diagnose Wert hat. Bei akuter Diphtherie ist die bakteriologische Untersuchung meistens nicht schwer. Mit der Seruminjektion beim Patienten darf man doch nicht warten, bis der Bakteriologe mit der Untersuchung ganz fertig ist. Sind in einem solchen Falle schon im Rachen-ausstrichpräparat G + diphtherieähnliche Stäbchen zu sehen, so soll der Patient ohne Verweilen mit antidiphtherischem Serum eingespritzt werden. Die bakteriologische Untersuchung ist eben für die Diphtherierekonvaleszenten und gesunden Bacillenträger von großem Wert, weil bekanntlich sie für ihre Umgebung eine große Infektionsgefahr bieten können. Das ziemlich kurze Verweilen der Diphtheriebacillen in Rachen und Nase (ungefähr 2—3 Wochen) macht es gerade, daß man diese Krankheit mit gutem Erfolge bekämpfen kann.

Wenn ich jetzt meine Untersuchungen resumiere, so komme ich zu dem Schlusse, daß die diphtherieähnlichen Bacillen, isoliert aus der „diphtheriefreien“ Gegend, mit einer großen Anzahl, isoliert aus der Diphtherieumgebung in der Großstadt, eine absonderliche Gruppe geben, mit bestimmten Eigenschaften, welche diese Bacillen unterschieden trennen von den typischen Diphtheriebacillen.

Die Bacillen, isoliert aus diphtherischem Material von an Diphtherie leidenden Kindern, gaben auch eine aparte Gruppe mit deutlich umschriebenen Eigenschaften.

Auf folgende Weise kann man meiner Meinung nach bei genügendem Wachstum eine bakteriologische Diphtheriediagnose in 2—3mal 24 Stunden stellen:

- 1) Nase- und Rachenbelag austreichen auf die Loeffler-Serumplatte.
- 2) Nach 24 Stunden von 10 verschiedenen Kolonien mikroskopische Präparate machen und färben mit Loefflerschem Methylenblau.
- 3) Von einigen positiven Kolonien abimpfen auf Loeffler-Serum oder Capaldi-Agar, Färbung der Bacillen nach Gram und Neisser.
- 4) Intrakutane Impfung bei Cavia und einer Kontrollserum-Cavia.
- 5) Säurebildung konstatieren auf neutraler Pepton-NaCl-Glykose-Lackmus-Lösung.
- 6) Agglutination mit hochwertigem polyvalenten Diphtherie-Kaninchenimmunserum.

Bei akuter Diphtherie soll man vor allem ein nach Gram gefärbtes Ausstrichpräparat vom Rachenbelag machen.

Wie für jede bakteriologische Untersuchung, gilt es auch hier, daß die verschiedenen Kennzeichen zusammen, welche einander ergänzen, es möglich machen, daß man sich ein richtiges Urteil formt; selbstverständlich, daß man auch hier auf einige Eigenschaften einen viel größeren Wert zu legen hat als auf andere.

Schlußfolgerungen.

- 1) Der Pseudodiphtheriebacillus ist ein Saprophyt, welcher normal besonders in der Nase von gesunden Kindern vorkommt.
- 2) Der Pseudodiphtheriebacillus soll streng getrennt werden von dem echten Diphtheriebacillus und ist ein selbständiger Organismus.
- 3) Man soll unterscheiden:
 - Bacillus diphtheriae** = virulent. Säurebildung in neutraler Pepton-NaCl-Glykose-Lackmus-Lösung. Positive Agglutination mit polyvalentem Diphtherie-Kaninchen-Immunserum.
 - Bacillus diphtheriae** = avirulent. Säurebildung in neutraler Pepton-NaCl-Glykose-Lackmus-Lösung. Positive Agglutination mit polyvalentem Diphtherie-Kaninchen-Immunserum.
 - Bacillus pseudodiphtheriae** = meistens avirulent. Keine Säurebildung in neutraler Pepton-NaCl-Glykose-Lackmus-Lösung. Negative Agglutination mit polyvalentem Diphtherie-Kaninchen-Immunserum.
- 4) Der Nachweis von Diphtheriebacillen, besonders bei Diphtherierekonvaleszenten, ist nur auf Grund des mikroskopischen Befundes, sogar nach Züchtung des fraglichen Bacillus, nicht zu machen.
- 5) Die subkutane Impfung von Diphtherietoxinen oder flüssiger Kultur bei Meerschweinchen ist allein für die Diagnose zu verwerten, wenn der pathologisch-anatomische Befund der sukkumbierten Cavia keinen Zweifel zuläßt.
- 6) Die intrakutane Impfung von Diphtheriebacillen bei Caviae hat große Vorzüge gegenüber dem subkutanen Injektionsmodus.
- 7) Die Säurebildung aus Glykose durch Diphtheriebacillen ist ein zuverlässiges Kriterium zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen.
- 8) Die Agglutination mit hochwertigem polyvalentem Diphtherie-Kaninchen-Immunserum ist als differentiales Diagnostikum zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen sehr zu empfehlen.
- 9) Neutrale Pepton-NaCl-Glykose-Lackmus-Lösung ist eine sehr einfache und zuverlässige Nährflüssigkeit, um die Säurebildung des Diphtheriebacillus nachzuweisen.
- 10) Die Loeffler-Serumplatte ist der Eidotteragarplatte von Capaldi sehr vorzuziehen.

Literatur.

- Abbott, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 12. 1892.
 Aviragnet-Block et Dorlencourt, Compt. rend. soc. de biol. T. 70. 1911. No. 9.
 Bardach, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1895.
 Beck, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890.
 v. Behring, Bibl. von Coler. II. Berlin 1901; zit. von Lesieur.
 Benham, Brit. med. Journ. 1906. I; zit. von Nuttall u. Graham Smith.
 Biggs-Park u. Beebe, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 17. 1895.
 Bronstein, Berlin. klin. Wochenschr. 1900; zit. von Lesieur.
 Bronstein u. Grünblatt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.
 Cadiot, Cathoire u. Henry, Rev. d'Hyg. T. 33. 1911. No. 6.
 Capaldi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 20. 1896.
 Cartwright Wood, zit. von Dean, Diphtheria Toxin. Nuttall u. Graham Smith.
 Cobbett, Journ. of Hyg. I. 1901; zit. von Nuttall u. Graham Smith.
 Conradi u. Troch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Beilage. Bd. 54. 1912.
 Cruveilhiers, Compt. rend. soc. de biol. T. 66. 1909. No. 22; T. 70. 1911. No. 3.
 Dean, Diphtheria Toxin. Nuttall u. Graham Smith. 1908.
 Escherich, Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 1.
 Fraenkel, Berlin. klin. Wochenschr. 1893.
 —, Hyg. Rundsch. 1896.
 —, zit. von E. Wernicke, Diphtherie. (Kolle u. Wassermann. 1912.)
 Graham Smith, Journ. of Hyg. 1904.
 Gromakowsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 28. 1900.
 Hamilton Horton, Journ. of infect. Dis. III. 1906; zit. von Nuttall u. Graham Smith.
 Hilbert, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 29. 1898.
 v. Hoffmann-Wellenhof, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 2. 1887.
 Jacobson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. 1911.
 Klein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 7. 1890; Bd. 20. 1896.
 Knapp, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 36. 1905.
 Koplik, The New York med. Journ. 1892.
 Kresling, Pharm. Zeitschr. f. Rußland. 1896; zit. von Lesieur.
 Kurth, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 28. 1898.
 Lambotte, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. 1901.
 Lesieur, Les bacilles. dits pseudo-diphthériques. Paris, Baillière et fils, 1902.
 Lewandowsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904.
 Lipstein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903.
 Loeffler, Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1887.
 Lorey, Med. Klin. 1912. No. 26.
 Lubowsky, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1903.
 Madsen, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 26. 1897.
 Mankowsky, zit. von Brunstein u. Grünblatt.
 Martin, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1892; 1898.
 de Martini, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 21. 1897.
 Miller, Journ. of infect. Dis. Vol. 8.
 Neisser, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. 1897.
 — u. Gins, Diphtherie. (Kolle u. Wassermann. 1912.)
 Neumann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40. 1902.
 Nicolas, Compt. rend. soc. de biol. 1898—1900.
 Nicolle, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898.
 Nuttall and Graham Smith, The bacteriology of diphtheria. (Cambridge University Press.)
 Omeliansky, zit. aus Kolle u. Wassermann, Diphtherie. Ergänzgsbd. 2. 1909.
 Peters, Deutsche med. Wochenschr. Bd. 33. 1897.
 Pfeiffer u. Isaëff, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 17. 1894.
 Prochaska, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. 1897.
 Reichenbach, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 27. 1900.
 Richardière et Tollemer, Presse méd. 1899. No. 25; zit. von Lesieur.
 Römer, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1909; zit. aus Kolle u. Wassermann. 1912.
 Rothe, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907.
 Roux et Yersin, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1888; 1890.

- Salter, Trans. Jenner Inst. prev. Med. Ser. 2. 1899; zit. von Nuttall u. Graham Smith.
- Schabad, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 54. 1901; zit. von Lesieur.
- Schang, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 32. 1899.
- Scheller, Diphtherie. (Kolle u. Wassermann, Ergänzungsbd. 2. 1909.)
- Schiek u. Ersetty, Wien. klin. Wochenschr. Bd. 16. 1903.
- Schmitz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75. 1913.
- Schumburg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 31. 1902.
- Schwoner, Wien. klin. Wochenschr. Bd. 15. 1902.
- de Simoni, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 26. 1899.
- Simonin et Benoit, Rev. de méd. T. 18. 1898; zit. von Lesieur.
- Ślawyk u. Manicatide, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 29. 1898.
- Smith, Th., Wilder Quarter Century. BK. 1893; zit. von Nuttall u. Graham Smith.
- , Journ. of exp. Med. Vol. 4. 1899; zit. von Nuttall u. Graham Smith.
- Spronck, Semaine méd. 1896.
- , Ann. de l'Inst. Pasteur. 1895; 1898.
- Thiel, Hyg. Rundsch. 1907. No. 21.
- Trump, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 20. 1896.
- Tyndall, Heim, Lehrb. d. Bakteriologie. 1911.
- Ustvedt, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 54. 1906.
- Van de Velde, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 22. 1897.
- Westbrook, Wilson and McDaniel, Journ. Boston Soc. of med. Sc. Vol. 4; zit. von Nuttall u. Graham Smith.
- Williams, Journ. of med. Research. Vol. 8; zit. von Nuttall u. Graham Smith.
- Zarnico, Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889.
- Zupnik, Berlin. klin. Wochenschr. 1897; zit. von Scheller, Diphtherie. (Kolle u. Wassermann, Ergänzungsbd. 2. 1909.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Bedingungen, welche Polfärbung, Polymorphismus und eine eigentümliche Art von Involutionsformen bei den pestähnlichen¹⁾ Bacillen hervorrufen.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Ministeriums des Innern zu Tschita.]

Von Dr. I. S. Dudtschenko²⁾.

Mit 5 Abbildungen im Text.

Beim weiteren Studium³⁾ der Kulturen des von mir aus den Leichen von weißen Ratten isolierten Bacillus, der augenscheinlich dem Pfeifferschen Kapselbacillus sehr nahe steht und bei weißen Ratten eine sehr langwierige Lungenentzündung mit Umwandlung ganzer Lungenlappen in Säcke mit dichtem, rahmartigen Inhalt (Leukocyten verschiedener Art, Ueberreste nekrotisch zerfallenen Lungengewebes und Involutionsformen des isolierten Bacillus in Reinkultur) hervorruft und bei mit der Reinkultur infizierten weißen Mäusen eine akut ver-

1) Als „pestähnliche“ Bacillen bezeichnet man diejenigen, die sich nur an ihren Enden färben; außer den Erregern der Menschenpest gehören zu diesen Bacillen die Erreger der Hühnercholera, der Pseudotuberkulose der Nagetiere, der Pfeiffersche Kapselbacillus, der Erreger der Septikämie der Kaninchen und viele andere.

2) Dem Andenken meines teuren Lehrers P. I. Peremeschko, Prof. für Histologie und Embryologie an der Universität Kiew, gewidmet.

3) Praktitscheski Wratsch. 1913. No. 37.

laufende, in 3—5 Tagen zum Tode führende Septikämie erzeugt, habe ich folgende Tatsachen festgestellt:

1) Junge, 2—3 Tage alte Agarkulturen auf Ausstrichpräparaten und Abdruckpräparaten, desgleichen Bouillonkulturen desselben Alters in ihren oberflächlichen Schichten und septikämisches Blut (freie und in Leukocyten enthaltene Bacillen), kurzum das aus allen diesen Quellen gewonnene Material weist bei der mikroskopischen Untersuchung stets einen einzelnen oder paarigen Bacillus (Diplobacillus) auf. Bei Färbung mit Chromatinfarbstoffen (Lösung von Giemsa-Romanowski, Panchrom von Pappenheim, May-Grünwald-Farbstoff u. a.) zeigt sich der Bacillus stets als aus 2 Teilen bestehend:

a) Der zentrale, mediane (gewöhnlich doppelte) Teil des Bacillus besteht aus 1—2 verlängerten Parallelogrammen aus der Substanz des Endoplasmas, welches sich gesättigt blauviolett färbt.

b) Der periphere Teil umgibt das mediane Endoplasma des Bacillus in Form einer zarten, undeutlich konturierten, himmelblauen Schicht, die bald mehr, bald weniger breit ist.

Der in Rede stehende Mikrobe teilt sich somit in jungen Kulturen, desgleichen bei seiner Vermehrung im Blute empfänglicher Tiere stets deutlich in Endo- und Exoplasma. Das Exoplasma hat in jungen Kulturen stets zarte, undeutliche Grenzen.

Beim Studium dieser jungen Kulturen (Agar- und Bouillonkulturen, letztere aus den oberflächlichen Schichten des Nährmediums) kann man eine ganze Reihe von auf den fixierten Präparaten erstarrten, eigenartigen Veränderungen der Bacillenleiber wahrnehmen: Das Endoplasma zieht sich in die Länge und verwandelt sich, wenn es dies noch nicht war, in ein doppeltes; unmittelbar darauf bildet das äußere Exoplasma eine Rille zwischen den beiden medianen Teilen des Bacillus. An anderen Stellen verwandelt sich das Endoplasma, welches sich früher geteilt hat, endgültig in 2 Bacillen, und zwar infolge der vollständigen Teilung des äußeren Exoplasmas durch die in demselben vollständig ausgebildete Rille. Eine Zeitlang bleiben die durch die Teilung neu entstandenen Bacillen in paariger Verbindung (Diplobacillen), dann gehen sie auseinander, so daß schließlich 2 dicke, kurze, plumpe, ovale Bacillen mit abgerundeten Rändern, violetter Endoplasma und zart himmelblauem Exoplasma entstehen, welches letztere verschwommene äußere Grenzen aufweist.

Selbst der einzelne Bacillus erscheint nur als solcher, während man bei sorgfältiger Besichtigung in seinem Endoplasma stets einen mehr oder minder deutlichen hellen (ungefärbten) Streifen erblickt, der das Endoplasma in 2 Teile teilt. Bei den anderen Bacillen nimmt dieser Streifen an Breite allmählich zu, wodurch das Endoplasma 2 an Länge allmählich zunehmende Parallelogramme bildet, zwischen denen im Exoplasma die Rille entsteht, die den Bacillus endgültig in 2 Teile teilt.

Mit einem Worte, in den jungen wachsenden Kulturen des in Rede stehenden Bacillus beobachten wir an den einzelnen Bacillen eine deutliche, leicht nachweisbare Absonderung des Endoplasmas und des Exoplasmas; diese beiden Teile zeigen in ihren Formen eine Reihe von Veränderungen, deren Folge Teilung (direkte ohne vorangehende Karyokinese)¹⁾ des Bacillenleibes in 2 Teile ist.

1) Das Vorhandensein eines Kernes konnte bei dem in Rede stehenden Bacillus durch Chromatinfärbungen und durch mikroskopische Untersuchung nicht nachgewiesen werden.

2) In alten Kulturen, besonders in Bouillonkulturen, beginnt der Bacillus vom 8.—9. Tage ab, wo das Nährmedium sich zu erschöpfen beginnt und wo andererseits in demselben sich die Stoffwechselprodukte der Mikroben anzusammeln beginnen, folgende Veränderungen erkennen zu lassen:

a) Das Exoplasma nimmt, im Gegensatz zu den Bacillen in jungen Kulturen, statt zarter, „aureolenförmiger“ Konturen stark ausgeprägte gerade, lineäre Konturen an; die Grenzen zwischen Endo- und Exoplasma verschwinden, und viele Bacillen erscheinen als sich homogen färbende, kurze (0.5μ), ovale Stäbchen mit dicken, abgerundeten Enden.

b) Die Mehrzahl dieser Bacillen hat in ihrer Mitte im Vergleich mit anderen Teilen des Bacillus einen breiten, querverlaufenden, hellen Streifen, der auf die vorhanden gewesene, beginnende Teilung des Endoplasmas in 2 Teile hinweist; in den jungen sich vermehrenden Kulturen beobachtet man sämtliche Uebergänge der Teilung des Endoplasmas, vom Auftreten des inätorischen Querstreifens im Bacillus bis zu den 2 kurzen, langgezogenen Endoplasmastrifen, die im gesamten äußeren Exoplasma enthalten sind, welches letztere später, unmittelbar nach der Teilung des Endoplasmas, sich gleichfalls dadurch in 2 Teile teilt, daß in demselben eine Rille entsteht. Etwas, was der sich vollziehenden oder der bereits vollzogenen Teilung der Bakterienzellen in 2 Teile ähnlich wäre, haben wir in alten Kulturen nicht gesehen; im Gegenteil lassen fast sämtliche Bacillen, und je älter die Kultur, desto größer ist deren Zahl, stark ausgeprägte Konturen des Exoplasmas erkennen, während der innere Teil, das Endoplasma, verschiedene, an den Enden der Bacillen, an deren „Polen“ befindliche Formveränderungen aufweist (Klumpchen, Halbmonde, Gebilde, welche an Pilzhütchen erinnern usw.), aber nirgends sind diejenigen parallelogrammartig langgezogenen Endoplasmastrifen zu sehen, von denen jeder bei der weiteren Teilung der Bacillenzellen 2 neue Zellen entstehen läßt.

Mit einem Worte, in alten, vornehmlich Bouillonkulturen, zeigen die Bacillen vom 9. Tage ab und später folgendes:

a) Verhärtung des Exoplasmas der Zelle in Form einer stark konturierten Kapsel und

b) solche Formveränderungen des Endoplasmas, die auf „erstarrte“ oder unterbrochene Teilung der Bacillenzellen hinweisen, wobei das Endoplasma eine Reihe unregelmäßiger, wunderlicher Gebilde zu erzeugen beginnt, die nach den Enden bzw. „Polen“ der ovalen oder verlängerten Bacillenzellen abgedrängt sind.

Nun fragt es sich, welche Momente des Zellebens das veränderte Endoplasma dahin bringen, daß dasselbe sich nach den „Polen“ der oval verlängerten Zellen zurückzieht und dort eine ständige „polare“ Lage einnimmt.

Schon in 3—4-tägigen Bouillonkulturen macht sich ein großer Unterschied in der Struktur und im Aussehen der Bacillen bemerkbar, die gleichzeitig aus der Oberfläche und aus den tiefer liegenden Schichten ein und derselben Kultur genommen sind: Die Kultur der oberflächlichen Schichten besteht aus Bacillen mit scharf gezeichneten Konturen (inkapsulierte Bacillen) von länglich ovaler Form; das Endoplasma, welches durch einen hellen Querstreifen in 2 Teile geteilt ist, liegt an den „Polen“ des Bacillus, wo es bald in Form von kurzen Parallelo-

grammen, bald in Form von runden Körnern mit usurierten Rändern usw. erscheint. Das Endoplasma färbt sich (mit Chromatinfarben) gesättigt blau, fast schwarz, während das Exoplasma farblos bleibt. Uebrigens ist der in Rede stehende Bacillus in diesen seinen Veränderungsstadien von dem Erreger der gewöhnlichen Menschenpest nicht zu unterscheiden.

Die aus den tiefen Schichten (vom Boden derselben Kultur) genommenen Bacillen weisen außer den wenigen gleichartigen Bacillen wie die oben beschriebenen in den oberflächlichen Schichten (pestähnliche Bacillen) auch eine große, sogar überwiegende Anzahl gleichfalls bipolarer Bacillen auf, welche die Fähigkeit erlangt haben, sich an den „Polen“ rötlich-gelb, bisweilen hellrot zu färben und so zarte Konturen und Färbung darbieten, daß sie mit Recht als Bacillen-„Schatten“ bezeichnet werden können. Augenscheinlich sind diese „Schatten“ die Leichen der zugrunde gegangenen Bacillen und stellen die Hauptmasse des Niederschlags dar, der sich im Boden des Reagensgläschens in alten Bouillonkulturen bildet. In sehr alten Kulturen büßen die Schatten der Bacillen nach und nach ihre Konturen vollständig ein, sie schmelzen gleichsam und stellen schließlich eine sich nicht färbende, graue, neblige Masse dar, in der man mit Mühe hier und da farblose Gerüste, bzw. die äußeren Konturen der Bacillen erkennen kann.

Wir haben es bei diesen letzteren Erscheinungen augenscheinlich mit den Endstadien der Bakteriolyse (Autolyse) toter Bacillenleiber zu tun.

Inmitten der Bacillen-„Schatten“ und der anderen Bacillen, welche noch die Fähigkeit behalten haben, sich an ihren Polen blau zu färben, entstehen immer und in großer Anzahl ring- oder kreisförmige Gebilde: die Bacillen nehmen an Stelle ihrer länglich-ovalen Form die Form eines unregelmäßigen Kreises oder richtiger einer Kugel an, in der das Endoplasma, welches früher an den „Polen“ lag, sich entweder in der Form von 2 schmalen, gleichsam zusammengedrückten, spindelförmigen Streifen verteilt, die auf den entgegengesetzten Seiten des Ringes liegen, oder aber das Protoplasma, welches früher an den Polen lag, verwandelt sich, indem es zusammenfließt und sich verdünnt, in eine zusammengezogene, sich intensiv färbende Streifenlinie, welche einen zweiten inneren Ring bildet, der innerhalb der Ringkugel und unmittelbar unter der äußeren Exoplasma Linie dieses Ringes liegt. Uebrigens erinnern diese Gebilde, besonders wenn deren Bakteriolyse (Autolyse) begonnen hat, in hohem Maße an die „Kugeln“ und Ringe, welche durch die Erreger der Menschenpest in den Pestbubonen, besonders in den Bubonen beobachtet werden können, die zu vereitern beginnen.

In sehr alten Bouillonkulturen (1 Monat und darüber) waren fast sämtliche Bacillen in „Schatten“ verwandelt (Bakteriolyse) und auf den Boden des Reagensgläschens niedergefallen, wo sie einen dichten, zähen Niederschlag bildeten. Nur in den oberflächlichen Schichten der Kulturen, welche die Wachstumsfähigkeit bei weiteren Ueberimpfungen noch behalten haben, bildet sich unmittelbar auf der Oberfläche des Nährmediums eine Membran aus Bacillen-„Schatten“, in deren Mitte nicht besonders zahlreiche, im Gesichtsfelde leicht zählbare Bacillen zu sehen sind, welche das eigentümliche Aussehen von Diplokokken haben: Das an den Polen der gewöhnlich in die Breite aufgetriebenen und in die Länge gezogenen

Bacillen gelegene Protoplasma hat, statt der für pestähnliche Bacillen üblichen Form eines Halbmondes, eines Knäuelchens oder eines Klümpchens mit unregelmäßigen Rändern, die Form von regelmäßigen, runden, mit ebenen Rändern versehenen Körperkokken angenommen.

Bei vielen Formen der polaren Verteilung des Endoplasmas erscheint der ganze Leib des Bacillus stets in die Länge gezogen, indem er die ovale Form einbüßt und die eines verlängerten und gleichsam aufgetriebenen Parallelogramms, einer Spindel usw. erhält.

Bei den oben beschriebenen ringförmig-kugelförmigen Veränderungsformen erscheint der Bacillenleib gleichfalls gleichmäßig bis zur Bildung einer Kugel (eines Ringes) aufgetrieben. Somit haben die Bacillen in sehr alten Kulturen stets eine Kapsel, sind in die Breite aufgetrieben, in die Länge gezogen und verfallen in diesem Zustande nach ihrem Tode der Bakteriolyse (Autolyse) in Bouillonkulturen. Hartnäckiger und am längsten widerstehen dem Uebergang und der nachfolgenden Autolyse diejenigen Bacillen, deren Endoplasma, an den „Polen“ der Bacillenleiber bleibend, die Form von Kokken (Diplokokkengebilde) angenommen hat.

Schließlich bestehen die Veränderungen des in Rede stehenden Bacillus im dichten, eiterähnlichen Inhalt der Säcke, in welche sich ganze Lungenlappen der unter natürlichen Verhältnissen mit diesem Bacillus infizierten weißen Ratten verwandeln, in folgendem: Im Inhalt der soeben erwähnten sackartigen Gebilde beobachten wir außer verschiedenartigem, häufig formlosem Zerfall des Lungengewebes auch zahlreiche Leukocyten, die meistens gelappte Kerne haben, sowie den in Rede stehenden Bacillus in Reinkultur und in verschiedenen Formen und Graden der eigenartigen Veränderungen dieses Bacillus, die im Nachstehenden beschrieben werden sollen:

Die Leukocyten haben teilweise ihre Form behalten, teils sind sie zerfallen; sowohl in den erhaltenen als auch in den zerfallenen Leukocyten finden wir den in Rede stehenden Bacillus in Form von intracellulären Einlagerungen, die folgende Veränderungen darbieten: Der eine Teil der eingeschlossenen Bacillen stellt rot gefärbte¹⁾ Diplokokkengebilde dar, die sich allmählich in kleine, einige Mikrozehntel messende Punkte verwandeln, welche bisweilen von einer kaum bemerkbaren Aureole umgeben sind. Augenscheinlich ist ein Teil der von den Leukocyten aufgenommenen Bacillen der intracellulären Verdauung anheimgefallen, und die allmählich an Größe abnehmenden Diplokokkengebilde mit kaum bemerkbarer Aureole entsprechen den in den alten Bouillonkulturen beschriebenen Bacillen-„Schatten“, den Endstadien der Bakteriolyse. Der andere, gleichfalls zahlreiche Teil der Bacillen, die von den Leukocyten augenscheinlich später aufgenommen sind als die vorher beschriebenen, ist dem Schicksal der intracellulären Verdauung seitens der bereits überladenen Leukocyten augenscheinlich entgangen und zeigt folgende Veränderungen: Das Endoplasma, in welcher Form es auch da sein mag (veränderte oder kurze Parallelogramme, rundliche Klümpchen mit usurierten Rändern), erweist sich stets als aufgequellt und im Vergleich zu der Größe eines gewöhnlichen Bacillus um mehrere Male (2—3mal) verdickt. Das Exoplasma hat stets scharfe, lineare Ränder; dieses Exo-

1) Die rötliche Färbung einiger Formen des in Rede stehenden Bacillus, nämlich der Formen, die sich gewöhnlich mit einer bläulichen Nuance färben, zeigt die Erscheinung der „Metachromasie“, welche somit als eines der Merkmale des Untergangs der Bacillen zu betrachten ist.

plasma, welches im ganzen fast immer bis zu Riesendimensionen aufgetrieben ist, umgibt das Endoplasma in Form einer breiten, farblosen oder schwach und gleichartig gefärbten Kapsel mit stark ausgeprägten äußeren Rändern. Die äußerste Schicht der Kapsel (das Exoplasma) erscheint bei der Verwendung von Chromatinfarben in Form eines Fadens, auf dem sich von außen aus der Lösung gleichsam rotvioletter Farbstoff niedergeschlagen hat; der übrige Teil der Kapsel zwischen der rotvioletten äußeren Linie und dem Endoplasma bleibt bei der Färbung gewöhnlich farblos. Man gewinnt den Eindruck, als ob die äußere Linie, die Grenze der Kapsel, dem Eindringen des Farbstoffes in die Kapselsubstanz ein schwer zu überwindendes Hindernis entgegengesetzt; nur bei starker Ueberfärbung des Präparates färbt sich die Kapselsubstanz gleichartig rosa.

Das gewöhnlich doppelte Endoplasma, welches von einer breiten, festen Kapsel umgeben ist, quillt und nimmt innerhalb der Kapsel verschiedene, bald verlängerte, bald unregelmäßige, klumpenartig runde Formen an. In 49—50 Tage alten Bouillonkulturen gelang es mir, ebensolche kapseltragende, aufgetriebene Bacillen mit wunderlichen Endo- und Exoplasmaformen zu beobachten, wie ich sie soeben in den Leukocyten bei dem Inhalt der sackartigen Gebilde in den Lungen der weißen Ratten beschrieben habe, welche viele Monate (3—7) hindurch mit der Infektion mit diesem Bacillus gekämpft haben.

In den Leichen von weißen Mäusen, die an durch diesen Bacillus hervorgerufener akuter Septikämie zugrunde gegangen sind, in Leichen, die mehrere Tage (10—12) lang im Eiskühler bei einer Temperatur von 1—2° C belassen waren, gelang es gleichfalls, die gleiche, oben beschriebene Aufquellung sowohl des Exo- als auch des Endoplasmas des betreffenden Bacillus unter Bildung von verschiedenen wunderlichen Formen sowohl von seiten des Exo- als auch des Endoplasmas zu beobachten.

Selbst in jungen Bouillonkulturen gelingt es, neben den gewöhnlichen einzelnen und Diplokokkenbacillen auch eine eigentümliche Veränderung der Bacillen zu sehen: Das verlängerte, etwas aufgetriebene Exoplasma hört auf, sich zu teilen und zieht sich in die Länge, dazu augenscheinlich durch die anhaltende Teilung des Endoplasmas in demselben Bacillus getrieben; infolge dieser Kombination von unterbrochener Teilung des Exoplasmas und gleichzeitig anhaltender Teilung des Endoplasmas in und derselben Zelle entstehen nicht selten verlängerte, darmartige Gebilde von graublauer Farbe, innerhalb deren sich eine ganze Reihe von Endoplasmapartikelchen bildet, die intensiv gefärbt und voneinander durch ungefärbte Zwischenräume getrennt sind; man sieht eine Kette in einer gemeinsamen Kapsel, Gebilde in Form einer Leiter etc.

Im Blute, in der Milz und in der Leber von weißen Mäusen, die durch Infektion mit sehr virulenter Kultur (von 3 Tagen) getötet worden sind, werden in überwiegender Anzahl gewöhnliche, dicke, kurze, ovale einzelne oder Diplobacillen mit scharfen äußeren Konturen, ohne deutliche Teilung in Exo- und Endoplasma und mit diffuser Trübung, welche keine Spuren von polarer Einteilung aufkommen läßt, beobachtet.

In denselben Organen und Geweben und bei denselben Tieren überwiegen, wenn sie an Septikämie am 5.—6. Tage und später zugrunde

gegangen sind, „pestähnliche“ Bacillen, d. h. einzelne oder Diplobacillen vom Aussehen und von der beschriebenen Form, die stets aufgetrieben sind, scharf gezeichnete Konturen aufweisen und an deren Polen das Endoplasma verteilt ist, welches sich in Form von Halbmonden, Klümpchen, kleinen Kuben usw. färbt, wobei der übrige Teil des Zelleibes (außer dem Endoplasma) fast farblos, grau bleibt.

Augenscheinlich entsteht im Organismus der weißen Mäuse bei Infektion derselben mit weniger virulenter Kultur eine gewisse Immunität, welche für das Leben des Bacillus ungünstige Bedingungen schafft; infolge dieses Umstandes bilden die Bacillen eine Kapsel und werden aufgetrieben, während das zu den Polen abgedrängte Endoplasma Formen annimmt, die an die des Endoplasmas, welches im Begriff ist, die Teilung bei der Vermehrung fortzusetzen, in keiner Weise mehr erinnern. Unter diesen Bedingungen ergreift der Bacillus augenscheinlich Maßnahmen

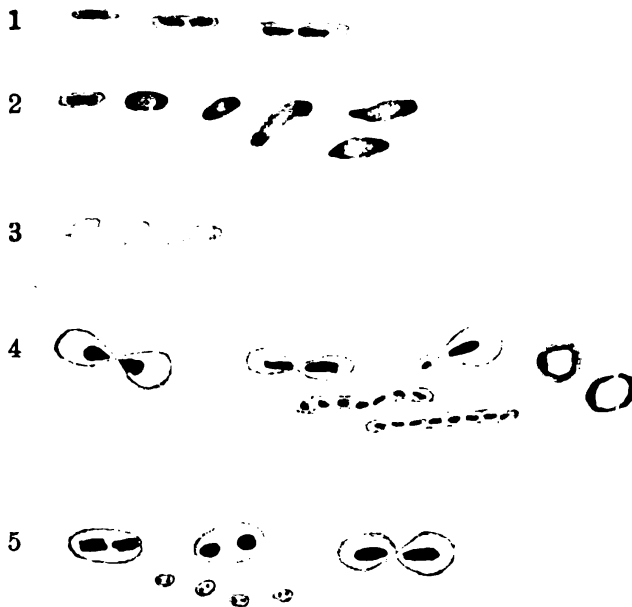


Fig. 1. Mikrobe aus jungen Bouillonkulturen und aus dem Blute bei Septikämie bei weißen Mäusen.

Fig. 2. Aussehen der Mikroben aus alten Kulturen, desgleichen aus der Leber und Milz von weißen Mäusen.

Fig. 3. Mikroben-„Schatten“ aus alten Kulturen.

Fig. 4. Involutionsformen der Mikroben aus alten Kulturen und aus kühl gehaltenen Leichen von weißen Mäusen.

Fig. 5. Involutionsformen (größere Figuren) und Abdrücke derselben Formen am Ende der Bakteriolyse (kleinere Figuren) in den entzündlichen Produkten aus den Lungen von weißen Ratten.

zum Selbstschutz, nicht aber zur Fortsetzung des Geschlechts, indem er eine Kapsel bildet, usw.

In der Milz und besonders in der Leber derselben weißen Mäuse nehmen einige Bacillen die Form von Ringen bzw. Kugeln mit scharfen äußeren Konturen an; das in den Ringen bzw. Kugeln eingeschlossene Endoplasma bleibt entweder an Ort und Stelle, indem es sich verdickt und spindelförmig wird oder es bekommt das Aussehen eines gefärbten zweiten Ringes, welcher unmittelbar unter der scharfen äußeren Linie des Exoplasmas liegt, d. h. es entstehen auf diese Weise unter der Kapsel genau dieselben Formen, wie sie früher in den Bouillonkulturen dieses Bacillus gefunden und beschrieben worden sind.

An den aufgetriebenen, erweiterten und stark in die Länge gezogenen Bacillen, besonders an den ring- bzw. kugelförmigen Gebilden, kann man sich sehr anschaulich davon überzeugen, daß unmittelbar nach der Bildung einer scharf konturierten Kapsel aus dem Exoplasma der intracelluläre (intrabacilläre) Druck allmählich steigt, die Zelle aufgetrieben und das Endoplasma nach

der Seite des geringsten Widerstandes, nämlich nach den Polen des verlängerten Ovals, verdrängt wird, wo der zunehmende intracelluläre Druck eine verschiedenartige Deformation des Endoplasmas erzeugt. Diese soeben beschriebenen Veränderungsformen der Bacillen können sich nur bei gesteigertem intrabacillären Druck bilden. Die Ursache des zunehmenden intracellulären Druckes ist meiner Meinung nach die Bildung einer festen Kapsel am Bacillus, welche durch Erschwerung des Stoffwechsels zwischen den inneren Teilen der Bacillenzelle und dem dieselbe umgebenden Medium Verhältnisse schafft, welche man als Anisotonie bezeichnet; es ist wahrscheinlich, daß von den Momenten, welche im vorliegenden Falle die Anisotonie schaffen, auch die eintretenden Veränderungen im physikalischen und chemischen Zustande des Mediums, welches den Bacillus selbst umgibt, von Bedeutung sind.

Selbst bei den ungünstigsten Lebensbedingungen gehen nicht alle Bacillen gleichzeitig zugrunde: Die ältesten Kulturen behalten bis zu einem gewissen Zeitpunkte ihre Wachstumsfähigkeit bei weiterer Aussaat bei, sowie die Fähigkeit, empfängliche Tiere zu infizieren.

Bei der mikroskopischen Untersuchung solcher Kulturen, welche ihre Wachstums- und Infektionsfähigkeit behalten haben, finden wir außer der Hauptmasse der oben beschriebenen „Schatten“ der zugrunde gegangenen Bacillen und ihrer Ueberreste noch spärliche verlängerte Bacillen, deren Endoplasma das Aussehen von regelmäßigen runden Kokken angenommen hat, die sich intensiv färben und an den Polen liegen.

Diese diplokokkenartigen Formen, welche das Aussehen von Kokken trotz des das Endoplasma deformierenden erhöhten intracellulären Druckes erhalten haben, sind die widerstandsfähigen Formen der in Rede stehenden Bacillenart.

Wenn man diese Diplokokkengebilde weißen Mäusen subkutan einführt und dann nach einigen Stunden (8—10—20) das den Infektionsstellen entnommene Material unter dem Mikroskop untersucht, überzeugt man sich ad oculos, daß diese kokkenartigen Formen in gewöhnliche, mit verlängertem Endoplasma versehene einzelne oder Diplobacillen übergehen, welche sich durch die oben beschriebene (direkte?) Teilung der Bacillenzellen zu vermehren beginnen.

Wenn man auch die soeben beschriebene Umwandlung der Diplokokkenformen in verlängerte Bacillen als Fortwachsen und folglich die beschriebenen polar angeordneten Kokken als Sporen betrachten könnte, so dürfte man dies meiner Meinung nach doch nicht tun, weil selbst die diplokokkenartigen Formen in den Bouillonkulturen (durch Bakteriolyse bzw. Autolyse), nachdem sie in denselben 55—60 Tage verblieben waren, endgültig zugrunde gehen, so daß kein genügender Grund vorliegt, solche relativ wenig stabilen Gebilde als Sporen zu betrachten.

Schlüsse.

Der beschriebene Bacillus zeigt unter günstigen Entwicklungsbedingungen ein leicht nachweisbares, sehr zart konturiertes Exo- und Endoplasma. Beim Auftreten von ungünstigen Entwicklungsverhältnissen

im Medium bildet das Exoplasma mit seinen äußeren Teilen eine feste Kapsel, die einerseits dem Mikroben als Selbstschutzwerkzeug dient und andererseits wahrscheinlich durch eintretende Anisotonie zwischen dem intracellulären Inhalt und dem Medium eine zunehmende Erhöhung des intracellulären Druckes bewirkt. Diese Druckerhöhung führt einerseits zur Bildung von aufgetriebenen, erweiterten und verschiedenartig lang gezogenen Formen der Bacillenzelle, andererseits zur Verdrängung des Endoplasmas nach den Polen der ovalen Zelle, wo bei fortdauerndem intracellulären Druck verschiedene mißgestaltete Figuren des Endoplasmas (Deformationen) entstehen. Durch das Vorhandensein von zunehmendem intracellulären Druck im Bacillus lassen sich auch alle verschiedenartigen Veränderungen der Form dieses Bacillus im ganzen, also die sogenannten Involutionsformen, erklären.

Die unter ungünstigen Lebensverhältnissen vor sich gehende Kapselbildung, der gewöhnlich darauf eintretende Stillstand der Teilung des Endoplasmas und das Auftreten von zunehmendem intracellulären Druck (infolge von Anisotonie) sind eben diejenigen Momente, die bei dem betreffenden Mikroben, vielleicht auch bei anderen hierzu gehörigen Mikroben, zur Bildung von Polfärbung, zum Polymorphismus und zu verschiedenen Involutionsformen führen.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

- | | |
|---|---|
| <p>Clarke, J. Jackson, Chromidia and Cancer, p. 200.</p> <p>Dudtschenko, I. S., Ueber die Bedingungen, welche Polfärbung, Polymorphismus und eine eigentümliche Art von Involutionsformen bei den pestähnlichen Bacillen hervorrufen, p. 264.</p> <p>Hull, Thomas G. and Rettger, Leo F., The influence of milk and carbohydrate feeding on the intestinal flora of white rats, p. 219.</p> <p>Marras, Francesco, Ueber die Einzigartigkeit und Polyvalenz des Trypsins, studiert mit der Präzipitations-</p> | <p>und Komplementablenkungsmethode p. 193.</p> <p>Messerli, Fr., Contribution à l'étude de l'étiologie du goître endémique, p. 211.</p> <p>Renaux, E., Le microbe de Bordet et Gengou, agent étiologique de la coqueluche, p. 197.</p> <p>van Biemsdijk, M., Ueber die bakteriologische Diphtheriediagnose und die große Rolle, welche Bacillus Hofmanni dabei spielt, p. 229.</p> <p>Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. Helminthen und Protozoen, p. 205.</p> |
|---|---|

Frommaunsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 75. Heft 4.

Ausgegeben am 15. Januar 1915.

Nachdruck verboten.

Diphtheriebacillen beim Geflügel.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Rostock
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. L. Pfeiffer).]

Von **Rudolf Spiegelberg.**

Die Frage nach der Aetiologie der Geflügeldiphtherie und besonders nach ihren Beziehungen zur Menschendiphtherie steht zurzeit — mit Unrecht — sehr im Hintergrunde des Interesses, während sie in früheren Jahrzehnten zu zahlreichen Untersuchungen Anlaß gegeben hat. Bei diesen ist von Anfang an die große Differenz der Ansichten in die Augen fallend: Auf Grund bakteriologischer Ergebnisse und Impfungen mit Reinkulturen wurden die verschiedensten Erreger von Geflügeldiphtherieen festgestellt, so Loefflers (15) Taubendiphtheriebacillus, den Babes und Puscariu (1) und Ritter (27) bestätigten, ferner Loir et Ducloux' (16) Stäbchen, Guérins (6 und 7) Coccobacillus, Streits (31) „Roupbacillus“, Müllers (20) spezifisches Stäbchen, von Hausser (9) wieder ein anderer Bacillus, endlich auch Streptokokken und der Bacillus pyocyaneus. Da mit sämtlichen Bakterien die Erzeugung von Pseudomembranen beim Geflügel gelang, kann es wohl als festgestellt gelten, daß eine Vielheit von Erregern das klinische Bild der Geflügeldiphtheritis erzeugen kann.

Die wichtige Frage, ob nun auch der Menschendiphtheriebacillus beim Geflügel eine Rolle spielt, hatte am Ende des vorigen Jahrhunderts eine lebhaft wissenschaftliche Fehde zwischen 2 Parteien hervorgerufen. Zu den Dualisten, die für eine totale Verschiedenheit beider Diphtherieen eintraten, gehörten vor allem die oben angeführten Autoren, die meist auch auf den Erreger der Menschendiphtherie ihr Augenmerk gerichtet hatten, ohne ihn jemals bei Vögeln angetroffen zu haben.

Ihnen gegenüber suchten die Unitaristen den Klebs-Loefflerschen Bacillus bei krankem (und gesundem) Geflügel nachzuweisen. In wenigen Fällen und nur unsicher gelang es noch Krajewski (11), Emmerich (3), Galli-Valerio (5), Gallez (4), Sharp (29), Maxutow (19) u. a. Viel mehr Ueberzeugungskraft besitzen erst die Arbeiten von Macfadyen und Hewlett (18), Kampmann, Hirschbruch und Lange (10), Piorkowski (24) und Rappin und Vanney (26).

Auf jeden Fall ist das Gebiet aber ein sehr umstrittenes. Eine Zeitlang schien sich die Wagschale schon ganz den Dualisten zuzusinken zu wollen; es können jedoch deren Arbeiten nur eine Vielheit von Erregern der Geflügeldiphtherie beweisen, aber durchaus nicht für alle Fälle das Vorkommen des Menschendiphtheriebacillus bei Vögeln widerlegen. Bei der praktischen Bedeutung dieses Punktes erscheint es angebracht, neue diesbezügliche Beobachtungen mitzuteilen.

Eine ausführlichere Darlegung der erwähnten Literatur, der kulturellen Untersuchungen und der Impfversuche ist in meiner gleichnamigen Dissertation (Rostock 1914) zu finden. Hier seien zunächst kurze Aus-

züge daraus mitgeteilt und sodann vor allem die Agglutinationen geschildert, die das entscheidende Wort sprechen.

Es handelt sich um Stäbchen mit Polkörperchen, die es gelang, aus dem Rachen von zwei diphtheriekranken Tauben („T1 und T2“) und einem diphtheriekranken Huhne („H1“), sowie von 18 gesunden Tauben („T3—20“) und zwei an anderen Erkrankungen leidenden Hühnern („H2 und H3“) zu isolieren. Parallelgehend mit diesen Bacillen wurden zwei Menschendiphtheriebacillenstämme („M1 und M2“) untersucht.

Morphologisch fand sich einerseits gute Uebereinstimmung: Im Neisser-Präparat zeigten fast alle Stämme sehr reichliche Polkörperchen, mit Methylenblau färbten sie sich gut und wiesen oft Segmentierung auf, viele waren leicht gekrümmt; alle waren unbeweglich und grampositiv; gruppen-, palisadenförmige und gekreuzte Anordnung war die Regel. Andererseits zeigten sich doch die mannigfaltigsten Bilder: Denn von den kleinsten Stäbchen mit zierlichen Polkörperchen fanden sich alle Uebergänge bis zu den größten Formen mit geradezu klobigen Polkörnern.

Auffällig war bei vielen Stämmen der Wechsel ihrer Erscheinungsform: Mehrere, auch die Menschendiphtheriebacillen, entarteten im Laufe der bis 3 Monate langen Züchtung auf Nährböden zu unscheinbaren, coliähnlichen Stäbchen, die fast gar keine Polkörperchen mehr besaßen; dabei behielten die Stämme ihre Antigeneigentümlichkeit unverändert bei. Andere zeigten das Gleiche beim Uebertragen von einem Nährboden auf den anderen, um bei erneuter Uebertragung jedoch oft wieder zur ursprünglichen Blüte zurückzukehren.

Dies Verhalten, das bei längerer Kultivierung von Diphtheriebacillen auch andererseits häufiger beobachtet worden ist, verdient vor allem Beachtung in Anbetracht der Stellung der Pseudodiphtheriebacillen. Besonders die Stämme M2 und T2, aber auch manche andere, würden in ihren späteren Formen unbedingt für Pseudodiphtheriebacillen erklärt worden sein, stammten jedoch direkt von durchaus typischen Diphtheriebacillen ab und wurden sehr gut agglutiniert (s. unten). Vielleicht ist überhaupt die Armut der sogenannten Pseudodiphtheriebacillen an Polkörperchen nur eine Entartungserscheinung ursprünglich echter Diphtheriebacillen, sowie das Gleiche wohl auch von dem anderen Charakteristikum der Pseudodiphtheriebacillen, nämlich der Virulenzverminderung, gilt.

Auch kulturell zeigte sich auf den verschiedensten Nährmedien die weitgehendste Uebereinstimmung der von den kranken und gesunden Vögeln isolierten Mikroorganismen mit den gleichzeitig untersuchten menschlichen Diphtheriebacillen. Gewisse kleine Unterschiede in der Stärke z. B. des Wachstums auf Nähragar oder der Farbstoffbildung auf Selen Serum waren stets durch fließende Uebergänge verbunden. Höchstens in der Säureproduktion in Lackmusmolke, in Traubenzuckerbouillon mit Lackmuszusatz und auf Drigalski-Agar offenbarte sich ein Gegensatz, insofern die Stämme T2, 7, 10, 11, 12 und 14 und H3 Säure produzierten, alle anderen dagegen mit alkalischer Reaktion wuchsen. Aber auch dies steht beides in Einklang mit den Eigentümlichkeiten der echten Diphtheriebacillen. Während diesen früher von den einen Autoren die Alkali-, von anderen gerade die Säureproduktion als charakteristisch gegenüber „Pseudodiphtheriebacillen“ zugeschrieben wurde, ist man jetzt im allgemeinen der Ansicht, daß beides vorkommt. In den ersten Tagen erzeugen alle Diphtheriebacillen mäßige Säuremengen; bei vielen erfolgt

dann bald ein Umschlag in alkalische Reaktion des Nährmediums, andere aber fahren mit der Säureproduktion länger fort, bis die angesammelte Säure ihrem weiteren Wachstum ein Ende bereitet [vgl. Springer (30)].

Um die Tierpathogenität der gefundenen Diphtheriebacillen zu prüfen, wurde von der Prüfung der Toxizität für Meerschweinchen Abstand genommen, da bei der Virulenzverschiedenheit der echten Diphtheriebacillen [vgl. unter anderem Lubowski (17)] diese Versuche nichts Neues hätten beweisen können.

Wohl aber wurde mit den Stämmen M 1, M 2, T 1, T 3, T 15 und H 1 die Impfung auf Tauben vorgenommen, und zwar, da alle Tiere bereits Bacillenträger waren, durch Injektion lebender Bacillen in den Brustmuskel. T 3 und T 15 wurden denselben Tauben einverleibt, aus deren Rachen sie gewonnen waren. Ueberall traten lokale Nekrosen auf, Allgemeinerscheinungen jedoch mit einer Ausnahme nicht. Daß die Tauben bereits als Bacillenträger eine gewisse Immunität erworben hatten, zeigte sich dann bei einigen Agglutinationen.

Agglutinationen.

Um die Identifizierung der fraglichen Diphtheriebacillen noch weiter zu sichern, wurde schließlich die serologische Methodik hinzugezogen. Die Ektotoxine der Diphtheriebacillen und die Antitoxine der Immunsera sind schon in ausgedehntem Maße untersucht worden. Aber gerade auf die Bacillen selber, ihren leiblichen Eigenschaften gegenüber, hat die Serodiagnostik bisher auffallend wenig Anwendung gefunden. Allerdings lagen einerseits keine praktischen Bedürfnisse vor, da ja die Diagnose der Krankheit sowie die der Bacillen auf einfacheren Wegen möglich war, andererseits hatte die Agglutination gerade auf diesem Gebiete besonders bei den ersten Untersuchern nur recht unsichere Resultate ergeben. Eine historische Uebersicht sei vorausgeschickt:

Zuerst hat Nicolaß (22) 1896—1900 im Heilserum Agglutinine gesucht und gefunden; jedoch wurden durch Pferdeserum von 12 Diphtheriestämmen nur 6 agglutiniert (und zwar nur bis 1:20), 6 nicht agglutiniert.

Landsteiner (12) konnte 1897 selbst durch 11malige Injektion von Diphtheriebacillen in Meerschweinchen keine Agglutinine erhalten.

Nicolle (23) erzielte 1898 weder mit Immunkaninchen- noch mit Pferdeheilserum Agglutination.

Bruno (2) erhielt 1898 bei der Untersuchung der agglutinierenden Kraft des Höchster Heilserums, sowie des Serums von 44 Diphtheriekranken und 12 gesunden Menschen absolut keine einheitlichen Resultate. Interesse verdient nur der Befund von ihm, daß das Serum eines Schwerkranken bis 1:400 agglutinierte.

Müller (20) untersuchte 1905 die agglutinierende Kraft eines längere Zeit kranken Huhnes gegenüber dem von ihm gefundenen Stäbchen; es war jedoch das mit dem Serum versetzte Röhrchen nicht von der spontan agglutinierenden Kontrolle zu unterscheiden.

Piorkowski (24) berichtete 1907 von Erfolgen mit der Agglutination: Das Serum eines mit Hühnerdiphtheriebacillen immunisierten Kaninchens agglutinierte angeblich menschliche Diphtheriebacillen, und umgekehrt wurde der Bacillienstamm des kranken Huhnes von Menschendiphtherieserum „beeinflusst“; doch infolge des Fehlens näherer Angaben lassen sich diese Bemerkungen nicht verwerten.

Mit mäßigem Erfolge stellte sich erst Lubowski (17) 1900 ein Immunserum her, indem er eine Ziege mit großen Mengen einer avirulenten, sonst typischen Diphtheriebacillenkultur präparierte. Dies Serum agglutinierte 23 virulente und 2 avirulente Diphtheriestämme, dagegen nicht 3 „typische Pseudodiphtheriebacillen“; freilich meist nur in den starken Konzentrationen 1:40 und 1:20, bei denen schon normales Ziegen-serum manchmal wirkte.

Einen viel höheren Titer erzielte Schwoner (28) 1902, indem er ein Pferd mit 12 verschiedenen, anfangs abgetöteten, später lebenden Diphtheriestämmen immunisierte; dieses polyvalente Serum agglutinierte Diphtheriebacillen noch in der Verdünnung

1:5000 bis 1:10000, Pseudodiphtheriebacillen dagegen nur 1:5 bis 1:10; ein Pseudodiphtherieserum agglutinierte nur den homologen Stamm, und zwar bis 1:10000, weder andere Pseudodiphtherie- noch echte Diphtheriebacillen.

Demgegenüber erreichte Lippstein (13—14) mit monovalenten Immuneris nicht so einheitliche Resultate; er injizierte Kaninchen intraperitoneal ziemliche Mengen lebender virulenter Diphtheriebacillen zusammen mit Antitoxin, um nur gegen die Bacillenleiber gerichtete Antikörper zu erhalten. Von 5 Antiseris agglutinierten 3 nur ihre homologen Bacillenstämmen (und zwar 1:1000), andere Stämme überhaupt nicht oder nur spurweise; die beiden anderen Sera agglutinierten jedes außer seinem homologen Stamme noch den anderen, und zwar 1:540, sowie einen dritten Stamm, diesen aber nur 1:60. Lippstein schließt daraus auf verschiedene „Partialrezeptoren“ bei den einzelnen Diphtheriestämmen, während alle gewisse „Grundrezeptoren“ gemeinsam hätten. Polyvalente Sera seien besonders gegen die Grundrezeptoren eingestellt.

Endlich hat 1912 Przewoski (25) die Agglutination zur Unterscheidung von Diphtherie und Pseudodiphtherie verwandt. Er immunisierte 3 Kaninchen intravenös mit anfangs abgetöteten, dann lebenden Leibern von 2 Diphtheriebacillen- und 1 Pseudodiphtheriekultur. Die auf echte Diphtheriebacillen eingestellten Sera agglutinierten beide Stämme bis 1:9600, den Pseudodiphtheriestamm nur bis 1:150; analog wirkte das Pseudodiphtherieserum auf seinen homologen Stamm sogar bis 19200, auf die echten Diphtheriebacillen nur bis 150 agglutinierend.

Es ergibt sich also aus den neueren, wenn auch noch nicht sehr zahlreichen Arbeiten, daß die Agglutination, zumal wenn sie positiv ausfällt, für die Identifizierung echter Diphtheriebacillen sehr brauchbar ist; und da sie ja dem biologischen inneren Wesen der Bakterien am spezifischsten nahe zu kommen ermöglicht, so könnte sie bei einer zweifelhaften Diagnose in der Tat den Ausschlag geben, zumal die anderen Kriterien der sogenannten Pseudodiphtheriebacillen recht fließende sind.

Zu den eigenen Versuchen auf diesem Gebiete seien zunächst einige Bemerkungen über die Präparierung der Tiere und die Technik der Reaktion vorausgeschickt:

Es wurde mit jedem der 5 in erster Linie untersuchten Bakterienstämme je 1 junges Kaninchen von 1000—1200 g präpariert. Die zu den Injektionen verwandten, 24 Stunden lang auf Loeffler-Serum gewachsenen Bakterienmengen (von 1 Oese angefangen bis zu 4 Loeffler-Röhrchen) wurden in 2—4 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung aufgeschwemmt und intraperitoneal injiziert. Die zu den ersten Injektionen verwandten Bakterien wurden vorher durch einstündiges Erhitzen auf 58—60° abgetötet, danach wurden die lebenden Bacillen eingespritzt, ohne daß jemals eine schwere Schädigung des Tieres beobachtet wurde. Um die Kaninchen nicht unnötig durch Einverleibung von Ektotoxinen zu schädigen, wurde es streng vermieden, Keime im Kondenswasser der Kultur-Röhrchen wachsen zu lassen. Stets wurde das Verhalten des Gewichtes kontrolliert und die nächste Injektion erst dann gemacht, wenn das Tier sich von dem Gewichtssturze, der nach den ersten Injektionen am größten zu sein pflegte, völlig erholt hatte, frühestens jedoch 5 Tage nach der vorigen Injektion. Diesem schonenden Vorgehen ist es zu verdanken, daß die Tiere sich während der Präparierung immer sehr wohl befanden und während der Zeit zum Teil sehr beträchtlich — bis 610 g — zunahmen!

Zwischendrein wurde zeitweilig ein kleinerer Aderlaß aus der Ohrvene gemacht und das langsame Ansteigen des Agglutinationstiters beobachtet. Auch zum Schluß, für die Hauptversuche, wurden höchstens 10 ccm Blut der Ohrvene möglichst steril entnommen und mit dem 9-fachen Volumen Kochsalzlösung im Eisschranke aufbewahrt, wo sich das Serum 2 Wochen lang gut hielt.

Es möge zunächst ein Auszug aus den Immunisierungsprotokollen folgen, in dem nur die Extreme der Gewichtsabnahmen zwischen den Injektionen verzeichnet sind. Wenn kein Gewichtssturz, sondern fort-dauernd Zunahme erfolgte, sind die interkurrenten 2—3-tägigen Wägungen ganz fortgelassen.

Die Blutentnahmen zum Zwecke der Agglutinationen am 8. und 22. Sept. und 6. Okt. erfolgten vor den Injektionen am selben Tage.

Kaninchen T 1.			
Datum	Gewicht	erhält intraperitoneal	Blut agglutiniert bis
16. Aug.	1225 g	1 Oese abgetötet	—
18. "	1065 "	—	—
27. "	1220 "	2 Oesen abgetötet	—
30. "	1180 "	—	—
3. Sept.	1210 "	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
5. "	1200 "	—	—
8. "	1250 "	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	1:120
16. "	1385 "	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
22. "	1420 "	1 Loeffler-Röhrchen lebend	1:320
27. "	1445 "	2 Loeffler-Röhrchen lebend	—
30. "	1420 "	—	—
6. Okt.	1460 "	2 Loeffler-Röhrchen lebend	1:1280
13. "	1485 "	1 kl. Loeffler-Platte lebend	—
18. "	1615 "	3 Loeffler-Röhrchen lebend	—
27. "	1630 "	—	1:2560
Kaninchen T 2.			
15. Aug.	1080 g	1 Oese abgetötet	—
16. "	960 "	—	—
27. "	1060 "	2 Oesen abgetötet	—
30. "	1020 "	—	—
3. Sept.	1040 "	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
5. "	1010 "	—	—
8. "	1080 "	—	1:>80
30. "	1340 "	Bakterienwachstum zu schwach ca. 1 Oese abgetötet (aus 4 Röhrchen zusammengesucht)	—
2. Okt.	1305 "	—	—
Kaninchen T 2.			
4. Okt.	1310 g	1 (schwaches) Tellurröhrchen ab- getötet	—
9. "	1320 "	2 (schwache) Agarröhrchen leb.	—
11. "	1305 "	—	—
14. "	1375 "	2 Loeffler-Röhrchen und 1 Platte lebend	—
16. "	1360 "	—	—
18. "	1390 "	3 Loeffler-Röhrchen und 1 Platte lebend	—
24. "	1390 "	4 Loeffler-Röhrchen lebend	—
29. "	1425 "	3 Loeffler-Röhrchen lebend	—
3. Nov.	1400 "	—	1:2560
Kaninchen H 1.			
30. Sept.	1180 g	1 Oese abgetötet	—
2. Okt.	1170 "	—	—
4. "	1190 "	2 Oesen abgetötet	—
9. "	1230 "	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
14. "	1300 "	1 Loeffler-Röhrchen lebend	—
18. "	1280 "	2 Loeffler-Röhrchen lebend	—
23. "	1320 "	3 Loeffler-Röhrchen lebend	—
28. "	1290 "	2 gr. Loeffler-Röhrchen leb.	—
3. Nov.	1320 "	—	knapp 1:640

Kaninchen M 1.			
Datum	Gewicht	erhält intraperitoneal	Blut agglutiniert bis
15. Aug.	1000 g	1 Oese abgetötet	—
18. "	885 "	—	—
27. "	1025 "	2 Oesen abgetötet	—
1. Sept.	1060 "	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
8. "	1135 "	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	1:240
16. "	1270 "	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
19. "	1225 "	—	—
22. "	1310 "	1 Loeffler-Röhrchen lebend	1:640
25. "	1300 "	—	—
27. "	1330 "	2 Loeffler-Röhrchen lebend	—
6. Okt.	1475 "	2 Loeffler-Röhrchen lebend	1:1280
13. "	1505 "	1 kl. Loeffler-Platte lebend	—
18. "	1610 "	3 Loeffler-Röhrchen lebend	—
27. "	1610 "	—	1:10 000
Kaninchen M 2.			
15. Aug.	1100 g	1 Oese abgetötet	—
16. "	1010 "	—	—
27. "	1115 "	2 Oesen abgetötet	—
1. Sept.	1145 "	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
5. "	1065 "	—	—
8. "	1140 "	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	1:20
16. "	1290 "	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
19. "	1250 "	—	—
22. "	1300 "	1 Loeffler-Röhrchen lebend	1:320
27. "	1320 "	2 Loeffler-Röhrchen lebend	—
6. Okt.	1425 "	2 Loeffler-Röhrchen lebend	1:640
13. "	1470 "	1 kl. Loeffler-Platte lebend	—
18. "	1540 "	3 Loeffler-Röhrchen lebend	—
27. "	1525 "	—	knapp 1:1280

Zur Vornahme der Agglutinationen wurde das Serum in der gebräuchlichen Weise verdünnt und in Reagensröhrchen zu je $\frac{1}{2}$ ccm Serumverdünnung $\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung hinzugefügt. Diese wurde derart hergestellt, daß eine ganze 24-stündige Loeffler-Röhrchenkultur mit 10—20 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung verrieben und abgeschwemmt und sodann 8—10 Minuten lang scharf zentrifugiert wurde. Die fast immer ganz gleichmäßig trübe Aufschwemmung brauchte nur vom Bodensatz abgossen zu werden, um gebrauchsfertig zu sein. Nach der Beschickung der Röhrchen kamen diese auf 2 Stunden in den Brutschrank, wurden über Nacht außerhalb desselben ruhig stehen gelassen und am nächsten Vormittage abgelesen. Die entstandenen Flöckchen hatten sich dann am ganzen Boden und am unteren Teile der Wand des Glases abgelagert, während in der Kontrolle und in den negativen Röhrchen, sofern sie nicht überhaupt homogen geblieben waren, die feinen Bakterienmengen nur in der untersten Kuppe des Glases zu einem dichten, scharf begrenzten Häufchen zusammengesunken waren und ringsum meist nichts von Staub oder Flöckchen zu entdecken war. Dazu kam dann beim Umschütteln des Glases, daß der Bodensatz in der Kontrolle in Gestalt feinsten Sandes oder eines zusammenhängenden schleierigen Hauches aufwirbelte und sich zu einer diffusen Trübung verteilte, während in den mit + bezeichneten Röhrchen kleine Flöckchen emporsteigen und als solche erkennbar bleiben mußten. Mit (+) wurden die Röhrchen bezeichnet, in denen nach dem Aufschütteln die hauchige Trübung überwog, aber doch immerhin noch einige Flöckchen mit der Lupe erkannt werden konnten. Daß auch in der Kontrolle

Tabellen der Agglutinationen.

1. Agglutination von Diphtheriebacillen von Menschen und krankem Geflügel durch Kaninchenserum.

Hauptversuche.

Sera M 1, M 2 und T 1 vom 27. Okt., Sera T 2 und H 1 vom 3. Nov.

Datum	Serum	Bacillen	Agglutination bei Verdünnung 1 zu									Kontrolle	
			20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120		
27. Okt.	M 1	M 1	.	+	+	+	+	+	(+)	?	—	— ¹⁾	
29. „		M 1	.	.	+	+	+	+	+	+	+	—	
6. Nov.		M 1	+	+	— ²⁾	
28. Okt.		M 2	.	+	+	+	+	+	+	(+)	.	((+))	
29. „		M 10	.	+	+	+	+	+	+	+	.	—	
30. „		M 80	.	+	+	+	+	+	+	+	—	—	
27. „		T 1	.	+	+	+	+	+	+	+	—	—	
28. „		T 2	.	+	+	+	+	(+)	—	—	.	—	
29. „		H 1	+	+	—	—	—	—	—	.	.	—	
27. Okt.	M 2	M 1	.	+	+	+	+	+	(+)	?	—	— ¹⁾	
29. „		M 1	.	+	+	+	—?	—?	—?	—	.	—	
4. Nov.		M 1	.	+	+	+	+	+	(+)	—	.	—	
28. Okt.		M 2	.	+	+	+	+	+	(+)	((+))	.	((+))	
29. „		M 10	.	+	+	+	+	+	+	—	.	—	
30. „		M 80	.	+	+	+	(+)	—	—	—	—	—	
27. „		T 1	.	+	+	+	+	+	+	+	—	—	
28. „		T 2	.	+	+	+	+	+	+	—	—	—	
29. „		H 1	+	+	—	—	—	—	—	.	.	—	
27. Okt.	T 1	M 1	.	+	+	+	+	(+)	?	?	—	— ¹⁾	
29. „		M 1	+	+	+	—?	—?	—?	—	—	.	—	
4. Nov.		M 1	.	+	+	+	+	(+)	—	—	.	—	
28. Okt.		M 2	.	+	+	+	+	(+)	(+)	((+))	.	((+))	
29. „		M 10	.	+	+	+	+	+	+	+	.	—	
30. „		M 80	.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
27. „		T 1	.	+	+	+	+	+	+	+	—	—	
28. „		T 2	.	+	+	+	+	(+)	—	—	.	—	
29. „		H 1	+	+	—	—	—	—	—	.	.	—	
4. Nov.	T 2	M 1	.	+	+	+	+	+	+	—	.	—	
4. „		M 2	.	+	+	+	+	(+)	—	—	.	—	
5. „		M 10	.	+	+	+	+	+	+	—	.	—	
5. „		M 80	.	+	+	+	—	—	—	—	.	—	
3. „		T 1	+	+	+	+	+	+	+	+	.	—	
3. „		T 2	+	+	+	+	+	+	+	+	.	—	
5. „		T 2	+	+	+	((+))	((+))	
3. „		H 1	+	+	+	—	—	—	—	.	.	—	
4. Nov.		H 1	M 1	+	+	+	(+)	—	—	—	.	.	—
4. „	M 2		+	+	—	—	—	—	—	.	.	—	
5. „	M 10		+	+	+	(+)	—	—	—	.	.	—	
5. „	M 80		+	—	—	—	—	—	—	.	.	—	
3. „	T 1		+	+	+	—	—	—	—	.	.	—	
3. „	T 2		+	+	+	—	—	—	—	.	.	—	
3. „	H 1		.	+	+	+	+	(+)	—	.	.	—	
29. Okt.	Normal-kaninchen		M 1	+	+	—	—
28. „			M 2	+	((+))	((+))	((+))
29. „		M 10	+	+	—	—	
30. „		M 80	+	(+)	—	—	
27. „		T 1	+	(+)	—	—	
28. „		T 2	+	—	—	
29. „	H 1	+	—	—		

1) Zu schwache Emulsion.
2) 1:10 000 +; 1:20 000 —.

Vorversuche.

Sera vom 8. Sept.			
Serum	Bacillen	Agglutination bis 1 zu	
M 1	M 1	240	
M 2	M 2	20	
T 1	T 1	120	
T 2	T 2	>80 (nicht weiter angesetzt)	
Sera vom 22. Sept.			
Serum	Bacillen	Agglutination bis 1 zu	
M 1	M 1	640	
M 2	M 2	320	
T 1	T 1	320	
Sera vom 6. Okt.			
Bacillen	Agglutination positiv mit Sera bis 1 zu		
	M 1	M 2	T 1
M 1	1280	320	(320)
M 2	320	640	320
M 10	1280	1280	1280
M 80	320	80	160
T 1	320	(320)	1280
T 2	40	40	40
H 1	40	40	40

sich Flöckchen bildeten, kam sehr selten und dann nur in ganz geringem Grade vor, der mit ((+)) bezeichnet wurde.

Herr Geh.-Rat Prof. Dr. Pfeiffer hatte die Güte, sämtliche Agglutinationen persönlich zu begutachten; es war allerdings das Auge eines geübteren Beobachters für die Entscheidung häufig recht erwünscht.

Ueber die in den Tabellen mit M 10 und M 80 bezeichneten Bakterienstämme ist noch voranzuschicken, daß es sich bei beiden um typische menschliche Diphtheriebacillen handelte.

Ergebnisse der 1. Agglutinationsreihe.

a) Was zunächst den homologen Agglutinationstiter anlangt, so bleibt dessen absoluter Wert bei M 1 (1:10000) nicht hinter den Resultaten der anderen Autoren (Schwoner und Przewoski) zurück, trotzdem nicht einmal der intravenöse Infektionsmodus gewählt worden war. Auch bei T 1, T 2 und M 2 besitzt er die befriedigende Höhe von 2560 bzw. 1280. Weniger gut ist der Wert des Serums H 1 von knapp 640, wahrscheinlich infolge der schnelleren und geringeren Präparierung dieses Tieres, das in $4\frac{1}{2}$ Wochen 7 Injektionen, die anderen in über 11 Wochen 10 Injektionen erhalten hatten. Freilich wiesen M 1 und T 1 nach 7 Injektionen bereits einen Titer von 1280 auf. Also ist wohl auch entweder die Antigenkraft des H 1-Stammes oder die Antikörperproduktivität des Kaninchens H 1 eine geringere; es ist ja offensichtlich, wie wenig das Kaninchen H 1 auf die Injektionen reagiert hatte: Bei T 1 nach der ersten Oese ein jäher Gewichtssturz von 160 g, bei H 1 ein Verlust von 10 g. Und auf die späteren Injektionen antwortete das Kaninchen H 1 höchstens mit Gewichtsstillstand, meist obendrein mit Zunahme.

b) Nichtsdestoweniger geht die geringe Verwandtschaft des H 1-Stammes mit den anderen untersuchten Diphtheriebacillen deutlich genug aus den Versuchen hervor; Das Serum H 1 agglutinierte alle anderen Stämme höchstens bis knapp 160, und die Bacillen H 1 werden von den hochwertigen Seris fast durchweg nur bis 1:40 agglutiniert, ein Wert, der innerhalb des Titers des Normalkaninchen-serums bleibt.

2. Agglutination von Diphtheriebacillen gesunder Tauben durch Kaninchensera M 1 und T 1.

Datum	Serum	Bacillen	Agglutination bei Verdünnung 1 zu								Kontrolle	
			20	40	80	160	320	640	1280	2560		
27. Okt.	M 1	T 1	.	+	+	+	+	+	+	+	+	—
28. "		" 2	.	+	+	+	+	+	(+)	—	—	—
30. "		" 3	+	+	+	+	+	+	+	—	.	—
30. "		" 4	+	+	+	+	+	+	—	—	.	—
31. "		" 5	+	+	+	+	+	+	(+)	—	.	—
5. Nov.		" 6	+	+	+	+	(+)	—	—	—	.	—
4. "		" 7	+	+	+	+	(+)	—	—	—	.	—
1. "		" 8	+	+	+	+	—	—	—	—	.	—
1. "		" 9	+	+	+	+	+	—	—	—	.	—
31. Okt.		" 10	+	+	+	+	+	—	—	—	.	—
31. "		" 11	+	+	+	+	—	—	—	—	.	—
31. "		" 12	+	+	+	(+)	—	—	—	—	.	—
4. Nov.		" 13	+	+	+	+	—	—	—	—	.	—
31. Okt.		" 14	+	+	+	—	—	—	—	—	.	—
4. Nov.		" 15	+	+	+	(+)	—	—	—	—	.	—
1. "		" 16	+	+	+	+	—	—	—	—	.	—
5. "		" 17	+	+	(+)	—	—	—	—	—	.	—
7. "		" 18	+	+	(+)	—	—	—	—	—	.	— ¹⁾
6. "		" 18	+	+	+	—	—	—	—	—	.	—
5. "		" 19	+	+	—	—	—	—	—	—	.	—
6. "	" 20	+	+	—	—	—	—	—	—	.	—	
29. Okt.	T 1	H 1	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
6. Nov.		" 2	+	+	+	—	—	—	—	—	.	—
6. "		" 3	+	+	—	—	—	—	—	—	.	—
27. Okt.		T 1	T 1	.	+	+	+	+	+	+	+	—
28. "		" 2	.	+	+	+	+	+	(+)	—	—	—
30. "		" 3	+	+	+	+	+	+	+	+	.	—
30. "		" 4	+	+	+	+	+	+	+	+	.	—
31. "		" 5	+	+	+	+	+	+	+	+	.	—
31. "		" 6	+	+	+	+	+	+	+	—	.	—
5. Nov.		" 7	+	+	+	+	+	+	(+)	—	.	—
4. "		" 8	+	+	+	+	+	+	(+)	—	.	—
1. "		" 9	+	+	+	+	+	+	—	—	.	—
31. Okt.		" 10	+	+	+	+	—	—	—	—	.	—
31. "		" 11	+	+	+	+	+	—	—	—	.	—
31. "		" 12	+	+	+	+	+	—	—	—	.	—
4. Nov.		" 13	+	+	+	+	—	—	—	—	.	—
31. Okt.		" 14	+	+	+	+	—	—	—	—	.	—
4. Nov.		" 15	+	+	+	—	—	—	—	—	.	—
1. "		" 16	+	+	(+)	—	—	—	—	—	.	—
5. "		" 17	+	+	(+)	—	—	—	—	—	.	—
1. "	" 18	+	(+)	—	—	—	—	—	—	.	— ¹⁾	
6. "	" 18	+	+	—	—	—	—	—	—	.	—	
5. "	" 19	+	+	—	—	—	—	—	—	.	—	
6. "	" 20	(+)	—	—	—	—	—	—	—	.	—	
29. Okt.	H 1	+	+	—	—	—	—	—	—	.	—	
6. Nov.	" 2	+	+	+	—	—	—	—	—	.	—	
6. "	" 3	+	—	—	—	—	—	—	—	.	—	

c) Demgegenüber stehen T 1, T 2 und die menschlichen Diphtheriebacillen als eine zusammengehörige Gruppe da. Zunächst ist die hohe Mitagglutination, die M 10 und M 80 durch die auf andere Menschenbacillen eingestellten Sera erfahren, bemerkenswert gegenüber den schlechten Ergebnissen Lipsteins in dieser Frage; die

1) Zu schwache Emulsion.

obigen Versuche treten durchaus für die Brauchbarkeit der serologischen Methode zur Agnoszierung verwandter Diphtheriebacillen ein. Ja es findet sich sogar die eigentümliche Tatsache, daß das Serum M 2 die Bacillen M 10 stärker agglutiniert als seinen homologen Stamm. Da das gleiche schon bei dem Serum vom 6. Okt. der Fall gewesen war, handelt es sich offenbar um nichts Zufälliges.

d) Daß zu der Gruppe der 4 Menschendiphtheriestämme auch T 1 und T 2 zu rechnen sind, geht klar hervor aus den wechselseitigen Agglutinationen der betreffenden Sera und Bakterien, die sämtlich den Wert von 640 erreichen und oft übersteigen. Daß die Bacillen T 2 durch die Sera vom 6. Okt. noch so schwach agglutiniert wurden, ist wohl durch die Entartung dieses Stammes zu erklären, der damals eben erst wieder anfang sich zu erholen. Sonst zeigt die Tabelle der Agglutinationen vom 6. Okt. einen sehr guten Parallelismus mit den Werten der Sera vom 27. Okt.

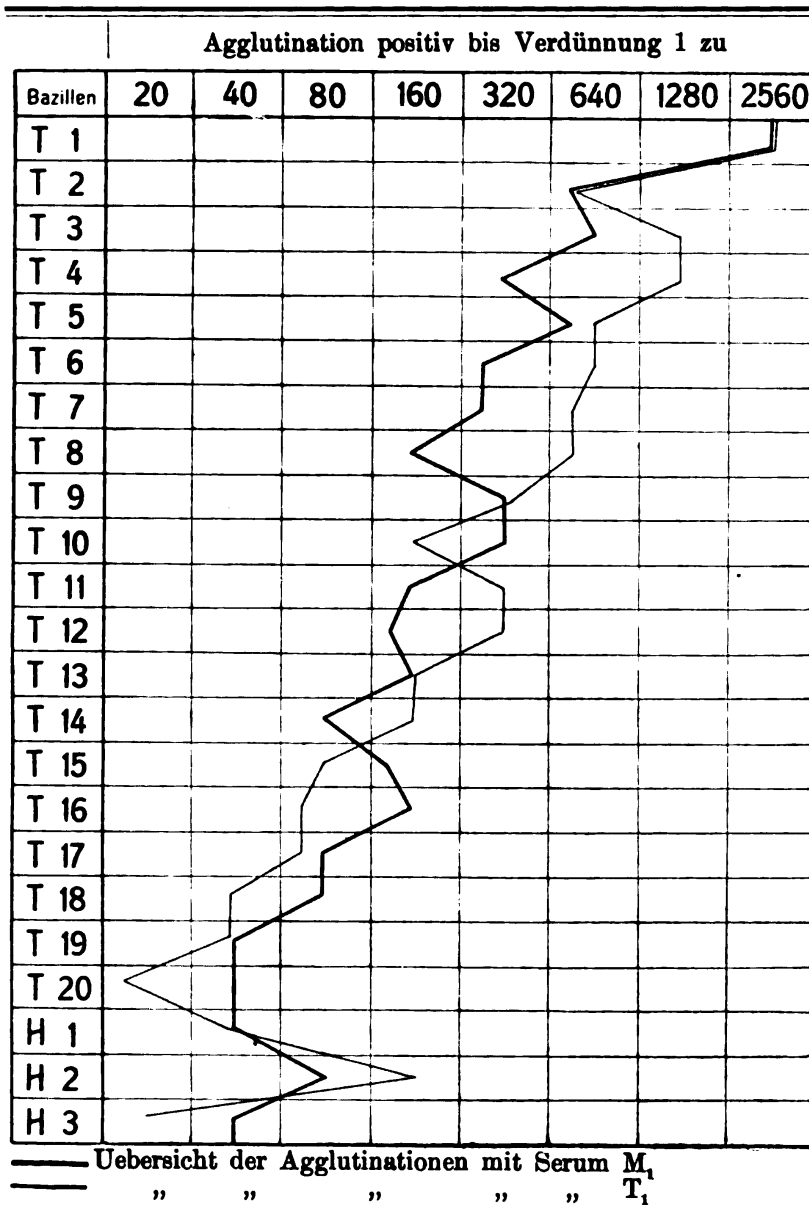
e) Bei den Agglutinationswerten des Normalkaninchenserums ist bemerkenswert, daß diese oft die relativ beträchtliche Höhe von 1:40 erreichten.

Schlüsse aus der 2. Gruppe der Agglutinationen.

a) Die stets parallel miteinander angesetzten beiden Sera hatten im allgemeinen eine ähnliche Wirkungsstärke auf denselben Bakterienstamm und differierten meist nur um einen Verdünnungsgrad. Welches von beiden Seris sich als das stärkere zeigte, war von Fall zu Fall verschieden; nur so viel ist wohl doch augenfällig, daß die höchsten Werte vorwiegend vom Serum T 1 erreicht wurden (2mal 1:1280 und 4mal 1:640), während das Serum M 1, obwohl sein homologer Titer noch 4mal so hoch lag, wie der von Serum T 1, nur 2mal bis 1:640 reichte. Dafür überwog die Wirkung des Serums M 1 die von T 1 in den mittleren und schwachen Verdünnungen. Daraus läßt sich herauslesen, daß in dem hochwertigeren Serum M 1 die allgemeinen Gruppenrezeptoren auch stärker vertreten waren, während die speziellen Partialrezeptoren von M 1 den Tierbakterien doch etwas weniger adäquat waren. Das Serum T 1 andererseits konnte mit seinen schwächeren Gruppenrezeptoren die Mehrzahl der Tierstämme nicht so stark agglutinieren, fand aber dafür einige Bakterien, besonders T 3 und T 4, die seinen Partialrezeptoren mehr adäquat waren als denen des Serums M 1. Denn wenn auch die absolute Differenz in der Wirkung beider Sera z. B. auf Bacillen T 3 nicht sehr groß war, so wird sie doch beträchtlicher, wenn man sich vergegenwärtigt, daß Serum T 1 diesen Stamm bis zur Hälfte seines homologen Titers (und vielleicht noch darüber hinaus) agglutinierte, Serum M 1 dagegen hier nur $\frac{1}{16}$ des homologen Wertes erreichte.

b) Was die Bakterienstämme anlangt, so zeigten sich in ihrer Agglutinierbarkeit alle Uebergänge von den besten Werten herab bis zu Zahlen, die innerhalb des Titers des Normalkaninchenserums lagen. Wohin die Grenze zwischen verwandten und nicht verwandten Stämmen zu legen ist, läßt sich schwer entscheiden. Die Stämme T 17, 18, 19, 20 und H 3 fielen ja unzweifelhaft, so wie H 1 ganz ab; doch auch die vorangehenden in der Reihe besaßen noch keine eindeutigen Agglutinationswerte. Freilich erreichten sie doch wenigstens

mit einem Serum den Wert von 160, den die Sera M 2 und T 1 in ihrer Wirkung auf Bacillen M 80 kaum zu überschreiten vermochten und den man darum allenfalls als Grenze festsetzen könnte; jedoch fließend ist sie sicherlich. Auch die Verschiedenheit des kulturellen Wachstums der Bakterienstämme schwankten ja, und die danach versuchten Gruppeneinteilungen ergaben fast bei jedem Nährboden eine



andere Formation; von diesen verlief keine der Skala der Agglutinationswerte parallel.

Die sogleich unten folgende Tabelle der letzten Agglutinationen lieferte noch eine Stütze dafür, daß Stämme, die in einem Punkte sich fern standen, in anderer Hinsicht nahe verwandt sein können.

3. Agglutinationen mit Taubenseris¹⁾.
Sera gesunder Bacillenträger.

Datum	Serum	Agglutination bei Verdünnung 1 zu								Kontrolle
		mit Bacillen	10	20	40	80	160	320	640	
7. Nov.	Taube 5	T 5	+	+	+	+	+	+	—	—
7. "	" 5	" 6	+	+	+	+	+	+	—	—
7. "	" 5	" 19	+	+	+	+	+	+	—	—
7. "	" 6	" 5	+	+	+	+	+	+	—	—
7. "	" 6	" 6	+	+	+	+	+	+	—	—
7. "	" 6	" 19	+	+	+	+	+	+	—	—

Sera injizierter Bacillenträger.

Datum	Serum	injiziert mit Bacillen	Agglutination bei Verdünnung 1 zu								Kontrolle
			mit Bacillen	10	20	40	80	160	320	640	
3. Nov.	Taube 3	T 3	T 3	+	+	+	+	+	—	—	—
4. "	" 15	" 15	" 15	+	+	+	+	+	+	—	—
4. "	" 10	M 1	M 1	+	+	+	+	(+)	—	—	—
9. "	" 10	" 1	T 10	+	+	+	+	+	(+)	((+))	((+))
9. "	" 10	" 1	" 4	+	+	+	+	+	+	—	—
4. "	" 13	" 2	M 2	+	+	+	+	+	—	—	—
3. "	" 4	T 1	T 1	+	+	+	+	+	+	—	—
9. "	" 4	" 1	" 10	+	+	+	+	+	+	+	—
9. "	" 4	" 1	" 4	+	+	+	+	+	+	+	—
3. "	" 17	H 1	H 1	+	+	+	+	+	(+)	—	—

(Vorerst soll nur noch kurz darauf hingewiesen werden, daß es allerdings auffällig ist, daß gerade den letzten Stämmen gegenüber die Agglutinationskraft der Sera vom 27. Okt. stark herabgesetzt war. Da jedoch Serum M 1 noch am 6. Nov. seinen höchsten Titer besaß und die Sera unverändert klar geblieben waren, sowie endlich in Anbetracht der Widerstandsfähigkeit aller Agglutinine ist ein Verderben der Sera während der kurzen Versuchszeit nicht anzunehmen.)

Folgerungen aus der 3. Serie von Agglutinationen:

a) Schon bei den gesunden Bacillenträgern zeigte sich ein nicht unbeträchtliches Agglutinin gegenüber ihren eigenen Bakterien, das den konstanten Betrag von 1:320 erreichte. Es folgt daraus, daß diese Diphtheriebacillen sich einmal für die Tauben als ziemlich different erwiesen und zur beträchtlichen Produktion von Antikörpern Anlaß gegeben haben.

b) Damit haben die Tauben aber einen gewissen Grad von Immunität erreicht und reagieren nicht mehr auf weitere Zufuhr desselben Antigens. Denn die einmalige Injektion der Bacillen aus dem Rachen in den Brustmuskel desselben Tieres vermochte keineswegs das Agglutinin über den obigen Durchschnittswert zu steigern, bei Taube 3 blieb es sogar trotzdem darunter.

1) Da der Hals der Tauben beim Durchtrennen noch vom desinfizierenden Alkohol benetzt war, wurden die Sera ein wenig durch Hämolyse gefärbt.

c) Bei den 4 mit den anderen Stämmen injizierten Tauben 10, 13, 4 und 17 erfolgte freilich die Agglutinierung der injizierten Bakterien ganz gut; dies brauchte aber nicht eine Folge der Impfung zu sein, sondern beruhte augenscheinlich auf der Verwandtschaft der injizierten mit den im Rachen der Tauben vegetierenden Stämmen. Dafür spricht die Tatsache, daß das Serum der Tauben 10 und 14 die injizierten Bacillen nicht einmal so stark agglutinierte wie die Stämme T 10 und T 4.

d) Endlich ergibt sich noch eine Folgerung aus den letzten Agglutinationen: Zunächst wurde die Verwandtschaft der Stämme 5 und 6 sowie 4 und 10 je miteinander, die schon die Versuche mit den Kaninchenseris dargetan hatten, bestätigt und für die Bakterien T 10 in höherem Grade belegt. Darüber hinaus wurden noch neue verwandtschaftliche Beziehungen dieser Tierbacillen aufgedeckt: Die Bakterien T 19, die von den Kaninchenseris nicht spezifisch beeinflußt wurden, wurden von den Seris der Tauben 5 und 6 ebenso gut wie die homologen Stämme agglutiniert. Es besitzen also die von den gesunden Tauben stammenden Bacillen noch mehr gemeinschaftliche Partialrezeptoren, d. h. noch andere Verwandtschaftsbeziehungen, als die beiden Agglutinationsreihen mit den heterologen Kaninchenseris aufzudecken vermochten.

Gesamtergebnisse.

1. Als Hauptresultat der obigen Ausführungen ergibt sich das Vorkommen zweifelloser Diphtheriebacillen beim Geflügel. Bei 2 diphtheriekranken und mehreren gesunden Tauben ließen sich Bacillen feststellen, deren engste Verwandtschaft bis zur Identität mit den Erregern der menschlichen Diphtherie bakteriologisch und serologisch dargelegt wurde. Daneben fanden sich bei anderen gesunden Tauben und bei 3 Hühnern ähnliche Bakterien, die bei der serologischen Untersuchung mehr oder minder fremd erschienen. Angesichts der beiden Extreme der Agglutinationsreihen möchte man sich fast versucht fühlen, von einem Typus humanus und einem Typus avinus zu sprechen; zumal die 3 Hühnerbakterien standen weit von den menschlichen Diphtheriebacillen ab. Aber diese Gegensätze waren doch keinesfalls scharf geschieden. Denn schließlich ließen sich alle Bakterienstämme in eine kontinuierliche Reihe bringen, in der die benachbarten Glieder einander ganz nahe standen; auch zeigten sich bei anderen Agglutinationen neue Identitätsbeziehungen; endlich waren die kulturellen Unterschiede sehr gering und durchaus nicht übereinstimmend. Aus alledem erscheint der Schluß gerechtfertigt, daß auch die entfernteren Stämme den menschlichen Bacillen letzten Endes verwandt sind. Vielleicht verändern die Bacillengenerationen bei längerem Leben in den Tieren allmählich einige Eigenschaften, aber die Uebergangsformen zeugen noch von dem genetischen Bande, das sich etappenweise von einem Stamm zum anderen bis zu den fernsten Abkömmlingen der Familie schlingt.

Wenn sich wohl auch nicht alle der gefundenen Tierbakterien zu für den Menschen pathogenen Parasiten entwickeln können, so ist dies

doch bei mehreren von ihnen auf Grund ihrer näheren Verwandtschaft mit den menschlichen Erregern wahrscheinlich. Dabei ist das anscheinend gar nicht so seltene Vorkommen der Diphtheriebacillen beim gesunden Geflügel für den Menschen vielleicht noch gefährlicher und wichtiger als ihr Auftreten bei kranken Vögeln.

Speziell in Hinblick auf die Sitte, sich von den Tauben Futter aus den Lippen picken zu lassen, muß nachdrücklich darauf hingewiesen werden, ein wie guter Nährboden augenscheinlich die Taubenschleimhaut für Diphtheriebacillen ist. Wenn nun solch eine Taube vielleicht erst vor kurzem von einem diphtheriekranken Menschen Bacillen erworben hat, so können diese in ihrem Rachen vorzüglich vegetieren und eine Zeitlang wohl neue Infektionen erzeugen; erst allmählich passen sie sich ihrem anderen Wirte an. Zumal auf dem Lande bei isolierten Gehöften u. dgl. könnte der Arzt demnach auch an diese Möglichkeit der Uebertragung denken.

2. Die pathogene Bedeutung der Diphtheriebacillen für das Geflügel selber ist durch mehrere Punkte gestützt:

Das ziemlich beträchtliche Agglutinin der zurzeit gesunden Bacillenträger zeugte von einer stärkeren Beeinflussung der Tiere durch die Mikroorganismen.

Die Impfung mit den Bacillen erwies ihre Fähigkeit, bei den Tauben Nekrosen zu erzeugen.

Drittens ist das Auftreten von Diphtheriebacillen zusammen mit schweren diphtherischen Krankheitserscheinungen sehr bemerkenswert und drängt dazu, beides in einen kausalen Zusammenhang zu bringen.

In welcher Art die Immunisierung der Bacillenträger früher erfolgt ist, läßt sich nicht mehr konstatieren. Vielleicht war es eine allmähliche, ohne akute Erscheinungen. Ebensogut ist es aber auch möglich, daß sämtliche affizierten Tauben in mehr oder minder früher Jugend eine Diphtherie mit stärkeren Krankheitsprozessen durchgemacht haben. Vielleicht nehmen diese bei den Tauben einen benigneren Verlauf. Doch ist diese Annahme gar nicht nötig; denn der Prozentsatz an Opfern, der bei den Menschen noch furchtbar genug ist, würde bei den Tieren nicht so sehr beachtet werden. Manche junge Taube geht vielleicht an unerkannter Diphtherie zugrunde. Und wenn bei vielen alten Tauben die Impfversuche mit Loeffler-Bacillen nichts ergeben, so kann es daran liegen, daß die betreffenden Tiere durch frühere Affektionen bereits immunisiert sind. (Jedenfalls sollte vor jedem Versuche bei Tauben mit Diphtheriebacillen ein Rachenabstrich von ihnen genommen werden.)

3. Endlich ist mit den obigen Versuchen noch ein Beweis für die gute und eindeutige Anwendbarkeit der Agglutinationsmethode auf Diphtheriebacillen erbracht. Wenn sich auch — im Gegensatz zu anderen Autoren — keine scharfe Grenze zwischen Agglutinierbarkeit und Nichtagglutinierbarkeit (d. h. keiner stärkeren

Agglutination als mit normalem Serum) feststellen ließ, so gaben eben gerade die zahlenmäßigen Abstufungen in der Agglutination ein anschauliches Bild davon, wie nahe oder fern die verschiedenen Bakterienstämme einander standen, wenn der Schluß von der biologischen Gemeinschaft auf einen genetischen Zusammenhang erlaubt ist. So wie die Versuche, „Pseudodiphtheriebacillen“ durch morphologische, kulturelle oder toxische Eigentümlichkeiten von „echten“ Diphtheriebacillen prinzipiell zu sondern, zu keinem Resultate führten, so fiel schließlich auch die Möglichkeit einer serologischen Unterscheidung zweier Arten dahin. Wohl aber ließ die Agglutination die Nähe der Verwandtschaft in vielen Fällen bis zu einem gewissen Grade bestimmen.

Zum Schlusse möchte ich mir erlauben, Herrn Geh. Rat Dr. Pfeiffer für die Anregung zu dieser Arbeit und für die freundliche Beratung und häufige Unterweisung dabei meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Babes, V., u. Puscariu, E., Untersuchungen über die Diphtherie der Tauben. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1890. p. 376.)
- 2) Bruno, J., Ueber Diphtherieagglutination und Seradiagnostik. (Berl. klin. Wochenschrift. 1898. p. 1127.)
- 3) Emmerich, La diphthérie de l'homme et du pigeon et sa cause dans les habitations. (Rev. d'Hyg. T. 6. 1884. p. 851.)
- 4) Gallez (fils), Recherches expérimentales sur l'origine aviaire de la diphtérie. (La Semaine méd. 1896. p. 136.)
- 5) Galli-Valerio, B., L'état actuel de la question sur l'identité de la diphtérie de l'homme et des oiseaux. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 22. 1897. p. 500.)
- 6) Guérin, C., La diphtérie aviaire. (Ann. de l'Institut. Pasteur. T. 15. 1901. p. 941.)
- 7) — Sur la non-identité de la diphtérie humaine et de la diphtérie aviaire. (Rec. de méd. vétér. 1903. p. 20.)
- 8) Harrison, F. C., Non identity of human and aviaire diphtheria. (Dominion Med. Monthly, Toronto. March 1903; zit. nach Baumgartens Jahresber. 1903; nach Streit (31) u. Hausser (9).)
- 9) Hausser, A., Bakteriologische Untersuchungen über Geflügeldiphtherie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909. p. 535.)
- 10) Kampmann, Hirschbruch u. Lange, Massenerkrankung bei Enten usw. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. p. 214.)
- 11) v. Krajewski, A., Ueber Diphtherie des Hausgeflügels. (Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 13. 1888. p. 311.)
- 12) Landsteiner, K., Ueber die Folgen der Einverleibung sterilisierter Bakterienkulturen. (Wien. klin. Wochenschr. 1897. p. 439.)
- 13) Lipstein, A., Ueber Immunisierung mit Diphtheriebacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1902. p. 821.)
- 14) — Idem. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 34. 1903. p. 421.)
- 15) Loeffler, F., Untersuchungen über die Diphtherie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalbe. (Mitt. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 2. 1884. p. 421.)
- 16) Loir, A., et Ducloux, E., Contribution à l'étude de la diphtérie aviaire en Tunisie. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 8. 1894. p. 599.)
- 17) Lubowski, R., Ueber die Agglutination der Diphtheriebacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900. p. 87.)
- 18) Macfadyen, A., and Hewlett, R., Diphtheria-like organism found in pigeon-canker. (The Lancet. 1899. Vol. 2. p. 1296.)
- 19) Maxutow, Wratsch. 1902. No. 12; zit. nach Baumgartens Jahresber. 1902 p. 237.
- 20) Müller, R., Zur Aetiologie der Geflügeldiphtherie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906. p. 423.)
- 21) Neisser u. Gins, Diphtherie. (Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. Bd. 5. 1913. p. 982.)
- 22) Nicolas, J., Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1896, 1897, 1898, 1900.

- 23) Nicolle, Ch., Recherches sur la substance agglutinée. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 12. 1898. p. 161.)
- 24) Piorkowski, Beitrag zur Frage der Identität der Vogeldiphtherie und der Menschendiphtherie. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1907. p. 212.)
- 25) v. Przewoski, W., Beitrag zur Kenntnis der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. p. 5.)
- 26) Rappin et Vanney, A., Sur l'identité des diphtéries aviaires et humaines. (Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. 70. 1911. p. 162.)
- 27) Ritter, J., Tierdiphtherie und ansteckende Halsbräune. (Allgem. med. Centralzeitung. 1895. p. 985.)
- 28) Schwoner, J., Ueber Differenzierung der Diphtheriebacillen von den Pseudodiphtheriebacillen durch Agglutination. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. p. 1274.)
- 29) Sharp, G., Contagious catarrh or roup in fowls and diphtheria in man. (The Lancet. Vol. 2. 1900. p. 18.)
- 30) Springer, Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels des Bacillus diphtheriae. (Arch. f. Hyg. Bd. 79. 1913. p. 25.)
- 31) Streit, Untersuchungen über die Geflügeldiphtherie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 46. 1904. p. 407.)

Nachdruck verboten.

Paratyphusbacillen ohne Gasbildungsvermögen.

[Aus dem pathologisch-bakteriologischen Institut der med. Akademie zu Osaka (Direktor: Prof. A. Sata, Abteilung für Bakteriologie; Leiter: Prof. Dr. Y. Fukuhara).]

Von Oberarzt Dr. **K. Ohno**.

Es ist bisher neben der Agglutination die Fähigkeit, Traubenzucker unter Gasbildung zu zersetzen, als ein Hauptmerkmal aufgezählt worden, die Paratyphus-Enteritisgruppe von der Typhus- und Ruhrgruppe zu unterscheiden. Seit einigen Jahren sind einige mit dieser Grundregel im Widerspruch stehende Arbeiten veröffentlicht worden.

Oette in Kiel teilte mit, daß er aus dem Stuhle eines Bauern, der eine abdominaltyphusartige Krankheit bekam, Paratyphusbakterien ohne Gasbildungsvermögen und dann aus dem Stuhle der Mutter des Patienten denselben Bacillus mit Gasbildungsvermögen isoliert hatte. Er meinte, daß dieser gaslose Paratyphusstamm vielleicht eine Zwischenstufe zwischen Typhus- und Paratyphusbakterien darstelle.

Im November 1912 isolierte Wagner aus dem Blute eines Patienten Typhus- und Paratyphusbakterien ohne Gasbildungsvermögen zu gleicher Zeit. Er ist der Ansicht, daß die gaslosen Stämme Mutationsformen regelrechter Typhus- oder Paratyphusbakterien seien.

Im März 1912 wurden im bakteriologischen Laboratorium des Garnisonhospitals zu Otsu durch Herrn Stabsarzt Takebe aus dem Stuhle eines an einer typhusähnlichen Krankheit Leidenden, namens Nakaoka, Paratyphusbakterien ohne Gasbildungsvermögen gefunden.

Im September und im Oktober 1913 konnte ich auch in demselben Laboratorium die Paratyphusbakterien ohne Gasbildungsvermögen im Urin, Kot und Blute von 13 Fällen der typhusähnlichen Krankheit nachweisen. Bei dieser Untersuchung hatte ich Endo-Agar verwendet. Nach 24 Stunden bildeten sich schleimige, schwachrote Kolonien, welche von Paratyphus B-Kolonien kaum zu unterscheiden waren. Die Bacillen wurden von verschiedenen Paratyphus B-Seris fast bis zum Endtiter agglutiniert, während ihre kulturellen Eigenschaften vom Paratyphus B-

1. Uebersichtstabelle der Untersuchungsergebnisse.

Name der Patienten		Ergebnis am Krankheitstage																				
		5	25	27	33	34	35	△ 40	△ 41	42	44	47	51	56	66	71	77	83	88	△ 93	△ 96	△ 99
I. Kawamura	Kot	5	25	27	33	34	35	△ 40	△ 41	42	44	47	51	56	66	71	77	83	88	△ 93	△ 96	△ 99
	Harn	△ 25	△ 29	△ 32	△ 33	△ 34	△ 35															
	Blut	△ 23																				
II. Tuda	Kot	5	8	△ 16	△ 17	△ 18	△ 23	△ 27														
	Harn	△ 8	△ 12	△ 15	△ 16	△ 17	△ 18															
	Blut	△ 6																				
III. Tamura	Kot	△ 3	5	△ 10	△ 11	△ 12	△ 13	△ 18														
	Harn	△ 3	7	△ 10	△ 11	△ 12	△ 13															
	Blut	△ 2																				
IV. J. Nakai	Kot	9	11	12	13	△ 18	20	△ 22	△ 25	△ 34	△ 39											
	Harn	△ 10	△ 11	△ 12	△ 13																	
	Blut	△ 10																				
V. Motomoti	Kot	5	6	8	△ 14	15	16	△ 21	△ 25	△ 28	△ 37	△ 38										
	Harn	△ 6	△ 13	△ 14	△ 15	△ 16	△ 17	△ 18														
	Blut	△ 5																				
VI. Fukutani	Kot	△ 8	9	10	14	15	16	△ 17	△ 21	23	25	32	△ 37	42	47	52	△ 58	63	△ 67	70	△ 76	△ 79
	Harn	△ 8	△ 13	△ 14	△ 16	△ 17	△ 18															
	Blut	△ 8																				
VII. Urayama	Kot	△ 5	8	13	14	15	20	22	△ 24	30	△ 41	△ 46	△ 51									
	Harn	△ 5	9	△ 12	△ 13	△ 14	△ 15															
	Blut	△ 4																				
VIII. Morii	Kot	△ 3	△ 4	6	7	11	△ 12	13	14	△ 19	△ 23	△ 30	△ 35	△ 40								
	Harn	△ 4	△ 11	△ 12	△ 13	△ 14																
	Blut	△ 5																				
IX. Kase	Kot	△ 2	4	5	6	9	△ 10	△ 11	△ 12	△ 17												
	Harn	△ 2	6	△ 9	△ 10	△ 11	△ 12															
	Blut	△ 3																				
X. R. Nakai	Kot	△ 6	8	10	12	15	19	△ 24	29	39	△ 45	△ 50	△ 55									
	Harn	△ 6																				
	Blut	△ 4																				

Das Zeichen △ bedeutet negativen Befund.

Digitized by Google

Heft 4.

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Name der Patienten		Ergebnis am Krankheitstage												
XI. Kobayashi	Kot	△ 4	6	8	△ 10	△ 13	17	△ 22	△ 27	△ 32				
	Harn	△ 4	△ 8											
XII. Iwashima	Kot	2	6	8	10	△ 13	17	22	△ 27	△ 32	△ 37			
	Harn	△ 6	△ 9											
XIII. Azuma	Kot	△ 4	5	6	△ 10	11	12	17	19	△ 24	△ 28	△ 33	△ 38	
	Harn	△ 4	6	△ 9	△ 10	△ 11	△ 12	△ 13	△ 14					
	Blut	3												
XIV. Kimura	Kot	1	△ 5	7	9	11	△ 14	△ 18	△ 23	△ 28				
	Harn	△ 8												

Bacillus verschieden waren, insbesondere zeigten sie keine Gasbildung auf Traubenzuckernährboden. Bei der Stuhluntersuchung mittels Endo-Platten bemerkte man, daß die Bacillen am Anfange der Krankheit mit anderen Darmbakterien vermischt, aber im Höhestadium der Krankheit fast in Reinkultur vorhanden waren, und mit der Besserung der Krankheit wieder durch die anderen Saprophyten überwuchert wurden. Während der damaligen Epidemie wurde ein Fall (Tabelle I, Patient XIV) beobachtet, bei dem sich nur die gasbildenden Paratyphusbacillen beständig im Kot nachweisen ließen.

Bei Züchtung aus dem Harne gewann man fast eine Reinkultur der gaslosen Bacillen.

Bei der Blutuntersuchung gelang es mir nur in einem Falle, die Bacillen nachzuweisen.

Von den 13 Patienten konnten bei 9 (69 Proz.) die Paratyphusbakterien ohne Gasbildungsvermögen im Stuhle schon innerhalb der 1. Woche, bei den anderen 4 (31 Proz.) erst innerhalb der 2. Woche der Erkrankung nachgewiesen werden.

Aus der Stuhlentleerung verschwanden die Bakterien bei 9 Fällen (69 Proz.) innerhalb 4 Wochen, bei den anderen 4 Fällen (31 Proz.) innerhalb 4 Wochen bis 3 Monaten nach der Erkrankung.

2. Uebersicht der üblichen Kulturuntersuchungen gasloser Stämme.

Gestalt	plumpere Stäbchen
Hängender Tropfen	sehr lebhaft beweglich
Gram	negativ
Gelatinestich	keine Verflüssigung
Bouillon	gleichmäßige Trübung
Peptonwasser	gleichmäßige Trübung
Indolbildung	negativ
Endo-Agar	sehr schwach rötlich, keine Gerinnung
Milch	langsame Aufhellung, Säurebildung
Barsiekow-Traubenzucker	schwache Gerinnung
Barsiekow-Milchzucker	unverändert
Lackmusmolke	anfangs rot, dann blau
Traubenzuckeragar	ohne Gasbildung
Milchzuckeragar	unverändert
Neutralrot-Traubenzuckeragar	ohne Gasbildung, ohne Entfärbung

Was den Nachweis der Bacillen im Harn betrifft, so konnte ich bei 4 (31 Proz.) unter 13 Fällen positiven Bacillenbefund erheben.

Bei der Blutuntersuchung konnte ich in 1 Falle bereits am 3. Tage der Erkrankung die Bakterien nachweisen.

3. Agglutininbindung.

	Typhusserum Kaninchen Titer 1:51200	Paratyphus A- Serum Kaninchen Titer 1:3200	Paratyphus B- Serum Kaninchen Titer 1:6400
I. gasloser Paratyphusbac. aus Kot	0	1:200	1:6400
II. dgl.	0	1:200	1:6400
III. "	0	1:200	1:6400
IV. "	0	0	1:6400
V. "	0	0	1:6400
VI. "	0	1:200	1:6400
VII. "	0	0	1:6400
VIII. "	0	0	1:6400
IX. "	0	0	1:6400
X. "	0	0	1:6400
XI. "	0	0	1:6400
XII. "	0	0	1:6400
XIII. "	0	100	1:6400
III. gasloser Paratyphusbac. aus Harn	0	0	1:6400
VII. dgl.	0	0	1:6400
IX. "	0	0	1:6400
XIII. "	0	0	1:6400
XIII. gasloser Paratyphusbac. aus Blut	0	0	1:6400
XIV. gasbildender Paratyphus- bacillus aus Kot	0	100	1:6400
Kontrolle Paratyphus B +	0	0	1:6400

Die angegebenen Zahlen zeigen, in welcher Höhe die Sera die Stämme deutlich agglutinierten. Die Resultate wurden nach 4-stündigem Aufenthalt im Brutofen mit bloßem Auge abgelesen. Das Zeichen 0 bedeutet, daß der betreffende Stamm von der Serumverdünnung 1:100 nicht agglutiniert wurde. Nach Wagner werden die Paratyphusbakterien ohne Gasbildungsvermögen in der Verdünnung 1:100—200 von Typhusblutserum agglutiniert. Meine 13 Stämme wurden aber vom Typhusserum nicht agglutiniert, während darunter 5 Stämme vom Paratyphus A-Serum in der Verdünnung über 1:100 agglutiniert wurden.

4. Widal-Reaktion mit Patientensera.

Serum des Patienten	Krank- heits- tag	Typhus- bacillus „Izumi“	Paratyphus- bacillus A „Kenku“	Paratyphus- bacillus B „Ito“	Gasloser Para- typhusstamm aus Kot von Kranken
I	11	80	0	640	
	26	80	0	320	
II	15	160	0	80	160
	28	160	0	640	640
III	3	320	80	160	320
	15	320	40	1280	1280
IV	11	0	0	320	320
	18	0	0	640	640
	24	0	0	640	640

19*

Serum des Patienten	Krankheits-tag	Typhus-bacillus „Izumi“	Paratyphus-bacillus A „Kenkiu“	Paratyphus-bacillus B „Ito	Gasloser Paratyphusstamm aus Kot von Kranken
V	5	0		0	
	18	0	0	640	320
	26	0	0	320	320
VI	9	320	0	320	
	18	320	40	1280	
	27	320	0	1280	1250
VII	5	0	0	0	
	17	0	0	640	640
	25	0	0	1280	1280
VIII	4	0	0	0	
	19	0	0	160	80
	25	0	0	160	160
IX	2	0	0	0	
	14	160	0	320	
X	10	40	0	80	80
	18	0	0	640	640
XI	8	0	0	320	320
	17	0	0	320	640
XII	9	0	0	640	640
	19	160	0	640	640
XIII	5	40	0	160	
	19	80	0	2560	2560
	23	40	0	2560	2560
XIV	9	0	0	640	640
	20	80	0	640	320

0 bedeutet, daß der Stamm in der Verdünnung 1:40 nicht reagierte.

Die Agglutininbindung und die Widal-Prüfung ergaben also, daß die von Kranken isolierten, gaslosen Bakterien serologisch den Paratyphusbacillen B entsprechen.

5. Die Bildung der Agglutinine.

	Kaninchenserum ¹⁾										
	100	200	400	800	1600	3200	6400	12 800	25 600	51 200	Kontrolle
I. Paratyphusbacillus aus Kot	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—
II. „ „	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	—	—	—
III. „ „	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	—	—
IV. „ „	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	—	—
VII. „ „	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	—	—
VIII. „ „	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	—	—
XII. „ „	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	—	—
XIII. „ „	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	—	—
XIV. „ „	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	—	—
Paratyphus B +	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	—	—
Paratyphus B (Makita)	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—	—
Typhus (Izumi)	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Typhus (Kenkiu)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

1) Das Serum wurde durch die Immunisierung mit dem gaslosen Stamm II hergestellt.

Zur Serumgewinnung wurden Kaninchen mit Kultur des Stammes II (Tsuda) geimpft, welche bei 65° C 1 Stunde erhitzt wurde. Das Immuns Serum agglutinierte die gaslosen Stämme und ebenso höher den gasbildenden Paratyphusstamm, während es die Paratyphus A und Typhusbacillen nicht beeinflusste.

6. Tierpathogenität der Bacillen.

	Gaslose Paratyphusbakterien aus Kot des Patienten II	Gaslose Paratyphusbakterien aus Kot des Patienten XII
Maus	$\frac{1}{100}$ Oese	$\frac{1}{60}$ Oese
Meerschweinchen	$\frac{1}{4}$ "	$\frac{1}{3}$ "
Kaninchen	1 "	1 "
Fütterprüfung (Maus)	überlebt	überlebt

Die gaslosen Stämme erwiesen sich also als pathogen für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen.

Die Fütterungsversuche hatten keinen Erfolg.

7. Die Bakterienträger.

Während dieser Epidemie wurde eine einmalige Kotuntersuchung bei 462 Soldaten angestellt und dabei nur ein gesunder Träger gefunden.

Zusammenfassung.

Es wurden von uns serologisch als Paratyphus B-Stämme zu betrachtende Bakterien ohne Gasbildungsvermögen gezüchtet. Es zeigte sich eine fast völlige Uebereinstimmung der Stämme mit den von Oette und Wagner mitgeteilten gaslosen Stämmen bezüglich der kulturellen Eigenschaften.

Außer durch die fehlende Gasbildung in traubenzuckerhaltigen Nährböden unterscheiden sich die von mir isolierten Stämme von regelrechten Paratyphus B-Bakterien durch die Unfähigkeit, Neutralrot zu entfärben. Während der Epidemie wurde nur ein Patient gefunden, bei dem ein gasbildender Paratyphus B-Stamm allein nachgewiesen wurde, gleichzeitig 12 Kranke, bei denen nur die gaslosen Stämme gezüchtet wurden. Wir wollen aber nicht so weit gehen, zu sagen, daß die gaslosen Stämme Mutationsformen regelrechter Paratyphusbakterien sind.

Nachdruck verboten.

Die Leishmaniose bei Menschen und Hunden. Studium des Krankheitsgebietes.

Von Dr. **Giuseppe Spagnolio**,

Privatdozent für innere Medizin an der Kgl. Universität zu Palermo.

Das Studium des Gebietes, in welchem sich die Leishmaniose beim Menschen oder beim Hunde entwickelt, steht in Beziehung zu den Fragen betreffs der Verbreitungsweise dieser Krankheit, und diese Verbreitungsweise bildet einen der interessantesten Punkte für diejenigen, welche sich mit dieser so wichtigen Frage beschäftigen.

Seitdem ich mich besonders dem Studium der Leishmaniose in unseren Gegenden widmete, habe ich eine Feststellung gemacht, die nicht nur mich, sondern alle überrascht hat, die in Palermo und Catania auf diesem Gebiete arbeiteten und noch arbeiten. Ich fand nämlich, daß die Leishmaniose auf dem flachen Lande verbreiteter ist als in den Städten, wo doch die Bevölkerungsdichtigkeit weit größer ist, und die Menschen mitunter wie in Ameisenhaufen zusammen wohnen. Erst nach dem Erdbeben haben wir angefangen, in der Stadt Messina einige Fälle zu bemerken. In diesem Jahre sind von den Herren Dr. Occhipinti, Rando und Giarratana 8 Fälle gemeldet worden, von denen 3 privatim beobachtet wurden, 3 in der Klinik an der Piazza Cairoli und weitere 2 an der Giostra. Also ist der Alarm, den wir schlugen, indem wir sagten, die unhygienische Umgebung der Baracke begünstige die Verbreitung dieser so gefährlichen Krankheit, nicht ganz unbegründet. Man bedenke nur, welch ungenügenden Schutz die Baracke gegen Einflüsse von außen bietet, und, was noch wichtiger ist, die Zusammenpferchung zu vieler Menschen in engen und wenig hygienischen Räumlichkeiten.

Aus der Anzahl der Fälle, die ich bis jetzt festgestellt habe, wird es mir klar, daß die Gefahr, die ich für die Stadt vorausgesagt habe, wirklich besteht, da die Fälle immer häufiger werden; den größten Eindruck hinterläßt jedoch stets die Tatsache, daß die Krankheit auf dem flachen Lande ausdauernd und vorherrschend ist. Giardini, S. Teresa, Nizza, Giampileri, S. Stefano, Pezzolo, Galati, Contesse, Zaffaria, Santo, Pistunina, Gazzi, Camaro, Bordonaro sind die Bezirke und Dörfer, in denen man fast jedes Jahr Krankheitsfälle konstatieren muß.

Als von Nicolle die Vermutung ausgesprochen wurde, daß zwischen der Leishmaniose des Menschen und der des Hundes eine Beziehung bestände, habe ich studieren wollen, wie die Umgebung bei den oben genannten Fällen beschaffen war, in wieviel Fällen sich ein Hund vorfand und in welchem gesundheitlichen Zustand dieser war.

In den von mir studierten Fällen habe ich nur in den Häusern weniger Familien Hunde vorgefunden, und diese schienen nach den klinischen Anzeichen gesund zu sein. Wenn man ferner in Betracht zieht, daß unter den an Leishmaniose erkrankten Kindern manche noch in recht zartem Alter stehen, in dem es sich um Säuglinge handelt, die Möglichkeit mit Hunden in Berührung zu kommen, eine recht geringe ist, so kann man nicht verstehen, warum man gerade den Hund als chronischen Träger der Krankheit anspricht und dem Hundefloh nachsagt, daß er die Leishmaniose vom Hund auf den Menschen und vom Menschen auf den Hund übertrage.

Ich möchte Bordonaro näher betrachten, da es das Zentrum des Studiums der Menschen- und Hundeleishmaniose und der einzige Ort ist, der an der Hand von Tatsachen die Grundlagen für eine Widerlegung geben kann.

Unter den 3 Fällen von Leishmaniose, die bei Kindern (2 sind noch am Leben, 1 ist schon geheilt) im Jahre 1912 beobachtet wurden, wurde nur in einem Falle ein Hund im Hause gefunden, der aber noch lebt und gesund ist; die Kinder wohnen übrigens in 3 weit voneinander entfernten Behausungen.

Basile hat in den letzten Monaten, von Januar bis April, in Bordonaro 5 infizierte Hunde gefunden. Bei 3 von ihnen konnte er mikroskopisch Leishmaniose nachweisen, bei den anderen beiden war dies nicht möglich, da sie bereits gestorben waren; da Basile aber feststellen konnte, daß sie mit einem Hunde zusammen gelebt hatten, bei dem er einen schweren Fall von Leishmaniose festgestellt hatte, so hielt er sich für berechtigt, aus dieser Tatsache zu folgern, daß sie an der gleichen Infektion gestorben waren.

Wenn man berücksichtigt, wie stark diese Hunde infiziert waren, so versteht man nicht, warum diese Hunde, die doch auf dem Lande zu vagabondieren pflegen, nicht andere angesteckt haben, da doch nach Basiles Ansicht die Leishmaniose so leicht übertragen wird. Wenn wirklich der Floh die Leishmaniose vom Hund auf den Menschen überträgt, so ist es wiederum verwunderlich, warum bei den Kindern der Familien, denen diese Hunde gehörten, keinerlei Ansteckung festgestellt wurde. Noch weniger klar aber ist es, warum in dem Bezirke Annunziata, wo Basile 1 an Leishmaniose schwer erkrankten Hund fand und 2 andere, die mutmaßlich an der gleichen Krankheit gestorben waren, unter den 30 Familien, die dort wohnen und Kinder haben, kein einziger Fall vom Erdbeben bis heute vorgekommen ist, wie die Kreisärzte, die sich dort gefolgt sind, versichern.

Wenn die Uebertragung vom Hund auf den Menschen so sicher wäre, wo fände man dann wohl ein besseres Experiment als das, welches die Natur in dem Bezirke Annunziata gemacht hat, der an Bordonaro grenzt?

Auf eine Tatsache möchte ich die Aufmerksamkeit des Lesers noch näher lenken.

Es ist bekannt, daß man den Nachweis des Einflusses, den der Frühling bei uns auf die menschliche Leishmaniose ausübt, Gabbi verdankt, und daß dieser Einfluß von Feletti, Jemma und einigen verdienten calabrischen Aerzten (La Cava) bestätigt und ferner nachgewiesen wurde durch die Untersuchungen über Kala-Azar in den Werken von U. Gabbi, P. Lombardo und G. Montoro, sowie neuerdings durch Pugliatti.

Diese Tatsache gibt einen der unwiderleglichsten Beweise gegen die Beziehung der Leishmaniose des Menschen zu der des Hundes und damit gegen den Floh als Ueberträger, da aus ihr erhellt, daß während der Zeit, wo der Floh am meisten sticht und außer den Hunden auch die im Frühjahr erkrankten Kinder zur Verfügung hat, die wenigsten Infektionen vorkommen. Dieses beweist die Tatsache, daß in den Monaten August, September, Oktober keine oder doch nur sehr wenige neue Fälle von Leishmaniose auftreten.

In der letzten Zeit ist die Behauptung aufgestellt worden, daß der Frühling auch auf die Leishmaniose des Hundes von Einfluß sei, und man glaubte, in der Identität des Einflusses der Jahreszeiten ein wichtiges Argument gefunden zu haben für den Ursprung der Leishmaniose beim Hunde und gegen die Widersprüche, welche diese Behauptung hervorrief.

Es wird gut sein, sich die neueren Forschungen über die spontane Hundeleishmaniose zu vergegenwärtigen in bezug auf die Jahreszeit, in welcher die Krankheit hervorgerufen wurde:

Nicolle fand in den Monaten März, April und Mai 1909 unter 222 untersuchten Hunden nur 4 infiziert (1,8 Proz.).

Die Brüder Sergent fanden in Algier von Juli bis Oktober 1910 unter 125 untersuchten 9 infizierte Hunde (7,2 Proz.), N. und W. Yakimoff fanden von Januar bis März 1911 in Tunis unter 299 Hunden 5 infizierte (1,6 Proz.).

Pulvirenti fand in den Monaten Februar, März und April 1910 unter 85 untersuchten Hunden keinen infizierten, von Dezember bis Januar 1911 nur 3 infizierte unter 285 untersuchten.

Cardamatis fand von Dezember bis Mai 1912 in Athen 6,69 Proz., in Piräus 8,8 Proz. und in der Provinz 0,6 Proz. (?) der Hunde infiziert.

Alvares und Pereira da Silva fanden in Lissabon 2,66 Proz. der Hunde infiziert; die Monate, in welchen diese festgestellt wurden, waren Februar, März, Mai, November und Dezember.

Chritien fand 7 infizierte Hunde unter 53 in den Monaten April und Mai 1910; unter 11 im September untersuchten war keiner infiziert.

Lignos hat in Hydra 16,66 Proz. der Hunde infiziert gefunden; die stärkste Infektion stellte er fest in den Sommermonaten: Juni (16 Hunde), Juli (8), August (10), September (7).

Gray untersuchte neuerdings die Hunde in Tunis in den Monaten Oktober bis Dezember und fand unter 127 nur 2 infiziert, d. i. 1,6 Proz. (wie Nicolle in den Frühjahrsmonaten).

Wenn ich mit wissenschaftlicher Strenge erwäge und zusammenfasse, was ich zu sammeln Gelegenheit hatte, so glaube ich, sagen zu können, daß sich im Augenblick noch kein abschließendes Urteil abgeben läßt, in welcher Jahreszeit die Hundeleishmaniose am häufigsten vorkommt. Zu diesem Zweck würde ein genaues Studium in allen vier Zeiten desselben Jahres und in derselben Gegend erforderlich sein.

In Tunis studierte und ließ Nicolle die leishmaniotische Infektion der Hunde im Winter und Frühjahr sowie im Sommer und Herbst studieren, jedoch in verschiedenen Jahren; Pulvirenti erforschte in Catania die Ansteckung im Winter und Frühling; ebenso hat Cardamatis seine Untersuchungen nur im Winter und Frühling ausgeführt; Chritien nur in den Frühlingsmonaten (April und Mai), weder im Winter noch im Sommer; die Brüder Sergent in Algier von Juli bis Oktober. Untersuchungen während des ganzen Jahres haben anscheinend nur Alvarez und Pereira und Lignos angestellt. Alvarez fand infizierte Hunde in den Monaten Februar, März, Mai, November und Dezember mit einem mittleren Prozentsatz von 2,66; Lignos dagegen fand, wie bereits gesagt, den größten Teil der infizierten Hunde in den Monaten Juni, Juli, August und September.

Da nun allein Alvarez und Lignos während des ganzen Jahres Versuche ausgeführt haben, ihre Resultate sich aber widersprechen

(Lignos fand die meisten infizierten Hunde in den Sommermonaten, Alvarez dagegen von Februar bis Mai sowie im November und Dezember), so glaube ich nicht, daß man endgültige Schlüsse ziehen und wie Basile annehmen kann, daß „die größere Häufigkeit infizierter Hunde in den Monaten Juni und Juli beweist, daß die Infektion dieser Tiere im allgemeinen im Frühjahr zu beginnen pflegt“.

Wenn aber selbst diese Behauptung anerkannt wird, so drängen sich uns doch folgende Fragen auf:

1) Wenn die Entstehung der Menschen- und Hundeleishmaniose in dieselbe Zeit fällt, wie ist es dann zu erklären, daß sich nicht auch die meisten Fälle der Leishmaniose des Menschen, gleich der des Hundes, im Sommer zeigen, da doch die Flöhe gerade in dieser Zeit am meisten stechen?

2) Wenn es als unwiderleglich gilt, daß die Menschenleishmaniose sich besonders häufig im Frühjahr zeigt, d. h. in den Monaten März, April und Mai, so ist es klar, daß die Inkubationszeit beim Menschen (60 Tage im Durchschnitt) in die Monate Januar, Februar und März fallen muß.

Bei den Hunden hingegen sind die Frühlingsmonate als die Entwicklungszeit anzusehen, und es wäre ein Irrtum, wollte man die beiden Perioden — die Entwicklungszeit der Leishmaniose des Hundes und die erste Krankheitsperiode des Menschen — identifizieren, wie es ein ebensolcher Irrtum wäre, zu behaupten, daß die beiden Leishmaniosen die „gleiche Häufigkeit im Frühjahr aufweisen“.

3) Wenn die Häufigkeit der menschlichen Leishmaniose im Frühjahr bewiesen ist, und wenn behauptet wird, daß die Flöhe die Ueberträger der Krankheit seien, so müßte man annehmen, daß die Flöhe im Januar, Februar und März, die demnach die Ansteckungsmonate wären, am meisten stechen, und das wäre doch absurd.

4) Wenn aber, wie Basile schreibt, die günstigste Temperatur für die Entwicklung der Leishmaniose beim Floh 22° beträgt (genau wie bei den Kulturen), so wäre die Zeit, in welcher der Floh sticht, der Winter, der dem Floh die ungünstigsten Lebensbedingungen bietet und auch für die Entwicklung der Leishmaniose am ungünstigsten ist!

5) Wenn ferner der Floh der Träger des Parasiten ist, und wenn im Sommer (Juni und Juli) die Hundeleishmaniose am häufigsten auftritt, so würde diese von der Menschenleishmaniose herrühren und nicht umgekehrt, denn während sich die Hundeleishmaniose im Frühjahr im Anfangsstadium befindet, ist die Menschenleishmaniose zu dieser Zeit in voller Entwicklung.

Außer diesen Tatsachen bietet das direkte Studium in den Familien noch folgende neue Argumente gegen die Nicollesche Hypothese:

1) In allen bisher untersuchten Fällen haben wir noch keinen klaren und genauen Beweis gefunden für eine direkte Uebertragung der bei den Kindern aufgetretenen Krankheit.

2) In allen bisher bei Erwachsenen nachgewiesenen Fällen fanden wir stets den Mann erkrankt, obwohl doch die Frau vielmehr die Trägerin von Flöhen ist und sie auch immer das erkrankte Kind auf dem Arm zu tragen pflegt.

3) In allen von uns beobachteten Fällen ist es uns nie gelungen, Kinder und Hunde gleichzeitig in einer Familie erkrankt zu finden.

4) In Familien, in denen mehrere Kinder waren, fanden wir niemals gleichzeitig zwei kranke Kinder. In den Familien, in denen mehr als

ein Fall vorkam, zeigte sich der zweite erst 1 oder 2 Jahre nach dem Tode des ersten.

Wenn der Floh der Träger des Parasiten wäre, welche Umgebung wäre für die Uebertragung wohl geeigneter als die gleiche Familie? Warum zeigt sich das nicht, wenn die Kinder in demselben Bett schlafen und stets in demselben Zimmer leben?

Für den Gegenbeweis ist es auch wichtig, sich des Versuches zu erinnern, den Gabbi im „Sanatorium für Malariakranke“ in Camaro ausführen ließ, wo 4 leishmaniotische Kinder 60 Tage in ständiger Berührung waren mit nicht an Malaria erkrankten oder davon geheilten gleichaltrigen Kindern. Und das darf nicht unbemerkt gelassen werden, besonders da der Parasit in peripherischen Blute auch in Italien von Cannata festgestellt wurde, der in 7 von 8 geprüften Fällen den Parasiten in peripherischen Blute gefunden hat.

5) In einigen Gegenden und Dörfern (Siderno Marina, etc.) taucht die Erkrankung der Kinder sprungweise auf mit Unterbrechungen von Jahren zwischen den einzelnen Fällen.

6) In der Zwischenzeit sind infizierte oder unter Zeichen von Leishmaniose gestorbene Hunde nicht gemeldet worden.

Wenn nun die Umgebung von dem an Leishmaniose verstorbenen Kinde oder Hunde infiziert wurde, so müßte in den Familien dem einen Fall doch ein anderer unter Kindern oder Hunden folgen.

7) Wenn die Krankheit durch den Floh von Hund auf Hund übertragen würde, so müßte sie verbreiteter sein und es müßten sich im August und September zahlreichere abmagernde und zitternde Hunde finden, was aber nicht der Fall ist.

8) Es ist auch wichtig, festzustellen, daß die beobachteten Fälle bei Hunden oder Kindern sich nie in demselben Jahr und in der gleichen Familie, ja nicht einmal dicht beieinander gezeigt haben; Bordonaro, Galati, Camaro, Cataratti, Mili, Contesse, Gazzi sind Plätze, die dies deutlich beweisen.

Bei uns in der Stadt sind die Fälle in Stadtteilen angetroffen worden, die immer weit voneinander entfernt lagen.

Das Studium über die Entstehung des Kala-azar beim Hunde in den Krankheitsgebieten (Stadt, Dörfer, Stadtkreise, Häuser, Familien) zeigt also ganz klar, daß man der Hypothese Nicolles nicht beistimmen kann und es nicht als feststehend betrachtet werden darf, daß *Pulex irritans* und *seraticeps* die Krankheitsüberträger sein können.

Dieser Hypothese widerspricht nicht nur der von Gabbi im „Sanatorium für Malariakranke“ ausgeführte Versuch und die Tierexperimente von Massaglia und Marshall, sondern auch das gesamte Studium des Krankheitsgebietes.

Nicolle vergaß, Studien zu machen, bevor er eine Hypothese aufstellte, die das gleiche Schicksal haben wird, wie seine über Kala-azar der Mittelmeerländer; auf Grund deren er unvorsichtigerweise und ohne vorhergehendes, eingehendes Studium behauptet, daß derselbe Kala-azar, den er heute als identisch mit dem indianischen bezeichnet, als Kala-azar der Mittelmeerländer eine Sache für sich sei.

Nachdruck verboten.

On the Life-History and Morphology of *Clonorchis sinensis*.

[Aus dem Kaiserl. Institut für Infektionskrankheiten in Tokio
(Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato).]

By **Harujiro Kobayashi.**

With 4 plates.

Contents.

	page
I. Introduction	299
II. Experiments on the Source of the Liver Distome	300
III. Structure of the Larva encysting in the Fish	300
IV. Development of the young Distome in the final Host	302
V. Structure of the sexually mature Distome	308
VI. The first intermediate Host	314
VII. Geographical Distribution of Distome with special Reference to endemic Liver-Distomiasis in Japan	314
VIII. Specific Identification of <i>Clonorchis</i>	315
IX. Summary	316

I. Introduction.

Since the discovery of the liver Distome, *Clonorchis sinensis* (Cobb.), in Japan, several investigators, such as Baelz, Ijima, Leuckart, Inouye, Katsurada have made quite extensive studies regarding its morphological as well as pathognomical features. Their efforts to clear its life-history, however, have so far been futile. Engaging in the study of the liver distome for several years the author was rewarded with the discovery of the intermediate host of the parasite. The main result was published in the form of a short note in May of 1911. The present paper embodies detailed description of the results obtained. It may be admitted, that gaps still remain in the life-cycle of the liver distome that will be filled by future investigation.

II. Experiments on the Source of the Liver-Distome.

Two hypotheses have hitherto been proposed regarding the source of the liver-distome in Japan: viz. (1) the water theory, and (2) the fish-mollusk-theory. The former ascribes the cause to unhealthy water due to insufficient drainage of the region, where liver distomiasis prevails endemically, e. g., Okayama prefecture, and is held mostly by medical authors, while the latter has been advocated by the natives of Miyagi prefecture.

While engaging in the study on the trematodes parasitic in the fresh water mollusks, fish and others, I was fortunate enough to find out not only many species of cercariae and young encysted distomes from numerous localities in Japan, but also the fact that the geographical distribution of one kind of young distomes encysted in the muscle of some fresh water fish coincide exacty with that of human distomiasis, and moreover that they strikingly resemble the liver distome in Japan. The flesh containing the young distomes was therefore, given to thirty cats, one dog, twenty rabbits, fourty guinea-pigs and fifty rats. In the case of cats and dogs especial precaution was taken to submit them to repeated examinations of their faeces to exclude the possibility of previous in-

fection. Within several days in all these subjects employed in my experiments were found typical *Clonorchis sinensis*. I arrived, therefore, at the conclusion that the encysted distome is a young stage of the human liver distome.

Further study has revealed that following fishes are found to be infested with the young *Clonorchis sinensis*:

Pseudorasbora parva (Schlegel),
Leucogobio güntheri Ishikawa,
L. mayedae Jordan et Snyder,
Sarcocheilichthys variegatus (Schlegel),
Pseudoperilampus typus Bleeker,
Paracheilognathus rhombeum (Schlegel),
Acheilognathus lanceolatum (Schlegel),
A. limbatum (Schlegel),
A. cyanostigma Jordan et Fowler,
Abbottina psegma Jordan et Fowler,
Bivia zezera Ishikawa,
Carassius auratus (Linnaeus).

Pseudorasbora parva and *Leucogobio güntheri* are infested most numerous, especially so in the former. It is not seldom that the number of the larvae found in a single specimen of *P. parva* may be several hundreds. In the liver of a cat, to which six *P. parva* were given, were found three thousands of distomes! In other kinds of fishes only a small number of the larvae is found. *Carassius auratus* has very seldom the larvae of liver distome.

III. Structure of the Larva encysting in the Fish.

Distribution of cysts in the host. — The encysted distomes are present abundantly both in the subcutaneous tissue and in the muscle of the host. They are more numerous in the superficial part than in the deeper. The myocommata have nothing to do with their distribution in the muscle.

Cysts. — The wall of the cyst consists of a hyaline structureless membrane, and despite its thinness it seems to have great impermeability against various fluids. Either paraffin or celloidin can hardly penetrate through it. It is, therefore, a most difficult task to make good sections. Cells of the host form a membrane-like wall encircling the cyst. The cyst (fig. 8) is elliptical in shape and in the largest specimen it measures 0.135—0.145 mm \times 0.09—0.1 mm. Young ones (figs. 4—5) are considerably smaller — not larger than 0.07—0.12 mm in length and 0.035—0.07 mm in breadth. The long axis of the cyst, when embedded in the muscle, lies parallel to that of the muscle fibres. Under the scales they are somewhat compressed and discoidal in shape.

The structure (figs. 1 and 2). — The most advanced of the encysted distome has an elongated and flattened shape rounded anteriorly, and slightly tapering posteriorly. The size of a fresh specimen measures 0.4—0.5 mm in length and 0.08—0.09 mm in breadth; while in total preparation fixed with sublimate, it is 0.18—0.2 mm in length and 0.08—0.1 mm in breadth. It is yellowish owing to a peculiar pigment scattered all over the body. The eye-spots are not seen in the larger encysted specimen. The oral and ventral sucker are visible, the latter usually being equal in its diameter or slightly larger (0.04—0.05 mm) than the former (0.04—0.045 mm)¹). The size of the suckers seems

1) Measurements taken from living specimens.

to depend partly upon the degree of contraction of the body. The oral sucker lies at the anterior end on the ventral side and the ventral one is situated at a level one third from the posterior end. The skin, „cuticle“, is armed with fine spines. Between the oral sucker and the pharynx (0.025 mm in diameter) is a short canal, which may be called prepharynx. The oesophagus is larger than the prepharynx. At a level one third from the anterior end of the body, the former bifurcates into two intestinal rami, which run posteriorly along the lateral margins of the body and terminate near its end. The excretory vesicle presents itself most conspicuously in a fresh specimen, containing highly refractile granules in its lumen. The organ is pyriform expanding anteriorly. The anterior end barely reaches the ventral sucker; posteriorly it gradually diminishes in breadth and opens at the posterior end of the body. From its anterior corner two canals are giving off laterally and run towards the anterior end. After passing along the outer side of the intestinal rami, they take an undulating course until they reach the vicinity of the pharynx. The genital organs lie between the anterior border of the excretory vesicle and the postero-dorsal margin of the ventral sucker. They consist of three genital glands, one median ovary and two lateral testes; all of them lie almost at the same level. Sometimes the ovary is situated slightly anterior to the testes, which are invariably at the same level. Each gland consists of round cell mass measuring 0.034—0.06 mm in diameter. Anterior to the ovary and the testes are two rounded cell masses, which seem to constitute the „Anlagen“ of the vitellaria. Both female and male ducts are simple canals, which are united with each other at the anterior edge of the ventral sucker.

The distome in the cyst (figs. 6—8) is bent upon itself and occasionally it rotates in the lumen of the cyst. When taken out of the cyst, it creeps about leech-like, slowly at the room temperature and more lively at a higher.

The young specimen of the encysted distomes (fig. 3) can be distinguished from the full grown one not only by its smaller size, but also by two eye-spots, black irregular masses at the postero-lateral side of the oral sucker. At this stage the ventral sucker makes its appearance, though not so distinct as in more advanced stages. The „Anlage“ of the gonad is represented by a cell mass at the postero-dorsal side of the ventral sucker, still undifferentiated into the testes and the ovary. The excretory vesicles does not yet have refractile granules. The body is straight or slightly curved, but not doubled in its cyst. (figs. 3—5). As the distome grows faster than the cyst, the former has necessarily to fold upon itself (figs. 6—8).

The cyst in fish can be found throughout the year, though the younger ones are met with most abundantly in the months of August, September and October.

Experiments on the tenacity of life of the larvae. — As above mentioned, the wall of the cyst is not thick, yet it resists against various external conditions. To test this I made some experiments on the cat and the rabbit trying Japanese method of eating fish one after another. It should be mentioned that the fish employed for the following experiments were examined beforehand microscopically and the presence of the parasites was ascertained.

Experiment I. Several of *Pseudoperilampus typus* and *Pseudorasbora parva* were roasted over live charcoal and were given to

three cats. After 4, 10, and 78 days the cats were dissected but none had the parasites.

Experiment II. Six of *Pseudorasbora parva* after cooking in boiling water for 15 minutes, were given to two cats, that were dissected after 12 and 47 days. One cat had no distomes at all while the other had one¹).

Experiment III. Six *Pseudorasbora parva*, after boiling in the water of 100° C for 15 minutes were given to a cat and as many to a rabbit. Both were dissected after 80 days and no distomes were found in them.

Experiment IV. Two *Pseudorasbora parva* were cooked in the water of 70° C and 50° C for 15 minutes, and were given to two cats. They were dissected after 23 and 19 days respectively. A number of distomes were found in them.

The fishes which were employed in above four experiments, were roasted or boiled as a whole.

Experiment V. Three *Pseudorasbora parva*, that had been cut up into several pieces and soaked in vinegar for 15 minutes, were given to a cat. After an elapse of 17 days numerous distomes were found in the animal.

Experiment VI. In the muscular tissue of the fish soaked for 5 hours in vinegar larvae were alive and found moving.

Experiment VII. Three *Pseudorasbora parva* were cut up into pieces and were soaked in soya-sauce for 15 minutes, and were given to a cat. The result was the same as Experiment V.

Experiment VIII. The encysted larvae in the muscle of the fish soaked for 5 hours in soya-sauce did not move, but when the soya-sauce was replaced with tap water the larvae began to move even after 12 hours.

From these experiments it may be concluded that the larvae are killed by heat (100° C or approximately so), while they retain their vitality at lower temperature, at least 15 minutes and in vinegar and soya-sauce as long as 5 hours. It may be added that the larvae live at least for several days in the fish kept in the refrigerator. If the fish is kept at room temperature, they soon die as their host putrefies.

IV. Development of the Young Distome in the Final Host.

The route by which the parasite enters the host. — In order to ascertain the route of entering of the parasite into the host, the cats were fed with the fish meat containing encysted distomes and were dissected at various intervals. Three hours after taking in of the cysts some of them were found to be empty in half digested food mass. The liberated distomes were creeping about very actively with the aid of both suckers. In two cats dissected after fifteen and twenty-four hours respectively free distomes were found both in the gall bladder and in the bile duct. It is quite natural to infer that after they reach this part they go into the hepatic duct and in it they cease to travel and grow.

The cyst remains for some time undissolved after the occupant is out. And it is very probable that the distome comes out bursting the wall of the cyst by its own exertion not through the action of the

1) It is evident that one fish employed for this experiment contained hundreds of larvae.

digestive fluids of the stomach or the intestine of the host. In this connection it is interesting, to note the following instance. The crushed meat of the fish containing the cysts was soaked in the water for several hours; many cysts were isolated from the muscle fibres and a day or two later all of the distomes were out of the cyst and found dead.

The rate of the growth (figs. 14—21). — The rate of growth depends upon the nourishment and the number of parasites in one host; when numerous distomes come into a small animal, they grow slower than few in the animal of the same size or in a larger one. The following measurements were taken from the medium sized specimens parasitic in the guinea-pig and the rat: —

Age of distomes:		2 days	3 days	4 days	5 days	7 days
I.	length	mm 0.27—0.36	mm 0.3—0.4	mm 0.5—0.6	mm 0.57—0.72	mm 1.1—1.2
II.	breadth	0.068—0.081	0.071—0.1	0.1—0.12	0.14—0.16	0.2—0.26
III.	distance between the anterior end of the body and the anterior margin of the ventral sucker	0.135—0.2	0.18	0.25	0.28	0.3
IV.	I:III	100:53	100:51	100:45	100:38	100:26

Until the end of the seventh day the parasite grows equally both in the guinea-pig and in the rat. After that period the growth of the distome in the rat is remarkably retarded as compared with that in the guinea-pig, the cat, and the rabbit, — in the latter three hosts the growth goes on at the approximately same pace. The following measurements were taken from the distomes in the guinea-pig, the cat and the rabbit: —

Age of distomes:		10 days	16 days	19 days	26 days
I.	length	mm 1.5—2.0	mm 3.2—4.0	mm 4.5—5.0	mm 6.5—7.5
II.	breadth	0.3—0.4	0.56—0.6	1.0—1.2	1.5—2.0
III.	distance of the anterior end of the body and the anterior margin of the ventral sucker	0.5—0.6	0.8—0.9	1.1—1.5	1.6—1.8
IV.	I:III	100:31	100:24	100:28	100:24

In twenty six days (sometimes earlier) after infection the parasites attain maturity and the eggs are found in the faeces of the host.

From preceding two tables it will be seen that the posterior part of the worm grows more rapidly than the anterior. This, I think, is due to the rapid development of the genital organs. And it may also be added that irregular contraction of the body, especially of its anterior portion, may be the cause of disordant diminution of figures of IV with the age.

There are considerable individual differences in size among the worms of the same age. The following table will show this: —

Eight distomes, seven days old, host being rat.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
length	1.1 mm	1.1 mm	1.08 mm	1.16 mm	1.7 mm	1.28 mm	1.06 mm	1.26 mm
breadth	0.24 „	0.2 „	0.22 „	0.26 „	0.26 „	0.24 „	0.26 „	0.3 „

Five distomes, 7 days old, host, being guinea-pig.

	I	II	III	IV	V
length	1.66 mm	1.1 mm	0.98 mm	1.06 mm	1.2 mm
breadth	0.18 „	0.16 „	0.18 „	0.2 „	0.22 „

Suckers. — In the adult distome the oral sucker is larger than the ventral, while the size relation is reversed in younger ones encysting in fish. As soon as the larvae enter the final host, their oral sucker begins to grow more rapidly than the ventral, thus gradually the definite size relation of the suckers is established. The average diameter of the suckers in the younger stages is indicated in the following table: —

Age	2 days	3 days	4 days	5 days	7 days	10 days	16 days
oral sucker	mm 0.16—0.18	mm 0.18—0.22	mm 0.22	mm 0.26—0.28	mm 0.36—0.4	mm 0.4—0.5	mm 0.7—0.8
ventral sucker	0.18—0.2	0.2—0.24	0.24	0.26—0.28	0.38—0.4	0.32—0.4	0.6—0.7

From the above table it will be seen that the ventral sucker exceeds the oral in size up to the fourth day. From the fifth to the seventh day both are equal in size and from the tenth day on the oral sucker becomes larger than the ventral, as in sexually mature individuals.

Skin "cuticla". — It has been believed that the liver distome has no spines in its skin. Ijima (1886), however, discovered that the fine spines were present in the skin of the worms, which were parasitic in a cat found in the Okayama prefecture and closely resembled the human liver distome. Looss, referring to his discovery, says: "If one considers, moreover, their small size (these in my possession do not exceed 4.5 mm in length and 0.9 mm in breadth, but are as it is seen not yet quite full grown) the presence of the fine spine in their skin as reported by Ijima, there is no doubt left that they can not be *Cl. endemicus*". He thinks that the form with spines in the skin is not identical with the human liver distome but a distinct species closely allied to it. My observations on the young liver distomes leave no doubt that their skin is provided with the spines. The spines, which have been found in the encysted larvae, grow larger in the final host (figs. 22—24). With the growth of the distome each spine not only increases in size but at the same time it becomes very conspicuous. They are distributed more densely in the anterior portion than in the posterior; for the anterior portion grows more slowly than the posterior at this period. Up to a certain period increase in size of the spine goes on with the growth of the body. The spine lies embedded in the skin when young (figs. 22, 23), but gradually it pushes out of the skin (fig. 24). In the full grown specimen no spines are present (fig. 25). The oldest ones in my possession that retain the spines, are those that were obtained from a cat killed on the twenty-third days after the cysts were given (fig. 24). The spines in these cases were seen most distinctly at the level of the pharynx and the oesophagus; towards the anterior end they

gradually diminished in size; posterior to the ventral sucker no spines were found. The spines take the shape of a flattened needle, 0.005 mm in length, and their tips point posteriorly. They are irregularly scattered over the body. The spine is stained deeply by eosin; as it dissolved away with the skin in water, it can only be seen in the specimens that were fixed immediately after taken out of the host. I have been unable to find out the cause of the disappearance of the spine in the full grown specimen. It may be suggested that they are rubbed off, when the parasites move about in the narrow hepatic duct, as in the later stages the spines protrude through the skin. I observed in 45 days old distomes in a rat that they do not have any spines despite their immature appearance — their small size and their uterus partly filled with eggs.

Excretory vesicle. — In the encysted larvae the excretory vesicle is ovoid or pyriform (figs. 1, 2). In it are found some granules suspending in the lumen. Two or three days after the larvae enter the final host, the granules disappear and the vesicle is filled with clear fluid. *Pari passu* with the growth of the posterior portion the vesicle elongates and becomes tubular stretching along the median line (figs. 15—17); its anterior end reaching the posterior margin of the ovary. In a more advanced distome both testes are left behind by the rapid growing of the excretory vesicle, which elongates between the testes. The right testis lies posterior to the left. Then the vesicle or unpaired part of the excretory vessels bent at the two places where the testes are situated taking a sigmoidal course (figs. 18—21).

Genital organ. — In the larval stages, both the testes and the ovary lie in the dorso-posterior portion of the ventral sucker. As soon as the larvae enter the final host, gonads begin to take the definite position as stated in the previous section. On the fifth day, both the testes begin to send out lobes (fig. 18). On the seventh day their lobulated form becomes more pronounced as is seen in the adult one (figs. 12, 19). As the excretory vessel becomes to take more tortuous course, both testes occupy the median position, instead of lying side by side as in the larval stages, i. e., the anterior testis (originally the left one) to the left side of the excretory vessel, while the posterior one (originally the right one) to the right.

The ovary assumes its characteristic lobate form in 5 days, and its final shape in 7 days in the final host. In young stages, I could not detect the "Anlage" of the receptaculum seminis. Between the 7th and 10th day a small sac appears on the posterior right side of the ovary, which later becomes the receptaculum seminis. The uterus in the larva is nothing but a straight duct connecting the ovary and the genital opening (the opening at this period does not yet make its appearance). With the development of its neighbouring region it elongates and on the seventh day its lateral loops can be seen (fig. 12). The egg-formation begins between the twelfth and fifteenth day; during this period the outline of the testes and ovary becomes more definite. The vitellaria can hardly be recognizable until the sixteenth day. Between the twentieth and twenty-third day the uterus is filled with eggs. On the 26th day the eggs are clearly detected in the faeces of the host. From this we can infer an approximate time of liberation of the eggs. From what has been said it may be concluded that the specific characters of the various organs of this distome can be recognized as early as the 7th day. Only later (in 12 days or more) these organs become functional.

Eggs produced by young individuals. — Similar to other distomes, the eggs of the liver distome produced at an early stage are usually imperfect. These imperfect eggs may be easily detected in the anterior end of the posterior half of the uterus of the young specimen¹). Since the eggs are gradually pushed forwards, those lying anteriorly are naturally the ones first produced. In general, those imperfect eggs bear a close resemblance to the normal eggs under the process of formation (figs. 9, 10). Nakayama (1912) has made a detailed observation on the very fact both in the liver distome and the lung distome. Some of imperfect eggs have the normal shape, but are smaller (0.016 mm × 0.008 mm) than ordinary eggs. It has a slit at the posterior end and in its vicinity the wall thickens; granular shell material is aggregated close to the slit (fig. 9a); while in others both the slit and the aggregation of the granules are wanting (fig. 9b) and the lid is replaced by a thin wall. Still another kind of imperfect eggs measuring 0.015 mm × 0.008 mm contains each only a single ovum and the lid is readily recognized (fig. 10c). At the posterior end of some eggs, the shell thickens a little and is provided with a process whose tip is either rounded or bifurcated (figs. 10d and e), while the remaining portion of the wall is thin and the lid can not be detected at the anterior end: the contents of these eggs are either an ovum or several yolk cells.

Intermingling with imperfect eggs, just described are seen floating in the uterus very often some granules made of the shell material (fig. 9f), which bear resemblance both in appearance and in staining property to those which aggregate in the vicinity of the posterior wall of the imperfect eggs. Sometimes several of these granules collect together and fuse into a compact mass. Several yolk cells sometimes form the nucleus of this agglomeration, giving an appearance of initial stage of the egg formation — which process is ordinarily observed in the ootyp or its vicinity. There are still other cases in which the egg is quite normal excepting that the yolk cells have a number of shell granules in them and the shell granules lie freely in the shell cavity (fig. 10).

It should be noted that in these imperfect eggs the shell is stained by eosin. The shell material of a fully grown specimen also takes an eosin stain, when it is in the yolk cells or free in the initial portion of the uterus (in senescent individuals as will be mentioned later the material refused to be stained by eosin). The shell wall is stained by eosin, in the eggs formed later. While in the eggs packed in the anterior loops of the uterus loses its staining property towards eosin, only retaining their own color of a brown yellow.

In the younger specimens, collected from a guinea-pig on the 12th day after infection, the ova and the yolk cells still containing shell material (measuring 0.001 to 0.005 mm), are found in the posterior portion of the uterus without being endowed by the shell. No shell granules liberated from the yolk cells are to be seen. The Mehlis's gland is represented as a compact mass of about three cell-layers thick, surrounding the ootyp.

Abnormal cases such as above described are all due, I think, to disharmony between the formation of the ova and the yolk cells, and the liberation of the shell material from yolk cells; the delay of the

1) The anterior half of the uterus by this time is still empty as is the case with those taken out of a guinea-pig on the 16th day after infection.

liberation of shell material causes the imperfect egg shell, the excessive production of the shell material forms granules in the uterus and the retarding of the formation of the egg shell is the cause of the staining property towards eosin of the shell or eggs which are packed in relatively anterior part of the uterus.

The discovery of the real method of the shell formation by Henneguy, Goldschmidt, Nakayama and von Hofsten, has changed our conception as to the office of the Mehlis's gland or the so-called shell-gland. In view of the fact that the Mehlis's gland is present in vicinity of the seat of egg-formation, not only in the trematodes, but also in the turbellarians and the cestodes, there can be no doubt that it plays a certain rôle in the formation of eggs. There may be some relation between the immature Mehlis's gland and the non-liberation of the shell material from the yolk cell in these young distomes.

In passing I shall mention the abnormal eggs and the surplus shell material which occur in the old parasites. As will be dealt with later on, in the old liver distome, senile degeneration sets in and the eggs are wholly or in part discharged. In these specimens the uterus often contains some abnormal eggs and granules of the shell material of various sizes, as in the younger specimen (fig. 11). Some have a normal shape but an abnormal size (sometimes not larger than 0.02 mm in length and 0.013 mm in breadth). A slit may be present in the posterior shell wall. The egg is usually composed of one ovum and two or three yolk cells or sometimes it is devoid of the ovum, several yolk cells only being present. Irregular masses of shell material are floating in the uterus (fig. 11d). These masses do not take an eosin stain. Moreover, in the senile form the shell material loses the staining property towards eosin as when in the yolk cell. The changes in the vitellaria of the senile forms will be described later.

Habitat. — The hosts of the liver distome hitherto described are man, the dog, the cat and the pig. I succeeded in rearing the larvae into the adults in the rabbit, the guinea-pig and the rat. Probably because of its small size the development of the parasite is slower in the rat than in other hosts. Moreover in the animal only a small percentage of the larvae becomes adult, while the remaining ones retain their larval condition. The following instance seem to attest this statement. A rat which had been fed several times with the infested fish (*Pseudorasbora parva*) containing several hundreds of encysted larvae in the muscle and after some three months it was found that only six mature distomes were in its liver; they moreover were not fully developed, measuring 6—8 mm in length. Another rat dissected after two months from the feeding yielded some sixty small distomes from 4—4.5 mm in length; their uteri were filled in part with the eggs. In other animals used for experiments the distomes grew just as well, provided that approximately the same number of the parasites were in.

The usual seat of the distomes is the hepatic ducts, the gall bladder and the bile duct. When numerous parasites are found the larger part of them are in the fine hepatic ducts and only few in the gall bladder. In several instances the pancreas and the duodenum contained a few specimens which were apparently in good condition.

V. Structure of the sexually mature Distome.

In this section, the structure of the full grown specimen will be dealt with in some detail, especially in regard to its specific characteristics together with some features which have not hitherto been known to the student of distomes.

External form. — The posterior two thirds have an equal breadth and anteriorly the body slightly tapers above the level of the genital opening. The anterior end is round: the lateral margins at the posterior end meet each other a little less than the right angle. Some specimens are ovoidal due to contraction.

In physiological salt solution the worm live for several days, if the solution be changed several times so as to keep it perfectly clear. Living specimens are quite different from fixed; the anterior part being elongated like a proboscis. It bends in various directions as if it grope around. When the anterior half contracts, it becomes a small protuberance projecting from the body; since this part has more muscle fibres than other part of the body. The lateral margins are provided with wrinkles in the living one.

Size¹⁾. — The average size of well developed specimens measured from several hundreds of total preparations is: — length 8—15 mm, and breadth 1.5—4 mm.

First of all I was able to demonstrate experimentally that the size is very variable; largest one being three times as large as the smallest. I dissected four cats on the 30th day (I), 26th day (II), 35th day (III) and 40th day (IV) after the encysted larvae of liver distome were given²⁾. 3000 worms were obtained from the cat I and 400 from the cat II; in the cat III and IV also not less than in the cat II. Since the eggs were found in the faeces of these cats and since the uteri of the worms were filled with eggs, it was certain that the parasites were fully mature. The measurements of medium sized specimens from the four cats (fixed by heat and mounted in toto in balsam) are as follows;

	I	II	III	IV
length	4—5 mm	6.5—7.5 mm	7 —8 mm	10—12.5 mm
breadth	1 „	1.5—2 „	1.5—2 „	2— 2.5 „

To four guinea-pigs of approximately the same size distome larvae were given. They were dissected after 30 days (I), 70 days (II and III) and 110 days (IV) respectively. I yielded several hundreds, II 130, III 60 and IV 140 worms. All were sexually mature. They were measured in the same way as in the foregoing cases.

	I	II	III	IV
length	3.5—4 mm	7.5—9 mm	8.5—10 mm	9.5—10 mm
breadth	0.8—1 „	1.2—1.5 „	1.5— 2 „	1.8— 2 „

1) Experience has taught me that the most convenient method of fixing several specimens at a time for total preparations is to use heat. Distomes are put in a test tube with water. A little shaking will make them perfectly clean. Then test tube containing the worms is held over the flame until the water boils. Moderately elongated specimens can thus be obtained.

2) The cat I and II were kitties; III and IV were adults.

It will be seen from the above two tables that there is considerable size-differences among the mature liver distomes (cf. 4 mm individual from the cat I with 12.5 mm one from the cat IV). The cases of the cat I and II and the guinea-pig I, II and III clearly show that the size is dependent on the space available for each individual. It may be noted that the parasite may grow even after its sexual maturity is attained. This is best noticed in comparing the cases of the cat I, II and III and of the guinea-pig I, II, III and IV.

Further I have measured distomes from ten human livers, which all were kindly gifts from Prof. Nagayo of the Medical College, Tokyo Imperial University. The measurements were taken from the total preparations mounted in balsam.

	I	II	III	IV	V
length	10—13 mm	11 —12.5 mm	14 —17 mm	10 —13.5 mm	6—9 mm
breadth	2— 2.5 „	2.5— 3.5 „	2.7— 4 „	1.5— 3 „	1—1.5 „
	VI	VII	VIII	IX	X
length	11 —12 mm	10 —14 mm	9—11 mm	12 —15 mm	12.5—15 mm
breadth	2.5— 3 „	2.5— 3 „	2— 2.7 „	2.5— 3 „	3 — 4 „

The measurements of worms in two naturally infected cats may be appended here:

	I	II
length	11—14 mm	11—15 mm
breadth	2— 2.5 „	2— 2.5 „

It is clearly demonstrated that in the above cases, especially in those of man I, IV, VII and IX and of the cat I and II, the length fluctuates about 13 mm, a criterion given by Looss as to distinguish the two species of *Clonorchis* (*Cl. sinensis* and *Cl. endemicus*). It is difficult to determine which of the two species a given specimen belongs to. All what I have mentioned above tends to show that there is great differences in size in our form owing to age and to environmental conditions.

Color. — When fixed the distome is usually white, but sometimes brown. As it is translucent, the outlines of various internal organs can be traced from without, e. g., the uterus appears brown due to eggs; the seminal receptacle and dendritic testes opaque due to the sperm cells. In fresh state the distome is transparent and slightly reddish or brownish. The encysted larva as has been mentioned above, has the yellow pigment in the parenchyme. This pigment is diluted, so to speak, as the body enlarges and in the mature specimens it is almost irrecognizable. Some mature large specimens, however, may contain yellowish or brownish pigment of quite different origin. The size and distribution of the pigment granules differ in different individuals, and even in different parts of one individual. Since there are gradations among various sizes and shades of colors it may be inferred that they are of the same origin. Small pigment granules are spheroidal. Some large granules have an irregular outline and from their texture we may judge that they are composed of several smaller ones. It is remarkable that in the specimens rich in pigment the vitellaria are partly reduced or obliterated com-

pletely. It should be noted that the brownish fine granules, which are contained in the yolk cells of vitellaria of these distomes, are no other than shell material. This shell material appears to resemble the pigment granules. I, therefore, am inclined to think that the blackish or brownish pigment in the mature distome is due to the shell material from the vitellaria.

There is another kind of minute black pigment granules scattered throughout the body. Some of them are certainly the residue of the host's blood pigment taken as food.

Suckers. — The oral sucker lies at the anterior end facing the ventral side. The ventral sucker is situated at the level one third or one fourth the body length from the anterior end, and hardly elevated from the surface. Both the suckers have circular outline. The oral sucker is usually a little larger than the ventral, the ratio of their diameter being 6:5, though they are, of course, subjected to individual variation, contrary to the statement of von Linstow. Some of the measurements taken from total preparations mounted in balsam will be given here¹⁾:

	Host	Body length	Diameter of oral sucker	Diameter of ventral sucker
I.	guinea-pig I	10.5 mm	0.44 mm	0.3 mm
II.	"	9 "	0.42 "	0.3 "
III.	"	9.5 "	0.42 "	0.3 "
IV.	guinea-pig II	10.5 "	0.42 "	0.36 "
V.	cat I	7.5 "	0.42 "	0.36 "
VI.	cat II	12.5 "	0.44 "	0.38 "
VII.	cat III	10.3 "	0.36 "	0.36 "
VIII.	"	6.5 "	0.36 "	0.32 "
IX.	man I	14.5 "	0.56 "	0.46 "
X.	man II	12 "	0.46 "	0.46 "

In the distome VII and X of the above table the oral and the ventral sucker are of the same size.

Skin and cutaneous muscle (fig. 25). — The skin, "cuticula", of the full grown specimen is thin (0.001 mm) and smooth, no spines being present. There are three cutaneous muscle layers: viz. — outer, transverse; middle, longitudinal and inner, diagonal. The dorsal part of the transverse muscle consists of very thin fibres.

Digestive system. — The pharynx is spherical, its diameter being 0.2—0.3 mm. Between the pharynx and the oral sucker there is no prepharynx, which is represented as a wrinkle. The oesophagus is 0.12—0.4 mm long according to the degree of contraction. The intestinal rami reach the posterior end of the body. The rami are often asymmetrical in length. The longitudinal and transverse muscle fibres develop along the whole length of the oesophagus and the intestine, more so along the former.

Excretory vessel (figs. 26 and 34). — The excretory pore opens at the posterior end guarded by a strongly developed sphincter muscle. The unpaired excretory vessel or excretory vesicle reaches as high a level as the posterior margin of the seminal receptacle. It is curved twice when passing by the testes. Usually the anterior tip of the vessel is slightly distended and turns to the left. Two lateral vessels are given

1) Care has been taken to reject distorted or deformed specimens for measuring.

off a little posterior to the anterior end of the unpaired vessel usually at two different levels, the left being situated a little anteriorly. The lateral vessels run up outside of the intestine, take an undulating course and finally reach the level of the bifurcating point of the intestine. There each vessel comes down a little and is divided in two branches, i. e., the anterior and the posterior branch. The former is shorter, finer and goes as far as the middle of the oesophagus where it resolves into several branchlets. The posterior branch runs backwards along the main vessel and reaches near the posterior end of the body.

Food. — In the intestinal contents of the distome are often found blood corpuscles of the host, which have been taken in as food. Some individuals have black granules in the intestine. It is probable that it is modified haemoglobin contained in the food.

Nervous system. — A pair of cerebral ganglia lie dorsal to the middle portion of the oesophagus (fig. 26). Two anterior and three posterior nerves can be seen from each ganglion; the ventral nerve of the latter being the largest. The ventral anterior nerve is divided into two at the level of the posterior margin of the oral sucker. There is a connective nerve between the posterior and anterior lateral nerves. The commissures are present between three pairs of the posterior nerves at several places.

Genital organs. — The male genital organ consists of two testes, the vasa efferentia and a seminal vesicle; neither the cirrus pouch nor the cirrus is present. Two testes (figs. 32—37) are dendritic and lie one behind the other on the median line. They occupy nearly one fourth or third of the body. The anterior and posterior testes are situated on the left and the right of the unpaired excretory vessel respectively. Laterally the testes extend beyond the intestinal rami passing the ventral side of them. Four main branches of the anterior testis forms a decussate cross, the longitudinal axis of the body passing through half way between two beams. The posterior testis has five branches (figs. 34, 36 and 37). Sometimes one of the beams of the cruciform testis corresponds to the longitudinal body axis (fig. 33). These main branches are divided into irregular branchlets. The main branch may dwindle as is shown on in the both testes of fig. 32. Occasionally the wall of the testes facing the excretory vessel is found ruptured due probably to rough handling of the specimens and the lumen of the vessel is filled with sperm cells.

The vas efferens is a fine tube arising from the centre of the dorsal side of the testis. Exceptionally its point of attachment is excentric. Two ducts run together for some distance over the middle portion of the uterus, are united with each other and open finally into the seminal vesicle. The diameter of the vas efferens is 0.018—0.04 mm. The wall is composed of well developed longitudinal and weak transverse muscle fibres.

The seminal vesicle is a wide tube (0.12—0.14 mm in diameter) lying against the anterior half of the uterus, along the median dorsal side (figs. 21, 33 and 34). It undulates several times, and usually is filled with sperm. The seminal vesicle curves ventrally at the anterior margin of the ventral sucker along its right side. Its diameter diminishes with increasing of the muscle elements in the wall, and the surrounding glandular cells, which appear similar to those found in the subcutaneous tissue. This muscular portion of the seminal vesicle unites with terminal portion of the uterus and forms there a short common genital

duct which find its opening close to the median anterior margin of the ventral sucker (fig. 26). At the height of the sexual activity this portion of the seminal vesicle forms a loop.

The female genital organ (fig. 27) is composed of the ovary, the vitellaria, the Mehlis's gland, the seminal receptacle, the Lauer's canal, and the uterus. The ovary lies on the median line anterior to the anterior testis, the seminal receptacle being situated between them. It stretches transversely usually bearing three lobes, the sinistral, the dextral and the antero-dextral. Sometimes the sinistral lobe has a small postero-dorsal branch. In a fully developed specimen the lobulation is more conspicuous. The ovary can be said to have practically two lobes, namely, the left and the right, each of them again often dividing into two (cd. figs. 21 and 37).

Both vitellaria lie exterior to the intestinal rami, and carry many ascinous glands. Generally the anterior and posterior extremities of the gland coincide with the level of the loop of the uterus. In some specimens certain portion of the glands remain undeveloped, giving an appearance as though the vitellaria were interrupted at several parts; this separation occurs most frequently at the point either at the place where the longitudinal yolk duct turns medially, or at the anterior end of the gland (fig. 32).

The yolk ducts curve medially near its posterior end; the two ducts are united on the median plane on the dorsal side of the ovary. The basal portion of the common duct swells up and serves as a yolk reservoir. It goes a little forward until it meet the oviduct, which arises from the dorsal surface of the ovary (fig. 13). In older specimens a part of the vitellarium degenerates at several points (figs. 33 and 34). It can not be mistaken for undeveloped portions; for this occurs only in old specimens, the residue of the vitellarium may then be present — the cell contents of the gland, shell material, have lost their staining property towards eosin. It seems to be very probable that this shell material is the progenitor of the body pigment, which is commonly present in old specimen as already mentioned. In the undeveloped portion of the younger specimen no pigment is present.

Before uniting with common yolk duct the oviduct sends off a fine tube, the Lauer's canal. The base of the Lauer's canal is connected with the seminal receptacle, it runs to the left of the latter organ and ventral to the anterior end of the excretory vesicle, then it approaches the median line and gradually turns dorsally until it opens on the dorsal surface near the centre of the anterior testis. The wall of the ventrally turned portion has the cilia (fig. 31), while that of the dorsally turned part has some longitudinal folds of "cuticula", and is surrounded by the glandular cells like the surface of the body. The seminal receptacle lies directly posterior to the ovary and form a large ovoid or pyriform sac (0.6—1.2 mm \times 0.2—0.6 mm): the angle between its longer axis the median line being 45°. The lumen is usually filled with sperm.

From the point where the Lauer's canal and the yolk reservoir unite each other, the oviduct runs antero-laterally and curves medially sometimes abruptly with an acute angle. At this curve it is encircled by the Mehlis's gland, or shell gland as has hitherto been called. The gland is of a diffuse type and opens into the oviduct by means of long fine ducts. This portion of the oviduct may be called ootyp. It is directly connected with the uterus without the intervention of distended

portion. The oviduct measures 0.04—0.05 mm in diameter. The Lauer's canal, the oviduct and the seminal receptacle have all well developed circular muscle layer in their walls. In fresh specimens the contraction of the seminal receptacle can often be observed.

The uterus is most conspicuous organ, being packed with eggs and occupying the whole median portion between the rami of the intestine (figs. 21 and 32—34). Anteriorly it reaches the ventral sucker and posteriorly it extends as far as the ovary. It takes an irregular curved course of some twenty transverse loops. The lumen measures 0.1—0.16 mm in diameter. The uterus finds its passage along the left dorsal side of the ventral sucker. When it comes to the anterior margin of the sucker, it unites with the end of the seminal vesicle and finally opens to the exterior by means of a short common duct. The portion of the uterus anterior to the ventral sucker is subjected to great variation, as the male genital duct also is. In some specimens additional loop of the uterus is found anterior to the ventral sucker. The lumen narrows in the terminal portion of the uterus due to increased thickness of the muscular walls as is seen in the male organ.

The egg measures 0.027—0.03 mm \times 0.015—0.017 mm. Those in the anterior half of the uterus contain embryos fully developed but lacking the eye spots. A proboscis like process is present at the anterior end of the embryos.

Situs inversus. — In the liver distomes one sometimes meets with cases of *situs inversus* in the genital organ. I found 24 of such cases out of 217 specimens.

Large cell (figs. 28—30). — Distribution in the parenchyme and the sucker are the large cells. They are readily distinguished from other cells by their large size and finely drawn out into protoplasmic fibres. In the parenchyme of young distomes they are more numerous and more conspicuous than in older ones. I observed these large cells in the specimens killed on the 15th to 20th day after infection. The large cell has a round nucleus measuring from 0.07—0.1 mm in diameter. Within it is a nucleolus containing relatively small amount of chromatin. The fibres are stained by haematoxylin but not by eosin. They extend to various organs taking a wavy course. The intestine, the uterus (fig. 28) the seminal vesicle (fig. 29), the cutaneous muscle layer (fig. 30) and the sucker are all connected with such processes. In full grown specimens, the large cells are less numerous and their outline is not so sharp. In some specimens its nucleus looks quite empty, indicating probably that degenerating process has set in.

Senescence. — I have yet been unable to ascertain how long the liver distome can live, but the results of the experiments show that some lived at least for about two years in the final host. In some specimens, which had been collected from the human liver I noticed some peculiarities (fig. 34), namely, large sized (11—15 mm in length), deep yellow or brown color, the vitellaria reduced wholly or in part, the shell material in the yolk cells refusing to take eosin stain; the uterus almost empty or contains only imperfect eggs and masses of the shell material. Taking these into consideration it may be concluded that such specimens represent senescent form. I must expressly mention that their degeneration is not to be attributed to bad conservation¹⁾; for such

1) In case distomes are kept for some time in tap water before fixing, they show changes akin to what has been here described.

forms are found in the same lot along with quite normal ones. It is interesting to add at another time I obtained from a cat a living specimen, which had an empty uterus, degenerated vitellaria and deep pigmentation (fig. 33).

VI. The first intermediate Host.

Taking the life history of allied species into consideration, it is highly probable that the larvae of our distomes encysted in fish come from cercariae parasitic in some mollusks, the first intermediate host. I have made careful search after the cercariae and found several species of them in the districts where the liver distomiasis occurs endemically. But none of the cercariae has been identified with certainty as that of the liver distome. One kind of them which bears a close resemblance in its structure to the young encysted larvae of our *Chlonorchis* is found in several species of *Melania*, especially *Melania livertina* Gould. The fact that *Melania* infested with the cercariae is very abundant in the rivers and swamps of those regions where liver distomiasis prevails endemically, makes us to think that this may be the first intermediate host. A more detailed description of this subject will be published after the completion of my experiments, which are now going on.

VII. Geographical Distribution of Distome with Special Reference to Endemic Liver-distomiasis in Japan.

The cases of endemic liver-distomiasis have been reported from the following prefectures: Okayama, Shiga, Saga, Miyagi, Chiba, Ishikawa, Tokushima, Niigata. Sporadic cases are also found in other districts. It can be said that the disease occurs in more or less degree throughout Japan. In some places, e. g. Tokyo, human cases are very seldom met with, while the parasites are widely found among cats and dogs. It is a noteworthy fact that all the distomiasis districts are in the vicinity of rivers, lakes or swamps. The causes of the endemic occurrences in these regions are therefore not far to seek: 1) the abundance of the second intermediate hosts (fish); 2) favorable opportunities of the eggs to hatch; 3) methods of eating the infested fish.

The fresh water fishes, the second intermediate hosts, occur in great number in brooks and canals leading to rice fields. As human faeces constitute a principal part of the manure in Japan, the eggs contained therein are likely to find their way to the water and hatch there. They, however, do not have resistance against desiccation. In this connection it will be interesting to note the following experiment. After the decomposition of dead individuals in water some eggs were kept in the same medium for four months or more and after that period when pressed gently, miracidia would come out of the egg shell, and swum actively. Natural hatching has, however, never been observed. Thus it was ascertained that the putrefaction of the medium does not kill the embryo in the egg shell.

Of all the known intermediate hosts of the liver distome in Japan, the following ones are eaten usually boiled or roasted: *Leucogobio*, *Pseudorasbora*, *Sarcocheilichthys*, *Acheilognathus*, *Paracheilognathus*, *Pseudoperilampus*, *Abbottina*, *Biwia*. So they are less likely to transmit the larvae to man whereas *Carassius auratus* most commonly eaten raw with vinegar or soy-sauce, is, I think, one of the chief causes of distomiasis. This fish contains only a small number of the cysts, I even doubted their presence because of the repeated

failure in finding the cyst. But in 1911 at last I succeeded in discovering one in a piece of *C. auratus* fished at Shiga prefecture and the remaining portion of the fish was given to three guinea-pigs, one of them afterward came to possess the three worms and the other two did not. Though chances are so few, yet repeated eating will undoubtedly cause the disease. Some thirty years ago at Yanaidzu in Miyagi prefecture the native used to fish *Pseudoperilampus typus* and other small fishes and ate them raw. Then severe endemic of liver-distomiasis broke out throughout the district. Since then the fishing in the Lake Shimekiri of the prefecture was strictly prohibited by the local authorities, the number of cases was suddenly reduced.

VIII. Specific Identification of *Clonorchis*.

When Baelz first discovered the liver distome in Japan, he distinguished two species; viz., *Distoma hepatis endemicum* sive *perniciosum* and *Distoma hepatis innocum*. Soon was found that Baelz's distomes are identical with *Distoma sinense* Cobbold and Leuckart amalgamated Baelz's two species into one since he could not detect an specific difference between them. In 1907 Looss wrote a paper basing upon the specimen kept in the museum of the School of the Tropical Medicine at Liverpool. He could recognize Baelz's two species among them and established a new genus *Clonorchis* for the two. These species have been accepted by other authors, Verdun and Bruyant, however, maintains that they are not good species at all but varietis. Are there any actual specific differences between Looss's two species, *Clonorchis sinensis* (Cobb.) and *Cl. endemicus* (Baelz)? Looss distinguished these two species from the following characteristics:

1. *Clonorchis sinensis* is larger than *Cl. endemicus*, being 13—19 mm and 10—13 mm in length respectively.
2. Ordinarily in the larger form the vitellaria are discontinuous, interrupted by several undeveloped portions, while the smaller has the continuous vitellaria.
3. Larger ones commonly contain yellowish or blackish pigment in its parenchyme, while the smaller are free from it.
4. In the larger form the egg narrows more distinctly anteriorly and its lid is higher and has more sharply projected rim than the smaller.

In the first place as to the size of the liver distome Katsurada thinks that the size of the liver distome depends upon the size of the host and also to the number of parasites in one host. Regarding this Looss disagree with Katsurada stating: "I have for several years paid special attention to this question, but all my experiences tend to show that every species of parasites has a size of its own as a rule, their size is very much the same, whether they live in a large or in a small host." The reader is begged to refer to one of the preceeding sections where I expressly mentioned that the size of a liver distome can vary according to the space and the nourishment available to each individual. So I shall not go into the argument here.

Secondly as to the interrupt of the vitellaria and the pigmentation. The description of the following six specimens will be added here in order to show that there is no constancy on these points.

	Host	Length	Breadth	Vitellaria	Pigment
I.	cat	18 mm	3.5 mm	continuous	no
II.	man	11 "	2.7 "	continuous	abundant
III.	man	9.5 "	3 "	1 interruption on one side	abundant
IV.	man	11.5 "	2.5 "	2 interruptions on both sides	no
V.	cat	14 "	2.5 "	1 interruption on one side	no
VI.	cat	7.5 "	2 "	several interruptions on both sides	abundant

These clearly show that it is not difficult to find intermediate forms between Looss's two species. However, as he correctly observed, the larger forms generally contain pigment and have discontinuous vitellaria, while the smaller ones lack pigment but have continuous vitellaria. This may be due to the age, larger one naturally being old, and partly senile forms as previously mentioned. If that is really so, the proposed specific differences lose their significance.

Thirdly and lastly as to the shape of the egg shell. I have noticed in many eggs just the reverse what Looss's mentions as specific: an egg from a specimen (length 10 mm) obtained from a cat had the shell considerably tapering at one end and provided with a more vaulted lid (fig. 38a), while in other egg from a specimen (length 14 mm) obtained from man had a shell less tapering anteriorly and a relatively flat lid (fig. 38b). The cases like these have been obtained by myself too repeatedly to be taken for exceptional.

Taking all the above facts into consideration one cannot escape from the conclusion that we have in Japan only one species *Clonorchis sinensis* (Cobbold)¹⁾ and not two.

IX. Summary.

1. Liver-distomiasis in Japan is caused by *Clonorchis sinensis* (Cobbold). The natives in the district where the disease is prevalent are infested with the parasites through eating fresh water cyprinoid fishes raw that are the intermediate hosts.

2. Experimentally the following twelve species are ascertained to be the intermediate hosts of the distome:

- Pseudorasbora parva* (Schlegel),
- Leucogobio güntheri* Ishikawa,
- L. mayedae* Jordan et Snyder,
- Sarcocheilichthys variegatus* (Schlegel),
- Pseudoperilampus typus* Bleeker,
- Paracheilognathus rhombeum* (Schlegel),
- Acheilognathus lanceolatum* (Schlegel),
- A. limbatum* (Schlegel),

1) In my preliminary report (1911) on the liver distome, I used *Clonorchis endemicus* of Looss applied to smaller form, as I had not at that time sufficient data for identification. Throughout the present communication, however, I have used the name christened by Looss for larger form.

A. cyanostigma Jordan et Fowler,
Abbottina psegma Jordan et Fowler,
Biwia zezera (Ishikawa),
Carassius auratus (Linn.).

3. The encysted larva in the fish grows and reaches maturity in the cat, the dog, the rabbit, the guinea-pig and the rat.

4. In the final host the cyst ruptures and the larva is set free.

5. During the development in the final host, the spines of the "cuticula" enlarges and then disappear. The size relations of the oral and ventral suckers are reversed.

6. The final shape and position of the testes and the ovary are attained in seven days and the egg formation begins in 12—15 days. The parasite matures in 23—26 days.

7. Yellowish or brownish pigment of the adult is probably degenerated shell material contained in the yolk cells.

8. Senile degeneration is found in larger specimens, in which the vitellaria are partly or wholly disappear, the pigment is present and the uterus is empty.

9. The liver distome in Japan constitutes a single species *Clonorchis sinensis* (Cobbold).

Literature.

- Braun, M., Bronns Klass. u. Ordn. d. Tierreichs. IV. Abt. I. Trematodes. 1879—93.
 Ijima, I., Journ. Sc. Coll. Tokyo. Vol. 1. 1886.
 Leuckart, R., Die Parasiten des Menschen. 2. Aufl. 1886—89.
 Katsurada, F., Beitr. z. path. Anat. u. allg. Path. Bd. 27. 1900.
 Inouye, Z., Mitt. d. med. Gesellsch. z. Tokyo. Bd. 14. 1900.
 Saito, S., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906.
 Looss, A., Ann. trop. Med. and Paras. Vol. 1. 1907.
 Verdun, P. et Bruyant, L., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1908; Arch. de Parasit. T. 12. 1908.
 Goldschmidt, Zool. Anz. Bd. 34. 1909.
 Kobayashi, H., Saikingaku-zasshi. No. 188. 1910. [Japan.]
 —, Ann. Zool. Jap. Vol. 7. 1911.
 —, Saikingaku-zasshi. No. 204. 1912. [Japan.]
 v. Hofsten, N., Zool. Anz. Bd. 39. 1912.
 Nakayama, H., Mitt. d. med. Gesellsch. z. Tokyo. Bd. 26. 1912.

Explanation of plates.

Reference letters.

<i>c.</i> skin, "cuticula".	<i>ph.</i> pharynx.
<i>c.L.</i> Laurer's canal.	<i>prep.</i> prepharynx.
<i>d.vit.</i> yolk duct.	<i>r.sem.</i> seminal receptacle.
<i>g.</i> "Anlage" of gonad.	<i>rev.vit.</i> yolk reservoir.
<i>g.c.</i> cerebral ganglion.	<i>sp.</i> spine.
<i>g.M.</i> Mehlis's gland.	<i>t'</i> anterior or left testis.
<i>i.</i> intestine.	<i>t''</i> posterior or right testis.
<i>n.com.</i> nervous commissure.	<i>u.</i> uterus.
<i>oc.</i> eye-spot.	<i>v.ex.</i> excretory vessel.
<i>oes.</i> oesophagus.	<i>v.s.</i> ventral sucker.
<i>o.s.</i> oral sucker.	<i>v.sem.</i> seminal vesicle.
<i>ov.</i> ovary.	<i>vc.ex.</i> excretory vesicle or undivided portion
<i>p.g.</i> genital aperture.	of the excretory vessel.

Plate I.

Fig. 1. Free larva from the muscle of *Pseudorasbora parva*, taken out of the cyst: ventral view, drawn from a living specimen. $\times 120$.

Fig. 2. do. borax-carmin preparation. $\times 310$.

Fig. 3. Young cyst stained with Delafield's hematoxylin. $\times 400$.

Figs. 4—8. Encysted larvae showing various stages of the degeneration of the eye-spots. $\times 300$.

Fig. 9. Imperfect eggs (a—e) and masses of the shell material (f) from guinea-pig, 16 days after infection. $\times 700$.

Fig. 10. An imperfect egg taken from the guinea-pig as above, showing the presence of shell granules in its shell. $\times 600$.

Fig. 11. Three imperfect eggs (a—c) and masses of shell material (d) from a specimen in human liver. $\times 700$.

Fig. 12. Young distome, 7 days after infection; ventral view, drawn from a living specimen. $\times 60$.

Fig. 13. Yolk reservoir and the oviduct with yolk cells; yolk cells contained in the oviduct have liberated the shell material while those in the yolk reservoir and the yolk duct still contain it in their plasma. $\times 600$. The figure shows the yolk cells in the yolk duct and the yolk reservoir partly.

Plate II.

Figs. 14—21. Developmental stages showing the growth of the sexual organs; borax-carmin preparation. $\times 60$.

Fig. 14. Free larva, encysted in the fish.

Fig. 15. 2 days after infection.

Fig. 16. 3 days after infection.

Fig. 17. 4 days after infection.

Fig. 18. 5 days after infection.

Fig. 19. 7 days after infection.

Fig. 20. 12 days after infection.

Fig. 21. 16 days after infection.

Figs. 22—25. Longitudinal section of the skin and the cutaneous muscle layers of the various stages showing the growth and the disappearance of the spines; all are drawn from the level of the pharynx and the oesophagus. $\times 600$.

Fig. 22. 12 days after infection in a guinea-pig.

Fig. 23. 16 days after infection in a guinea-pig.

Fig. 24. 23 days after infection in a cat: spines are most prominent.

Fig. 25. 26 days after infection in a cat: showing the disappearance of the spines.

Plate III.

Fig. 26. Ventral view of a mature specimen, showing the excretory vessel and the nervous system. $\times 60$.

Fig. 27. Female genital organs seen from the dorsal side. $\times 60$.

Fig. 28. Large cell and its processes extending to the uterus. $\times 600$.

Fig. 29. Same with processes extending to the seminal vesicle. $\times 600$.

Fig. 30. Same with processes extending to the cutaneous muscle layer. $\times 600$.

Fig. 31. Transverse section of proximal portion of Laurer's canal.

Plate IV.

Fig. 32. Ventral view of a specimen obtained from a cat; containing undeveloped portion of the vitellaria; not senile form! $\times 9$.

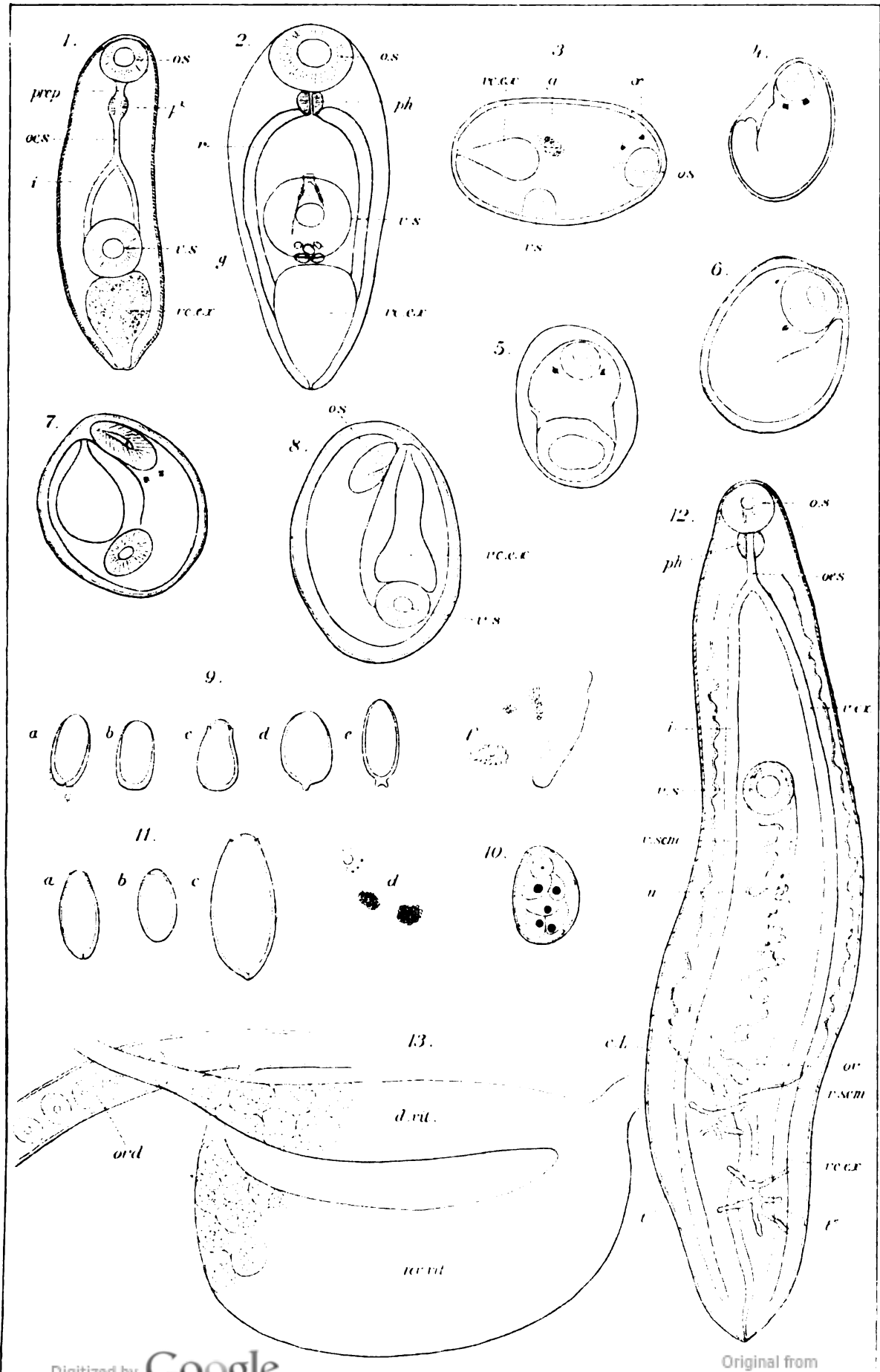
Fig. 33. Ventral view of a senescent form from the same cat, having the empty uterus and the degenerated vitellaria. $\times 9$.

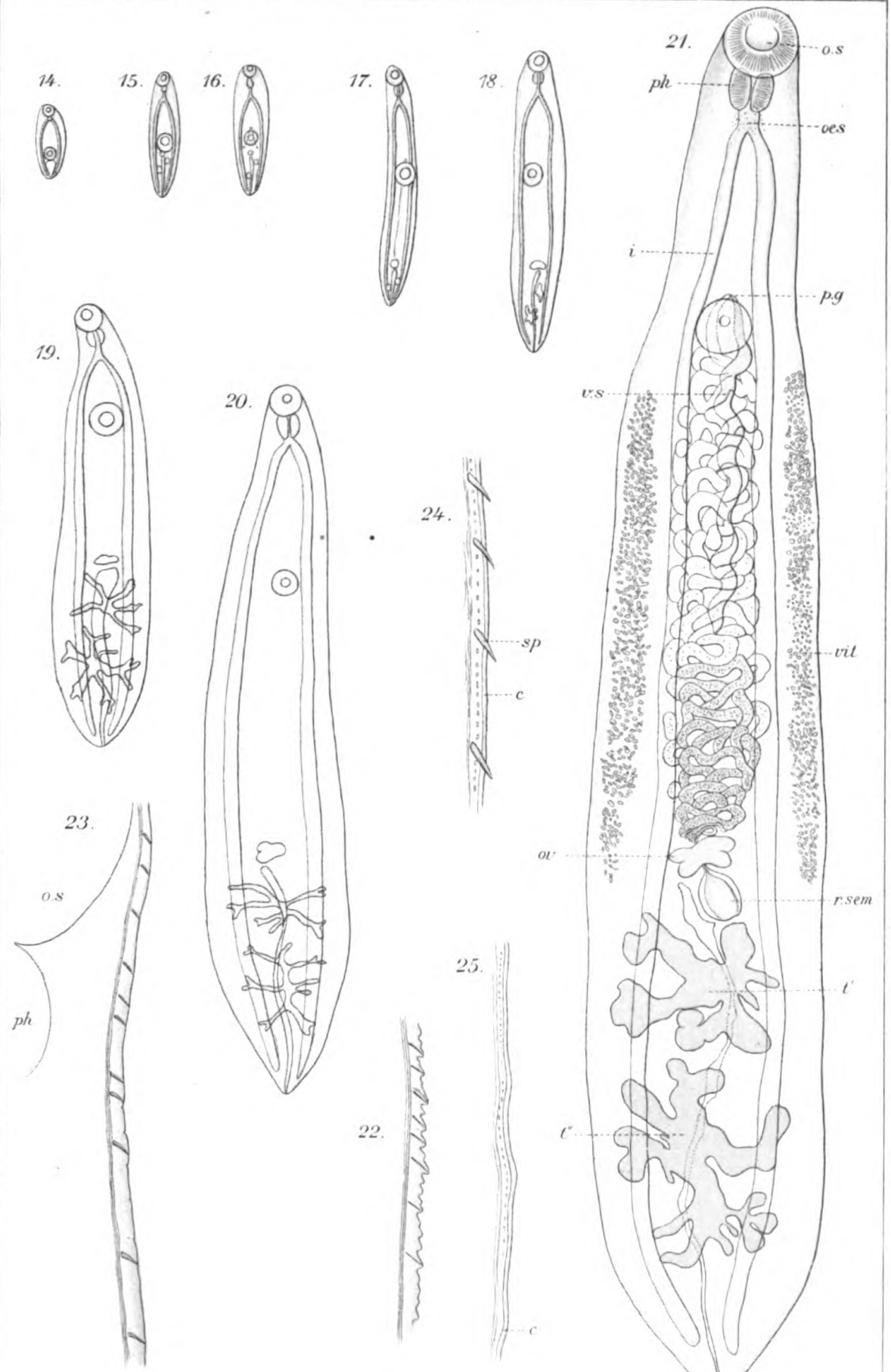
Fig. 34. Ventral view of a senescent form, obtained from a man, having the empty uterus and the degenerated vitellaria. $\times 9$.

Fig. 35. A portion of the vitellarium of a senescent specimen obtained from a man, showing the degenerated vitellarium; in the upper portion the yolk duct alone is seen. $\times 60$.

Figs. 36—37. Posterior portion of two specimens, shown various forms of the ovary and testes. $\times 20$.

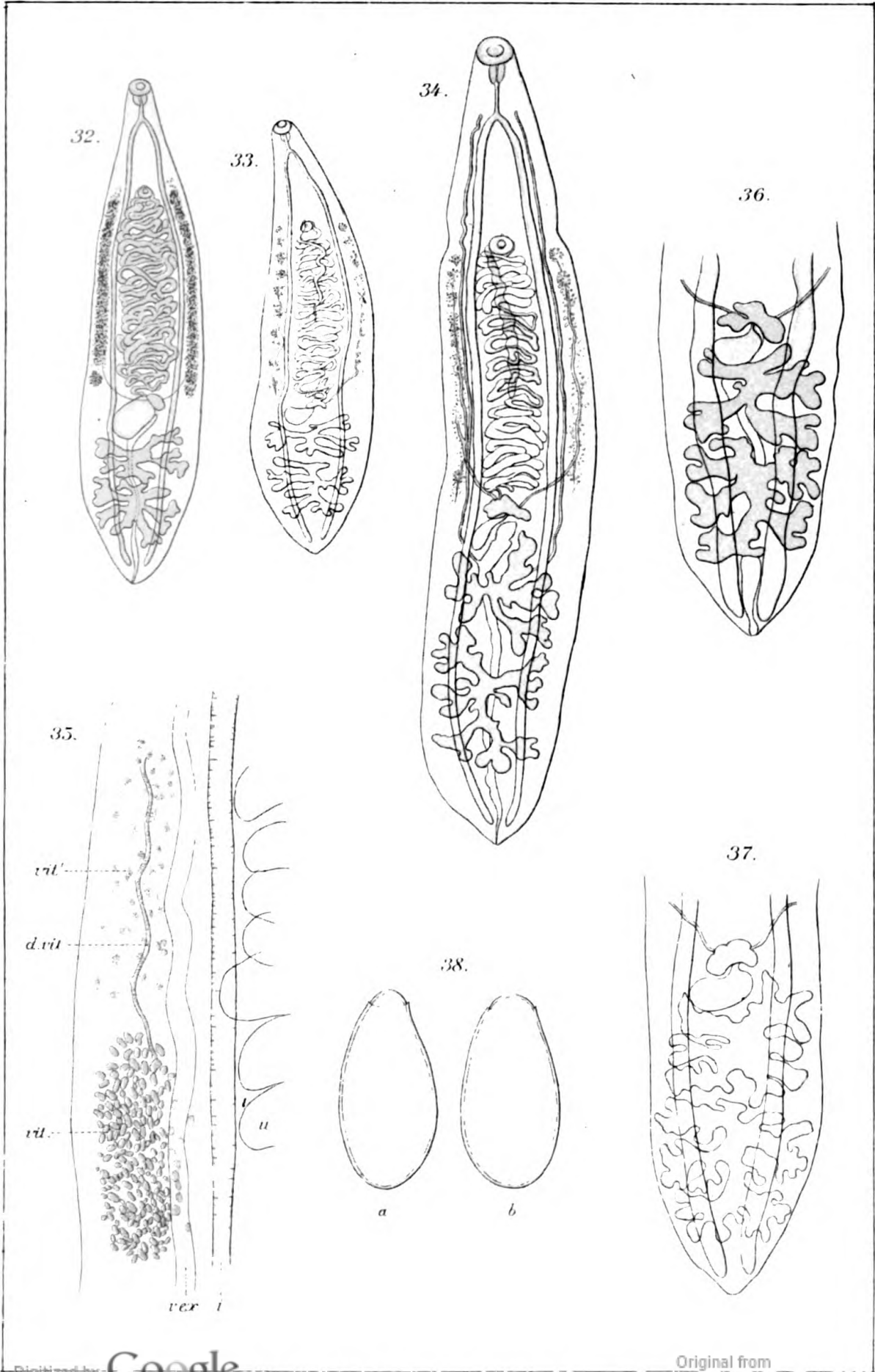
Fig. 38. Two eggs (a), drawn from a specimen (length 10 mm) in a cat, showing its elongated form and high lid; (b) from a specimen (length 14 mm) in man, showing more rounded contour and relatively flat lid. $\times 1000$.





Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3789177
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google





Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3789177
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Bilden Choleravibrionen Hämotoxine?

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institut in Wien
(Vorstand: Hofrat Prof. Dr. R. Paltauf).]

Von **Otto Löwy**.

Der Entdecker des Choleravibrius, R. Koch (14), war der erste, der die Beobachtung machte, daß Choleravibrionen auf Gelatine, der Blut beigemischt war, einen Aufhellungshof um sich verbreiten. Bitter (3) wies dann nach, daß der Choleravibrio nur die stark geschädigten, in der flüssigen Gelatine befindlichen Erythrocyten aufzulösen vermag, und „daß das lebende Discoplasma der Blutscheiben der Wirkung von Fermentmengen gegenüber, welche auf Gelatine bereits einen erheblichen peptonisierenden Einfluß erkennen lassen, einen kräftigen Widerstand leistet“.

Nun fand Kraus (15), daß Stoffwechselprodukte verschiedener choleraähnlicher Vibrionen sowohl auf Blutplatten, als auch aus Bouillonkulturen gewonnen, hämolysierende Eigenschaften besitzen, zum Unterschiede von echten Choleravibrionen, und kam zu dem Schlusse, daß sich auf „Blutagarplatten Choleravibrionen in sicherer Weise von artverwandten Vibrionen unterscheiden lassen“.

Zum lebhaften Interesse wurde aber erst diese Frage, als F. Gotschlich (8) 1906 in El Tor aus Därmen an Dysenterieerscheinungen gestorbener Pilger 6 Vibrionenstämme züchtete, die sich agglutinatorisch und im Pfeiffer-Versuch wie Cholera verhielten, auf der Blutagarplatte aber einen breiten Aufhellungshof bildeten. Um diese Stämme entwickelte sich ein lebhafter Streit, der bis heute noch unentschieden weiter dauert. Gotschlich (8), Kolle und Meinicke (13), Neufeld und Haendel (30) halten die El Tor-Stämme für echte Choleravibrionen. Ersterer suchte auch den epidemiologischen Nachweis zu führen, daß die Pilger — Cholerasträger — an interkurrenten Krankheiten gestorben, während sie sich noch in ihrer Heimat, wo angeblich Cholera herrschte, infizierten, ohne zu erkranken.

Diese Darstellung Gotschlichs wurde von Prochnik (35) einer scharfen Kritik unterzogen.

Als wichtiges Unterscheidungsmerkmal zwischen den El Tor- und Choleravibrionen außer den Hämolysinen fanden Kraus und Fukuhara (19), Pfeiffer und Friedberger (31) die erheblich höhere Virulenz für Meerschweinchen, die monate- ja jahrelang beständig bleibt. v. Loghem (26) wies in der Aufhellungszone der El Tor-Stämme spektroskopisch Oxyhämoglobin nach, während dies bei Choleravibrionen nicht vorhanden war. Weiter konnte Kraus (16, 17), Kraus und Pribram (24, 25), Kraus und Prantschhoff (22, 23) zeigen, daß die El Tor-Stämme ein lösliches Toxin bilden, zum Unterschied von den meisten Choleravibrionen. Dies Toxin wirkt akut, analog dem Vibrio Nasiktoxin, das Kraus (18) darstellte, zum Unterschied von Cholera-toxinen (z. B. Saigon), die nie akuten Tod herbeiführen. Durch Komplementablenkung konnte Ruffer (36) Unterschiede zwischen Cholera- und den El Tor-Stämmen auffinden [Neufeld und Haendel (30) bestätigen dies nicht]. Auch Ruffer hält die El Tor-Stämme nicht für Choleravibrionen.

Tabelle I.
Cholera Serbien 1913.

Stamm	Agglutinationsserum Titer 1/4000					10 Proz. Blutplatten										Gelatine			Loeffler-Platten			Kaninchenblut Meerschw.-Blut 5% 2 ccm															
	1600	3200	6400	1280	Kon- trolle	Hammel					Ziegen					Hämolyisiertes Ziegen- blut					2 Tg.	5 Tg.	8 Tg.	2 Tg.	5 Tg.	8 Tg.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.			
30	c	c	c	c	+																																
34	c	c	c	c	+																																
54	c	c	c	c	+																																
60	c	fc	sp	+	+																																
61	c	fc	ds	+	+																																
66	c	c	c	c	+																																
68	c	c	c	c	+																																
73	c	c	c	c	+																																
77	c	c	fc	sp	+																																
87	c	c	fc	sp	+																																
89	c	c	c	c	+																																
94	c	c	c	c	+																																
99	c	c	fc	sp	+																																
110	c	c	c	c	+																																
114	c	c	c	c	+																																
116	c	c	fc	sp	+																																
124	c	c	fc	sp	+																																
130	c	c	c	fc	+																																
131	c	c	c	fc	+																																
139	c	c	fc	sp	+																																
140	c	fc	d	+	+																																
143	c	fc	d	+	+																																
144	c	c	c	c	+																																
156	c	fc	d	+	+																																
164	c	c	c	c	+																																
165	c	fc	sp	+	+																																
167	c	c	sp	+	+																																
173	c	sp	+	+	+																																

Stamm	Agglutinationsserum Titer 1/4000						10 Proz. Blutplatten										Gelatine			Loeffler-Platten			Kaninchenblut 5% 2 ccm			Meersch.-Blut 5% 2 ccm						
	1600	3200	6400	1280	Kon- trolle	Hammel		Ziegen				Hämolyisiertes Ziegen- blut				2 Tg.			5 Tg.			8 Tg.			1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.
	1 Tag	2 Tg.	3 Tg.	1 Tag	2 Tg.	3 Tg.	8 Tg.	14 Tg.	2 Tg.	3 Tg.	5 Tg.	8 Tg.	14 Tg.	2 Tg.	5 Tg.	8 Tg.	2 Tg.	5 Tg.	8 Tg.	2 Tg.	5 Tg.	8 Tg.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.		
177	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø		
184	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
207	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
210	c	fc	fc	fc	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
212	c	fc	fc	fc	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
229	c	fc	fc	fc	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
236	c	fc	fc	fc	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
248	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
260	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
261	c	fc	fc	fc	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
262	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
272	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
334	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
350	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
355	c	fc	fc	fc	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
373	c	fc	fc	fc	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
381	c	fc	fc	fc	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
394	c	fc	fc	fc	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
395	c	fc	fc	fc	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
401	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
410	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
433	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
452	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	
A.	c	c	c	c	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	

Zeichen: c = komplett
 fc = fast komplett
 d = deutlich
 sp = Spuren

Für Gelatine, Loeffler- und Blutplatten:
 sp = Spuren, Aufhellung bzw. Auflösung
 d = deutlich, " " "
 st = stark, " " "

Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3789177
 Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.
Cholera Bulgarien 1912.

Stamm	Agglutinationsserum Titer $\frac{1}{4000}$					10-proz. Blutplatten						2 ccm 5% Kaninchenblut		2 ccm 5% Meerschw.-Blut			
						Hammel			Ziege			5-tägige Bouillontoxine					
	1600	3200	6400	12800	Kon- trolle	1 Tag	2 Tg.	3 Tg.	1 Tag	2 Tg.	3 Tg.	0,1 ccm	1 ccm	0,1 ccm	1 ccm		
						1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.		
Corlu II	c	fc	θ	θ	θ												
" III	c	c	fc	d	θ												
" IV	c	fc	θ	θ	θ												
Lozengrad	N. Athanasoff	c	c	c	c	+											
	D. Petcoff	c	fc	sp	θ	θ											
	J. Stojanoff	c	c	c	c	θ											
	Vasileff	c	c	c	c	θ											
	N. Tzvetkoff	c	c	fc	d	θ											
	T. Dimitroff	c	c	d	sp	θ											
Uzin Köprli	J. Janeff	c	c	c	c	θ											
	D. Weltschoff	c	c	c	fc	θ	θ		θ		θ			θ			
Chairo- bol	D. Athanasoff	c	d	sp	θ	θ											
	K. Kostoff	c	fc	d	sp	θ											
Baba Eski	c	c	c	fc	θ												
Elbassan	fc	sp	θ	θ	θ												
Kadiköi 6	c	fc	d	θ	θ												
" 7	fc	θ	θ	θ	θ												
Ermenköi	c	c	c	fc	θ												
T. Donscheff	c	fc	sp	θ	θ												
Prantschoff	c	c	c	fc	θ												
" Platte	c	c	c	c	θ												

Einerseits besitzen also die El Tor-Stämme Choleraeigenschaften (Agglutination und Pfeiffer-Versuch), andererseits stimmen sie mit choleraähnlichen Vibrionen überein (Hämotoxine, akut tödliche Toxine). Die hohe Virulenz scheint dieser Gruppe allein eigen.

Auch echte Cholera-vibrionen wurden vielfach untersucht Kollé und Meinicke (13), Meinicke (27, 28), Mühlens und Raven (29), Huntemüller (12), Bürgers (4), W. und A. Buroff (5) und viele andere fanden bei einzelnen Cholera-stämmen Aufhellung, wenn auch erst nach längerer Zeit oder als variable Eigenschaft, doch wurde von den meisten Kaninchenblut, das schon Prausnitz (32, 33), Schumacher (37), Pribram (34), Kraus und Prantschoff (23), Kraus und Fukuhara (19) als unzweckmäßig bezeichnen, oder es wurde Hammel- oder Ziegenblut — denn nur solches ist zu verwenden — in verschiedenen, nicht brauchbaren Konzentrationen genommen. Bei diesen Blutarten konnten Haendel und Woithe (9), Prausnitz (32, 33), Schumacher (37), Fukuhara (7), Kraus und Prantschoff (22, 23), Kraus und Fukuhara (19), Kraus, Graham und Zeki Zihä (20), Kraus und Müller (21) u. a. bei einer enorm großen Anzahl von Stämmen weder auf Platten noch in Bouillon Hämotoxine nachweisen.

Während des serbisch-bulgarischen Krieges konnten wir als Hilfsarzt der bakteriologischen Mission des Oesterreichischen Roten Kreuz-

Tabelle III.
Verschiedene Cholera stämme.

Her- kunft	Stamm	Agglutinationsserum Titer $1/4000$					10-proz. Blutplatten						2 ccm 5% Kaninchenblut		2 ccm 5% Meersch.-Blut	
							Hammel			Ziege			5-tägige Bouillontoxine			
		1600	3200	6400	12 800	Kon- trolle	1 Tag	2 Tg.	3 Tg.	1 Tag	2 Tg.	3 Tg.	0,1 ccm	1 ccm	0,1 ccm	1 ccm
							1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.
Italien 1911	430	c	d	θ	θ	θ										
	Neapel	d	sp	θ	θ	θ										
	Tapalissou	c	c	d	sp	θ										
	Gladis	c	c	c	fc	θ										
	Vendrell	c	c	fc	d	θ										
	Milano	fc	sp	θ	θ	θ										
	Sanfielareni	sp	θ	θ	θ	θ										
	Deri	c	fc	sp	θ	θ										
Oesterreich 1911	183					spon- tan										
	Brenner	fc	sp	θ	θ	θ										
	Saxonia					spon- tan										
	Graz	c	fc	d	sp	θ										
	Soldan	c	fc	θ	θ	θ										
	3	c	c	c	fc	θ										
	1160	c	c	fc	sp	θ										
	1426					spon- tan	θ		θ			θ			θ	
	1478	fc	d	sp	θ	θ										
	Purgas 15	c	d	sp	θ	θ										
" 16	sp	θ	θ	θ	θ											
" 17	d	sp	θ	θ	θ											
Warna 1	c	c	sp	θ	θ											
" 16	c	fc	sp	θ	θ											
Tart. Parzadyk	c	c	fc	d	θ											
Wedna 8	fc	d	sp	θ	θ											
Locopacis	c	fc	sp	θ	θ											
Galizien 1	sp	θ	θ	θ	θ											
" 2					spon- tan											
" 3	c	c	fc	d	θ											
" 4	c	d	sp	θ	θ											
Bürgers 106	d	sp	θ	θ	θ											
" 143	c	c	c	fc	θ											
Schurupov	fc	d	sp	θ	θ											
Pfeiffer	c	c	sp	θ	θ											

Vereines -- die unter der Leitung des Herrn Reg.-Arztes Dr. F. Müller nach Serbien gesandt wurde — aus einer großen Anzahl von Stühlen von Ende Juli bis Oktober 1913 138 Cholera stämme isolieren. Nach unserer Rückkehr nach Wien waren noch 68 Stämme keimfähig; 17 Stämme gingen während einer längeren Impfpause ein. Es blieben uns also 51 Cholera stämme. Da außerdem in der Sammlung des k. k. Serotherapeutischen Institutes eine größere Anzahl zum Teil frischer Cholera stämme vorhanden war, hofften wir, durch Untersuchung aller Stämme der Lösung der nicht unwichtigen Frage — ob Cholera hämotoxische Eigenschaften besitzt oder ob eine solche gegen die echte Cholera natur eines Stammes spricht — näher treten zu können.

Die serbischen Stämme wurden mittels des Peptonverfahrens oder der Dieudonné-Blutalkaliplatte gezüchtet. In ca. 20 Fällen wurde auch der neulich von Hofer und

21*

Tabelle IV.
Vibrionen und El Tor-Stämme.

Stamm	Agglutinationsserum Titer $\frac{1}{4000}$				Kontrolle	10-proz. Blutplatten										Gelatine		Kaninchenblut				Meerschw.-Blut		Loeffler-Platten					
	Hammel		Ziegen			Hämolytierte Ziegenblutplatte		2 Tage		5 Tage		8 Tage		1 St.		24 St.		1 St.		24 St.									
Massanah	1600	3200	6400	12800	spontan	1 Tag	2 Tage	3 Tage	1 Tag	2 Tage	3 Tage	2 Tage	3 Tage	5 Tage	8 Tage	2 Tage	5 Tage	8 Tage	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	1 St.	24 St.	2 Tage	5 Tage	8 Tage
Nasik	+	+	+	+	+	d	d	d	d	d	d	+	+	d	d	+	d	d	fc	c	c	c	fc	c	c	c	+	+	+
Elvers	+	+	+	+	+	sp	d	d	d	d	d	+	+	d	d	+	d	d	c	c	c	c	fc	c	c	c	+	+	+
Berlin	sp	+	+	+	+	+	d	d	d	d	d	+	+	d	d	+	d	d	c	c	c	c	fc	c	c	c	+	+	+
El Tor a	+	+	+	+	+	+	d	d	d	d	d	+	+	d	d	+	d	d	c	c	c	c	fc	c	c	c	+	+	+
El Tor 2	+	+	+	+	+	+	d	d	d	d	d	+	+	d	d	+	d	d	c	c	c	c	fc	c	c	c	+	+	+
" " V	+	+	+	+	+	+	d	d	d	d	d	+	+	d	d	+	d	d	c	c	c	c	fc	c	c	c	+	+	+
" " 4	+	+	+	+	+	+	d	d	d	d	d	+	+	d	d	+	d	d	c	c	c	c	fc	c	c	c	+	+	+
N. spez. El Tor 10	+	+	+	+	+	+	d	d	d	d	d	+	+	d	d	+	d	d	c	c	c	c	fc	c	c	c	+	+	+
Kadi Kjoj 25	fc	d	sp	+	+	+	d	d	d	d	d	+	+	d	d	+	d	d	c	c	c	c	fc	c	c	c	+	+	+

Hovorka (10) angegebene, mit Kristallviolett modifizierte Dieudonné-Nährboden versucht. Er erwies sich als gut brauchbar, nicht etwa, daß Pepton oder Dieudonné versagten, vielmehr hemmt er viel besser als Dieudonné alle anderen Bakterien außer Vibrionen am Wachstum.

Bei der ersten Untersuchung auf Hämotoxine waren die in Serbien zuletzt gezüchteten Stämme kaum 2 Wochen alt. Im Wachstum auf Gelatine, Agar, Bouillon (Häutchen), Indol etc. verhalten sich alle Stämme ganz typisch.

21 Kulturen stammen aus Bulgarien. Sie wurden von der Expedition des Herrn Prof. Kraus während des türkisch-bulgarischen Krieges Ende 1912 aus Dejekten gezüchtet und nach Wien gebracht.

4 Stämme (Galizien) wurden dem Serotherapeutischen Institut von Prof. Kučera überlassen.

Die übrigen 27 Cholerakulturen sind verschiedener Herkunft und Alters (vide Tabellen). Insgesamt 103 Cholerastämme.

Die von mir untersuchten Vibrionen und El Tor-Stämme sind alle in der Literatur bekannt und oft untersucht, mit Ausnahme des Stammes Kadi Kjoj 25. Leider konnte ich über ihn nicht viel erfahren. Er stammt aus Rumänien und wurde unserem Institut vor ca. 1 $\frac{1}{2}$ Jahren zugesandt. Auch weiß ich nicht, wie und woher er gewonnen wurde. Wie aus den Protokollen ersichtlich, verhält er sich ganz genau so wie die El Tor-Stämme und ist daher auch in diese Gruppe einzureihen. Er bildet akut tödliche Toxine, die durch ein Heilserum, das mittels El Tor-Toxin gewonnen, neutralisierbar sind.

Alle Stämme werden durch 2–3-wöchentliches Ueberimpfen auf Agar fortgezüchtet.

Agglutination.

In einer großen Anzahl von Untersuchungen auf Hämolyse wurde verabsäumt, die Agglutinationshöhe einzelner Stämme mit einem agglutinierenden Choleraimmunserum anzugeben. Mit Recht betont daher v. Knaut (11), daß gerade zur Entscheidung dieser Frage nebst der Hämolyse die Agglutination unbedingt zu fordern ist.

Frische Stämme können oft eine Pseudoagglutination vortäuschen, wie dies schon Friedberger und Luerssen (6) beschrieben. Obwohl nach einiger Zeit der Agglutinationstiter einzelner Stämme sinkt, wie dies Haendel und Woithe, Kraus und Müller nachwiesen, muß aber auch noch nach Monaten der Stamm bis annähernd zur Titergrenze des Serums agglutinieren.

Wir schwemmten 24-stündige Schrägagarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung ab und setzten 1 ccm der Aufschwemmung zu den ebenfalls in Kochsalzlösung hergestellten Serumverdünnungen 1600, 3200, 6400 und 12800. Kontrolle ohne Serum. Nach 1-stündigem Verweilen bei 37° und 24-stündigem bei Zimmertemperatur wurde abgelesen. Wie aus den Tabellen ersichtlich, agglutinieren die meisten frischen Stämme (Serbien wie Bulgarien) weit über die Titergrenze des Serums (1:4000). Auch die Mehrzahl der älteren Stämme verhält sich so, mit Ausnahme der Stämme Purgas 16 und Sanfierdareni.

Von den Vibrionen und El Tor-Stämmen agglutinierten nicht spezifisch El Tor 10, El Tor V und 4, Berlin und Kadi Kjoj; die anderen nur in niedrigen Verdünnungen oder bleiben gänzlich unbeeinflusst.

Blutplatten.

Zur Herstellung von Blutplatten verwendete Kraus (15) in den ersten Arbeiten Kaninchenblut. Prausnitz (32, 33), der mehrere

Blutarten untersuchte, fand das Kalbsblut zur Differenzierung am geeignetsten. Ihm schloß sich auch Schumacher (37) an, der über 150 Vibrionen mittels der Kalbsblutplatte zu differenzieren vermochte. Berestnjew (2), Pribram (34) verwendeten Pferdeblut. — Frisch gezüchtete Cholerastämme geben mit Kaninchenblut abweichende oder undeutliche Resultate — in der ersten Arbeit standen Kraus nur alte Laboratoriumskulturen zur Verfügung, — es wurde daher von Kraus und Prantschoff (22, 23), Kraus und Fukuhara (19) Hammel- oder Ziegenblut empfohlen. Nur solches ist zur Darstellung der Blutplatten zu verwenden.

Das frisch defibrinierte Blut wurde dem verflüssigten und auf 42° abgekühlten Agar (10 Proz.) zugesetzt, in diesem gleichmäßig verteilt, zu Platten gegossen. Es ist besonders zu betonen, daß das Blut frisch und gleichmäßig verteilt sei. Altes Blut ist geschädigt und neigt leicht zur Spontanhämolyse. Schon Kraus (15) sagt, „daß die Ursache für die manchmal beobachtete Aufhellung um den dichten Rasen doch mit größter Wahrscheinlichkeit in geschädigten Blutkörperchen gelegen sein dürfte“.

Bei zu wenig Nährboden trocknen die Platten leicht aus. Für kleine Petri-Schalen von 7 cm Durchmesser verwendet man am besten 12—15 ccm Nährboden. So sind sie auch längere Zeit ungeschädigt im Brutschrank haltbar.

Auch sei die Schicht des Nährbodens überall gleich dick. Wir legten einige Schalen schräg, so daß auf der einen Peripherie der Nährboden in dicker Schicht lag, auf der entgegengesetzten Seite ganz dünn. Auf dieser Seite trat nach Beimpfung Aufhellung auf, auf der dicken Nährbodenschicht nicht. Als Kontrollen dienten gut gegossene Platten, wo keine Veränderung auftrat. „Auch an dünnen Stellen der Platte gewachsene Kolonien, also an den fehlerhaften Stellen mit dünnem Farbenton, ist nicht selten, wenn auch schwache, Hofbildung um die isolierten Kolonien sichtbar, wie sie jedoch an genügend dicken Stellen der Platte nie zu beobachten ist.“ [Schumacher (37)].

Mit frischem Hammelblut bereitete Platten erhalten durch 4—6 Tage bei 37° ihre normale hellrote Farbe. Nach Ablauf dieser Zeit wird die Platte dunkel und ist dann unbrauchbar. Ziegenblut scheint resistenter zu sein.

Auf die homogen aussehende Blutplatte wurde nun von einer 24-stündigen Agarkultur mit der Oese ein Strich geimpft und dann, bei 37° gehalten, nach bestimmter Zeit abgelesen.

Kein einziger der 103 Cholerastämme zeigte weder auf der Hammel- noch auf der Ziegenblutplatte nach 1, 2 und 3 Tagen auch nur eine Spur von Aufhellung.

Die meisten Vibrionen zeigten schon nach 8—12 Stunden Spuren, nach 24 Stunden eine deutliche Aufhellungszone.

Wir versuchten nun bei 48 serbischen Stämmen — leider sind mir weitere 3 Stämme eingegangen — die geschädigten, dunkel gewordenen, also unbrauchbaren Blutplatten weiter im Brutschrank zu halten. Die Ziegenblutplatten waren am 6. oder 7. Tage dunkel geworden, am 8. Tage zeigten die Stämme 73, 114, 167, 177 schon an einzelnen Stellen Aufhellung. Am 14. Tage hellte die Mehrzahl der Stämme auf. Auch der von Foges für Pneumokokken angegebene Nährboden wird aufgehellt. Von einer Hämolyse kann hier natürlich keine Rede sein.

Noch deutlichere Resultate ergeben Platten mit durch destilliertes Wasser geschädigtem Blutfarbstoff. (1 ccm Ziegenblut + 1 ccm Aqu. dest. zu 10 ccm Agar.) Die Platten, die leuchtend rot, fast durchsichtig sind, verlieren diese Farbe schon nach 24-stündigem Verweilen bei 37°.

Nach 48 Stunden trat bei den meisten Stämmen eine Grünfärbung des Nährbodens auf, die mit der Zeit noch fortschreitet.

40 Stämme, die am 14. Tage die schwarz gewordene Ziegenblutplatte aufhellten, veränderten auch die hämolysierte Blutplatte. 7 Stämme (34, 77, 94, 262, 272, 373 und 452), die am 14. Tage noch keine Aufhellung zeigten, veränderten auch die hämolysierte Blutplatte nicht.

Bei den untersuchten Vibrionen tritt in den ersten 48 Stunden auf den hämolysierten Blutplatten keine Veränderung ein. Nachher aber — also gänzlich unabhängig von der Hämolyse — treten um einzelne Stämme grüne Aufhellungszonen auf.

Um den ausgetretenen Blutfarbstoff in das grügefärbte Produkt umzuwandeln, genügt ein proteolytisches Ferment, bei den unversehrten Blutkörperchen ist außerdem ein „hämolysierendes“ nötig, das sich bei Choleravibrionen nicht vorfindet.

Wie Schumacher nachwies, bewirken alle Gelatine verflüssigenden Bakterien auch eine Aufhellung des ausgetretenen Blutfarbstoffes, während Bakterien mit hämolysierenden Eigenschaften (in flüssigen Nährböden) ohne Gelatineverflüssigungsvermögen die intakte Blutplatte nicht aufhellen.

v. Loghem (26) beschreibt bei nicht geschädigten Blutplatten Aufhellung durch Choleravibrionen nach 24-stündigem Wachstum — „Hämodigestion“ —. Die Schnelligkeit der Aufhellung hält mit der Gelatineverflüssigung Schritt. Bei unseren Stämmen, die größtenteils schon am 2. Tage eine deutliche Verflüssigung der Gelatine bewirkten, war zu dieser Zeit, so auch nicht später, eine Auflösung der intakten Erythrocyten zu vermerken. Hingegen bewirken schnell Gelatine verflüssigende Choleravibrionen schneller die Aufhellung des ausgetretenen Blutfarbstoffes.

Es ist daher anzunehmen, daß die Gelatineverflüssigung wie die Aufhellung des ausgetretenen Hämoglobins durch ein und dasselbe Ferment bewirkt wird.

Wir impften auch die Kulturen auf Zuckerbouillonserum-Loeffler-Platten. Auf gleich dicker Nährbodenschicht tritt die Aufhellung und Auflösung des geronnenen Eiweißes gleichzeitig mit der Blutfarbstoffaufhellung ein.

Von Gelatineblut- und Agarhämoglobinplatten (Hämoglobin Merck), die ebenfalls untersucht wurden, sahen wir keine Vorteile.

Baerthleins flüssiger Nährboden.

Baerthlein (1) glaubt, in einer 5-proz. Aufschwemmung von gewaschenen Hammelbluterythrocyten ein empfindliches Reagens zur Prüfung auf Hämotoxine zu sehen. Wir prüften die 51 serbischen Cholerastämme und die Vibrionen mit Hammel- und Ziegenblut. Schon nach 12-stündigem Stehen bei 37° zeigten die Vibrionen Hämolyse, ganz deutlich nach 24 Stunden. In 5 ccm der 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung impften wir 1 Oese — Baerthlein impft $\frac{1}{5}$ Oese — einer 24-stündigen Agarkultur. Die Cholerastämme zeigten in Ziegenblutaufschwemmung selbst nach 3 Tagen nicht einmal Spuren einer Hämolyse, wogegen die Hammelblutaufschwemmungen am 3. Tage bereits von 41 Stämmen hämolysiert wurden. Dieselben Stämme bildeten weder auf Hammel- noch auch auf Ziegenblutplatten Hämotoxine, noch konnten in den abzentrifugierten Bouillonkulturen Hämotoxine nachgewiesen werden. Die von Baerthlein angegebene Hammelblut-

körperchenaufschwemmung erwies sich daher zur Entscheidung dieser Frage als unbrauchbar.

Bouillonhämotoxine.

Wenn auch von verschiedenen Autoren auf Platten „hämolyisierende“ Cholerastämme beschrieben wurden, so konnte doch in der Mehrzahl der Fälle der Beweis für Hämotoxinbildung in Bouillonkultur nicht erbracht werden. Wurde der möglichst von Vibrionen befreiten Bouillonkultur Blutkörperchen zugesetzt, so war die direkte Einwirkung der Choleravibrionen auf diese ausgeschaltet, eine Verwechslung mit Hämolyse daher unmöglich. Es sind deswegen die Versuchsergebnisse mit Bouillonkulturen viel einheitlicher.

Wir beimpften Bouillonröhrchen (5–6 ccm Inhalt) und ließen diese 5 Tage im Brutofen. Erfahrungsgemäß ist nach dieser Zeit — wenn überhaupt — reichlich Hämotoxin gebildet. Am 6. Tage wurden die Röhrchen durch langes scharfes Zentrifugieren (5–6 Stunden!) bis zur völligen Klarheit zentrifugiert, 0,1 und 1 ccm davon zu 2 ccm einer zweimal gewaschenen 5-proz. Meerschweinchen- und Kaninchenblutaufschwemmung zugesetzt. Nachdem die Röhrchen 1 Stunde bei 37° gestanden, wurde zum erstenmal, nach weiteren 24 Stunden Zimmertemperatur zum zweitenmal abgelesen.

Kein einziger der 103 Cholerastämme bildete auch nur Spuren von Hämotoxin in der Bouillonkultur. Während die meisten gleichalterigen Vibrionenkulturen selbst in Mengen von 0,1 ccm schon nach 1 Stunde Lyse ergeben, war bei den Cholerastämmen in Mengen von 1 ccm auch nach 24-stündigem Einwirken auf Blutkörperchen nichts dergleichen zu sehen.

Demnach erscheint nach unseren Untersuchungen die Hämotoxinbildung eines Stammes erst dann einwandfrei erwiesen, wenn außer der Hämolyse auf der Blutplatte auch Bouillonhämotoxine nachgewiesen werden.

Zusammenfassung.

Weder auf 10-proz. Hammel- und Ziegenblutplatten, noch in Bouillon produziert der Choleravibrio Hämotoxine.

Auf Platten mit geschädigten Blutkörperchen vermag ein proteolytisches Ferment des Choleravibrio — das mit der Gelatine verflüssigenden identisch zu sein scheint — den ausgetreteneu Blutfarbstoff aufzuhellen.

Dieses Ferment findet sich auch bei verschiedenen Vibrionen — gänzlich unabhängig von deren hämolysierenden Eigenschaften.

Choleravibrionen fehlt das „hämolyisierende Ferment“, und es spricht deshalb der Hämotoxinnachweis bei einem Vibrio gegen dessen Cholernatur.

Zum Nachweis von Hämotoxinen sind frische 10-proz. Hammel- und Ziegenblutplatten sowie auch Bouillontoxine zu verwenden.

Literatur.

- 1) Baerthlein, Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 36. 1910.
- 2) Berestnjew, Wratsch. 1905. Zit. Pribram.
- 3) Bitter, Arch. f. Hyg. Bd. 5. 1886.

- 4) Bürgers, Hyg. Rundsch. Bd. 20. 1910.
- 5) Buroff, W. u. A., Arch. biol. Nauk. Bd. 17. Ref.
- 6) Friedberger u. Luerssen, Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 40.
- 7) Fukuhara, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 48.
- 8) Gotschlich, F., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 53. 1906.
- 9) Haendel u. Woithe, Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 34. 1910.
- 10) Hofer u. Hovorka, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913.
- 11) v. Knauth, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62.
- 12) Hunttemüller, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 68. 1911.
- 13) Kolle u. Meinicke, Klin. Jahrb. Bd. 15. 1905. H. 1.
- 14) Koch, R., Berlin. klin. Wochenschr. 1884.
- 15) Kraus, Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 50.
- 16) —, Ebenda. 1906. No. 22.
- 17) —, Ebenda. 1907. No. 42.
- 18) —, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34.
- 19) — u. Fukuhara, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 3. 1909.
- 20) —, Graham u. Zeky Zia, Dtsche med. Wochenschr. 1911. No. 32.
- 21) — u. Müller, Wien. klin. Wochenschr. 1910. No. 44.
- 22) — u. Prantschoff, Ebenda. 1906. No. 11.
- 23) — —, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41.
- 24) — u. Pribram, Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 39.
- 25) — —, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41.
- 26) v. Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57, 67, 70.
- 27) Meinicke, Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 23.
- 28) —, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 50. 1905.
- 29) Mühlens u. Raven, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 55. 1906.
- 30) Neufeld u. Haendel, Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 26. 1907.
- 31) Pfeiffer u. Friedberger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908.
- 32) Prausnitz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 43.
- 33) —, Berlin. klin. Wochenschr. 1905.
- 34) Pribram, Handb. d. pathog. Mikroorg. 2. Aufl.
- 35) Prochnik, Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 39.
- 36) Ruffer, Ges. f. ägypt. Veröffentl. 1907. Ref.
- 37) Schumacher, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 54. 1906.

Nachdruck verboten.

Ueber die Agglutination der Kapselbacillen.

Untersuchungen über die Bedeutung der einzelnen Bestandteile der Bakterienzelle für die Agglutininzeugung und für den Vorgang der Agglutination.

[Aus der medizinischen Klinik Erlangen (Direktor: Geheimer Hofrat Penzoldt).]

Von Dr. E. Toenniessen.

Mit 3 Textfiguren.

Die Frage nach der Agglutinabilität der Kapselbacillen wurde durch Porges in Anknüpfung an Vermutungen Paltauf's dahin entschieden, daß die Kapselbacillen zwar Agglutinin binden, daß aber das Vorhandensein der Kapseln die Ausflockung der Bakteriensuspension verhindert. Porges brachte die Kapseln durch ein chemisches Verfahren zur Auflösung und erhielt auf diese Weise agglutinable Kulturen, Streit züchtete die Kapselbacillen bei niederer Temperatur, wobei sie kapsellos wuchsen, Beham gewann durch ein bestimmtes Kulturverfahren aus kapselbildenden Stämmen eine kapselfreie Rasse, die seinen Angaben nach zu schließen durch Mutation aus der kapselbildenden Form hervorgegangen ist. Die kapselfreie Mutante ergab beständigere

und regelmäßiger agglutinable Kulturen als sie durch das Porgessche Verfahren zu gewinnen waren. Beham konnte sein Verfahren auch praktisch verwerten; er bekam durch Verwendung der kapsellosen Mutante sehr gute Resultate bei der Diagnose des Rhinoskleroms und der Ozaena. Im Tierversuch eignete sich die kapsellose Mutante sehr gut sowohl zur Erzeugung der agglutinierenden Sera als auch zum Nachweis der Agglutinine.

Agglutinationserscheinungen der Kapselbacillen zeigten sich auch beim Wachstum der Bacillen in agglutininhaltigen Flüssigkeiten. So wurde die Bildung von Bakterienkonvoluten von Landsteiner, Fadenwachstum von Kraus und Donath, makroskopische Agglutination beim Wachstum in einem Gemisch von Immunserum und Bouillon von Klemperer und Scheier beobachtet.

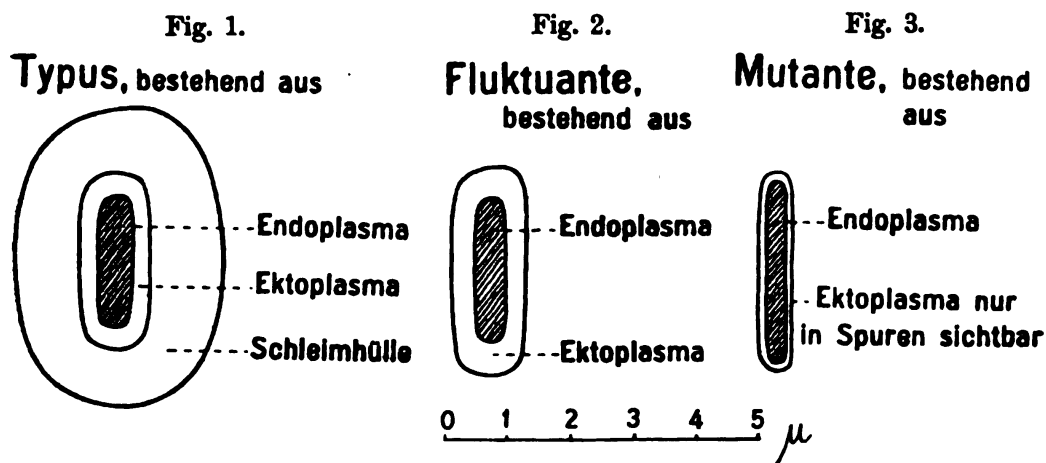
Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigen sich hauptsächlich mit der Frage, welche Bedeutung die Variabilität der Kapselbacillen für die Agglutininerzeugung und für die Agglutinierbarkeit besitzt. Die auffallenden Unterschiede in der morphologischen und chemischen Zusammensetzung der Bacillen, welche die Variabilität mit sich brachte, forderten zu derartigen Untersuchungen auf. Es mag vorausgeschickt werden, wie sich der morphologische Aufbau der Bakterien durch den Eintritt der Variationen änderte. Verwendet wurde zu den Versuchen ein Stamm des Friedländerschen Pneumoniebacillus. Ueber die Gewinnung der Varianten, ihre Bezeichnung und ihre Beurteilung vom Standpunkt der Vererbungslehre habe ich früher schon berichtet (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Org. Bd. 73).

Der normale Bacillus (= Typus) setzt sich grobmorphologisch aus 3 Partialantigenen zusammen: dem mit den üblichen Methoden leicht färbaren Zellinhalt (Endoplasma), der nicht färbaren Zellmembran (Ektoplasma) und der Schleimhülle, die sich durch Methylenblau metachromatisch (violett) färbt.

Durch bestimmte Bedingungen der künstlichen Kultivierung ließen sich zwei vom Typus abweichende erblich konstante Rassen gewinnen, welche als Fluktuante und Mutante bezeichnet wurden.

Die Fluktuante unterschied sich vom Typus morphologisch nur durch das Fehlen der Schleimhülle. Der Bakterienleib war ebenso geformt und von gleicher Größe wie bei den Individuen des Typus, bestand also aus deutlich unterscheidbarem Endoplasma und breitem Ektoplasma; daß die Schleimhülle fehlte, ließ sich makroskopisch durch fehlende Schleimbildung der Kulturen, mikroskopisch durch Tuschepräparate oder Methylenblaufärbung zeigen, wobei die rotviolett sich färbenden schleimigen Hüllen des Typus vollkommen fehlten.

Die Mutante war ebenfalls kapselfrei. Sie ist mit der von Beham zur Agglutination verwendeten Form identisch. Außer der fehlenden Schleimbildung unterschied sie sich vom Typus noch dadurch, daß der Bakterienleib bei ihr schlanker und das Ektoplasma, besonders wenn die Kultivierung schon längere Zeit auf künstlichem Nährboden stattgefunden hatte, im Tuschepräparat nicht mehr oder wenigstens nur in Spuren zu sehen war. Hierdurch unterschied sich die Mutante auch wesentlich von der Fluktuante, die ein breites Ektoplasma besitzt. Die beschriebenen morphologischen Eigenschaften sind auf das genaueste durch das Tuscheverfahren festzustellen. Beifolgende Skizze soll den morphologischen Aufbau des normalen Bacillus und der Varianten in schematischer Weise veranschaulichen.



Die geschilderten drei Formen sind unter bestimmten Bedingungen leicht erblich konstant zu erhalten, und es war dadurch möglich, die Bedeutung der drei Bestandteile: Endoplasma, Ektoplasma und Schleimhülle bei der Agglutininerzeugung sowie bei dem Vorgang der Ausflockung zu untersuchen.

Methodik: Die Immunsera wurden von Kaninchen gewonnen. Die Tiere wurden in Zwischenräumen von 7–10 Tagen intravenös geimpft, und zwar mit jedem Antigen drei Tiere, davon eines 4mal, eines 6mal und eines 10mal. Hierdurch wurden individuelle Schwankungen der Agglutininbildung ausgeschlossen. Das Antigen bestand in 24-stündigen Schrägagarkulturen, welche in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 1 Stunde lang bei 60–65° sterilisiert wurden. Es wurde jedesmal 1 ccm der Aufschwemmung intravenös injiziert. 10–14 Tage nach der letzten Injektion wurden die Tiere aus der Carotis entblutet, das Serum nach der Uhlenhuthschen Methode keimfrei filtriert und in Glasröhrchen abgefüllt. Die Glasröhrchen wurden ohne Zusatz eines Antiseptikums zugeschmolzen. Die Sera erwiesen sich bis jetzt, d. h. auf die Dauer von 2 Jahren, tadellos haltbar.

Die Agglutinationen wurden makroskopisch vorgenommen. Die Bakterienemulsionen wurden dadurch gewonnen, daß 24-stündige Agarkulturen in 10 ccm Phenolkochsalzlösung (Phenol 0,5 Proz., Kochsalz 0,8 Proz.) aufgeschwemmt wurden. Es ergaben sich gute Suspensionen, welche einige Tage nach ihrer Anfertigung verwendet wurden. Sie waren steril und zeigten keine Spontanagglutination. Die Resultate der Agglutinationsversuche wurden abgelesen, nachdem die Röhrchen 24 Stunden im Brutschrank bei 37° gestanden waren. Außerdem wurden die Agglutinationserscheinungen auch an lebenden, im Wachstum begriffenen Kulturen beobachtet. Die Grade der Reaktion wurden in den Tabellen folgendermaßen bezeichnet:

- +++ komplette Agglutination, Bakterien zu einem Häutchen verklebt am Boden liegend, überstehende Flüssigkeit klar;
- ++ der gleiche Befund, nur die überstehende Flüssigkeit noch etwas getrübt;
- + Flüssigkeit noch stärker getrübt, aber zugleich deutliche Flockenbildung;
- ± fragliche Reaktion.
- keine Ausflockung.

I. Versuche mit karbolisierten Kulturen. Sera gewonnen durch 10mal wiederholte Injektionen, Tiere entblutet 1. Okt. 1912. Agglutinationsversuch angesetzt 1. Juli 1913, Sera also 10 Monate alt.

Serum	Verdünnung	Bakterien	Resultat
Serum Typus dgl.	1/20	Typus	—
	1/40	"	—
	1/80	"	—
	1/160	"	—
	1/320	Fluktuante	+++
	1/40	"	+++
	1/80	"	+++
	1/160	"	—
	1/320	Mutante	+++
	1/40	"	+++
	1/80	"	+++
	1/160	"	+++
Serum Fluktuante dgl.	1/20	Typus	—
	1/40	"	—
	1/80	"	—
	1/160	Fluktuante	+++
	1/320	"	+++
	1/40	"	+++
	1/80	"	+++
	1/160	"	—
	1/320	Mutante	+++
	1/40	"	+++
	1/80	"	+++
	1/160	"	+++
Serum Mutante dgl.	1/20	Typus	—
	1/40	"	—
	1/80	"	—
	1/160	Fluktuante	±
	1/320	"	—
	1/40	"	—
	1/80	"	—
	1/160	Mutante	+++
	1/320	"	+++
	1/40	"	+++
	1/80	"	+++
	1/160	"	+++
1/320	"	+++	

Ganz analoge Resultate ergaben später wiederholte Versuche.

In den folgenden Tabellen wurden die Sera durch 4—6malige Injektionen gewonnen. Die Tiere wurden getötet im Juli und August 1913, die Agglutinationsversuche angesetzt im April 1914, die Sera waren also bei ihrer Verwendung ungefähr ebenso alt wie beim vorigen Versuch.

Serum	Verdünnung	Bakterien	Resultat
Serum 13 (Typus, 4 In.) dgl.	1/2	Typus	±
	1/30	"	—
	1/300	"	—
	1/3	Fluktuante	+++
	1/30	"	—
	1/300	"	—
	1/3	Mutante	+++
	1/30	"	+++
	1/300	"	+
	1/3000	"	±

Serum	Verdünnung	Bakterien	Resultat
Serum 12 (Typus, 6 In.) dgl.	1/2	Typus	+++
	1/20	"	—
	1/200	"	—
	1/2	Fluktuante	+++
	1/20	"	+++
	1/200	"	—
	1/2	Mutante	+++
	1/20	"	+++
	1/200	"	+++
Serum 15 (Fluktuante, 4 In.) dgl.	1/2	Typus	+++
	1/20	"	—
	1/200	"	—
	1/2	Fluktuante	+++
	1/20	"	++
	1/200	"	—
	1/2	Mutante	+++
	1/20	"	+++
	1/200	"	++
Serum 14 (Fluktuante, 6 In.) dgl.	1/2	Typus	++
	1/20	"	—
	1/200	"	—
	1/2	Fluktuante	+++
	1/20	"	±
	1/200	"	—
	1/2	Mutante	+++
	1/20	"	+++
	1/200	"	+
Serum 16 (Mutante, 4 In.) dgl.	1/2	Typus	—
	1/20	"	—
	1/200	"	—
	1/2	Fluktuante	—
	1/20	"	—
	1/200	"	—
	1/2	Mutante	+++
	1/20	"	+++
	1/200	"	++
Serum 17 (Mutante, 6 In.) dgl.	1/2	Typus	—
	1/20	"	—
	1/200	"	—
	1/2	Fluktuante	±
	1/20	"	—
	1/200	"	—
	1/2	Mutante	++
	1/20	"	+++
	1/200	"	+++
	1/2000	"	+

II. Versuche mit wachsenden Kulturen. 1 Oese einer 24-stündigen Bouillonkultur wurde in eine Menge von 2 ccm Serum bzw. dessen Verdünnungen ausgesät, die Röhren 24 Stunden bei 37° belassen, das Resultat dann abgelesen. Die Resultate waren oft schon nach 6 Stunden deutlich, nach 24 Stunden am deutlichsten. Später gelangten die Bakterien wieder zum Wachstum, ohne agglutiniert zu werden, vermutlich deshalb, weil allmählich alles Agglutinin gebunden wurde.

Serum	Verdünnung	Bakterien	Resultat
Serum 12 (Typus, 6 In.) dgl.	1/1	Typus	+
	1/10	"	±
	1/100	"	—
	1/1	Fluktuante	+++
	1/10	"	+++
	1/100	"	±
	1/1	Mutante	++
	1/10	"	+++
	1/100	"	+++
Serum 15 (Fluktuante, 4 In.) dgl.	1/1	Typus	+++
	1/10	"	±
	1/100	"	—
	1/1	Fluktuante	+++
	1/10	"	+++
	1/100	"	—
	1/1	Mutante	++
	1/10	"	+++
	1/100	"	+++
Serum 17 (Mutante, 6 In.) dgl.	1/1	Typus	—
	1/10	"	—
	1/100	"	—
	1/1	Fluktuante	++
	1/10	"	—
	1/100	"	—
	1/1	Mutante	++
	1/10	"	+++
	1/100	"	+++

Normalserum beeinflusste den Typus und die Fluktuante gar nicht, die Mutante bloß bis 1:10.

Versuche, durch Injektion älterer Kulturen, die wesentlich stärker toxisch auf das Kaninchen einwirken und bei der Maus den stärksten Grad von Immunität herbeiführen, höherwertige Sera zu erhalten, mißlingen. Es wurde nur der gleiche Titer wie bei Verwendung frischer Kulturen erreicht.

Da in älteren Kulturen des Typus die Kapseln zum größten Teil zerfallen (vermutlich autolytisch), wurde versucht, derartige Kulturen zum Agglutinationsversuch zu verwenden; sie zeigten ungefähr die gleiche, meist etwas schlechtere Agglutinierbarkeit als die morphologisch fast gleiche Fluktuante. Dies erklärt sich dadurch, daß derartige Kulturen doch immer noch ziemlich viele Individuen mit breiten Kapseln enthalten, die nicht agglutinabel sind. Alte Kulturen geben deshalb weniger klare Resultate, sind also schlechter brauchbar als die Fluktuante.

Aus den Tabellen ist das Wesentliche hinsichtlich der Agglutinabilität der verwendeten Bacillenformen sowie ihre Wirksamkeit als Antigen zu ersehen. Die Immunsera zeigten je nach Beschaffenheit des Antigens sehr gute Uebereinstimmung ihrer Wirksamkeit, und ebenso zeigten sich die einzelnen Formen des Bacillus in ihrer Agglutinierbarkeit konstant.

Der Typus wurde komplett agglutiniert nur durch konzentriertes Serum, die Fluktuante bis zur Verdünnung 1:80, die Mutante bis zur Verdünnung 1:1000.

Im einzelnen ergab sich bei der Agglutination des Typus, daß er nur durch das Immunserum des Typus und der Fluktuante agglutiniert

wurde, und zwar von beiden in gleich starker Weise. Da die Fluktuante keine Schleimhülle besitzt, so kann das durch sie erzeugte, auf den Typus wirksame Agglutinin nicht durch Substanzen der Schleimhülle entstanden sein und auch nicht in der Schleimhülle zur Reaktion kommen. Da außerdem der mit Schleimhülle versehene Typus als Agglutinogen nicht wirksamer war als die schleimlose Fluktuante, so ist zu folgern, daß die Schleimhülle als wirksames Agglutinogen nicht in Betracht kommt. Das durch die Mutante erzeugte Immunserum agglutinierte den Typus nicht. Es genügt also das bei der Mutante nur mit Spuren von Ektoplasma versehene Endoplasma nicht dazu, um die Bildung wirksamer Agglutinine gegen den Typus hervorzurufen. Daraus folgt, daß die für die Ausflockung des Typus wirksamen Agglutinine mindestens zu einem Teil durch Substanzen des Ektoplasmas erzeugt sein müssen.

Die Fluktuante wird ebenfalls nur durch Immunserum des Typus oder der Fluktuante agglutiniert, und zwar gleich stark. Es zeigt also auch ihr gegenüber die Schleimhülle keine Agglutinogenwirkung. Das Fehlen der Schleimhülle verstärkt dagegen die Agglutinierbarkeit. Wie beim Typus wirkt auch bei der Fluktuante ein durch die Mutante erzeugtes Immunserum nicht agglutinierend. Daraus folgt, daß auch bei der Agglutination der Fluktuante Substanzen des Ektoplasmas als Agglutinogen von Wichtigkeit sind.

Nur die wachsende Fluktuante zeigt sich agglutinabel durch Mutantenserum, wenn auch sehr wenig. Die Fluktuante ist also im Stadium des Wachstums empfindlicher gegen die Agglutinine des Mutantenserums, eine Tatsache, die sich wahrscheinlich durch den später zu erörternden Mechanismus der Agglutination erklärt.

Die Mutante wird durch alle Sera agglutiniert, und zwar ungefähr gleich stark. Es zeigte also auch ihr gegenüber die Schleimhülle keine, nur ihr allein zukommende Bedeutung als Agglutinogen. Auch das breite Ektoplasma des Typus und der Fluktuante bewirkte gegenüber der Mutante keine stärkere Agglutininbildung als die Mutante allein, die fast kein sichtbares Ektoplasma besitzt. Die Mutante wird also entweder durch ein Agglutinin, welches durch das Endoplasma erzeugt ist, allein oder auch durch ein Agglutinin, welches durch das gering ausgebildete Ektoplasma der Mutante erzeugt ist, ausgefällt.

Die beobachteten Resultate lassen sich auf einheitliche Weise erklären durch die Annahme, daß die agglutinierende Wirkung der Sera bzw. die Agglutinabilität der Bakterien um so größer ist, je näher an der Oberfläche der Bakterien die Reaktion zwischen Agglutinin und Agglutinogen stattfindet. Dies entspräche der Vermutung Paltauf's, daß die Agglutination auf einer Gerinnungsbildung an der Oberfläche der Bakterien beruht. Die Schleimhülle zeigte gegenüber allen Bacillenformen keine Wirkung als Agglutinogen. Gegen sie wird anscheinend kein Agglutinin gebildet. Dies deckt sich gut mit einer schon früher von mir geäußerten Vermutung, daß die Schleimhülle der Kapselbacillen nicht aus einem eiweißartigen Körper, sondern aus einem höher molekularen Kohlehydrat besteht (cf. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. p. 397). Infolgedessen wird gegen den Typus kein Agglutinin gebildet, welches in den äußeren Schichten der Bakterien zur Reaktion gelangt. Erst zwischen Ektoplasma und Immunserum findet eine Reaktion statt. So erklärt sich die schlechte Agglutinierbarkeit des Typus. Die hauptsächlich durch Endoplasma und nur durch Spuren von Ektoplasma be-

dingte Agglutinogenwirkung der Mutante genügt, da hierbei die Reaktion wohl hauptsächlich nur im Endoplasma stattfindet, nicht zur Ausflockung.

Die Fluktuante besitzt keine Schleimhülle. Das Ektoplasmaagglutinin wirkt demnach an der Oberfläche des Bakteriums, und so kommt es zu beträchtlicher Agglutinabilität. Daß die Agglutinabilität nicht so groß ist wie bei der Mutante, ist wohl durch das breite Ektoplasma der Fluktuante bedingt, welches die Oberflächenwirkung des gegen das Endoplasma gerichteten Agglutinins verhindert. Nur im Stadium des Wachstums ist die Fluktuante in geringem Grade durch Mutantenserum agglutinierbar, vielleicht aus dem Grunde, weil von den wachsenden Keimen mehr Endoplasmaagglutinin aufgenommen wird oder weil bei den wachsenden Keimen auch die geringe Menge des Ektoplasmaagglutinins im Mutantenserum zur Ausflockung genügt.

Die Mutante besitzt keine Schleimhülle und nur sehr wenig Ektoplasma. Bei ihr wirkt demnach das Ektoplasmaagglutinin ganz an der Oberfläche der Bakterien und das Endoplasmaagglutinin faßt ganz an der Oberfläche der Bakterien ein, und so ist die hohe Agglutinabilität der Mutante auch durch ihr eigenes, anscheinend nur wenig Ektoplasmaagglutinin enthaltendes Serum zu erklären.

Zusammenfassung.

Aus den mitgeteilten Befunden geht hervor, daß die einzelnen Bestandteile der Kapselbakterien eine verschiedene Bedeutung als Agglutinogene besitzen. Die Schleimhülle erwies sich als wirkungslos. Zwischen Ektoplasma und Endoplasma ergaben sich deutliche Unterschiede. Dies deckt sich mit den Befunden de Rossis, der bei einem als *Bacillus subtilis* Ehrenberg bezeichneten Mikroorganismus eine verschiedene Agglutinogenwirkung des Bakterienkörpers und der Geißeln sowohl unter sich als auch im Vergleich zum gesamten Bakterienleib nachwies. Die Bakterienmembran bzw. in ihr enthaltene Stoffe sind also bei der Erzeugung wirksamer Agglutinine von Bedeutung, nicht nur das Endoplasma kommt hierfür in Betracht.

Die für die Ausflockung der Bakterien maßgebende Reaktion findet wahrscheinlich in den äußeren Schichten der Bakterien statt. Je näher an der Oberfläche der Bakterien eine Bindung von Agglutinin und Agglutinogen eintritt, desto wirksamer ist das Agglutinin und desto besser agglutinierbar das Bakterium. So erklärt sich die schlechte Agglutinabilität des mit breiten Kapseln versehenen Typus, die mittlere Agglutinabilität der Fluktuante und die hohe Agglutinabilität der Mutante.

Literatur.

- Paltauf, Die Agglutination. (Kolle-Wassermanns Handb. 2. Aufl. Bd 2. 1913. u. die dort zitierten Arbeiten von Donath, Klemperer u. Scheier, Kraus, Landsteiner, Paltauf, Porges, de Rossi, Streit.)
Behm, Die agglutinatorischen Eigenschaften der Kapselbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66.)

Nachdruck verboten.

On the presence of so called "complement" in milk.

[From the Bacteriological Dept., University of London Kings' College.]

By

B. Tanner Hewlett,
M. D., F. R. C. P., D. P. H.,
Professor of Bacteriology in the Uni-
versity of London.

and

Cecil Revis,
Chief Chemist, Messrs Welford & Sons
Limited, London, W.

Attention was first directed to the presence of a substance in milk acting as complement by Pfaundler and Moro (1) and from that time onwards, there has been much conflicting evidence published on this subject. Kopf (2) stated that complement could not be demonstrated in milk when using the method of Pfaundler and Moro, and the work of Sassenhagen and Bauer (3) would seem to shew that complement is not present in milk unless the milk of cows suffering from mastitis be present. Sassenhagen (4) in a later paper states that complement is present in the colostrum of cows and goats and that it disappears as lactation progresses. Lane-Claypon (5) has followed Pfaundler and Moro but states that complement can be found in almost any milk.

The mere presence or absence of complement in milk is of somewhat academic interest, except from the point of view of the pediatrician, but the stress laid on the fact that its presence is almost diagnostic of mastitis, necessitates a clear understanding of the question.

We have carefully re-investigated the matter using milk from single healthy cows, mixed milk of healthy cows, colostrum, and milk from cows suffering from very slight inflammatory or catarrhal conditions of the udder, or possessing abnormal characteristics in one or more quarters.

On account of the ease of procedure we have used the hemolytic system proposed by Pfaundler and Moro, but employing (at first) the quantities given by Bauer and Sassenhagen viz:

- 1.0 c. c. milk
- 0.5 „ 5% suspension of guinea-pig corpuscles
- 0.2 „ inactivated ox-serum.

From our experiments, it is quite clear that much of the conflicting evidence on this subject has been due to the very variable content of amboceptor present in different samples of inactivated ox serum.

Some preliminary experiments showed that, in general, 0.2 c. c. of the heated serum might be sufficient, but, in many cases, it was necessary to employ 0.4 or 0.5 c. c. to produce hemolysis in a control, using 0.1 c. c. of guinea-pig complement.

In any case, it is essential that the ox blood should be defibrinated and the serum obtained by centrifugalisation as rapidly as possible. After inactivation at 550, the serum keeps fairly well in the ice chest.

Some preliminary experiments showed that the order of addition of the various members of the hemolytic system was immaterial, as was also (within limits) the quantity of guinea-pig corpuscles. The hemolytic effect is entirely dependent on the quantity of amboceptor added. This is seen in the following table:

5 % Suspension of g. p. corps.	Saline	Heated Ox Serum	Milk	Result. ¹⁾
0.1 c. c.	0.7 c. c.	0.1 c. c.	1.4 c. c.	++++
0.2 "	0.6 "			++++
0.3 "	0.5 "			++++
0.4 "	0.4 "			++++
0.5 "	0.3 "	0.4 c. c.		++++
0.1 "	0.4 "			++++
0.2 "	0.3 "			++++
0.3 "	0.2 "			+++
0.4 "	0.1 "		+++	
0.5 "	0.0 "		+++	

The milk used in the above case always gave a strong hemolysis with guinea-pig corpuscles and heated ox serum. It was used after passing through a separator, as the peculiar action of the fat [as noted also by Lane-Clayton (l. c.)] is obviated.

That the complementary substance in milk is not attached to the globules is seen by the following results obtained with the same milk as used above:

Milk or Cream	Saline	Hemolysis		
		Whole milk	Skim milk	Cream.
1.0 c. c.	—	++++	++++	v. sl. pink
0.5 "	0.5 c. c.	+++	+++	—
0.25 "	0.75 "	++	++	—
0.15 "	0.85 "	—	—	—

In all the following experiments here recorded, the quantities of milk used, are alone given. It is to be understood that the quantity was always made up to 1.0 c. c. with saline; 0.5 c. c. of the 5 % suspension of guinea-pig corpuscles was always employed and the quantity of heated ox serum varied from 0.2 c. c.—0.5 c. c., as was required. The tubes used were 75 mm × 6 mm and the order of filling was (1) milk (2), saline, if necessary, (3) heated ox serum (the mixture was then shaken); lastly (4) guinea-pig corpuscles. The contents of the tube were then mixed by inversion two or three times. The tubes were kept in water at 37° for two hours, the contents being mixed after 30 minutes and 60 minutes, and were finally centrifuged for 10 minutes at 2000 revolutions per minute.

In all cases controls were carried out and as no experiments are recorded in which there was any failure in these, they are not further alluded to.

Cellular elements as a source of complement.

In the greater number of milks examined, a count was made of the number of cellular elements present, in order to determine if there were any connection between these and the presence of complement. The method employed was that described by ourselves and Villar (6).

1) The following signs are used to designate the hemolytic effect; ++++ Complete hemolysis; +++ Slight deposit of unlaked cells; ++ and + Increasing amount of unlaked cells, but pink colour distinct; — No hemolysis.

It will be seen that there is no general connection to be traced, though, as a rule, any cause which leads to a considerable cell count usually leads to the presence of "complementary substance". That this latter however is not directly due to the increased number of cells is seen from the following experiment.

A large quantity of these cellular elements was obtained from the milk of a cow, whose milk always gave a reaction for "complement" (see cow 24 infra) by centrifugalisation and the cells, after washing twice with saline, were diluted (1:20) with saline.

The emulsion was kept for 24 hours at about 5° C and then tested, but the presence of "complementary substance" could not be detected in 1 c. c. of the emulsion.

Colostrum.

Specimen 1.

Heifer 1st calving.

Sample taken 24 hours after calving.

Appearance, as ordinary milk.

Blood. Present in fair quantity.

Cells per c. c. 432 000. Many typical large cells present.

Hemolysis. 1.0 c. c. ++++; 0.5 c. c. ++; 0.25 c. c. ? v. sl. +.

Sample taken 72 hours after calving.

Appearance. Normal milk.

Blood. Trace.

Cells per c. c. 224 000.

Hemolysis. Negative.

Specimen 2.

Shorthorn cow 6 years old.

Sample taken 12 hours after calving.

Appearance. Very yellow (due to colour of fat). Long-chain streptococci present.

Blood. Trace.

Cells per c. c. 6 912 000.

Hemolysis. 1.0 c. c., 0.5 c. c., and 0.25 c. c. all ++++; 0.15 c. c. ++.

Mixtures of this colostrum with ordinary milk were made and 5% could be easily detected by hemolysis in 1.0 c. c. of the dilution.

This sample of colostrum was kept 24 hours at about 15° C, and again tested with practically similar results.

Sample taken 60 hours after calving.

Appearance. As the 12 hour sample, but not quite so yellow.

Blood. Trace.

Cells per c. c. 11 840 000.

Hemolysis. As in the 12 hour sample.

Mixtures of this sample with ordinary milk could be detected down to 10%.

Sample taken 5 days after calving.

Appearance. As last.

Blood. Not present.

Cells per c. c. 7 072 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. ++++; 0.5 c. c. ++; 0.25 c. c. and 0.15 c. c. negative.

Mixtures with milk which had been heated to 55° for 30 minutes, gave slight hemolysis in 10% dilution.

Specimen 3.

Heifer 3 years old.

Crossbred Jersey and Shorthorn.

Sample taken 24 hours after calving.

Appearance. As specimen 2, 12 hours.

Blood. Slight trace.

Cells per c.c. 720000.

Hemolysis. 1.0 c.c., 0.5 c.c., 0.25 c.c. and 0.15 c.c. all + + + +.

Mixtures with an ordinary milk allowed of the detection of 2% of the colostrum.

Sample taken 3rd day after calving.

Appearance. Somewhat yellow, but otherwise normal milk.

Blood. Not present.

Cells per c.c. 176000 but many very small cells, not included.

Hemolysis. 1.0 c.c. and 0.5 c.c. + + +; 0.25 c.c. ++; 0.15 c.c. +.

Mixtures, with milk heated at 55° for 30 minutes, all gave negative results.

Sample taken 5th day after calving.

Appearance. As last.

Blood. Not present.

Cells per c.c. 160000, not including many very small ones.

Hemolysis. As last sample.

Mixtures with heated (55°) milk, gave a very slight hemolysis in 10% dilution.

Specimen 4.

From a cow whose previous history was unknown.

Quite healthy. The first sample was taken 24 hours after calving. Six hours later, the cow was suffering from an acute attack of milk fever. By suitable treatment recovery took place very rapidly, and twenty four hours later she seemed quite normal, again.

Sample 1. Taken 24 hours after calving.

Appearance. Yellow, but otherwise normal milk.

Blood. Not present.

Cells per c.c., not counted.

Hemolysis. 1.0 c.c. + + + +; 0.5 c.c. + + +; 0.25 c.c. +; 0.15 c.c. v. sl. +.

Hemolysis with g. p. corpuscles only. All tests negative.

Hemolysis with sheeps corpuscles and special amboceptor (see end). All tests negative.

Mixtures of the above with ordinary milk shewed a + result in 10% admixture, and a slight hemolysis in 5% and 2%.

Sample 2. Taken 4 days after calving and about 48 hours after recovery from milk fever.

Appearance, Blood etc., as in sample 1.

Hemolysis. 1.0 c.c. + + + +; 0.5 c.c. + + +; 0.25 c.c. ++; 0.15 c.c. sl. +.

Hemolysis. With g. p. corpuscles only, 1.0 c.c. ++; rest negative.

Hemolysis. With sheeps corpuscles and special amboceptor. Result doubtful, there appeared to be a very slight hemolysis, but the control, without complement, also shewed a distinct though slight hemolysis. It is probable that no real action took place.

Mixtures with ordinary milk shewed a + result in 10% admixture, sl. + in 5% and negative in 2% admixtures.

Sample 3. Taken 8 days after calving.

Appearance. Almost normal milk, only slightly yellowish.

Blood. Not present.

Hemolysis. 1.0 c.c. sl. +; rest negative.

Hemolysis. With g. p. corpuscles only, 1.0 c.c. sl. +; rest negative.

Hemolysis. With sheeps corpuscles and special amboceptor. All tests negative

Mixtures with ordinary milk were all negative. The cells in this sample were not counted, but there were only a small number present.

An analysis of this last sample gave the following results: Fat 4.10 %, total solids 13.74 %, non-fatty solids 9.64 %, lactose 4.75 %.

From the above results it is quite evident that colostrum contains a complementary substance in considerable quantity, and that this persists over a period within which it is quite possible that the milk would be brought into general supply. It is quite useless to lay down a definite period within which such admixture should not be made as the persistence of abnormal milk after parturition varies very considerably in duration, and it is certain that a farmer will use such milk as soon as it is normal in appearance, without any regard to regulations to the contrary. From the above results it is also evident that such admixture may be detectable in other milk, at any rate, when present in a dilution of 1:10, which might quite easily occur in practice.

The effect of the attack of milk fever in introducing amboceptor into the milk temporarily is also to be noted.

Milks from single cows in healthy condition.

The following experiments were made with the milk from single cows in perfectly healthy condition, the examination being made at intervals in some cases. All these cows were in the 7th month of lactation.

A. Cow 3. Shorthorn. 5 years old, giving 10 quarts per day.

Sample 1. 20th Oct. 1913. Cells per c. c. 160 000.
Hemolysis. All tests negative.

Sample 2. 25th Nov. 1913. Cells per c. c. 864 000.
Hemolysis. 1.0 c. c. +. Rest negative.

Sample 3. 20th Jan. 1914. Cells per c. c. 480 000.
Hemolysis. 1.0 c. c. + + +. Rest negative. This sample had an extraordinarily high acidity when milked, viz. 25.7 degrees Thörner, but was quite normal in taste and appearance.

Sample 4. 3rd March 1914. Cow nearly dry.

Hemolysis. 1.0 c. c. + +. Rest negative. Using as a control, a very sensitive system of sheeps' blood corpuscles and rabbit-serum antigen, no hemolysis was obtained in 1.0 c. c. The acidity of the milk was still rather high — 21.3 degrees Thörner. The analysis of this last sample gave: Fat 4.65 %, total solids 14.28 %, non-fatty solids 9.63 %, lactose 4.72 %.

B. Cow 5. Shorthorn 6 years, giving 13 quarts per day.

Sample 1. 20th Oct. 1913. Cells per c. c. 368 000.
Hemolysis. All tests negative.

Sample 2. 25th Nov. 1913. Cells per c. c. 192 000.
Hemolysis. All tests negative.

Sample 3. 2nd Dec. 1913. Cells per c. c. 208 000.
Hemolysis. 1.0 c. c. + +; 0.5 c. c. v. sl. +. Rest negative.

Sample 4. 20th Jan. 1914. Cells per c. c. 128 000.
Hemolysis. 1.0 c. c. v. sl. +. Rest negative.

The acidity in this case also was singularly high, viz. 23.6 degrees Thörner.

Sample 5. 3rd March 1914. Cow nearly dry.

Hemolysis. All tests negative.

Analysis. Fat 3.50 %, total solids 12.82 %, non-fatty solids 9.32 %, lactose 4.78 %, acidity 21.3 degrees Thörner.

C. Cow 9. Shorthorn 9 years.

Sample 1. 20th Oct. 1913. Cells per c. c. 160 000.

Hemolysis. All tests negative.

Sample 2. 28th Nov. 1913. Cells per c. c. 80 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. + + + +; 0.5 c. c. + + +; 0.25 c. c. + +; 0.15 c. c. + +. The centrifugised deposit shewed many "capsular bodies" and many large cells.

Sample 3. 3rd March 1914. Cow nearly dry.

Hemolysis. All tests negative.

Analysis. Fat 3.45 %, total solids 12.96 %, non-fatty solids 9.51 %, lactose 4.58 %.

D. Cow 12. Shorthorn 7 years.

Sample 1. 20th Oct. 1913. Cells per c. c. 672 000.

Hemolysis. All tests negative.

Sample 2. 28th Nov. 1913. Cells per c. c. 304 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. + + + +; 0.5 c. c. + + +; 0.25 c. c. + + +; 0.15 c. c. + +.

E. Cow 15. Shorthorn 6 years.

Sample 1. 20th Oct. 1913. Cells per c. c. 608 000.

Hemolysis. All tests negative.

Sample 2. 28th Nov. 1913. Cells per c. c. 368 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. and 0.5 c. c. + + + +; 0.25 c. c. and 0.15 c. c. + + +.

Sample 3. 3rd March 1914. Cow nearly dry.

Hemolysis. 1.0 c. c. + +. Rest negative.

Control with sheeps' corpuscles and horse serum amboceptor. All tests negative.

Analysis. Fat 3.30 %, total solids 12.02 %, non-fatty solids 8.72 %, lactose 4.26 %.

F. Cow 10. Shorthorn 7 years. Nearly dry.

7th Nov. 1913. Cells per c. c. 656 000.

Hemolysis. 1.0 c. c., 0.5 c. c. and 0.25 c. c. all +.

G. Cow 2. Shorthorn 6 years. Nearly dry.

Sample 1. 18th Nov. 1913. Cells per c. c. 960 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. + + +. Rest negative.

Sample 2. 2nd Dec. 1913. Cells per c. c. 1 440 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. + +; 0.5 c. c. v. sl. +. Rest negative.

H. Cow 11. Shorthorn. Nearly dry.

18th Nov. 1913. Cells per c. c. 2 960 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. + + +; 0.5 c. c. +. Rest negative.

I. Cow 8. Shorthorn. Nearly dry.

5th Dec. 1913. Cells per c. c. 176 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. + +; 0.5 c. c. +. Rest negative.

In the centrifugised deposit of the sample "capsular bodies" were present, and many large cells.

Analysis. Fat 3.95 %, total solids 12.62 %, non-fatty solids 8.67 %, lactose 4.08 %; acidity 15.8 degrees Thörner.

J. Cow 18. Shorthorn. Nearly dry.

5th Dec. 1913. Cells per c. c. 3 280 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. + + +; 0.5 c. c. + +; 0.25 c. c. +; 0.15 c. c. negative.

Analysis. Fat 3.70 %, total solids 12.38 %, non-fatty solids 8.68 %, lactose 3.61 %; acidity 15.8 degrees Thörner.

K. Cow 20. Nearly dry.

19th Dec. 1913. Cells per c. c. 256 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. +++; 0.5 c. c. +; 0.25 c. c. v. sl. +; 0.15 c. c. —.

Analysis. Fat 4.45 %, total solids 13.54 %, non-fatty solids 9.09 %, lactose 4.32 %.

Two other cows near the end of lactation were also examined but gave negative results as regards hemolysis. The cell content and analysis of these were:

1) Cells per c. c. 2 480 000.

Fat 3.50 %, total solids 12.46 %, non-fatty solids 8.96 %, lactose 3.96 %.

2) Cells per c. c. 160 000, many being very large and of indefinite character. Fat 4.85 %, total solids 14.34 %, non-fatty solids 9.49 %, lactose 7.47 %.

Mixed milk from several cows (8—10).

These samples were in all cases examined within 12—20 hours of milking (I).
Milks taken during principal calving period.

A. 24th Oct. 1913. Cells per c. c. 432 000.

Hemolysis. All tests negative.

B. 6th Nov. 1913. Cells per c. c. 240 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. slightly +. Rest negative.

C. 8th Nov. 1913. Cells per c. c. 544 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. ++. Rest negative.

D. 11th Nov. 1913. Cells per c. c. 432 000, containing many large "colostral" bodies.

Hemolysis. 1.0 c. c. ++; 0.5 c. c. +. Rest negative.

E. 12th Nov. 1913. Cells per c. c. 464 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. +++; 0.5 c. c. ++; 0.25 c. c. v. sl. +; 0.15 c. c. —.

F. Same source as B. 14th Nov. 1913. Cells per c. c. 336 000, containing many "colostral" bodies.

Hemolysis. 1.0 c. c. ++. Rest negative.

G. 14th Nov. 1913. Cells per c. c. 304 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. ++; 0.5 c. c. sl. +. Rest negative.

H. 9th Dec. 1913. Cells per c. c. 1 280 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. v. sl. +. Rest negative.

I. 20th Jan. 1914.

Hemolysis. 1.0 c. c. ++++; 0.5 c. c. ++. Rest negative.

Three more samples done during this period all gave negative results. The cell content per c. c. was respectively 1) 240 000; 2) 768 000; 3) 770 000. There was no reason to suspect mastitis in any of the above cases, in fact, in the case of 1) in which the strongest hemolytic effect was found, the herd was of a particularly good character.

II. Milks taken after general calving period. Thirteen samples of mixed milk were examined during march 1914. All gave negative results, except in two cases in which there was very slight hemolysis in 1.0 c. c.

Milk from cows having some abnormality of the udder or suffering from slight forms of mastitis.

The samples of milk examined under this heading were all of such character, that the milk would have been used in ordinary dairy work. There was not, in any case, such outward alteration of the milk as would have been noticed during milking. In one or two cases it was noticed that the first stream or two drawn was somewhat thick. The veterinary notes are appended in brief to each case:

Sample A. Mixed milk of all four quarters of a young half-bred cow apparently quite healthy. Three quarters were normal, but the fourth had an elongated indurated nodule, probably of long standing. Tubercle not found.

Hemolysis. 1.0 c. c. ++; 0.5 c. c. +; 0.25 c. c. v. sl. +; 0.15 c. c. negative,

Sample B. Mixed milk of an old shorthorn cow, apparently healthy. Three quarters normal, but a slight induration without hypertrophy in the fourth quarter.

Hemolysis. 1.0 c.c. +++; 0.5 c.c. +. Rest negative.

Sample C. Shorthorn cow, having had a fourth calf about two months previously. The milk yield fell suddenly from 15 quarts to 9 quarts (day previous to sampling). Both hind quarters were then slightly swollen. A case of slight catarrhal inflammation, such as would be called a "chill". The sample was of the whole mixed milk.

Cells per c.c. 30 000 000.

Hemolysis. 1.0 c.c. and 0.5 c.c. ++++; 0.25 c.c. ++; 0.15 c.c. negative.

A test was made with the addition of guinea-pig corpuscles alone.

Hemolysis. 1.0 c.c. ++. Rest negative.

Sample D. Shorthorn cow, having had fifth calf about two months previously. The left hind quarter was indurated at the upper part, but there was no loss of functional activity. About 16 quarts of milk per day were being given and the cow was in good health. During previous lactation the left hind quarter was slightly larger than the right hind quarter and there was then probably slight interstitial mastitis which had become chronic. Sample from the left hind quarter.

Cells per c.c. 608 000.

Hemolysis. 1.0 c.c. ++++; 0.5 c.c. ++. Rest negative.

The test with guinea-pig corpuscles only gave negative results.

Sample E. Mixed milk of a cow with slight induration of one quarter, probably due to a previous congestion arising from a chill. It was not due to any recent inflammatory condition. Milk quite normal.

Hemolysis. All tests negative.

Sample F. A "three quarter" cow. One quarter completely atrophied by mastitis during present lactation (probably about three months previous to sampling). Milk normal.

Hemolysis. All tests negative.

Sample G. From a cow with three quarters quite normal. The left hind quarter had a slight chronic diffused induration probably due to congestion arising from a chill. Not due to any recent inflammatory condition.

Milk from three normal quarters.

Hemolysis. 1.0 c.c. +++; 0.5 c.c. +. Rest negative.

Hemolysis with only guinea-pig corpuscles added. All tests negative.

Hemolysis with sheeps corpuscles and special amboceptor. All tests negative.

Milk from left hind quarter.

Hemolysis. 1.0 c.c. ++. Rest negative.

With only guinea-pig corpuscles and also with the special hemolytic system, all tests were negative.

Sample H. In this case the two right quarters of the cow were quite normal and the milk also was normal. In the two left quarters, there was slight mastitis (probably interstitial) of three days' standing. The milk of these quarters was somewhat watery and the fat slightly coagulated.

Milk of two sound quarters.

Hemolysis. 1.0 c.c. sl. +. Rest negative.

Tests with guinea-pig corpuscles only and also with special system were negative.

It was particularly noticed in this case that the control of the special system (sheeps corpuscles and horse-serum amboceptor) using 1:10 guinea-pig complement, gave complete hemolysis in 10 minutes. Milk had no inhibitory effect on this system; a parallel control, using inactivated milk to dilute the guinea-pig complement, gave a similar and complete hemolysis.

Sample I. This was a particularly interesting case as it was possible to follow it through, up to the end of lactation. The cow in question received a kick in the right fore quarter which caused a bruise and some swelling. The milk was outwardly unchanged.

28th Oct. 1913. Cells per c.c. 7 040 000.

Hemolysis. 1.0 c.c. +++; 0.5 c.c. ++; 0.25 e.c. sl. +; 0.15 c.c. negative.

4th Nov. 1913. The milk of the separate quarters was examined:

Quarter.

Right hind. Cells per c. c. 1 360 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. ++; 0.5 c. c. +; 0.25 c. c. v. sl. +.

Analysis. Fat 2.25%; total solids 11.30%; non-fatty solids 9.05%; lactose 4.30%.

Right fore (the bruised quarter). Cells per c. c. 9 680 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. ++++; 0.5 c. c. and 0.25 c. c. +++.

Analysis. Fat 2.10%; total solids 10.08%; non-fatty solids 7.98%; lactose 3.57%.

Left hind. Cells per c. c. 4 912 000.

Hemolysis. 1.0 c. c. ++++; 0.5 c. c. and 0.25 c. c. +++.

Analysis. Fat 2.05%; total solids 10.12%; non-fatty solids 8.07%; lactose 3.77%.

Left fore. Cells per c. c. 4 992 000.

Hemolysis, as for left hind quarter.

Analysis. Fat 2.45%; total solids 10.40%; non-fatty solids 7.95%; lactose 3.67%.

Tests were made on the following dates:

Date	Hemolysis				Cells per c. c.
	1.0 c. c.	0.5 c. c.	0.25 c. c.	0.15 c. c.	
7th Nov. 1913	++++	++++	++++	+++	7 912 000
11th " "	++++	++++	++++	+++	5 920 000
18th " "	++++	+++	+	—	2 992 000
25th " "	+++	++	+	v. sl. +	4 960 000
2nd Dec. "	++++	++	sl. +	—	5 760 000
5th " "	+++	++	sl. +	—	1 344 000
16th " "	++	+	—	—	4 000 000
16th Jan. 1914	++++	+++	sl. +	—	not done
3rd Febr. "	—	—	—	—	"
3rd March "	++++	++++	+++	—	uncountable
(practically dry)					

The milk was also tested on December 16th 1913 and March 3rd 1914 with g. p. corpuscles only, with a negative result in each case.

It was also tested on one occasion with the special sheeps blood system with a negative result, and a similar result was obtained with the last sample of March 3rd 1914.

The corresponding analyses of the milk were:

Date	Fact.	Total Solids	Non-Fatty Solids	Lactose
28th Oct. 1913	3.17	11.66	8.49	4.05
7th Nov. 1913	3.10	9.43	6.33	3.23
12th " 1913	3.10	11.52	8.42	3.96
18th " 1913	3.30	11.89	8.59	4.26
25th " 1913	3.10	11.58	8.48	4.15
5th Jan. 1914	3.50	12.00	8.50	4.28
16th " 1914	3.35	11.96	8.61	4.36
3rd March 1914	3.30	11.99	8.69	1.64

The milk was quite normal in appearance throughout the whole period, except on March 3rd 1914, when the cow was within a few weeks of calving. The milk was then brownish and had an excess of protein as seen by the analysis. The injury to the udder healed quite readily and all swelling had disappeared before the end of December. The change in the quality of the milk during and after the injury is easily

seen from the above table, the sugar being practically the only constituent affected.

From the results recorded above, it is evident that a substance acting as "complement" in a hemolytic system of which the other members are inactivated ox serum and guinea pig corpuscles is present in

A. colostrum, both immediately and for at least six days after parturition and that this can be detected in 10% admixture with other milk.

B. in ordinary milk, both of single cows, and of several cows in healthy condition and that its presence is often very marked in the case of cows which are nearing the end of their lactation period.

C. in the milk of cows which are suffering from the slighter forms of mastitis or "chill", not of sufficient severity to cause the milk to be rejected, and also in the milk of cows which have suffered in this manner and have quite recovered.

Further that the presence of this "complement" is not limited to the quarters which are actually affected but that a "sympathetic" influence is exerted on the sound quarters.

There seems to be no relation between the presence of "complement" and the chemical composition of the milk. There also appears to be no direct relation between the content of "cellular elements" and the presence of "complement", and in fact the examination made of these, as already stated, would negative any such relation. There appears, however, to be so far a correlation that, whatever cause may bring about a rise in the number of these cells, will also probably cause the exhibition of, or increase in, the complementary substance. The general results obtained from the "cell" counts made during this investigation, are entirely in accordance with the results obtained previously by ourselves and Villar (6).

Both persistence of high cell count and of "complementary" substance after injury or slight mastitis are remarkable and not easily accounted for. It must be noticed, that it was only in some of the cases of mastitis that two members of the hemolytic system were apparently present, and that hemolysis resulted on the addition of guinea-pig corpuscles alone.

The most remarkable feature of these experiments however is that, on no occasion, could hemolysis be brought about by the use of a special hæmolytic system of great delicacy. This system consisted of sheeps' corpuscles (0.5 c. c. of a 5% suspension), + horse-serum-amboceptor¹⁾ (0.1 c. c. of 1—30 dilution) of which the minimum hemolytic dose was 0.00066 c. c., and with 1 c. c. of a 1—10 dilution of guinea-pig complement, hemolysis was complete in five minutes. This immediately opens up the question as to whether the substance which acts as complement in the natural system (inactivated ox serum + guinea-pig corpuscles) is true complement, as theoretically the natural system could scarcely be looked upon as being so delicate as the special system, yet the latter is capable of producing complete hemolysis, when the former fails. The questions that this has opened up, are being investigated, and will form

1) i. e. the inactivated serum of a horse which had been treated with injection of sheeps' corpuscles. For this we are indebted to Messrs. Burroughs & Wellcome, per Dr. Dale, F. R. S.

the subject of a further communication. The results obtained so far, are somewhat remarkable and point to the fact that, in the case of milk, the natural system (inactivated ox serum + guinea-pig corpuscles) is specific in character and of great delicacy.

Conclusions.

When using the hæmolytic system consisting of inactivated ox-serum and guinea-pig corpuscles, in the quantities stated above, the following conclusions have been arrived at:

1) Milk, from the colostrage stage, to the end of lactation, may contain a "complementary substance".

2) Colostrage and mastitis milks contain larger quantities of this substance than ordinary milk.

3) In the case of mastitis milk, amboceptor may be present as well as complementary substance, but this would not be detectable in admixture with other milk.

4) Colostrage gives evidence of its presence in 5% dilution with other milk.

5) Even in the slighter forms of mastitis, complementary substance is present in the milk long after subsidence of the inflammatory condition.

6) The presence of complementary substance is not specifically diagnostic of mastitis milk.

7) There is no connection to be traced between the number of cellular elements and the presence of complementary substance, though the appearance of the latter is often accompanied by a rise in the number of the former.

8) The above mentioned hæmolytic system is of extraordinary delicacy in the case of milk.

9) There is some doubt as to the true nature of the complementary substance in milk.

References.

- 1) Pfaundler and Moro, *Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther.* Bd. 4. 1907. p. 451.
- 2) Kopf, *Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 63. 1909. p. 291.
- 3) Bauer and Sassenhagen, *Med. Klinik.* 1909. p. 1927.
- 4) Sassenhagen, *Arch. f. Kinderheilk.* Bd. 53. 1910. p. 281.
- 5) Lane-Clayton, *Journ. path. Bact.*, Vol. 13. 1909. p. 34.
- 6) Hewlett, Villar and Revis, *Journ. of Hyg.* Vol. 10. 1910. p. 56.

Nachdruck verboten.

Immunisierung mit Tetanustoxin-Antitoxingemischen.

[Aus dem staatlich Serotherapeutischen Institut in Wien,
Vorstand Prof. Hofrat Paltauf.]

Von Dozenten Dr. M. v. Eisler und Dr. E. Löwenstein.

Die nicht sehr zahlreichen uns bekannten Bakterientoxine, als deren vornehmste Repräsentanten wir das Diphtherie- und Tetanusgift ansehen können, erzeugen nicht bloß charakteristische Krankheitserscheinungen, sondern sind auch bezüglich ihrer chemischen Beschaffenheit außerordentlich verschieden. Jedenfalls ist es mit Rücksicht auf die vorliegenden experimentellen Erfahrungen nicht möglich, die für eines dieser Toxine erhobenen Befunde ohne weiteres auf ein anderes zu übertragen. Es sei an dieser Stelle nur an das dem Tetanustoxin eigentümliche Verhalten gegenüber dem Formalin erinnert. Durch Behandlung des Tetanusgiftes mit Formalin und Belichtung oder Erwärmung ist es dem einen von uns¹⁾ gelungen, dieses nach einer gewissen Zeit vollkommen zu entgiften und einen unschädlichen Impfstoff zu gewinnen, so daß es uns möglich war, dem so empfindlichen Meerschweinchen, dessen Immunisierung mit Tetanusgift sonst nicht durchführbar ist, durch eine einzige Injektion einen praktisch unbegrenzten Schutz zu verleihen. Diese auffallende Wirkung des Formalins konnten wir unter den seinerzeit von uns nach dieser Richtung geprüften Giften nur für das Tetanustoxin feststellen²⁾. In Anbetracht dieser merkwürdigen Immunisierungserfolge hielten wir es für wichtig, auch die Schutzimpfung mit Toxin-Antitoxingemischen dieses Giftes einer näheren Prüfung zu unterziehen, da ja mittels solcher Gemische bei der Diphtherie bemerkenswerte Erfolge erzielt worden sind. Wir haben unsere diesbezüglichen Versuche für Tetanustoxin wieder bei den hochempfindlichen Meerschweinchen begonnen. Das von uns verwendete Tetanustrockengift tötete Meerschweinchen von ca. 500 g in der Menge von 0,00004 g bei subkutaner Injektion innerhalb 3—4 Tagen. Als Antitoxin wurde ein hochwertiges Pferdeserum benutzt. Im Mischungsversuch, d. h. wenn Toxin und Antitoxin in vitro zusammengebracht und vor der Injektion $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur in Kontakt waren, zeigte sich, daß 0,032 ccm unseres Antitoxins genügten, um 0,04 g des Toxins für Meerschweinchen vollständig zu entgiften.

In der ersten Versuchsreihe haben wir Meerschweinchen subkutan mit verschiedenen Toxin-Antitoxingemischen injiziert und nach gewissen Zeiten auf Immunität geprüft. Die verwendete Giftmenge war pro Tier 0,04 g, welche Menge nach der oben angeführten Bestimmung der tausendfach letalen Dosis entsprach. Die Serummengen variierten von 0,03 ccm bis 0,1 ccm, so daß wir nicht ganz neutrale, sicher neutrale und hoch überneutralisierte Gemische zur Verfügung hatten. Wo nichts anderes angegeben ist, blieben die Gemische vor der Injektion $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei Zimmertemperatur stehen. In einem Versuche wurde sofort

-
- 1) Löwenstein, E., Ueber Toxoide des Tetanustoxins. (Zeitschr. f. Hyg. 1909.)
2) v. Eisler u. Löwenstein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1911.

Tabelle I.

Toxin g	Serum ccm	Nummer des Tieres	Prüfung nach ... Tagen	Resultat	Anmerkungen
0,04	0,1	740	15	† nach 3 Tagen	
dgl.	0,1	515	15	dgl.	
"	0,04	1714	13	"	
"	0,04	863	13	"	
"	0,05	794	13	"	
"	0,05	287	13	"	
"	0,06	746	13	"	
"	0,06	1856	13	"	
"	0,08	1368	13	"	
"	0,08	692	13	"	
"	0,03	774	27	† nach 5 Tagen	774 war an Tetanus erkrankt und hatte überlebt
"	0,1	1293	33	† " 3 "	
"	0,1	389	33	dgl.	
"	0,3	503	33	"	
"	0,3	1943	33	"	
"	1,0	47	33	"	
"	1,0	387	33	† nach 4 Tagen	
"	5,0	1007	33	† " 3 "	
"	5,0	11	33	† " 4 "	
"	0,03	1124	22	† " 3 "	
"	0,03	209	22	dgl.	
"	0,05	1921	22	"	1124—925 wurde das Gemisch intrakutan injiziert
"	0,032	1284	22	"	
"	0,032	241	22	"	
"	0,032	925	22	"	
"	0,036	1717	22	"	
"	0,036	1922	22	"	
"	0,036	558	22	"	
"	0,04	1793	20	"	Den Tieren 1793, 178, 1738 wurde Toxin-Antitoxin sofort nach der Mischung injiziert
"	0,04	178	20	"	
"	0,04	1738	20	"	
"	0,035	1427	21	† nach 8 Tagen	
"	0,035	66	21	† " 3 "	
"	0,035	1448	21	† " 3 "	
"	0,035	1308	21	† " 6 "	
"	0,035	868	21	† " 3 "	
"	0,031	124	21	† " 3 "	
"	0,031	51	21	† " 6 "	
"	0,031	315	21	† " 5 "	
"	0,031	637	21	† " 5 "	
"	0,031	1194	21	† " 3 "	
"	0,035	1448	32	dgl.	
"	0,035	66	32	"	
"	0,035	868	32	"	
"	0,035	1427	32	† nach 6 Tagen	
"	0,035	1308	32	† " 5 "	
"	0,031	124	32	† " 5 "	
"	0,031	637	32	† " 3 "	
"	0,031	1194	32	† " 3 "	
"	0,031	315	32	† " 4 "	
"	0,035	1448	54	† " 3 "	
"	0,035	66	54	dgl.	
"	0,035	868	54	"	
"	0,035	1427	54	"	
"	0,035	1308	54	"	
"	0,031	124	54	"	
"	0,031	637	54	"	
"	0,031	1194	54	"	
"	0,031	315	54	"	

Toxin g	Serum ccm	Nummer des Tieres	Prüfung nach ... Tagen	Resultat	Anmerkungen
0,04	0,03	874	18	† nach 4 Tagen	} 874, 582, 1278 geringe Steifigkeit im injizierten Beine
dgl.	0,03	582	18	dgl.	
"	0,03	1275	18	"	
"	0,03	874	45	† nach 3 Tagen	
"	0,03	582	45	dgl.	
"	0,03	1275	45	"	

nach dem Zusammenbringen von Toxin und Antitoxin ohne weiteres Zuwarten injiziert. Das Gesamtvolumen der Gemische betrug immer 2 ccm. Die Prüfung der Immunität geschah in der Weise, daß 0,1 ccm des Serums der Meerschweinchen mit einer bestimmten Menge Tetanustoxin, die eine weiße Maus innerhalb 3 Tagen tötete, gemischt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen wurde. Nach dieser Zeit wurden die Gemische den Mäusen subkutan injiziert. In einzelnen Versuchen wurden die Meerschweinchen auch noch direkt durch Injektion von 0,0004 g = 10 letalen Dosen, auf ihre aktive Immunität geprüft. Die wichtigsten Versuche dieser ersten Reihe sind in der folgenden Tabelle I zusammengestellt. Als Resultat der Prüfung ist die Lebensdauer der mit dem betreffenden Meerschweinchenserum und Tetanustoxin injizierten Maus angeführt (s. Tabelle I).

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß durch die einmalige Injektion verschieden zusammengesetzter Tetanustoxin-Antitoxingemische beim Meerschweinchen keine guten Immunisierungserfolge zu erzielen sind, denn das Serum der meisten unserer vorbehandelten Tiere konnte in der Menge von 0,1 ccm nicht einmal den Tod der Mäuse verzögern, und nur bei ganz wenigen war eine Verlängerung der Lebensdauer festzustellen. Wir wählten als Serumdosis 0,1 ccm, weil wir aus unseren früheren Tetanusversuchen wußten, daß Meerschweinchen, deren Serum in dieser Menge Mäuse schützte, eine beträchtliche Immunität besitzen. Gerade unter den Meerschweinchen, welche knapp oder gerade nur neutrale Toxin-Antitoxingemische erhalten hatten, befanden sich die Tiere, deren Serum wenigstens etwas Antitoxin enthielt. Wir möchten jedoch aus diesem Befunde keine weitergehenden Schlüsse ziehen, zumal da auch die Meerschweinchen, denen Toxin-Antitoxin sofort nach der Mischung injiziert worden war, unter den angegebenen Versuchsbedingungen kein Antitoxin in ihrem Blute hatten. Es wäre aber immerhin möglich, daß sich bei Verwendung größerer Mengen des Serums ein Schutzwert hätte nachweisen lassen. Wir haben aber von einer derartigen Prüfung abgesehen, weil ja eine so geringe Antitoxinbildung nicht als Erfolg einer praktisch brauchbaren Schutzimpfung angesprochen werden kann. Wie aus der Tabelle I zu ersehen ist, haben wir eine Reihe von Meerschweinchen zu verschiedenen Zeiten untersucht, 21, 32 und 54 Tage, ferner 18 und 45 Tage nach der Injektion, konnten aber auch zu einer späteren Zeit keinen größeren Antitoxingehalt des Blutserums nachweisen. In Anbetracht dieser Befunde erübrigt es sich, auch noch Immunisierungsversuche mit geringen Toxin-Antitoxinmengen weiter auszuführen. Es sei bloß erwähnt, daß auch die mit solchen Gemischen vorbehandelten Meerschweinchen keine Immunität erworben hatten.

Wir haben auch versucht, ob sich durch getrennte Injektion von Toxin und Antitoxin bei Meerschweinchen ein Impfschutz erzielen läßt.

Bei den Versuchen mit großen Toxinmengen, 0,04 g, sind alle Meerschweinchen, auch bei Einverleibung von selbst 4 ccm eines hochwertigen Pferdeimmunserums bis auf ein einziges an Tetanus zugrunde gegangen. Dieses eine Tier erholte sich nach längerer Zeit von seinem schweren Tetanus, hatte aber trotzdem nach unserer Prüfung kein Antitoxin im Blute. Wir mußten daher kleinere Toxindosen verwenden, um die Tiere am Leben zu erhalten. Meerschweinchen, denen in ein Hinterbein 0,0004 g Tetanustoxin, in das andere 0,04—0,4 ccm Antitoxin subkutan eingespritzt worden war, bekamen zwar alle lokalen Tetanus, blieben aber am Leben. Auch das Serum dieser Tiere war bezüglich seines Antitoxingehaltes nicht besser als das der mit Gemischen vorbehandelten Meerschweinchen.

Da sich also durch eine einmalige Injektion von Toxin-Antitoxingemischen beim Meerschweinchen keine nennenswerte Immunität erzielen ließ, haben wir die, von der ersten Injektion mit negativem Erfolge untersuchten Tiere noch einmal mit neutralen oder überneutralisierten Toxin-Antitoxingemischen injiziert. Auch eine Anzahl neuer Meerschweinchen wurde zu solchen Versuchen verwendet. Die Auswertung der Meerschweinchensera geschah wieder an weißen Mäusen, und zwar wurde 0,1 ccm mit der entsprechenden Toxindosis gemischt. Wenn 0,1 ccm des Serums die Mäuse schützte, wurde auch noch eine weitere Auswertung mit 0,01 ccm vorgenommen. In der folgenden Tabelle II sind diese Versuche zusammengestellt. Die Ergebnisse der Bestimmung mit 0,01 Serum sind unter der Rubrik „Anmerkungen“ ausgeführt.

Tabelle II.

I. Injektion			Reinjektion			Nummer des Tieres	Prüfung nach ... Tagen	Serumprüfung dieser Meerschweinchen 0,1 Serum + 0,00002 Tetanustoxin	
Datum	Toxin g	Serum ccm	Datum	Toxin g	Serum ccm			Resultat	Anmerkungen
23. 9.	0,04	0,04	16. 10.	0,04	0,032	863	20	† nach 3 T.	Mit 0,01 ccm des Serums 794 Maus † nach 4 Tagen, des Serums 287 nach 8 Tagen
"	"	0,05	"	"	"	794	20	gesund	
"	"	0,05	"	"	"	287	20	"	
"	"	0,06	"	"	"	1856	20	† nach 3 T.	
"	"	0,08	"	"	"	1368	20	agl.	
"	"	0,08	"	"	"	692	20	"	
"	"	0,04	"	"	"	1714	25	gesund	Mit 0,01 ccm Maus † nach 4 T.
19. 9.	"	0,1	"	"	"	515	25	"	" 0,01 " " † " 6 "
"	"	"	"	"	"	740	25	"	" 0,01 " " † " 8 "
18. 11.	"	"	28. 11.	"	0,1	302	25	† nach 3 T.	Die Serumuntersuchung dieser Tiere nach 54 Tagen ergab das- selbe Resultat. Bei aktiver Prüfung mit 5 letalen Dosen bleiben 413, 275 und 204 am Leben
"	"	"	"	"	"	809	25	† " 3 "	
"	"	"	"	"	"	413	25	† " 10 "	
"	0,02	0,05	"	0,02	0,05	275	16	† " 8 "	
"	"	"	"	"	"	204	16	† " 8 "	
"	"	"	"	"	"	221	16	† " 5 "	
"	"	"	"	"	"	1862	16	† " 3 "	

Es zeigt sich, daß von 16 reinjizierten Meerschweinchen 6 so viel Antitoxin in ihrem Blute enthielten, daß die mit 0,1 Serum injizierten Mäuse vollkommen gesund blieben und selbst 0,01 ccm noch die Lebensdauer der betreffenden Mäuse merklich verlängerte. Von 4 anderen Meerschweinchen vermochte 0,1 ccm ihres Serums wenigstens noch den Tod der injizierten Mäuse wesentlich zu verzögern. Bei den 7 übrigen Tieren war kein Antitoxin in 0,1 ccm Serum nachweisbar. Eine weitere

Anzahl unserer bereits einmal injizierten Meerschweinchen wurden alle am 12. Nov. mit Gemischen von je 0,04 Toxin + 0,032 ccm Serum oder 0,04 ccm Serum ein zweites Mal subkutan injiziert und 12 Tage nach der Reinjektion mit 0,0004 g = 10 letalen Dosen Tetanustoxin auf Immunität geprüft. Die betreffenden Meerschweinchen und das Prüfungsergebnis ist in Tabelle III enthalten.

Tabelle III.

I. Injektion			Reinjektion			Nummer des Tieres	Prüfung nach ... Tagen	Resultat	Anmerkungen
Datum	Toxin g	Serum ccm	Datum	Toxin g	Serum ccm				
19. 9.	0,04	0,03	12. 11.	0,04	0,04	774	12	† nach 3 T.	774 hatte nach der I. Injektion Tetanus
27. 9.	"	0,3	"	"	"	1943	"	† " 3 "	
29. 9.	"	4,0	"	"	"	1497	"	leichter Tet., überlebt	1497 bekam bei der I. Injektion 0,04 Toxin und 4 ccm Serum getrennt; es hatte nach der I. Injektion Tetanus
1. 10.	0,0004	0,04	"	"	"	1276	"	† nach 3 T.	
"	"	0,04	"	"	"	109	"	† " 4 "	Die Tiere 1276, 109, 581 bekamen bei der I. Injektion Toxin und Antitoxin getrennt und hatten alle lokalen Tetanus
"	"	0,1	"	"	"	581	"	† " 3 "	
13. 10.	0,04	0,032	"	"	"	1430	"	leichter Tet., überlebt	241—581 haben die I. Injektion intrakutan erhalten
"	"	0,034	"	"	"	141	"	gesund	
"	"	0,034	"	"	"	1767	"	"	
"	"	0,036	"	"	"	1007	"	leichter Tet., überlebt	
"	"	0,032	"	"	"	241	"	dgl.	
"	"	0,03	"	"	"	1124	"	"	
"	"	0,032	"	"	"	925	"	gesund	
"	"	0,034	"	"	"	1699	"	leichter Tet., überlebt	
"	"	0,034	"	"	"	581	"	gesund	
"	"	0,032	"	"	0,032	1150	"	"	
"	"	0,032	"	"	"	1499	"	"	
"	"	0,036	"	"	"	1922	"	leichter Tet., überlebt	
"	"	0,03	"	"	"	209	"	† nach 4 T.	
"	"	0,03	"	"	"	1921	"	leichter Tet., überlebt	
"	"	0,034	"	"	"	1677	"	dgl.	

Auch bei dieser Art der Immunitätsprüfung erwies sich eine Anzahl von Tieren immun. Von 21 Tieren blieben 6 ganz gesund, 9 weitere zeigten nur leichte tetanische Erscheinungen, blieben aber alle am Leben, der Rest (noch 6 Tiere) ging innerhalb 3—4 Tagen an Tetanus zugrunde. Beide Arten der Prüfung zeigen somit eine deutliche Immunität an. Von allen reinjizierten Tieren hatten ca. 70 Proz. Antitoxin gebildet. Dieser Erfolg ist mit Rücksicht auf die negativen Ergebnisse nach einer Injektion besonders bemerkenswert und kann um so mehr Beweiskraft beanspruchen, als zum großen Teile die Meerschweinchen, bei welchen nach der ersten Injektion kein Antitoxin nachweisbar war, durch die Reinjektion eine beträchtliche Immunität erworben hatten. Auch der Prozentsatz der immunen Tiere muß als ein hoher bezeichnet werden, da ja Meerschweinchen im allgemeinen zur Antikörperbildung nicht sehr geeignet sind und speziell die Immunisierung dieser Tiere gegen Tetanusgift sehr großen Schwierigkeiten begegnet.

Quantitative Unterschiede bezüglich der Höhe der Immunität und völliges Ausbleiben derselben wurden ebenso wie bei unseren früheren Untersuchungen über Immunität nach Formoltoxininjektionen beobachtet. Die zeitlichen Intervalle zwischen der ersten Injektion und der Reinjektion waren wechselnde. Das Intervall betrug von 10 bis über 50 Tage. Die Prüfung auf Immunität erfolgte 12–25 Tage nach der Reinjektion. Schon nach 12 Tagen trat die Immunität deutlich in Erscheinung. Dem Zwischenraum zwischen erster und zweiter Injektion scheint innerhalb der angegebenen Grenzen keine wesentliche Bedeutung für die Entstehung der Immunität zuzukommen, ebensowenig der Zusammensetzung der Toxin- und Antitoxingemische. Allerdings waren bei diesen die Differenzen nicht beträchtlich.

II.

Da unsere Versuche, durch **einmalige** Injektion eines neutralen Toxin-Antitoxingemisches beim Meerschweinchen eine deutliche Immunität zu erzeugen, mißlungen sind, haben wir derartige Versuche beim Kaninchen unternommen. Bekanntlich bestehen zwischen Meerschweinchen und Kaninchen — abgesehen von der bedeutend höheren Empfindlichkeit des ersteren — auch bezüglich des Verhaltens des einverleibten Giftes bemerkenswerte Unterschiede. Während nämlich das Toxin bei den Meerschweinchen noch lange Zeit im zirkulierenden Blute nachweisbar ist, verschwindet es bei den Kaninchen sehr bald aus der Blutbahn. Aus diesem Verhalten läßt sich auf eine größere Affinität der Kaninchenorgane zum Tetanustoxin schließen, und aus diesem Grunde erschien uns die Erzielung von Immunität durch einmalige Injektion eines Toxin-Antitoxingemisches aussichtsvoller als beim Meerschweinchen.

Kaninchen im Gewichte von 1000—1400 g erhielten subkutan Gemische von 0,04 g Tetanustoxin und verschiedene Mengen unseres Pferdeimmunserums injiziert. Die Mengen des Antitoxins schwankten zwischen 0,02 ccm bis 0,06 ccm. Es kamen also, auf Meerschweinchen bezogen, unterneutralisierte, neutrale und auch reichlich überneutralisierte Gemische zur Verwendung. Bei Kaninchen, für welche die Dosis letalis unseres Giftes ca. 0,02 g beträgt, riefen auch die Gemische von 0,04 g Toxin und 0,02 ccm Antitoxin keine tetanischen Erscheinungen hervor. Verschieden lange Zeit nach der Injektion wurde den Tieren Blut entnommen und in derselben Weise wie bei den Meerschweinchenversuchen an weißen Mäusen auf Antitoxingehalt untersucht. Die betreffenden Versuche sind in der Tabelle IV zusammengestellt. In der Rubrik „Resultate“ ist das Schicksal der mit Toxin und Kaninchen-serum injizierten Mäuse angeführt. Es wurde stets 0,1 ccm des betreffenden Kaninchenserums und bei wirksamen Seris auch noch geringere Mengen mit der entsprechenden Toxindosis in vitro gemischt und nach einer halben Stunde injiziert (s. Tabelle IV).

Die Durchsicht der Tabelle läßt erkennen, daß eine Reihe von Kaninchen bereits nach einer einzigen Injektion eines Toxin-Antitoxingemisches beträchtliche Mengen von Antitoxin in ihrem Blute enthielten. Auch unter den Kaninchen, die mit für Meerschweinchen überneutralisierten Gemischen, nämlich mit 0,04 g Toxin + 0,04 g oder 0,06 ccm Serum vorbehandelt worden waren, befanden sich solche, deren Serum

Tabelle IV.

Toxin g	Pferde- serum ccm	Nummer des Tieres	Prüfung nach ... Tagen	Resultat mit			Anmerkungen
				0,1 ccm	0,05 ccm	0,03 ccm	
0,04	0,02	601	17	gesund			
"	0,02	1331	17	† nach 3 Tagen			
"	0,02	789	17	Tetanus, überlebt			
"	0,022	290	17	† nach 4 Tagen			
"	0,022	1717	17	† " 5 "			
"	0,024	238	17	Tetanus, erholt sich			
"	0,024	270	17	† nach 3 Tagen			
"	0,02	601	30	gesund		gesund	
"	0,022	290	30	† nach 4 Tagen		† nach 3 Tagen	Dieselben Tiere wurden noch ein drittes Mal nach 59 Tagen untersucht. Eine Steigerung des Antitoxingehaltes im Blute war nicht mehr festzustellen.
"	0,024	238	30	gesund		Tetan., überlebt	
"	0,022	1717	30	† nach 9 Tagen		† nach 6 Tagen	
"	0,02	1331	30	Tetanus, überlebt		† " 9 "	
"	0,02	789	30	gesund		gesund "	
"	0,02	1061	13	gesund			
"	0,02	1429	13	Spur Tet., überlebt			
"	0,02	961	13	† nach 3 Tagen			
"	0,03	1846	13	Tetanus, überlebt			
"	0,03	63	13	gesund			
"	0,06	854	13	† nach 6 Tagen			
"	0,06	351	13	† " 3 "			
"	0,02	1429	24		gesund		
"	0,02	961	24	† " 4 "			
"	0,03	1846	24		gesund		
"	0,06	854	24	Tetanus überlebt			
"	0,04	1129	25	† nach 4 Tagen			
"	0,04	1246	25	† " 9 "			
"	0,04	1647	25	gesund			
"	0,04	1786	25	† nach 6 Tagen			
"	0,06	1316	25	† " 7 "			
"	0,06	1415	25	† " 6 "			
"	0,06	1902	25	† " 4 "			
"	0,06	1494	25	gesund			
0,04	0,035	234	22	† nach 6 Tagen			Die Tiere 234—969 wurden mit Gemischen injiziert, welche 7 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden waren.
"	0,035	1126	22	† " 3 "			
"	0,035	388	22	† " 8 "			
"	0,035	1109	22	† " 4 "			
"	0,035	969	22	dgl.			
"	0,035	234	42	"			
"	0,035	1126	42	† nach 6 Tagen			
"	0,035	388	42	dgl.			
"	0,035	1109	42	† nach 7 Tagen			
"	0,035	969	42	† " 4 "			
"	0,035	834	24	† " 3 "			Kaninchen 834—892 mit Gemischen injiziert, die 16 Stunden gestanden waren.
"	0,035	874	24	dgl.			
"	0,035	802	24	† nach 4 Tagen			
"	0,035	810	24	dgl.			
"	0,035	847	24	† nach 3 Tagen			
"	0,035	821	24	dgl.			
"	0,035	892	24	† nach 4 Tagen			

die Mäuse vollkommen schützte, oder wenigstens deren Lebensdauer merklich verlängerte. Was den zeitlichen Eintritt der Immunität anlangt, so war diese schon 13 Tage nach der Injektion deutlich ausgebildet. Spätere Untersuchungen, 24—30 Tage nach der Injektion, ergaben eine

leichte Steigerung des Antitoxingehaltes. Eine Anzahl von Tieren wurde auch noch 59 Tage nach der Impfung geprüft, ohne daß eine weitere Steigerung des Antitoxingehaltes konstatiert werden konnte; wir können daher annehmen, daß nach ca. 3—4 Wochen der Höhepunkt der Immunität bereits erreicht ist.

In den bisher besprochenen Versuchen betrug die Bindungszeit zwischen Toxin und Antitoxin immer 30—40 Minuten. Wir haben auch versucht, Gemische längere Zeit, bis zu 16 Stunden stehen zu lassen, um zu sehen, ob auch nach Eintritt einer festeren Bindung, der sogenannten sekundären Verfestigung, mit diesen Gemischen noch eine Immunität zu erzielen ist. Bei den derart vorbehandelten Tieren ist die Bindungszeit in der Rubrik „Anmerkungen“ der Tabelle IV speziell angegeben. Die mit solchen verfestigten Gemischen injizierten Kaninchen haben keine nennenswerten Mengen Antitoxin produziert, indem keines der 12 Sera in der angegebenen Menge eine Maus vor dem Tode schützte oder eine wesentliche Lebensverlängerung bewirkte.

Die in unseren Versuchen regelmäßig injizierten Toxinmengen von 0,04 g scheinen für Kaninchen bis zu 1500 g zur Antitoxinbildung eben noch ausreichend zu sein, denn bei einigen in den Tabellen nicht angeführten Versuchen an größeren Kaninchen konnten wir mit diesen Toxinmengen und den entsprechenden Antitoxindosen keine deutliche Antikörperbildung erzielen.

III.

Nachdem die bisher angeführten Versuche ohne Zweifel dartun, daß es sowohl bei Kaninchen, als auch bei Meerschweinchen — bei letzteren allerdings erst durch eine zweite Injektion — möglich ist, mit vollkommen neutralen, ja sogar mit überneutralisierten Toxin-Antitoxingemischen Immunität gegen das Tetanusgift zu erzeugen, war nun die Frage zu lösen, auf welche Weise diese Immunität zustande kommt. Die bis nun schon vorliegenden Arbeiten über Immunisierung mit Diphtherietoxin-Antitoxingemischen und auch die interessanten einschlägigen Untersuchungen von Grassberger und Schattenfroh¹⁾ beim Rauschbrandgift, sind dieser Frage nicht nähergetreten, sondern haben sich auf bloße Vermutungen über die Entstehung der Immunität beschränkt. Da wir in unseren Versuchen die Bildung von Antitoxin nach Injektion der Gemische nachweisen konnten, das neugebildete Antitoxin natürlich von den Körperzellen herkommen mußte, lag es nahe, zunächst das Verhalten verschiedener Organzellen zu den Toxin-Antitoxingemischen zu studieren.

Bevor wir über unsere eigenen Experimente berichten, sollen noch die in der Literatur vorliegenden Versuche erwähnt werden, welche zu der berührten Frage in Beziehung stehen. Bekanntlich gehört das Tetanustoxin zu den leicht absorbierbaren Stoffen [vgl. auch Löwe²⁾] und wird daher von einer ganzen Reihe von Substanzen, sowohl organischen wie anorganischen gebunden. Hier sei nur auf die erschöpfen-

1) Grassberger u. Schattenfroh, Ueber die Beziehungen von Toxin und Antitoxin. Wien (Deuticke) 1904.

2) Löwe, Biochem. Zeitschr. 1911, 1912.

den Darstellungen über Kolloide und Lipoide in der Immunitätslehre von Landsteiner im Handbuch Kolle-Wassermann verwiesen. Ein besonderes Interesse beanspruchte aber für uns die Absorption des Tetanustoxins durch Organzellen. Schon im Jahre 1904 konnte Ignatovsky¹⁾ zeigen, daß verschiedene Organe, wie Leber, Lunge, Milz, Gehirn und Rückenmark die Fähigkeit besitzen, Tetanusgift zu binden und daß die Bindung bei den einzelnen Organen verschieden stark ist — abgesehen von den bekannten Versuchen Wassermanns, sowie Wassermanns und Takakis über die Neutralisation des Tetanusgiftes durch Nervensubstanz. Der Nachweis der Giftadsorption geschah durch Injektion der mit dem Gifte in Berührung gewesenen Zellaufschwemmungen bei Mäusen, die im Falle stattgefundener Bindung an Tetanus erkrankten und starben. Weiter konnte Ignatovsky beobachten, daß das an die Organsubstanz gebundene Gift vom Antitoxin neutralisiert werden kann, aber viel schlechter als freies Gift. Nervengewebe (Gehirn und Rückenmark) aber übte auf das an die Zellen gebundene Gift keine neutralisierende Wirkung aus. Versuche über die Neutralisation des an Leberzellen gebundenen Tetanustoxins durch Antitoxin haben in neuerer Zeit auch v. Graff und Menschikoff²⁾ gemacht, und auch ihnen ist es gelungen, die mit Toxin beladenen Leberzellen durch konzentrierte 10-proz. Antitoxinlösungen zu entgiften. Auch die Leukocyten wurden auf ihr Bindungsvermögen resp. Entgiftungsvermögen für Tetanustoxin studiert, ohne daß ein eindeutiges Ergebnis erzielt worden wäre [Metschnikoff³⁾, Peterson⁴⁾, Manzini⁵⁾], zumal da die Autoren zu ihren Untersuchungen Leukocyten verschiedener Tierarten verwendet haben. Für die Leukocyten des Meerschweinchens hat Wolff⁶⁾ ein allerdings sehr schwaches Bindungsvermögen gegenüber dem Tetanusgift gefunden. Konnte doch bei Zusatz von 100 letalen Dosen nicht einmal eine volle tödliche Dosis durch Injektion der Leukocyten bei Mäusen nachgewiesen werden. Merkwürdigerweise führt Wolff in seiner Arbeit zwei weitere Versuche an, in denen die Leukocyten mit neutralen Toxin-Antitoxingemischen versetzt wurden und in denen die mit Leukocyten injizierten Mäuse schon innerhalb 1—4 Tagen starben. Irgendwelche Schlüsse wurden vom Autor aus diesen Befunden nicht gezogen.

In unseren eigenen Versuchen haben wir zuerst geprüft, ob verschiedene Meerschweinchenorgane imstande sind, aus einem sicher neutralisierten Tetanustoxin-Antitoxingemisch das Gift zu fixieren. Um uns von der Bindungsfähigkeit der Organzellen für das Toxin zu überzeugen, wurde eine zweite Versuchsreihe genau in derselben Weise aufgestellt, nur daß in dieser das antitoxische Pferdeserum durch ein Choleraserum ersetzt war. Die Organaufschwemmungen wurden folgendermaßen hergestellt: Nach Entblutung der Meerschweinchen wurden die Organe, Gehirn, Rückenmark, Leber und Milz, in Kochsalzlösung ausgewaschen, dann verrieben und im Verhältnis 1:10 mit Kochsalz aufgeschwemmt.

-
- 1) Ignatovsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904.
 - 2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1911.
 - 3) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897.
 - 4) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 8. 1911.
 - 5) Biochem. Zeitschr. Bd. 26. 1910.
 - 6) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 18. 1913.

Als Toxin-Antitoxingemisch haben wir 0,04 g unseres Trockentoxins mit 0,04 ccm Antitoxin versetzt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen lassen. In der Kontrollversuchsreihe wurde dieselbe Toxinmenge mit der entsprechenden Menge Cholera-Pferdeserum versetzt. Das Volumen der Gemische betrug 2 ccm. Zu je 2 ccm dieser Toxinserumgemische haben wir hierauf je 2 ccm der verschiedenen Organaufschwemmungen zugesetzt und die Proben 3—4 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen. Dann wurde zentrifugiert, das Zellsediment 3mal mit einer großen Menge Kochsalz gewaschen und nach dem Waschen wieder in 2 ccm Kochsalzlösung aufgenommen. Von dieser Aufschwemmung wurden weißen Mäusen 1,8 ccm und 0,2 ccm injiziert.

Versuch vom 2. Dez. 1913.

A. Toxin + Choleraserum.

Gehirn	1,8 ccm	am 3. Dez.	Tetanus,	4. Dez. tot
	0,2	" "	3. "	4. "
Milz	1,8 "	" "	3. "	fraglich, 4. "
				Tetanus, 4. Dez.
	0,2	" "	3. "	abends tot
"	1,8	" "	3. "	0, 4. Dez. Tetanus, 7. Dez. tot
Leber	0,2	" "	3. "	" 4. " ? 5. " Tetanus,
"				8. Dez. tot
Rückenmark	1,8	" "	3. "	Tetanus, 4. Dez. tot
"	0,2	" "	3. "	" 4. " "

B. Toxin + Tetanusantitoxin.

Gehirn	1,8 ccm,	bleiben	dauernd	gesund
"	0,2	"	"	"
Milz	1,8	"	"	"
"	0,2	"	"	"
Leber	1,8	"	"	"
"	0,2	"	"	"
Rückenmark	1,8	"	"	"
"	0,2	"	"	"

Die Aufschwemmungen aller untersuchten Organe haben, wie der Versuch zeigt, aus dem Gemische Toxin + Choleraserum beträchtliche Mengen Toxin gebunden, da selbst mit 0,2 ccm, also $\frac{1}{10}$ des Sediments, eine Maus meistens in 2—3 Tagen unter Tetanuserscheinungen zugrunde ging, selbst die mit Gehirn und Rückenmark injizierten Tiere, wobei doch zu berücksichtigen ist, daß ein beträchtlicher Teil des adsorbierten Toxins von der Nervensubstanz neutralisiert wird. Im Gegensatz zu dieser starken Bindung des Toxins aus Gemischen mit unspezifischem Serum, konnten wir unter denselben Versuchsbedingungen aus der Toxin-Antitoxinverbindung keine Giftbindung nachweisen. Keine einzige der injizierten Mäuse zeigte Tetanussymptome.

Da dieser Versuch für das Toxin-Antitoxingemisch negativ ausgefallen war, haben wir weitere derartige Versuche mit Meerschweinchenleukocyten angestellt. Wir haben Leukocyten gewählt, um auch das Verhalten lebender Zellen prüfen zu können, da ja bei der Herstellung der Organaufschwemmungen durch Zerreiben jedenfalls eine Schädigung der Zellen stattfindet. Die Leukocyten gewannen wir durch intraperitoneale Injektion einer Bouillon-Kochsalzmischung. 6 Stunden nach der Injektion wurde das Exsudat entnommen, in 1-proz. Citratlösung verteilt und die abzentrifugierten Zellen einige Male mit Kochsalzlösung gewaschen. Schließlich wurde eine dichte Aufschwemmung in Kochsalz-

lösung hergestellt. Von dieser Aufschwemmung wurden je 2 ccm zu folgenden Toxin-Antitoxingemischen zugefügt:

- a) 0,04 ccm Toxin + 0,04 Antitoxin,
- b) 0,04 „ „ + 0,031 „

Diese Mischungen waren vor Zusatz der Zellaufschwemmung bereits $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur gestanden. Nach 14-stündigem Verweilen bei Zimmertemperatur wurden die Leukocyten abzentrifugiert, 4mal mit Kochsalzlösung gewaschen und hierauf in 2,2 ccm Kochsalz aufgeschwemmt. Dann wurden weißen Mäusen je 2 ccm und 0,2 ccm der beiden Zellaufschwemmungen injiziert. Alle Mäuse blieben gesund, auch die, welche Leukocyten aus dem knapp neutralen Toxin-Antitoxingemisch (0,04 g Toxin + 0,031 ccm Serum) erhalten hatten. Also auch mit den Leukocyten der Meerschweinchen konnten wir ebenso wenig wie mit anderen Zellen unter den angegebenen Versuchsbedingungen eine Bindung des Toxins aus einem neutralen Toxin-Antitoxingemisch feststellen. Es ist nicht völlig auszuschließen, daß bei diesen Versuchen kleine Toxinmengen dem Nachweis entgehen können. Aber da wir mit neutralen Toxin-Antitoxingemischen zu arbeiten hatten, konnten wir das viel empfindlichere Verfahren den Nachweis der Toxinabnahme in der überstehenden Flüssigkeit nicht anwenden.

Infolge des negativen Ausfalles derartiger Versuche mit Meerschweinchenzellen, haben wir dieselben Versuche mit Kaninchenzellen gemacht, da wir bei der letzteren Tierart schon durch einmalige Injektion eines neutralen Gemisches deutliche Immunität erzielen konnten. Zunächst haben wir verschiedene Zellarten der Kaninchen auf ihr Giftbindungsvermögen aus neutralen Giftlösungen geprüft. Es kamen Leber, Milz und Knochenmark zur Verwendung. Die Organaufschwemmungen wurden genau so wie in den Meerschweinchenversuchen hergestellt im Verhältnis 1:10. Je 2 ccm dieser Aufschwemmungen wurden zu 2 ccm eines überneutralisierten Toxin-Antitoxingemisches zugesetzt, das 0,04 g Toxin und 0,04 ccm Serum enthielt und 40 Minuten vor Zusatz der Organaufschwemmungen gemischt worden war. Die Proben wurden 6 Stunden bei Zimmertemperatur und über Nacht im Eisschrank gehalten. Am nächsten Morgen wurden die Zellen abzentrifugiert, das Sediment 4mal mit Kochsalzlösung gewaschen und dann in 2 ccm Kochsalz aufgeschwemmt. Die verschiedenen Zellsedimente und die nach dem ersten Zentrifugieren erhaltenen Flüssigkeiten (Suspensionsflüssigkeit) wurden weißen Mäusen injiziert.

Versuch vom 7. Febr. 1914.

Leber-Suspensionsflüssigkeit: 8. Febr. ♂, 9. Febr. ♂, 10. Febr. Tetanus, 11. Febr. tot.
 Lebersediment: 8. Febr. ♂, 11. Febr. Tetanus, 12. Febr. Tetanus, 13. Febr. tot.
 Milz-Suspensionsflüssigkeit: bleibt dauernd gesund.
 Milzsediment: bleibt dauernd gesund.
 Knochenmark-Suspensionsflüssigkeit: bleibt dauernd gesund.
 Knochenmarksediment: bleibt dauernd gesund.

Von den untersuchten Zellarten haben somit nur die Leberzellen Toxin aus einem überneutralisierten Toxin-Antitoxingemisch gebunden, und zwar muß man bei dieser Art den Nachweis infolge der oben erwähnten Umstände eine beträchtliche Bindung voraussetzen. Ob von den beiden anderen Organen keine, oder nur eine geringe Menge Toxin gebunden wurde, oder auch das fixierte Toxin neutralisiert wurde, können

wir nicht mit Sicherheit entscheiden. Jedenfalls ist zu berücksichtigen, daß die Milz des Kaninchens ein ausgesprochenes Entgiftungsvermögen für Tetanustoxin besitzt, das nach Ignatovsky¹⁾ sogar das des Rückenmarkes übertreffen und dem des Gehirnes am nächsten kommen soll. Die Bindung des Tetanustoxins aus neutralen Toxin-Antitoxinmischungen durch Kaninchenleberzellen konnten wir in mehreren Versuchen beobachten; nur ein derartiger Versuch ergab aus uns unbekanntem Grunde ein negatives Resultat.

Außer den Leberzellen des Kaninchens haben wir auch ein anorganisches Adsorbens, das Kaolin, auf seine Bindungsfähigkeit für Tetanustoxin aus neutralen Gemischen untersucht. Aus den Arbeiten von Zunz²⁾ geht hervor, daß sowohl das Tetanustoxin, als auch das Antitoxin, jedes für sich, von Kaolin gebunden wird. Der Toxin-Antitoxinkomplex als solcher wird weder von Kaolin noch von irgendeiner anderen der untersuchten Substanzen gebunden. Im folgenden führen wir zwei derartige Versuche, in denen gleichzeitig Leberzellen und Kaolin geprüft wurden, an. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie die schon oben beschriebene. Auch das Kaolin wurde in 10-proz. Aufschwemmung verwendet. In dem Versuche vom 18. Febr. 1914 wurden 0,04 g Toxin mit 0,03 ccm Serum versetzt, nach einem halbstündigen Kontakt zu 2 ccm Kaolin- bzw. Leberzellenaufschwemmung zugefügt. Das Gesamtvolumen betrug wieder 4 ccm. Von je einer Kaolin- und Leberprobe wurden sofort nach Zusatz der betreffenden Aufschwemmungen zum Toxin-Antitoxingemisch je 2 ccm Mäusen injiziert. Von den anderen, in gleicher Weise aufgestellten Proben, blieben zwei 4 $\frac{1}{2}$ Stunden, die anderen 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Nach diesen Zeiten wurde, wie gewöhnlich, zentrifugiert und das Sediment gewaschen. Injiziert wurde außer dem Sediment auch die nach dem ersten Zentrifugieren erhaltene Flüssigkeit = Suspensionsflüssigkeit und 2 ccm des letzten Waschwassers.

Versuch vom 18. Febr. 1914.

Injektion sofort nach Zusatz

Toxin + Serum allein: 20. ♂, 21. Spur, 22. Tetanus, 26. Tetanus, 28. Febr. tot.

Toxin + Serum + Leberzellen: bleibt dauernd gesund.

Toxin + Serum + Kaolin: 20. ♂, 21. Spur Tetanus, 22. Tetanus, 23. Febr. tot.

Injektion nach 4 $\frac{1}{2}$ Stunden am 18. Febr.

Leber-Suspensionsflüssigkeit: bleibt dauernd gesund.

Lebersediment: 20. ♂, 21. Beginn, 22. Tetanus, 25. Febr. tot.

Leberwaschwasser: bleibt dauernd gesund.

Kaolin-Suspensionsflüssigkeit: bleibt dauernd gesund.

Kaolinsediment: 20. ♂, 21. ♂, 22. Tetanus, 23. Febr. tot.

Kaolinwaschwasser: bleibt gesund.

Injektion nach 21 Stunden am 19. Febr.

Lebersediment: 21. ♂, 22. ♂, 23. Tetanus, 24. tot.

Leber-Suspensionsflüssigkeit: bleibt gesund.

Leberwaschwasser: bleibt gesund.

Kaolinsediment: 21. fraglich, 22. Tetanus, 23. Febr. tot.

Kaolinsuspension: bleibt gesund.

Kaolinwaschwasser: bleibt gesund.

1) l. c.

2) Zeitschr. f. Immunforsch. Bd. 19. 1913.

Ein zweiter derartiger Versuch wurde in derselben Weise gemacht, nur daß je 0,04 g Toxin mit 0,035 ccm Serum versetzt wurden. Ein solches Serum-Toxingemisch wurde nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Kontakt einer Maus injiziert, um dessen Ungiftigkeit zu demonstrieren.

Versuch vom 23. Febr.

Injektion sofort nach Zusatz am 23. Febr. Mittag.

Serum + Toxin allein: bleibt gesund.
 Serum + Toxin + Leber: bleibt gesund.
 Serum + Toxin + Kaolin: bleibt gesund.

Injektion nach $4\frac{1}{2}$ Stunden am 23. Febr. abends.

Lebersediment: 25. Tetanus, 26. Tetanus, 27. Febr. tot.
 Leber-Suspensionsflüssigkeit: bleibt gesund.
 Leberwaschwasser: bleibt gesund.
 Kaolinsediment: 25. \emptyset , 26. Tetanus, 27. tot.
 Kaolin-Suspensionsflüssigkeit: bleibt gesund.
 Kaolinwaschwasser: bleibt gesund.

Wie die angeführten Versuche zeigen, kommt außer der Kaninchenleber auch dem Kaolin die Fähigkeit zu, aus einem Toxin-Antitoxingemisch Gift zu binden. In den ersten der beiden Versuche, bei dem 0,04 g Toxin mit nur 0,03 ccm Serum versetzt worden waren, also ein ganz geringer Toxinüberschuß vorhanden war, indem eine Maus 10 Tage nach Injektion des Gemisches an Tetanus starb, verursachte auch die Injektion des Toxin-Antitoxingemisches sofort nach Zusatz des Kaolins den Tetanustod der Maus und zwar früher als das Toxin-Antitoxingemisch allein. Bei der gleichen Versuchsanordnung blieb die mit Leberbrei injizierte Maus gesund, so daß die neutralisierende Wirkung der Leber für den geringen Toxinüberschuß deutlich in Erscheinung tritt, während bei längerem Kontakt in vitro eine größere Menge Toxin aus der Leber gebunden werden muß, da die mit dem betreffenden Zellsediment injizierten Mäuse sämtlich am Tetanus starben. Das Kaolin, welches mit den Toxin-Antitoxingemischen in Kontakt gewesen war, verursachte ein vom typischen Tetanus etwas abweichendes Krankheitsbild, indem die Mäuse nach einer Inkubationszeit von 2—4 Tagen mit tetanischen Erscheinungen erkrankten, ohne daß vorher in der der Injektionsstelle benachbarten Muskelgruppe deutlicher Tetanus festzustellen war. Nach dem Auftreten der Krankheitserscheinungen starben die Mäuse immer sehr rasch, gewöhnlich innerhalb der nächsten 24 Stunden. Infolge dieses raschen Krankheitsverlaufes ist die Beobachtung eines lokalen Tetanus mit Schwierigkeiten verbunden, da derselbe nur ganz kurze Zeit bestehen kann. Die besondere Form des Tetanus dürfte mit den Resorptionsverhältnissen des an das Kaolin fixierten Toxins zusammenhängen, indem sich um das eingebrachte Kaolin ein Entzündungsherd mit starker Infiltration bildet, wodurch die Verbreitung des Toxins verzögert wird, modifiziert wird. Bemerkt sei noch, daß Mäuse, welche die gleichen Mengen Kaolin allein bekommen haben, bis auf Infiltrate mit folgenden Nekrosen an der Injektionsstelle keinerlei Krankheitserscheinungen zeigten.

Derselbe Versuch wie der am 23. Febr. bei Meerschweinchen ausgeführt ergab folgendes Resultat:

Injektion nach Zusatz am 26. März Mittag.
 Serum + Toxin + Kaolin No. 1724 (250 g): 28. März ?, 29. März schwerster Tetanus,
 † 29. März.

Injektion nach 7 Stunden am 26. März abends.
Kaolinsediment No. 1771 (350 g): 28. März \emptyset , 29. März ?, 30. März lok. Tet.,
31. März †.
Kaolin-Suspensionsflüssigkeit No. 1787 (380 g): bleibt gesund.
Kaolinwaschwasser No. 1774 (370 g): bleibt gesund.

Aus diesem Versuche ist zu ersehen, daß dort, wo der Tetanus nicht zu rasch verläuft wie bei Meerschweinchen No. 1771, deutlicher lokaler Tetanus zu beobachten ist.

Aus den bisher angeführten Versuchen geht hervor, daß der Kaninchenleber die Fähigkeit zukommt, in vitro aus einem neutralen Toxin-Antitoxingemisch Gift in beträchtlicher Menge zu binden. Die mit Meerschweinchenleberzellen injizierten Mäuse dagegen blieben in unseren Versuchen gesund. Im folgenden Versuche wird nochmals das verschiedene Verhalten von Meerschweinchen- und Kaninchenleberzellen geprüft. Die Zellsedimente wurden in diesen Versuchen Meerschweinchen statt Mäusen injiziert, um festzustellen, ob vielleicht bei Verwendung homologer Organe der Nachweis einer Giftbindung möglich wäre. Die Versuchsanordnung war genau dieselbe. Je 0,04 g des Toxins wurden mit 0,035 ccm Serum gemischt und $\frac{1}{2}$ Stunde vor Zusatz der Organe stehen gelassen. Ein Meerschweinchen erhielt 0,04 g Toxin + 0,035 ccm Serum ohne Organbrei. Außerdem wurden wieder diese Mischungen sofort nach Zusatz der Organaufschwemmungen injiziert. Die anderen Proben blieben 6 Stunden bei Zimmertemperatur.

Versuch vom 27. Febr.

Injektion sofort 11 Uhr vormittags.
Serum + Toxin: bleibt gesund.
Serum + Toxin + Meerschweinchenleber: bleibt gesund.
Serum + Toxin + Kaninchenleber: 3. Tetanus, 10. Tetanus, überlebt.
Injektion 27. Febr. 6 Uhr abends.
Kaninchenleber-Suspensionsflüssigkeit: bleibt gesund.
Kaninchenleberwaschwasser: bleibt gesund.
Kaninchenlebersediment: 2. Tetanus, 6. Tetanus, 10. Tetanus, überlebt.
Meerschweinchenleber-Suspensionsflüssigkeit: bleibt gesund.
Meerschweinchenleberwaschwasser: bleibt gesund.
Meerschweinchenlebersediment: bleibt gesund.

Auch in diesem Versuche zeigt sich wieder das Bindungsvermögen der Kaninchenleber, indem diese, aus einem für Meerschweinchen vollkommen neutralen Gemisch so viel Toxin gebunden hatte, daß durch Injektion des Zellsedimentes beim Meerschweinchen schwerer Tetanus hervorgerufen wurde. Merkwürdigerweise erzeugte in diesem Versuche das Toxin-Antitoxingemisch, das sofort nach Zusatz des Leberbreies injiziert worden war, ebenfalls Tetanus, im Gegensatz zu unseren angeführten Versuchen bei Mäusen. In dem vorliegenden Versuche wurde die Leber samt dem Toxin-Antitoxingemisch in den Meerschweinchenorganismus eingebracht, in welchem sowohl die Inkubationszeit eine längere ist als auch die Aviditätsverhältnisse zum Toxin andere sind als im Körper der Maus. Das Ergebnis mit Meerschweinchenleber war wieder negativ.

Schließlich führen wir noch einen derartigen Spaltungsversuch mit Leukocyten des Kaninchens und Meerschweinchens an. Die Meerschweinchenleukocyten wurden wieder auf die beschriebene Weise gewonnen. Die des Kaninchens durch intrapleurale Aleuronatinjektion.

Die gewaschenen Leukocyten wurden zu neutralen Gemischen von 0,04 g Toxin + 0,035 ccm Serum zugesetzt. Die Prüfung erfolgte an weißen Mäusen.

Versuch vom 5. März 1914.

Injektion sofort nach Zusatz der Leukocyten.

Toxin + Serum + Meerschweinchenleukocyten: bleibt gesund.

Toxin + Serum + Kaninchenleukocyten: bleibt gesund.

Injektion nach 6 Stunden.

Kaninchenleukocyten-Suspensionsflüssigkeit: bleibt gesund.

Kaninchenleukocytenwaschwasser: bleibt gesund.

Kaninchenleukocytensediment: bleibt gesund.

Meerschweinchenleukocyten-Suspensionsflüssigkeit: bleibt gesund.

Meerschweinchenleukocytenwaschwasser: bleibt gesund.

Meerschweinchenleukocytensediment: bleibt gesund.

Unter den angegebenen Versuchsbedingungen konnten wir also im Einklang mit früheren Versuchen weder bei Meerschweinchen- noch bei Kaninchenleukocyten eine Giftbindung feststellen.

Schlußbetrachtungen.

Als positives Ergebnis unserer Versuche über die Bindung von Tetanustoxin aus neutralen Giftgemischen durch tierische Zellen ist somit die Fixierung des Toxins durch Leberzellen des Kaninchens anzusehen. Für die anderen untersuchten Zellarten des Kaninchens und die des Meerschweinchens einschließlich der Leber war der Nachweis der Giftbindung bisher nicht möglich, doch möchten wir deshalb keineswegs schließen, daß absolut keine Bindung des Toxins stattgefunden hat, da sich aus den schon angeführten Gründen die Bindung einer geringen Giftmenge dem Nachweis entzieht. Der Kaninchenleber kommt eben ein besonders starkes Bindungsvermögen zu, und wir glauben durch diese positiven Versuchsergebnisse die prinzipielle Möglichkeit der Fixierung des Tetanustoxins aus neutralen Toxin-Antitoxingemischen an Organzellen nachgewiesen zu haben.

Es fragt sich nun, welche Schlüsse man aus diesem Befunde für die Bildung des Antitoxins nach Injektion von neutralisiertem Toxin im Tierkörper ziehen kann. Wenn es gestattet ist, aus den Spaltungsvorgängen in vitro auf analoge Prozesse in vivo zu schließen, so können wir uns wohl vorstellen, daß auch im Tierkörper Gift frei gemacht wird und dieses Gift die Antitoxinbildung veranlaßt. In diesem speziellen Falle dürfte der Schluß aus der in vitro beobachteten Spaltung auf ein Freiwerden von Gift im Tierkörper um so eher gestattet sein, als die Verhältnisse für diesen Vorgang in vivo viel günstiger sind als in vitro. Das abgespaltete Toxin muß aber dabei in einer ganz besonderen Weise wirken. Wir können nicht annehmen, daß dasselbe wieder in die Zirkulation gelangt und von der Nervensubstanz gebunden wird, denn sonst müßten die hochempfindlichen Meerschweinchen beim Freiwerden einer genügenden Menge von Toxin tetanische Symptome zeigen, andererseits wäre der Eintritt der Immunität auf diese Weise nicht verständlich, da es auch durch wiederholte Einverleibung kleinster Mengen von Tetanustoxin nicht gelingt, Meerschweinchen zu immunisieren, ebensowenig wie es uns möglich war, durch getrennte Injektion von Gift und Serum beim Meerschweinchen Antikörperbildung zu erzielen; wahrscheinlich deshalb, weil das freie, in den Körper eingebrachte Toxin vor allem von der

Nervensubstanz gebunden wird, die wohl mit Krankheitserscheinungen, aber nicht mit Antitoxinbildung reagiert. Unsere Auffassung des Immunisierungsvorganges mit neutralen Toxingemischen geht vielmehr dahin, daß das in gewissen Organen aus dem Toxin-Antitoxinkomplex abgespaltete Gift an die betreffenden Organzellen, darunter an solche, die zur Antitoxinproduktion befähigt sind, gebunden ist, ohne daß daher freies Gift zu irgendeiner Zeit im Körper zirkuliert. Der Nervensubstanz müßte dabei die Fähigkeit, den Toxin-Antitoxinkomplex zu spalten, abgehen. Diese Annahme ist nicht unwahrscheinlich, denn nicht nur die Verbreitung des Toxin-Antitoxinkomplexes im Organismus dürfte eine andere sein als die des reinen Toxins, namentlich mit Rücksicht auf die hervorragende Bedeutung der peripheren Nerven für die Fortleitung des Giftes, sondern auch die Adsorptionsbedingungen der Toxin-Antitoxinverbindung sind wesentlich verschieden von denen des Toxins allein. So zeigte sich schon bei unseren Versuchen *in vitro* mit Meerschweinchenorganen und Mischungen des Tetanustoxins mit spezifischem und nichtspezifischem Serum, daß im letzteren Falle die Bindung von Gift an die Nervensubstanz nachweisbar ist, im ersteren nicht.

Unsere Versuche, eine Spaltung der Toxin-Antitoxinverbindung im Tierkörper nachzuweisen, haben allerdings kein positives Ergebnis gehabt. Wir haben einer Reihe von Kaninchen, die mit neutralen Toxin-Antitoxingemischen injiziert worden waren, 1, 2 und 4 Tage nach der Injektion Blut entnommen und dieses auf seine giftneutralisierende Fähigkeit untersucht, andererseits haben wir Leberaufschwemmungen dieser Kaninchen Meerschweinchen injiziert, um zu sehen, ob die Leberzellen, analog unseren Experimenten *in vitro*, Toxin gebunden haben. Wir möchten jedoch trotz des negativen Ausfalles dieser Versuche die Annahme einer Spaltung der Toxin-Antitoxinverbindung im Organismus nicht aufgeben mit Rücksicht darauf, daß ja die Bedingungen für den Nachweis einer der beiden Komponenten im Tierkörper sehr ungünstige sind. Andererseits scheint uns der schlechte Immunisierungserfolg mit den verfestigten Gemischen für unsere Annahme zu sprechen, indem durch das Ausbleiben der Dissoziation von Toxin und Antitoxin auch die Antikörperbildung fehlt.

Versuchsergebnisse.

Meerschweinchen lassen sich durch subkutane Injektion neutraler und überneutralisierter Tetanustoxin-Antitoxingemische immunisieren. Zu diesem Zwecke sind zwei Injektionen erforderlich. Nach der ersten Injektion war noch keine wesentliche Immunität festzustellen. Der erworbene Impfschutz der vorbehandelten Meerschweinchen ließ sich sowohl durch den Nachweis von Antitoxin im Blut, als auch durch die Resistenz gegenüber der 10-fachen letalen Dosis demonstrieren.

Bei Kaninchen ist es gelungen, schon durch eine einzige Injektion eines neutralen oder überneutralisierten Gemisches eine deutliche Antitoxinproduktion hervorzurufen.

Sowohl zur Immunisierung der Meerschweinchen als auch der Kaninchen wurde Toxin und Antitoxin nach der Mischung $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen und hierauf injiziert. Mit Gemischen, die 6—16 Stunden vor der Injektion in Kontakt waren, sogenannten verfestigten Gemischen, gelang es nicht, durch eine einmalige Injektion bei Kaninchen eine nennenswerte Antitoxinproduktion hervorzurufen.

Bei den zweimal injizierten Meerschweinchen war bereits 12 Tage nach der Reinjektion eine deutliche Immunität vorhanden. Auch bei den Kaninchen ließ sich schon 13 Tage nach der ersten Injektion Antitoxin im Blute nachweisen, später jedoch nahm der Antitoxingehalt noch zu. Das Maximum des Antitoxingehaltes wurde in der 3.—4. Woche nach der Injektion erreicht.

Die geprüften Organaufschwemmungen von Meerschweinchen (Gehirn, Rückenmark, Leber, Milz und Leukocyten) waren in unseren bisherigen Versuchen nicht imstande, aus einem neutralen Toxin-Antitoxingemisch Gift zu binden, wenigstens nicht so viel, daß die Injektion des Zellsedimentes bei Mäusen Tetanus hervorgerufen hätte.

Von den in dieser Richtung untersuchten Zellaufschwemmungen des Kaninchens (Leber, Milz, Knochenmark, Leukocyten) erzeugten die Leberzellen, welche mit neutralen Toxin-Antitoxingemischen in Kontakt gewesen waren, bei Mäusen und Meerschweinchen Tetanus. Das gleiche Resultat konnten wir erzielen, wenn wir Kaolin, das zu neutralen Giftlösungen zugesetzt war, injizierten. Es läßt sich somit durch Kaninchenleberzellen und Kaolin eine Spaltung der neutralen Toxin-Antitoxinbindung in dem Sinne nachweisen, daß die Leberzellen und das Kaolin das Toxin aus der Verbindung an sich reißen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung des Salvarsans auf Rotlaufbacillen in vivo und in vitro.

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“
zu Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Loeffler,
Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Neufeld).]

Von Dr. **Schiemann**, Assistenten am Institut.

Baum und Herrenheiser haben kürzlich (Wien. klin. Wochenschr. 1914. p. 843) Versuche veröffentlicht, denen zufolge sie die in der Arbeit von Neufeld und mir¹⁾ gemachten Angaben über die Wirkung von Salvarsan auf Rotlaufbacillen in vivo und in vitro nicht bestätigen konnten; sie konnten „eine keimfeindliche Einwirkung des Salvarsans auf Schweinerotlaufbacillen weder im Tierkörper noch im Reagensglasversuche“ nachweisen.

Was zunächst die Tierversuche betrifft, so stehen die von den genannten Autoren erhaltenen Ergebnisse in keinem Widerspruch zu den unserigen. Abgesehen davon, daß wir in der Regel kleinere Infektionsdosen verwendeten, haben wir (p. 190) ausdrücklich gesagt: „Im allgemeinen haben wir einen sicheren Einfluß nur bei hohen, nicht weit unter der tödlichen gelegenen Salvarsandoson erzielt und bei nicht allzu virulenten Stämmen.“ (Dies gilt ebenso für Milzbrand.)

Wenn aber die Autoren unsere Rotlaufkulturen „minimal virulent“ nennen, so ist diese Bezeichnung irreführend, da in unseren Versuchen die Kontrolltiere, wie mitgeteilt, bei den verwendeten Dosen (0,000001—0,0001—0,01 Bouillonkultur) ausnahmslos in 2—4 Tagen starben.

In einer inzwischen erschienenen Arbeit von Schieman und Ishiwaras ist eine Erklärung für die Erscheinung versucht worden, daß die Mittel bei Infektion mit sehr virulenten Stämmen versagen. Es ist dort (p. 52) die Anschauung ausgesprochen, daß die Ursache in zeitlichen Verhältnissen liege, indem die relativ langsame parasitizide Wirkung des Salvarsans bei den sich sehr schnell im Tierkörper vermehrenden Parasiten nicht zur Geltung kommt. Hiernach ist es durchaus nicht verwunderlich, daß bei zu besonders hoher Virulenz angezüchteten Stämmen, bei denen die Infektion besonders schnell verläuft, zumal wenn außerdem noch relativ große Dosen zur Infektion gewählt werden, gänzlich negative Resultate — im Gegensatz zu Bierbaum und uns — erzielt werden. Nur glauben wir, daß unsere Versuchsanordnung zur Klärung der von uns behandelten theoretischen Frage zweckmäßiger ist als die Versuchsanordnung von Baum und Herrenheiser. Diese theoretische Frage, deren außerordentliche Bedeutung wohl kaum besonders hervorgehoben zu werden braucht, ist die, ob wir im Salvarsan und Optochin Mittel besitzen, die als echte Antiseptica im Blut

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. Beiheft. p. 183.

und den Gewebssäften des lebenden Organismus auf Bakterien wirken, was früher als unerreichbar hingestellt wurde (siehe noch Behring, Bekämpfung der Infektionskrankheiten. 1912. p. 65). Daß das der Fall ist, haben wir insbesondere aus dem Parallelismus der Versuche in vivo und in vitro geschlossen.

Um nun der Darstellung von Baum und Herrenheiser zu begegnen, als ob es sich bei der von uns als spezifisch gegen Rotlaufbacillen gerichtet angenommenen antiseptischen Wirkung des Salvarsans nur um einen zufälligen Befund (an „besonders avirulenten Bakterien“) gehandelt hätte, benutzten wir einen frisch aus dem Schwein gezüchteten Stamm zu einem chemotherapeutischen Versuch.

Es war uns Muskel und Milz eines Schweines zur Untersuchung auf Rotlauf eingesandt worden; das Material wurde auf Mäuse verimpft. Von einer am 4. Tage an Rotlauf eingegangenen Maus wurde nach Passage über eine Loeffler-Serumplatte eine 24-stündige Serumbouillonkultur gewonnen, von der $\frac{1}{10000}$ ccm Mäuse in 4 Tagen tötete (intraperitoneal). Von einer dieser Mäuse wurde wiederum in derselben Weise eine 24-stündige Serumbouillonkultur angelegt und davon 18 Mäuse mit je $\frac{1}{10000}$ ccm intraperitoneal geimpft; 6 blieben unbehandelt, die übrigen 12 wurden mit der von Bierbaum für einmalige Behandlung erprobten Dosis: 1 ccm der Verdünnung 1:300 Altsalvarsan pro 20 g Maus intravenös behandelt. Die 6 Kontrollen gingen sämtlich an Rotlauf (mikroskopisch Nachweis von reichlichen Bacillen) zugrunde (3 am 4., 3 innerhalb des 5. Tages der Infektion); von den behandelten gingen 6 innerhalb der ersten 18 Stunden an Salvarsanvergiftung ein, die übrigen 6 überlebten sämtlich.

Hier sind jedenfalls, soweit das überhaupt bei derartigen Versuchen möglich ist, Bakterien von natürlicher Virulenz benutzt worden. Wenn es sich um praktische Heilversuche handeln würde, so wäre das Ergebnis natürlich wegen der zahlreichen Todesfälle durch Salvarsanvergiftung sehr ungünstig. Wir haben aber schon früher hervorgehoben, daß diesen Versuchen an kleinen Tieren nur eine theoretische Bedeutung zukommt, und daß, wenn es sich darum handeln würde, bei einer bestimmten Tierart oder beim Menschen chemotherapeutische Erfolge zu erzielen, doch nur Versuche an der betreffenden Species entscheiden können, ob das mit den in der Praxis anwendbaren Dosen möglich ist.

Nun sind Baum und Herrenheiser auch in ihren Reagensglasversuchen zu anderen Resultaten gekommen, indem Verdünnungen von Salvarsan in Bouillon von 1:100 000¹⁾ bis 1:500 000 noch das Wachstum von Rotlaufbacillen zuließen. Bekanntlich gewinnt man bei Desinfektionsversuchen mit derselben Bakterienart und demselben Mittel, z. B. Sublimat oder Karbol gegen Staphylokokken, oft recht verschiedene Zahlenwerte. Dies ist in der — von den Autoren leider nicht berücksichtigten — Arbeit²⁾ von Schiemann und Ishiwara (p. 54) ausdrücklich hervorgehoben.

Man vergleiche dort die Tabelle VI: In der Salvarsanverdünnung 1:100 000 erfolgt kein sichtbares Wachstum von Rotlaufbacillen — also Entwicklungshemmung! —, Ausstrich einer Oese daraus ergibt spär-

1) Wir vermuten, daß in dem Abtötungsversuch (2. Reagensglasversuch) von Baum und Herrenheiser ein Druckfehler vorliegt (0,00001 anstatt 0,0001 Salvarsan) und die stärkste benutzte Konzentration ebenfalls 1:100 000 war.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 73. H. 1, erschienen am 5. März 1914.

liches Wachstum — also keine Abtötung! — Aehnliches ergibt sich für die Verdünnung 1:200000 in Tabelle XX.

Diese Zahlen stimmen mit denen von Baum und Herrenheiser ganz gut überein, auch diese Autoren haben, soweit ersichtlich, bei ähnlichen Konzentrationen eine gewisse Entwicklungshemmung beobachtet. Im übrigen ist es allgemein üblich, um eine Entwicklungshemmung festzustellen, sich an den Vergleich der Versuchsröhrchen mit dem in einem oder mehreren Kontrollröhrchen bei gleicher Einsaat erzielten Wachstum zu halten; von einer Entfernung des Antiseptikums ist dabei natürlich nie die Rede. Man vergleiche z. B. die Versuche Behrings, der durch einen oder mehrere Punkte neben dem + -Zeichen anzeigt, in welchem Grade die Entwicklungshemmung in dem Versuchsröhrchen (oder hängenden Tropfen) gegenüber der ungestörten Entwicklung zu erkennen ist.

Aus der Arbeit mit Ishiwara geht aber ebenso wie aus Versuchen von Roos u. a. hervor, daß Salvarsan nicht nur entwicklungshemmend, sondern bei geeigneter Versuchsanordnung auch bakterizid wirkt; dort sind bereits mehrere Versuche über Abtötung von Milzbrandbacillen wiedergegeben. Entsprechende Versuche über die bakterizide Wirkung des Salvarsans auf Rotlaufbacillen, die schwächer ist als die auf Milzbrandbacillen, werden alsbald mitgeteilt werden. Die Frage, ob im Tierkörper durch unsere chemotherapeutischen Mittel eine Abtötung oder eine Entwicklungshemmung erzielt wird, ist im Einzelfalle wohl schwer zu entscheiden; wir sind in der genannten Arbeit (p. 54) bereits auf die Gründe eingegangen, die es uns wahrscheinlich erscheinen lassen, daß für therapeutische Zwecke oft ein entwicklungshemmender Effekt des Mittels genügt.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

- v. Bialer, M.** u. **Löwenstein, E.**, Immunisierung mit Tetanustoxin-Antitoxingemischen, p. 348.
- Hewlett, B. Tanner** and **Revis, Cecil**, On the presence of so-called "complement" in milk, p. 337.
- Kobayashi, Harujiro**, On the Life-History and Morphology of *Clonorchis sinensis*, p. 279.
- Löwy, Otto**, Bilden Choleravibrionen Hämotoxine, p. 319.
- Ohno, K.**, Paratyphusbacillen ohne Gasbildungsvermögen, p. 288.
- Schiemann**, Ueber die Wirkung des Salvarsans auf Rotlaufbacillen in vivo und in vitro, p. 365.
- Spagnolio, Giuseppe**, Die Leishmaniose bei Menschen und Hunden. Studium des Krankheitsgebietes, p. 294.
- Spiegelberg, Rudolf**, Diphtheriebacillen beim Geflügel, p. 273.
- Toenniessen, E.**, Ueber die Agglutination der Kapselbacillen. Untersuchungen über die Bedeutung der einzelnen Bestandteile der Bakterienzelle für die Agglutininerzeugung und für den Vorgang der Agglutination, p. 329.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Nachdruck verboten.

Ein in Normal-Schwefelsäure wachsender Fadenpilz.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Loeffler).]

Von Prof. Dr. E. Zettnow.

Hierzu die Tafelfiguren 1—8.

Im Januar 1914 teilte mir Herr Prof. Dr. Heim mit, daß sich in einer lange Zeit aufbewahrten Normal-Schwefelsäure, also solcher von 4,9 Proz. Gehalt an Schwefelsäure, ein Fadenpilz angefundenes hätte, und überließ mir in liebenswürdigster Weise die weitere Bearbeitung dieses Vorkommens. Das Mitte Januar eingetroffene Ausgangsmaterial wurde sogleich in frische und, um ihm Spuren von Nahrung zuzuführen, mit Berliner Leitungswasser hergestellte 4,5 und 2,25 Proz. Schwefelsäure übertragen, sowie in solche nach Hinzufügung verschiedener Nährstoffe. Von diesen hatte weder Kaliumphosphat noch Ammoniumcitrat, ebenso wenig ein Gemisch beider oder ein Zusatz von Bouillon, etwa 10 Proz., einen bemerkenswerten Einfluß auf das Wachstum; in allen Röhrrchen konnte, 8—10 Tage nach der Impfung mit einer Flocke eine Vermehrung des Mycels und Bildung von freien Konidien festgestellt werden, und zwar in der schwächeren Säure in etwas stärkerem Maße als in der 4,5-proz.; nach 3 Monaten hatte sich auf der Oberfläche der 4,5-proz. Schwefelsäure ohne Zusätze eine dünne Decke gebildet, während nur wenig Mycel am Boden lag und die Flüssigkeit fast klar erschien; in der 2,25-proz. Lösung war die Decke etwa doppelt so stark; in den mit obigen Zusätzen versehenen Röhrrchen war das Wachstum etwas kräftiger, und auch bei diesen übertraf die Vermehrung in der schwächeren Säure diejenige in der 4,5-proz.

Von außerordentlich günstigem Einfluß erwies sich ein Zusatz von Dextrose, sowohl allein, wie im Verein mit Kaliumphosphat oder Bouillon. Schon 3 Tage nach der Beimpfung mit dem Originalmycel zeigte sich kräftige Vermehrung; nach 6 Wochen war die Flüssigkeit, auch bei 4,5-proz. Säure, dicht mit Mycel erfüllt; auf der Oberfläche hatte sich eine dicke filzige Decke gebildet, welche sich 1—2 cm hoch an den Wänden emporzog.

Zu weiteren Versuchen, welche feststellen sollten, ob der Pilz in weniger sauren Nährlösungen besser gedeiht, sowie ferner, wann sein Wachstum bei steigendem Gehalt an Schwefelsäure aufhört, wurde ein Gemisch von Leitungswasser mit der erforderlichen Menge konzentrierter Schwefelsäure versetzt, hierauf 10 Proz. gewöhnliche Bouillon und 10 Proz. Traubenzucker hinzugefügt. Sollte z. B. die Nährflüssigkeit 6,4 Proz. Schwefelsäure enthalten, so wurden 35 ccm Leitungswasser mit 1,75 ccm Schwefelsäure von 1,846 spez. Gew. (= 3,2 g) versetzt, nach dem Abkühlen 0,5 g gepulverter Traubenzucker sowie 5 ccm Bouillon hinzugefügt und die Flüssigkeit mit Wasser zu 50 ccm aufgefüllt. Eine besondere Sterilisation fand nicht statt; es hat sich auch, entgegen meiner Hoffnung, selbst in den schwach sauren Nährböden ein anderer Pilz nicht angefundenes.

Bei den höheren Säuregraden wurde meist eine größere Menge Impfmateriale (1—7 ccm) verwendet und dessen Gehalt an Säure alsdann in Rechnung gezogen; es wurden z. B. bei dem einen Versuch gemischt 38 ccm Wasser mit 5 ccm Schwefelsäure (= 9,23 g), dazu 0,5 Dextrose, 5 ccm Bouillon und 7 ccm einer 14,6 Proz. Schwefelsäure enthaltenden Kultur (= 1,02 g) gesetzt. Diese 55 ccm enthielten daher 10,25 g Schwefelsäure, d. h. die Nährlösung enthält, da man für das Mycel einen geringen Abzug machen muß, sicher 18,5 Proz. Schwefelsäure. Die schwächeren Nährlösungen wurden durch passenden Zusatz von Wasser zu den stärkeren hergestellt bis hinunter zu 0,5 Proz. Gehalt an Schwefelsäure.

In den Lösungen mit 0,5 bis 2,5 Proz. ist die Schnelligkeit der Vermehrung fast dieselbe; dagegen macht sich eine geringe Abschwächung bei 3- und 4,5-proz. bemerklich; sie wird sehr deutlich bei 6- und 8-proz. Lösungen; doch erfüllt der Pilz schließlich, wenn auch bei verlangsamtem Wachstum, die Flüssigkeit nach längerer Zeit ebenso stark, wie in den schwächeren Lösungen in kürzerer Zeit. In den 1—4,5-proz. Nährlösungen, geimpft mit dem Originalmateriale und bei 22° gehalten, zeigte sich schon nach 3—4 Tagen deutliche Vermehrung; nach der Uebertragung aus der 4,5-proz. in 6,2-proz. und aus dieser nach 5 Tagen, als deutliches Angehen beobachtet war, in 7,2-proz., sowie in weiterer Folge aus letzterer in 9,2-proz. Nährlösung, konnten in dieser nach 8 Tagen die ersten sicheren Zeichen von Wachstum bemerkt werden. 8 Wochen später war die Nährflüssigkeit in allen Kölbchen, außer in demjenigen mit 9,2 Proz. mit feinflockigem Mycel bis zur Oberfläche angefüllt; in denjenigen mit 0,5—4,5 Proz. war eine schwache Oberflächendecke vorhanden. In dem 9,2-proz. Nährboden machte sich eine Verzögerung im Wachstum bemerklich, auch waren nach 3 Monaten und ruhigem Stehen nur etwa Zweidrittel der Flüssigkeit mit dem Mycel erfüllt; es fing an, sich zu kleinen Ballen zusammenzuklumpen. Noch stärker trat diese Erscheinung in 11,2-proz. Lösungen auf; die Einsaat aus der 9,2-proz. Kultur bildete je nach der Größe der übergeimpften Mycelflocken zusammenhängende Körner, von denen auch nach starkem Umschwenken des Kolbeninhaltes sich keine, mit bloßem Auge sichtbaren Teilchen abtrennten. In noch höherem Maße trat die Kornform des eingesäten Materials, sowie verlangsamtes Wachstum bei 12,8 und 14,6 Proz. Schwefelsäure auf; jedoch zeigte sich auch in diesen Lösungen nach 8 Tagen der Beginn des Wachstums und das Mycel machte bei der mikroskopischen Untersuchung den Eindruck, daß es gesund war. Eine Uebertragung solchen Mycels in 1,8-proz. Nährlösung sowie auf Pflaumenagar ging in etwa 3 Tagen deutlich an und zwar in der Flüssigkeit mit feinflockigem Mycel; von der Oberfläche eines jeden Kornes strahlten in solchem Fall zarte Fäden nach allen Richtungen aus. — Bei einem Gehalt von 11 Proz. Schwefelsäure und darüber steht die Flüssigkeit völlig klar über den am Boden liegenden Körnern. Auch bei einem Gehalt von 16 und 18,2 Proz. Schwefelsäure stirbt der an höhere Säuregrade gewöhnte Pilz nicht ab, doch fängt die Vermehrung an, sehr langsam vor sich zu gehen resp. aufzuhören; 25 Proz. Säure töten das Mycel, wie die folgenden beiden Versuche zeigten: Aus 14,6-proz. Säure wurde das Mycel in 18,2-proz. übertragen; blieb dort 7 Tage und keimte alsdann, in 1,8-proz. geimpft, etwas verzögert, jedoch nach 6 Tagen deutlich erkennbar aus. Aus der 18,2-proz. in 25-proz. übergeführt, dort 6 Tage belassen, war es abgetötet, da es in 18-proz. Nährboden, auch nach 26 Tagen, nicht anging. Die mikroskopische Untersuchung dieses abgetöteten Materials zeigte

keine auffälligen Unterschiede gegenüber dem noch entwicklungsfähigen. Nicht nur das allmählich an stärkere Säuregrade gewöhnte Mycel, sondern auch das in schwachen Lösungen gewachsene verträgt die Ueberimpfung in sehr stark saure Lösungen ohne Schaden; jedoch vermehrt es sich in letzteren nicht. Als bei einem Versuch Mycel aus 1,25-proz. Nährlösung in solche von 12,6 Proz. und 14,8 übergeimpft wurde, ließ sich auch nach 17 Tagen makroskopisch eine Vermehrung nicht feststellen; das Mycel lag scheinbar unverändert, kaum etwas zusammengeballter als in der Ausgangsflüssigkeit, am Boden; es schien abgetötet; ging nach Ueberführung auf Pflaumenagar und in 1,8-proz. Nährlösung jedoch nach 5 Tagen deutlich an bei dem Material aus der 12,6-proz. Lösung; während die Uebertragungen aus dem 14,8-proz. Nährboden auch nach 14 Tagen versagten. Da der letztere Versuch mit wenig Mycel angestellt war, wurde er mit einer größeren Menge wiederholt: Es wurden 5 ccm einer gut gediehenen 1,25-proz. Kultur in 45 ccm eines Gemisches aus 35 ccm Wasser, 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure, 5 ccm Bouillon, 0,5 g Dextrose gegossen und im Verlauf der nächsten Stunden öfters umgeschwenkt, um eine innige Mischung zu bewirken; die zuerst oben schwimmenden Flocken hatten sich alsdann zu Boden gesenkt. Nach 8-tägigem Aufbewahren bei 22° geschah die Ueberimpfung in 1,8-proz. Nährboden; fast schien der Versuch dasselbe Resultat zu ergeben wie der erste; endlich am 12. Tage wurden aus dem am Boden liegenden Impfmateriale die ersten unsicheren Anzeichen von neuem Mycel beobachtet; 24 Stunden später war es deutlich als Neubildung zu erkennen. Die plötzliche Ueberführung in 14,8-proz. Säure hatte den Pilz also schwer geschädigt und vielleicht nur einzelne Teile nicht völlig abgetötet.

Das Mycel des Originals zeigte große und kleine, das Licht stark brechende längliche und kugelige Gebilde, von denen die letzteren, wenn man sie bei nicht zu starker Vergrößerung betrachtete, Ähnlichkeit mit Schwefelkörnern z. B. von *Beggiatoa* zeigten. Die Färbung mit Anilinfarben, nach Auswaschen der Säure, ließ sie ungefärbt, dagegen speicherten sie Indophenol und Naphtolblau sehr stark, erwiesen sich also als „fett“haltige Plasmamassen; ferner enthielt dieses Mycel sehr feine Fäden, deren körniger Inhalt erst mit Oelimmersion erkannt werden konnte; auch in diesen ergab die Färbung mit Naphtolblau tief dunkelblau gefärbte Körnchen, darunter eine Anzahl an der Grenze der Sichtbarkeit; diese feinen Hyphen halte ich für die lebenskräftigsten, während die Hauptmasse der Pilzflocken den Eindruck einer abgestorbenen Masse machte (vgl. Fig. 1 und 2); in dem 3 Monate alten, in 4,5-proz. Säure ohne Zusätze frisch gebildeten Mycel dagegen konnten solche im Absterben begriffenen Massen nicht aufgefunden werden; es bestand durchweg aus Fäden ziemlich gleicher Dicke, weitläufig septiert und angefüllt mit Körnchen von ähnlicher Größe, wie in feinen Hyphen des Originalen. Ein letzterem ähnliches Mycel erhielt ich einmal, als Pilzflocken aus 1,25 Proz. in 12,8 Proz. Nährboden übergeimpft waren. Die Hyphen aus einem Nährboden mit 0,5—6-proz. Schwefelsäure sind sehr schleimig und besitzen keine scharfen Konturen, so daß Photogramme, auch nach Färbung mit Naphtolblau, wenig befriedigend ausfallen, erst bei einem Gehalt über 6 Proz. Säure wird die Membran dicker und tritt als schwarze Kontur hervor, während der Schleim zurücktritt (vgl. Fig. 6 u. 7). Beim Wachstum auf Pflaumenagar oder in Nährböden mit 0,5—6 Proz. Schwefelsäure erreichen die Hyphen

eine Breite von 1,5—4 μ ; in solchen mit größerem Gehalt nimmt die Breite zu; man findet oft Faden von 7—9 μ , auch wird die Septierung eine häufigere, bei hohem Gehalt an Schwefelsäure, z. B. 12—13 Proz., treten ovale und kugelige Gebilde bis 25 μ im Durchmesser, wahrscheinlich Chlamydosporen, auf, vollgepfropft mit körnigen Massen, an Hefe erinnernd, wenn man sie abgetrennt antrifft.

Auf Pflaumenagar wächst der Pilz in Gestalt einer fest verfilzten, fast knorpeligen Masse und breitet sich nur langsam über die Oberfläche aus; er bildet viele, meist ovale Chlamydosporen und an kurzen Seitenästen der jüngsten Hyphen einzelne Konidien, welche etwa 4-mal so lang als breit und häufig etwas gebogen sind; sie fallen ab und bleiben bei der Objektträgerkultur dicht beim Seitenast liegen, so daß dieser häufig von 3—6 Stück, durch Schleim verkitteten Konidien umgeben ist; selten beobachtet man mehrere von der Spitze ausstrahlende; ihr Inhalt ist sehr feinkörnig und in ungefärbtem Zustand mit Oelimmersion gerade erkennbar. In den Nährlösungen mit einem Gehalt bis 7 Proz. Säure, sowie auf dem Luftmycel von Agar werden sie in großer Menge gebildet; man trifft sie in allen Zuständen der Weiterentwicklung an. Bei höherem Gehalt an Säure treten sie zurück, während die Bildung von Chlamydosporen zunimmt. Die Länge der Konidien schwankt von 2,5—4 μ ; ihre Breite von 1—1,5 μ .

Herr Prof. Dr. G. Lindau in Berlin hat sich in bereitwilligster Weise der Mühe unterzogen, den Pilz nach eingesendeten Objektträgerkulturen zu bestimmen; er hält ihn für *Cephalosporium cremonium* Corda, eine auf verwesenden Pflanzenteilen, z. B. auf faulendem Laub, nicht selten vorkommende Art.

Die beste, d. h. klarste für Photogramme geeignete Färbung des Mycels erhält man durch Benutzung von Fettfarbstoffen; alle sonstigen Anilinfarbstoffe tingieren auch bei vorsichtigster Anwendung den Inhalt fast gleichmäßig, so daß letztere Präparate, da sie eine Differenzierung des Inhaltes nicht zeigen, für Photographie unbrauchbar sind.

Die Färbungen mit Fettgelb = Dimethylamidoazobenzol und Sudan III = Amidoazobenzolazo- β -naphthol haben mir weder bei Bakterien noch bei Fadenpilzen befriedigende Resultate gegeben; auch nicht nachdem Herr Prof. A. Meyer, welcher diese Farbstoffe an erster Stelle anwendet und empfiehlt, die Liebenswürdigkeit gehabt hatte, mir etwas von denselben Farbstoffen zu senden, welche er selbst für diesen Zweck benutzt; auch in den freundlichst mitgeschickten Präparaten von Bakterien ist es mir nur schwierig gelungen, die Färbung der Fettkörner zu sehen. Ohne Schwierigkeit jedoch erzielt man eine kräftige, von störenden Niederschlägen freie Färbung, welche bei Vaselineverschluß so lange haltbare Präparate ergibt, als dieses das Verdunsten der Einschlußflüssigkeit verhindert, bei Verwendung I des von Eisenberg wohl zuerst benutzten Indophenols, sowie II des von Dietrich und Liebermeister empfohlenen und von A. Meyer als für „Fett“ charakteristisch erkannten Naphtholblaus. Besonders das letztere liefert sehr reine Präparate, wenn man die Färbung mit verdünnteren Lösungen ausführt als 1-proz. Ich verfähre in folgender Weise:

Lösung I: 0,1 Dimethylparaphenylendiaminchlorid, nicht die leicht veränderliche Base, löst man in 20 ccm Wasser und bewahrt die Lösung, die sich bei Luftzutritt nach 4—6 Tagen dunkel färbt, am besten in kleinen, 1—2 ccm enthaltenden Glasröhren auf, welche fast völlig gefüllt und mit Plastilin verschlossen werden; noch sicherer wird die Luft

abgeschlossen, wenn man die Röhren einseitig auszieht, die Kapillare in 5—6 cm Länge abbricht, das Röhren mäßig erhitzt mit dem kapillaren Ende in die Lösung taucht; hierauf, nachdem 1—2 Tropfen beim Erkalten eingedrungen sind, von neuem bis zu kräftiger Dampfentwicklung erhitzt und schnell wiederum in die Lösung taucht; es wird dann beim Erkalten der ganze Raum mit Flüssigkeit angefüllt und die Kapillare läßt sich leicht zuschmelzen. Ich habe zu meinen Versuchen ein sehr altes, fast schwarz aussehendes Chlorid benutzt, welches eine schwach violette Lösung ergab.

Lösung II: 0,5 krystallisierte Soda löst man in 100 ccm Wasser als Vorratsflüssigkeit: gießt vor Anstellung eines Versuches 2—3 ccm in ein Reagenzglas, fügt etwa eine stecknadelkopfgroße Menge α -Naphthol hinzu, erwärmt auf 40—60° unter Umschütteln und läßt erkalten.

Zur Ausführung der Färbung bringt man in die Höhlung eines Objektträgers 1 Tropfen von Lösung I, fügt das zu färbende Material ein, mischt gut, setzt alsdann 1 Tropfen von Lösung II hinzu und rührt um. Die Bildung des Naphtholblaus beginnt alsbald; es wird sogleich von den fetthaltigen Vakuolen gespeichert und nach 2—5, spätestens nach 10 Minuten ist das Material hell- bis dunkelblau gefärbt, ohne daß die Flüssigkeit mit abgeschiedenem Farbstoff erfüllt ist. Ueberträgt man eine Oese der Flüssigkeit resp. etwas Mycel in ein Tröpfchen Wasser, so kann man leicht feststellen, ob das Material genügend gefärbt ist; erst nach einigen Stunden wird das Präparat durch abgeschiedene Körner von Naphtholblau unsauber.

Die Fig. 3—5 sowie 8 zeigen Stellen aus derartig gefärbten Präparaten.

Nachtrag.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich erwähnen, daß ich vor etwa 12 Jahren zum erstenmal, späterhin öfter beobachtet habe, daß sich in einer 5-proz. Kupfervitriollösung, welche zum Einweichen von Holzstäben, um sie haltbarer gegen Fäulnis zu machen, bei Aufbewahrung derselben fast regelmäßig Pilzmycel angefundener hat.

Im Anschluß an die obigen Untersuchungen habe ich nun festgestellt, daß es sich um *Penicillium glaucum* handelt; es bildet schließlich beim ruhigen Stehen der benutzten Flüssigkeit eine dünne Decke, von der sich an vielen Stellen Konidienträger erheben. Der Pilz befand sich in Reinkultur und ergab nach Uebertragung auf Agar die charakteristischen blaugrünen Rasen, verflüssigte die Gelatine stark und wuchs nicht bei 37°.

In 5-proz. Kupfervitriollösung, versetzt mit 1 Proz. Dextrose, 10 Proz. Bouillon wuchs er ebenso gut wie in der ursprünglichen Flüssigkeit; doch blieb das Mycel am Boden liegen; auch war nach 3 Wochen keine Spur einer Decke zu sehen. Nach Zusatz von 0,55 und 1,9 Proz. Schwefelsäure ging die Vermehrung etwas langsamer vor sich; das Mycel gelangte leicht nach der Oberfläche und breitete sich auf dieser unter Bildung von schneeweißen wulstartigen Wucherungen aus, während die Hauptmasse untergetaucht die Flüssigkeit erfüllte. Nach Ueberimpfung einer solchen schwimmenden Flocke in dieselbe Nährflüssigkeit jedoch mit 10 und 20 Proz. Kupfervitriol bei 0,55 Proz. Schwefelsäure, letztere also ziemlich gesättigt ($\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$ bedarf bei 20° 4 Teile Wasser zur Lösung) blieb sie auf der Oberfläche schwimmen und wuchs bedeutend langsamer als in der 5-proz. Lösung; das Luftmycel blieb schneeweiß. Konidienbildung wurde nicht beobachtet.

Zusammenfassung.

1) Ein in Normalschwefelsäure von Herrn Prof. Heim beobachteter Fadenpilz wurde von Herrn Prof. G. Lindau als *Cephalosporium acremonium* Corda bestimmt.

2) Meine Versuche haben ergeben, daß er in Nährböden, welche einen Zusatz von etwa 1 Proz. Traubenzucker und 10 Proz. Bouillon erhalten haben, noch gut wächst, nachdem dieser Nährflüssigkeit 7–8 Proz. Schwefelsäure hinzugefügt sind; ein höherer Gehalt bis zu 14,6 Proz. verlangsamt das Wachstum; selbst bei 18 Proz. wird er noch nicht abgetötet; in solchen sehr stark sauren Nährböden umgibt er sich mit einer starken Membran.

3) Die Hyphen enthalten viele bei Färbung mit Naphтолblau leicht nachweisbare Fettmassen.

4) *Penicillium glaucum* wächst nicht nur spontan in 5-proz., Nährstoffe enthaltender Kupfervitriollösung, sondern wird auch durch 10 und 20 Proz. desselben am langsamen Weiterwachsen nicht gehindert.

Nachdruck verboten.

Eine Gallertbildung in javanischem Zuckersaft.

Von Prof. Dr. E. Zettnow.

Hierzu die Tafelfig. 9–13.

Im Oktober 1913 erhielt ich durch gütige Vermittlung von Herrn Schuit, Vorsteher der Zuckerprüfstation zu Djokjakarta auf Java, einen rohen Froschlauch. Während frühere Sendungen, welche ich Herrn Prinsen Gerlich verdanke, in Berlin abgestorben ankamen, da sie vor der Absendung in der Sonne getrocknet waren, erreichte die obige Probe, 5 Wochen nach ihrer Aufgabe zur Post, lebend ihr Ziel; sie war nach meiner Anweisung zuerst durch mehrmaliges Schlämmen des rohen Produktes mit Wasser von der Hauptmasse der begleitenden Organismen befreit; hierauf etwa 1 Eßlöffel voll der abgesetzten Gallerte mit einem Teelöffel voll kohlen-saurem Kalk gut durchgemengt, in Pergamentpapier eingeschlagen und in einer Blechkapsel als Brief zur Post gegeben.

Die mikroskopische Untersuchung der Gallerte zeigte ein anderes Bild als dasjenige, welches für den europäischen Froschlauch gebildet durch *Streptococcus mesenterioides*, charakteristisch ist; es fehlten die kleinen Ballen, sowie nach Lebendfärbung mit Methylenblau oder Erythrosin die bekannten kleinen Ketten in der zerquetschten Masse (vgl. die Fig. 1 u. 2 in meiner Arbeit „Ueber Froschlauchbildungen“ Zeitschr. f. Hyg. 1907. Bd. 57). Bei schwächerer Vergrößerung, 8 mm Apochr., sah man einen ziemlich gleichmäßigen körnigen Brei, in welchem nach Färbung die Oelimmersion einzelne und Diplokokken, getrennt durch schmale helle Zwischenräume, wahrnehmen ließ; als Beimengungen traten Bakterien, Hefen- und Pilzhyphen auf; letztere ergaben auf den später angelegten Platten einen weißen *Aspergillus*.

Der Ausstrich der recht festen Gallerte (vgl. p. 157 meiner oben angeführten Arbeit) auf gewöhnliche Gelatine ergab einige Bakterien- und Hefekolonieen, sowie nach 3 Tagen eine große Menge sehr kleiner zarter Kolonieen eines Coccus; dieser bildete auf Saccharosegelatine ausgestrichen sehr feste, jedoch klein bleibende Kolonieen, war also der „Froschlauch“bildner.

Der Stich in Saccharosegelatine zeigte eine Wuchsform, welche sich von derjenigen des *Streptococcus mesenterioides* (vgl. die Fig. 39 sowie 44 und 45 meiner Arbeit) kaum unterschied. Die Bakterienmasse erinnert noch stärker an eine Krystallisation von schneeweißem Rohrzucker als bei den europäischen Arten; die einzigen geringen Unterschiede zeigen sich darin, daß sich schon am 3. oder 4. Tage ein wenig Gas bildet; jedoch wird auch nach mehreren Wochen die Gelatine nicht zerrissen oder hoch getrieben; auch hört das Dickenwachstum auf, wenn der Stich einen Durchmesser von 5—7 mm erlangt hat.

Im Strich auf Saccharosegelatine behält die Gallerte ihre Festigkeit mehrere Wochen, und selbst nach 2 Monaten ist sie nur zu geringem Teil abgeflossen.

Die Größe der Kokken von gewöhnlichem Agar, lebend mit Methylblau gefärbt (vgl. Fig. 9 u. 10) beträgt 0,9—1,1 μ ; häufig trifft man Diplokokken, seltener Verbände von 3—4, eher kleine Haufen; sehr selten sind kleine Ketten, wie solche die Fig. 9 zeigt; meist ist der Coccus etwas länger als breit; im Trockenpräparat gruppiert er sich wie ein *Staphylococcus* zu einzelnen voneinander getrennten Haufen; kleine Ketten habe ich in solchen Präparaten niemals gefunden.

Auf gewöhnlichem Agar bei 22° bildet er punktförmige, glattrandige und unter dem Mikroskop sehr feinkörnige Kolonieen, welche auch nach mehreren Tagen und ganz einzeln liegend nur einen Durchmesser von 0,25—0,3 mm erreichen.

Auf gewöhnlicher Gelatine erscheinen die flachen und glattrandigen Kolonieen grobkörniger als auf Agar; sie blieben kleiner als auf diesem Nährboden und erreichen auch nach 6—7 Tagen keinen größeren Durchmesser als 0,1 mm.

Auf Saccharosegelatine wachsen sie etwas in die Höhe und erreichen nach 4 Tagen bis 0,6 mm im Durchmesser; niemals wuchern sie wie diejenigen des *Streptococcus* in die Breite und Höhe.

In Saccharosebouillon als hüllenlose Form eingesät ergibt er schon nach 24 Stunden bei 30° eine dickschleimige Flüssigkeit, in welcher eine Anzahl Kokken sich mit kräftiger Hülle und zu kleinen knorpeligen Massen verbunden hat, während die Mehrzahl noch ohne eine solche ist. Zur Herstellung der Präparate, welche zur Aufnahme der Fig. 11—13 benutzt wurden, diente der ausgeschleuderte Satz einer solchen 24 Stunden alten Kultur. Nach dem 2maligen Waschen mit Wasser wurden Ausstriche hergestellt, mit Antimonbeize behandelt und schwach versilbert. Da die Beize nur vom Ektoplasma resp. der Hülle chemisch gebunden wird, nicht vom Cytoplasma, so erscheint in diesem Falle der sonst Anilinfarben stark speichernde Teil des Coccus ungefärbt, weil bei der Versilberung nur der die Beize enthaltende Teil sich gelb resp. schwarz färbt.

In Nährböden, welche Traubenzucker statt Rohrzucker enthalten, unterscheidet sich sein Wachstum nicht von denjenigen ohne diesen Zusatz; er zeigt also dasselbe Verhalten wie der *Streptococcus mesenterioides*.

Nach den mitgeteilten Beobachtungen handelt es sich wohl um einen noch nicht beschriebenen *Micrococcus*; ich schlage für ihn den Beinamen *djokjakartensis* vor nach seinem Herkunftsort.

In Nährböden ohne Zucker gezogen, erhält er sich etwa 3 Monate lang übertragungsfähig.

Erklärung der Abbildungen.

A.

Fig. 1—8. *Cephalosporium acremonium* Corda.

Fig. 1 u. 2. Originalmycel gewachsen in Normalschwefelsäure; gefärbt mit Naphtolblau. Der unscharfe Faden in Fig. 1 links ist wahrscheinlich der lebenskräftigste. Nasses Präparat 1000-fach.

Fig. 3—8. Mycel lebend, gewachsen in Nährflüssigkeit mit 12,6-proz. Schwefelsäure; nasse Präparate.

a) 3—5 und 8 gefärbt mit Naphtolblau, Vergrößerung bei 3—5 = 500-fach; bei 8 = 1000-fach; 4 u. 5 geben dieselbe Stelle wieder; die kleinsten Tropfen haben 0,2—0,3 μ , die größten haben 2—2,2 μ im Durchmesser.

b) 6 u. 7 lebend, nicht gefärbt. 6 = 400-fach; mit 8 mm Apochromat, 7 = 500-fach mit Oelimmersion aufgenommen. Beide Figuren zeigen den mannigfach gruppierten Inhalt der Zellen und die dick gewordene Membran, welche bei den Naphtolblaupräparaten wegen stärkerer Oeffnung des Beleuchtungskondensators kaum zu erkennen ist.

B.

Fig. 9—13. *Micrococcus djokjakartensis*.

9 u. 10 von gewöhnlichem Agar, lebend mit Methylenblau gefärbt; nasse Präparate.

11—13. Gewaschenes Material aus Saccharosebouillon; Trockenpräparat mit Antimonbeize behandelt, dann schwach versilbert.

Nachdruck verboten.

Ueber einen atypischen Typhusstamm.

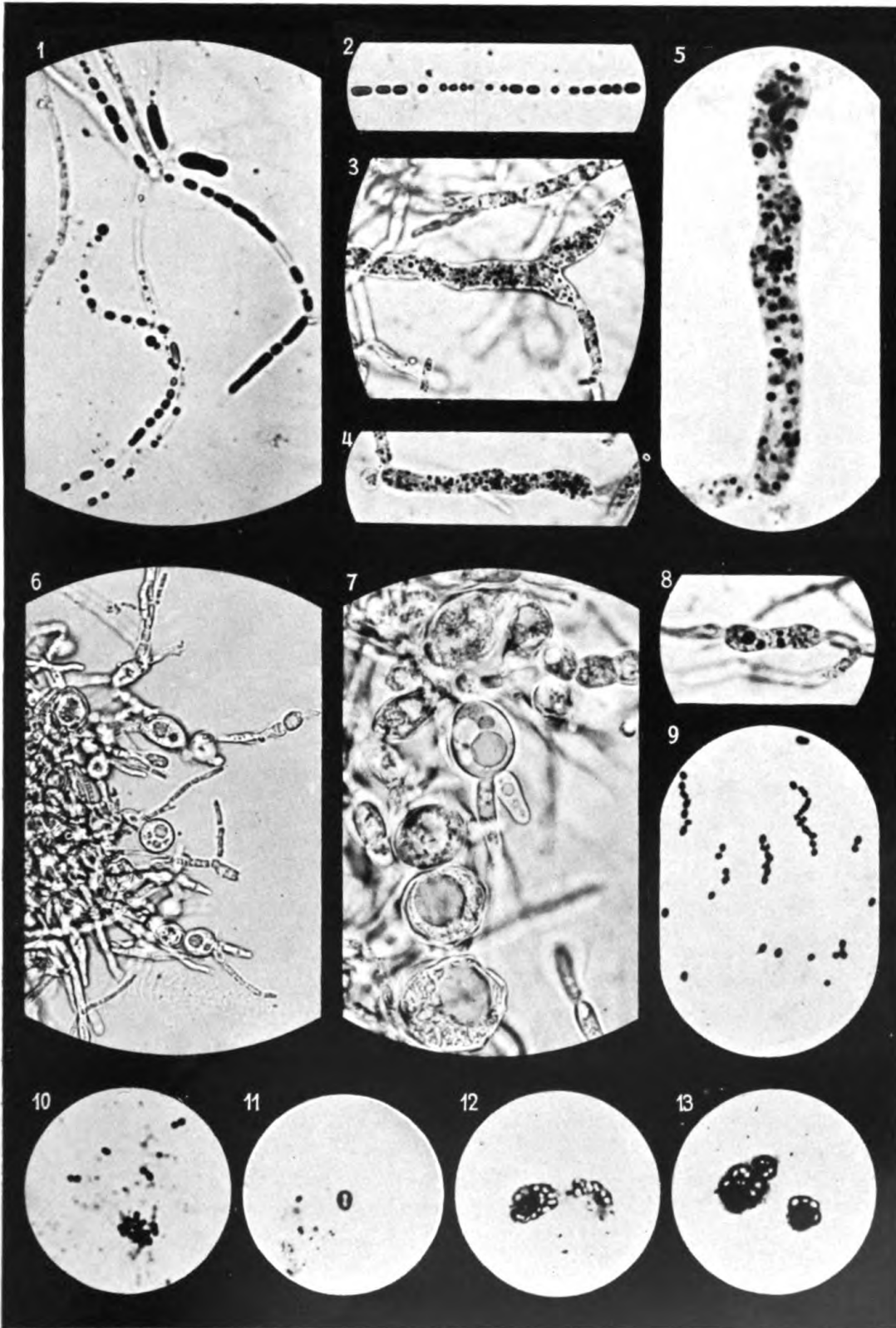
[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität
Straßburg (Direktor; Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth.
Anstalt für Typhusbekämpfung; Leiter: Prof. Dr. E. Levy).]

Von Stabsarzt Dr. Goebel, kdt. zur Anstalt.

Während meiner Tätigkeit an der damaligen bakteriologischen Untersuchungsanstalt in Saarbrücken, welche seinerzeit unter der Leitung des jetzigen Direktors im Kaiserlichen Gesundheitsamt, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Lentz, stand, fanden wir gelegentlich bei den Umgebungsuntersuchungen eines Typhusfalles im Urinausstrich des Ehemannes der betreffenden kranken Frau auf der Drigalski-Platte ein eigentümliches Wachstum von massenhaften kleinsten, feinen, bläulichen Kolonien, welche eindeutig im Typhusimmunserum agglutinierten. Die in der hiesigen Anstalt zu Ende geführte genaue Prüfung des isolierten Stammes ließ denn auch im weiteren keinen Zweifel darüber, daß es sich um einen echten Typhusstamm mit teilweise atypischem Verhalten auf den gebräuchlichsten Nährböden handelte.

Bevor wir auf Einzelheiten dieses Verhaltens eingehen, möchte ich die klinische Seite der durch diesen Bacillus ohne Zweifel hervorgerufenen Erkrankungen der Eheleute Sch. kurz streifen.

Der Mann P. Sch. ist ein 29-jähriger Bergarbeiter, der im Nebenamt das Friseurgewerbe ausübt. Er erkrankte, nachdem er längere Zeit schon vorher an Kopfschmerzen



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

und Appetitlosigkeit gelitten hatte, am 27. Sept. 1911 so, daß er arbeitsunfähig wurde; am 7. Okt. erfolgte seine Ueberführung in das Krankenhaus W. Dort machte er einen außerordentlich schweren Typhus durch: Wochenlange Benommenheit, typhöse Geschwüre an Lippen und Händen, ausgedehnter Decubitus an beiden Trochanteren und über dem Os sacrum, an der rechten Ferse und über dem linken Knöchel gingen mit der Erkrankung einher. Seit Weihnachten 1911 hatte er beim Urinlassen ad finem Brennen in der Harnröhre verspürt. Die mehrmalige Untersuchung des Urins durch den behandelnden Arzt war angeblich resultatlos.

Im März 1912 wurde er als Rekonvaleszent aus dem Krankenhaus entlassen, blieb mit kurzen Unterbrechungen jedoch noch arbeitsunfähig bis zum September 1912.

In dieser Zeit waren seine Beschwerden sehr wechselnd: Heftige kolikartige Schmerzen in der Gegend unterhalb des linken Rippenbogens, Brennen beim Urinieren führten ihn häufiger wieder zum Arzt, dann wieder fühlte er sich zeitweise wohl und ging auch zur Arbeit. Häufiger hatte er angeblich Schüttelfrost mit Fiebersteigerung bis 40,6°. An diese Schüttelfröste schloß sich dann angeblich immer eine Zeit besten Wohlbefindens an.

Die seinerzeit in dem Saarbrücker Institut durchgeführte bakteriologische Untersuchung hatte während seines Krankenhausaufenthaltes niemals die Anwesenheit von Typhusbacillen in seinen Ausscheidungen ergeben. Die Widalsche Reaktion war am 3. Okt. 1911 nur für 1:50 +.

Anfang Juli, also wenige Wochen nach der Rückkehr des Ehemannes aus dem Krankenhause, erkrankte nun Frau Sch. an einem typischen klinischen Typhus, der auch am 30. Juli 1912 die bakteriologische Bestätigung durch den positiven Ausfall der Widalschen Reaktion in der Verdünnung 1:100 fand; die Erkrankung verlief bei ihr leicht. Ende August wurde sie bereits wieder als klinisch genesen aus dem Krankenhause entlassen. Vielfache Untersuchungen hatten in ihren Ausscheidungen niemals die Anwesenheit von Typhusbacillen, allerdings auch nicht der im folgenden zu beschreibenden Abart ergeben.

Die auf Grund ihrer Erkrankung von der Saarbrücker Anstalt angestellten Ermittlungen und Umgebungsuntersuchungen führten dagegen zu der Entdeckung der erwähnten eigenartigen Bacillen im Urin ihres Ehemannes.

Die Bacillen wurden seitdem in jeder der untersuchten zahlreichen Urinproben des Mannes wieder aufgefunden.

Die Keime wuchsen auf der in der genannten Anstalt damals allein verwendeten Drigalski-Conradi-Agarplatte sowohl auf der Originalplatte, wie auch bei Weiterverimpfung als kleinste, mit bloßem Auge kaum sichtbare, leicht bläuliche Kolonien.

Auf dem gewöhnlichen Agar war das Wachstum dasselbe dürftige wie auf dem Drigalski-Nährboden; auch auf Rhamnose- und Maltose-Drigalski-Agar war die Größe der Kolonien die gleiche.

Die Schrägagarkultur glich weit eher einer Streptokokkenkultur; die Kulturmenge eines Röhrchens ergab durchschnittlich nicht annähernd eine Normalöse.

Bessere Wachstumsbedingungen fanden die Kulturausstriche auf dem Endo-Nährboden. Hier entwickelten sich üppigere, saftigere Kolonien von fast der gleichen Größe und Beschaffenheit, wie sie der Laboratoriumsvergleichsstamm lieferte.

Auf allen flüssigen Kulturmedien unterschied sich der Stamm in nichts von dem echten *Bact. typhi* (s. Tabelle).

Beliebig häufig fortgeführtes Ueberimpfen der Kultur lieferte stets wieder dasselbe Resultat. Auch die saftigeren Kolonien von der Endo-Platte ergaben bei Umzüchtung auf der Drigalski-Platte wieder kleinste kümmerliche Formen und umgekehrt.

	<i>Bacterium typhi</i>	Stamm S
Lackmusmolke	blaßrot	blaßrot
Traubenzuckerbouillon	keine Gasbildung	keine Gasbildung
Barsikow I Traubenzucker	Säurebildung u. Koagulation	Säurebildung u. Koagulation
Barsikow II Milchzucker	unverändert	unverändert
Mannitlösung (Hetsch)	Rötung	Rötung
Loeffler-Lösung I	typische Gerinnung, überstehende klare, grüne Flüssigkeit	typische Gerinnung
Loeffler-Lösung II	unverändert	unverändert
Milch	keine Gerinnung	keine Gerinnung

Mikroskopisch stellt sich der fragliche Bacillus dar als ein sehr kurzes, gut bewegliches Stäbchen. Färberisch verhält er sich gram-negativ.

Die orientierende Agglutination im Typhusimmunserum 1 : 100 ist, entsprechend der geringen Menge, welche die einzelstehende Kolonie liefert, eine schwache, sie ist jedoch, wie gesagt, eindeutig.

In den mit Kulturanschwemmung angesetzten Verdünnungen wird der Stamm von unserem Laboratoriumsimmunserum bis zur Titergrenze agglutiniert. In dem von ihm hergestellten Immunserum agglutiniert der Vergleichsstamm bis zu einer Verdünnung von 1 : 20 000, der Stamm selbst bis 1 : 30 000.

Für Tiere ist der Stamm pathogen. Die Versuchstiere gingen nach intraperitonealer Injektion von einem abgeschwemmten Rasen eines Schrägagarröhrchens, der, wie erwähnt, kaum einer Normalöse entspricht, zugrunde.

Der Pfeiffersche Versuch fällt positiv aus.

Nach dem Gesagten unterliegt es wohl keinem Zweifel, daß es sich bei dem in Rede stehenden Bacillus um einen echten Typhusstamm handelt, der sich von anderen Stämmen einzig durch ein auffallend gehemmttes Wachstum auf den meisten gebräuchlichen Nährböden unterscheidet.

Im Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 56. H. 3/4 beschreibt nun Jacobsen (Mitteilungen über einen variablen Typhusstamm — *Bacterium typhi mutabile* —, sowie über eine eigentümliche hemmende Wirkung des gewöhnlichen Agars, verursacht durch Autoklavierung) einen in vielen Punkten dem unsrigen ähnlichen Typhusstamm, den er gelegentlich einer Massenerkrankung in einer Irrenanstalt beobachtet hat, und in derselben Zeitschrift (Bd. 58. H. 5) berichtet Fromme (Ueber einen atypischen Typhusstamm) von einem Stamm, den er aus der Leiche einer an den Erscheinungen des Unterleibstyphus verstorbenen Frau gewonnen hat.

Beide Untersucher beobachteten an ihren Stämmen dieselbe auffällige Erscheinung, die auch wir an dem unsrigen feststellen konnten, daß dieselben auf dem gewöhnlichen und dem Drigalski-Agar ein äußerst kümmerliches Wachstum zeigten, während sie auf dem Endoschen Nährboden von dem Kontrollstamm sich nicht unterschieden.

Jacobsen beobachtete zwischen der dichten Reinkultur dieser kümmerlichen Bacillen einzelne Kolonien, welche kräftig und ungehemmt zu wachsen vermochten und sich bei Weiterverimpfung immer wieder als typische normale Typhuskolonien entwickelten; er sieht diese neue Varietät als durch echte Mutation im Sinne de Vries' entstanden an.

Diese Beobachtung konnten wir an dem von uns gefundenen Stamm, ebensowenig wie Fromme an dem seinigen, machen. Wie Fromme, konnten wir auch unsererseits nicht feststellen, daß diese merkwürdige Wachstumshemmung aufgehoben wurde durch nur einmalige Autoklavierung des Agars durch 15 Minuten, wie Jacobsen sie erzielt hat.

Uebereinstimmung haben die drei in Rede stehenden Stämme aber in der Tatsache, daß sie auf dem mit Natriumsulfit, in dem von Endo verlangten Prozentgehalt hergestellten Nährboden normales Wachstum zeigen.

Eine Erklärung für diese Tatsache konnten auch wir nicht finden.

Wir können uns deshalb, um die Prozentzahl der positiven Bacillenbefunde in den Ausscheidungen von Typhuskranken nach Möglichkeit zu erhöhen, nur der Forderung Frommes anschließen, daß in den Laboratorien, die sich mit der Verarbeitung von Typhusmaterial beschäftigen, der Endo-Nährboden in erster Linie herangezogen zu werden verdient.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Typhusbacillenträger bei Kaninchen.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. u. k. Militärsanitätskomitees in Wien (Vorstand: Stabsarzt Prof. Dr. Doerr).]

Von Regimentsarzt Dr. Franz Weinfurter.

Die ersten Autoren, welche das Uebertreten von intravenös injizierten Typhusbacillen in die Gallenblase bei Kaninchen feststellen konnten, waren Blackstein und Welch im Jahre 1899. Sie konnten bereits ermitteln, daß sich die Keime noch 128 Tage nach der Einspritzung in der Gallenblase lebensfähig erhalten können. Die Bedeutung dieses Befundes für die menschliche Typhuspathologie, die Möglichkeit, an einem so bequemen Versuchstiere verschiedene, sonst schwer lösbare Fragen der Typhuspathogenese experimentell entscheiden zu können, gaben später Veranlassung zu den ausgedehnten Untersuchungen von Forster, Forster und Kayser, Doerr, Blumenthal u. a.

Doerr fand nach intravenöser Injektion relativ hoher Dosen von Typhusbacillen (wie auch von Paratyphus und Colibacillen) fast regelmäßig eine Infektion der Gallenblase bei Kaninchen. Fortlaufende Prüfungen der Galle in verschiedenen Intervallen nach der Einspritzung zeigten, daß die ersten positiven Bacillenbefunde nicht vor 6 Stunden zu erheben sind und daß die Dauer des Verweilens der Keime in der Gallenblase je nach dem Tiere variieren.

Die Untersuchungen ergaben auch, daß es sich nur um ein einmaliges Eintreten der Keime in die Gallenblase kurze Zeit nach der Einspritzung handelt, wo sie sich dann lebhaft vermehren; ein späteres neuerliches Eindringen aus irgendeinem Depot des Körpers war auszuschließen, da sich nach 2 Wochen sowohl das Blut wie auch die Organe regelmäßig als keimfrei erwiesen. Das Verweilen der Typhusbacillen in der Gallenblase führt fast regelmäßig zu entzündlichen Reaktionserscheinungen derselben und zu Veränderungen der Galle selbst, die meist durch Verlust der Farbe, Trübung und Flockenbildung gekennzeichnet sind. Die Art, wie die Typhusbacillen aus dem Blute

in die Gallenblase gelangen, ist noch nicht mit absoluter Sicherheit entschieden, wenn es auch nach Doerr's Untersuchungen wahrscheinlich ist, daß die Keime zunächst in die Gallengänge der Leber durchtreten, um von hier aus rein passiv in die Gallenblase hineingeschwemmt zu werden.

Nicht so regelmäßig wie Doerr konnte Chiarolanza das Ueber-treten der Keime in die Gallenblase von Kaninchen nachweisen; er erhob oft schon 3 Tage nach der Einspritzung negative Befunde.

Inkonstant waren die Resultate nach intravenöser Einspritzung auch in den Experimenten von Uhlenhuth und Messerschmid, welche dann durch direkte Einspritzung von Typhusbacillen in die Gallenblase von Kaninchen ein regelmäßiges und lange dauerndes (bis zu 6 Monaten) Haften der Keime erzielen konnten. Aehnliche Versuche stellten Gilbert und Dominici, Richardson und Italia an. Hailer und Ungermann erhoben auch nach intravenöser Einspritzung regelmäßig positiven Befund in den ersten Tagen, während 3—4 Wochen darauf die Galle öfter keimfrei war. Direkte Einspritzung der Typhusbacillen in die Gallenblase führte zu ähnlichen konstanten Resultaten wie bei Uhlenhuth und Messerschmid (s. auch Marxer).

Aus diesen Angaben ist ersichtlich, daß die Resultate nach intravenöser Einspritzung von Typhusbacillen je nach den Autoren weitgehend differieren, ohne daß sich aus der Technik der Versuchsanordnung eine Erklärung für diese Differenz entnehmen ließe. Der Befund als solcher ist jedoch von so großer Bedeutung, daß es wünschenswert erschien, die Ursachen jener Unterschiede möglichst aufzuklären. Des weiteren schien es wichtig, jene Experimente von Aoki zu wiederholen, in denen dieser Autor aus dem serologischen Verhalten der Versuchstiere bestimmte Rückschlüsse zog auf eine bestehende oder fehlende Infektion der Gallenblase. Uebertragung dieses Ergebnisses auf den Menschen würde es möglich erscheinen lassen, selbst bei negativem Stuhlbefund Keimträger sicherzustellen.

Es war zunächst die Frage naheliegend, inwiefern das Gewicht der Tiere, die Höhe der injizierten Dosis, die Eigenart des benutzten Stammes für den Ausfall der Gallenblaseninfektion maßgebend sind. Ich verwendete bei den Versuchen vorwiegend Kaninchen und nur ausnahmsweise Meerschweinchen, die für solche Experimente weniger geeignet erscheinen. Bei der ersten Versuchsreihe war das Gewicht der Kaninchen gleichartig (ca. $2\frac{1}{2}$ kg), und es wurde die Menge der intravenös injizierten Typhusbacillen zwischen $\frac{1}{4}$ und 3 Oesen variiert.

Es wurden parallel 2 Stämme geprüft, und zwar „Typhus Agglutination“, welcher schon durch Jahre im Laboratorium fortgezüchtet war, und „Typhus Marschalek“, welcher vor kurzem aus dem Stuhle eines Typhuskranken isoliert worden war.

Zum Versuch kamen 20-stündige Kulturen auf Schrägagar, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und sofort danach intravenös injiziert. Die Entnahme der Galle erfolgte in Aether- oder Morphium-äthernarkose der Kaninchen, Laparotomie durch unterhalb des Processus xiphoides und parallel dem Rippenbogen verlaufende, schichtenweise Schnittführung. Die Gallenblase wurde an ihrem oberen Pole mit einer Pinzette gefaßt, eine geringe Menge ihres Inhaltes mit einer Pravaz-Spritze aspiriert und die Einstichstelle vor dem Entfernen der Kanüle abgebunden. Schichtweise Naht der Bauchdecken. Die Tiere erholten sich sehr rasch, und zeigten auch die Gallenblasen später keine durch

die Operation bedingten besonderen Veränderungen. Das Material wurde auf Drigalski-Platten verstrichen und etwaige darauf gewachsene typische Kolonien durch Agglutination mit einem hochwertigen Typhusimmenserum identifiziert.

Es sei hier ausdrücklich betont, daß die Untersuchungsergebnisse nur dann als positiv angesehen wurden, wenn aus der Galle reichliche Typhusbacillen kultivierbar waren. Jene Fälle, bei welchen nur vereinzelte Typhuskolonien gewachsen waren, wurden nicht berücksichtigt, da hier die Möglichkeit einer sekundären Verunreinigung — namentlich mit dem keimhaltigen Blute der Kaninchen — nicht absolut sicher auszuschließen war.

In der nachfolgenden Tabelle finden sich die Resultate nach der Menge der intravenös injizierten Keime zusammengestellt.

Tabelle 1.

Bezeichnung der Kultur	Injizierte Menge in Normalösen	Durchschnittsgewicht der Kaninchen	Der Befund war		Gesamtzahl der injizierten Tiere
			positiv	negativ	
Typhus Agglutination	1/4	1900—2500 g	2	4	6
Typhus Agglutination	1/2	1850—3050 g	4	7	11
Typhus Agglutination	1	2250—2300 g	2	7	9
Typhus Marschalek			15	5	20
Typhus Agglutination	2	2800—3200 g	6	4	10
Typhus Agglutination	3	2000 g	2	0	2

Von den insgesamt 58 Kaninchen, welchen Typhusbacillen intravenös injiziert worden waren, ließen sich demnach bei 31 (= 53 Proz.) die Keime in der Galle nachweisen, während 27 (= 47 Proz.) eine sterile Galle zeigten. Aus der Zusammenstellung geht weiter hervor, daß die Gallenblaseninfektion viel häufiger zustande kommt, wenn man größere Dosen von Typhusbacillen injiziert. Leider konnten die Versuche nicht in jenem Umfange ausgeführt werden, die eine absolut sichere Beantwortung dieser Frage gestattet hätte, da die Tiere die Injektion größerer Dosen schlecht vertrugen und vielfach schon nach kurzer Zeit eingingen.

Auffällig ist die erhobene Tatsache, daß bei Verwendung des Typhusstammes Marschalek ein beträchtlich höherer Prozentsatz an positiven Resultaten gewonnen wurde als nach Injektion des Stammes Agglutination bei Wahl der gleichen Dose (1 Oese). Es wäre nicht unmöglich, daß der eine in die Blutbahn eingebrachte Stamm gleichsam eine größere Tendenz hat, in die Gallenblase überzutreten als ein anderer. So mag sich vielleicht auch die mehrfach beobachtete Tatsache erklären, daß im Verlaufe von Typhusepidemien eine verschieden große Zahl von Dauer-ausscheidern zurückbleibt.

Die nächste Frage, welche zu beantworten war, lautete: Wie lange können sich die Typhusbacillen, die in die Galle eingewandert waren, daselbst halten?

Wir wissen aus den Untersuchungen Doerr's u. a., daß der Uebertritt der Typhusbacillen erst nach einem gewissen Zeitraum, und zwar nicht vor 6 Stunden post injectionem erfolgt. Schaltet man zwischen Injektion und Untersuchung des Gallenblaseninhaltes ein kurzes Intervall ein, so wird die Zahl der positiven Resultate eine viel größere sein als bei Wahl einer längeren Zwischenzeit, wie schon Chiarolanza, Uhlenhuth und Messerschmidt, Hailer und Ungermann betonen, Beobachtungen, die wir auf Grund unserer Versuche im allgemeinen bestätigen können. Auch wir fanden, daß am 1. Tage nach der Injektion von 10 Tieren 7 einen positiven Bacillenbefund aufwiesen, sich dann der Prozentsatz für ein Intervall bis zu 6 Tagen ungefähr gleich verhielt, um schließlich immer weiter abzunehmen.

Wir haben nun bei einer Reihe von Kaninchen, denen Typhusbacillen intravenös injiziert worden waren, nach 3–4 Tagen post injectionem eine Punktion der Galle vorgenommen und das Punktat auf den Gehalt an Typhusbacillen untersucht. Von jenen Tieren, die ein positives Resultat gaben, wurde dann nach verschiedenen Zeiträumen neuerlich die Galle auf ihren Gehalt an Typhusbacillen geprüft.

In der nachstehenden Tabelle 2 sind die Versuchsergebnisse verzeichnet.

Tabelle 2.

Intervall zwischen 1. und 2. Untersuchung in Tagen	Positiver Bacillenbefund	Negativer Bacillenbefund	Zahl der untersuchten Kaninchen
3–5	2	.	2
9	2	.	2
20	1	.	1
29	.	1	1
30–36	5	1	6
51	.	1	1
132	.	1	1
184–186	.	2	2
274	1	.	1

Nach einem Zeitraume von mehr als ungefähr 7 Wochen fanden wir also nur ganz ausnahmsweise Typhusbacillen in der Gallenblase von infizierten Kaninchen, und zwar bei einem Tiere noch nach 9 Monaten. Das anscheinend völlig gesunde Kaninchen war durch Nackenschlag getötet worden und zeigte folgenden Sektionsbefund:

Vom Fundus der Gallenblase zieht ein ca. 1 cm breiter Bindegewebsstrang zur Operationsnarbe, sonst war die Gallenblase allenthalben frei, ihre Wand nur mäßig verdickt, der Ductus cysticus frei und ohne Knickungen. Der Gallenblaseninhalte zeigte sich fast pigmentfrei, mit feinen weißlichen Schleimflocken untermischt.

Aus den oben zusammengestellten Versuchen geht weiter hervor, daß die in der Gallenblase vorhandenen Typhusbacillen wieder spontan aus derselben verschwinden können; zu meist bleiben dann nur mehr oder weniger starke entzündliche Veränderungen der Gallenblasenwand zurück, wie Verdickungen und Schrumpfungen derselben, Verwachsungen der Serosa mit der Umgebung. In einigen Fällen war tatsächlich eine vollkommene Ausheilung eingetreten, und man konnte bloß durch die histologische Untersuchung Veränderungen an der Gallenblasenwand nachweisen, wie wir an mehreren

Fällen histologisch feststellen konnten. Im nachfolgenden seien kurz die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen mitgeteilt, und zwar von einem Fall von ganz frischer Cholecystitis typhosa, einem von chronischer Infektion mit Typhusbacillen und schließlich von einem Falle, bei welchem nicht nur die Bacillen aus der Galle verschwanden, sondern auch die pathologischen Veränderungen an der Gallenblase zur Ausheilung gekommen waren.

a) Fall von frischer Cholecystitis typhosa (in der Gallenblase reichliche Typhusbacillen nachweisbar). Gallenblase fixiert in Müller-Formol, Färbung mit Hämalaun-Eosin und Loeffler-Blau.

Die Gallenblasenwand ist von kleinzelligen Infiltraten durchsetzt; diese sitzen hauptsächlich unterhalb des Epithels. Die äußeren Anteile der Gallenblasenwand sind stark aufgelockert und weisen reichlich erweiterte Kapillaren auf, welche stellenweise ebenfalls von Rundzellen umgeben sind. Das Epithel weist sowohl auf der Höhe der Zotten als auch in den Buchten kleinere und größere Defekte auf, an welche stellenweise ein Maschenwerk von Fibrinfäden mit eingeschlossenen Leukocyten und Zelltrümmern von abgestorbenen Epithelien angelagert erscheinen. Das Epithel der Zotten ist an einigen Stellen in seinem Verbinde gelockert, die Zellen haben daselbst eine unregelmäßige Gestalt, manchmal fehlt eine deutliche Kernfärbung. Stellenweise scheinen die Zotten zu fehlen, und an ihrer Stelle befindet sich ein feinmaschiges, mit Zellresten und amorphen Massen durchsetztes Fibrinnetz.

Im Gallenblaseninhalte befindet sich eine zum Teil amorphe, zum Teil feinfädige Masse, welche spärliche zellige Elemente umschließt (Lymphocyten?).

b) Fall von chronischer Cholecystitis typhosa (in der Gallenblase 9 Monate post injectionem massenhaft Typhusbacillen nachweisbar). Gallenblase fixiert in Müller-Formol, Färbung mit Hämalaun-Eosin und Loeffler-Blau.

Die Wand der Gallenblase ist durch die Entwicklung eines ziemlich derben Bindegewebes, namentlich im Bereiche der Subserosa, verdickt. Das Deckepithel ist allenthalben aufgelockert, von der Unterlage stellenweise in größeren Zellverbänden abgehoben; die Zotten sind vielfach ihres Epithels vollkommen beraubt und stellenweise beträchtlich verdünnt. Die Gefäße weisen zum Teil verdickte, infiltrierte Wandungen auf. Sonst weist die Gallenblasenwand spärliche kleinzellige Infiltrate auf.

c) Fall von ausgeheilter Cholecystitis typhosa (das Kaninchen wurde am 6. Juli 1913 intravenös injiziert, zeigte am 12. Juli 1913 positiven Bacillenbefund in der Galle und wurde am 8. Jan. 1914 — also nach 6 Monaten — durch Nackenschlag getötet, Galle steril). Fixation und Färbung wie früher.

Die Gallenblasenwand erscheint ziemlich stark verdickt infolge einer reichlichen Bindegewebsentwicklung. Das Bindegewebe durchkreuzt die Schichten der Gallenblasenwand in verschiedenen Richtungen, so daß einzelne Bündel der Muskelschicht fast inselförmig zwischen dem Bindegewebe zu liegen kommen. Die Gefäße sind verdickt, stellenweise von kleinzelligen Infiltraten umgeben. Die größten Veränderungen weist aber die Mucosa auf: sie ist fast in ihrer gesamten Ausdehnung des Epithels beraubt und man sieht bloß ziemlich kernreiche, epithellose und an einigen Stellen verdickte Zotten in das Innere der Gallenblase hineinragen. Stellenweise wieder sind die Zotten sehr stark verschmälert und die Spitzenanteile mehrerer Zotten erscheinen durch ziemlich breite Brücken eines zellreichen Bindegewebes miteinander verwachsen.

Diese drei Befunde scheinen zu beweisen, daß man je nach dem Stadium der typhösen Infektion der Gallenblase des Kaninchens eine akute (zum Teil diphtherische), ferner eine chronische Cholecystitis mit dem Beginn einer Ausheilung und schließlich eine tatsächlich ausgeheilte Entzündung der Gallenblasenwand antreffen kann. Das wirklich eine Ausheilung im letzten Falle eingetreten ist, beweist, abgesehen vom anatomischen Befund, noch das vollkommene Verschwinden der Typhusbacillen. Inwieweit diese interessanten Verhältnisse auf die menschliche Pathologie einen Schluß erlauben werden, kann nur durch vergleichende Untersuchungen an menschlichen Gallenblasen mit vorhandener oder überstandener Typhusbacilleninfektion eruiert werden.

Anhangsweise sei hier auch einer der Versuche an Meerschweinchen wiedergegeben, der gleichfalls dafür spricht, daß aus der infizierten

Gallenblase die Typhusbacillen nach einiger Zeit wieder spontan verschwinden können.

Am 30. Juni 1913 wurden 6 ungefähr gleichgewichtige Meerschweinchen mit $\frac{1}{2}$ Oese des Stammes „Typhus Agglutination“ intravenös injiziert.

Meerschweinchen No. 1 † am 1. Juli, die Galle enthält Typhusbacillen in Reinkultur.

Meerschweinchen No. 2 † am 1. Juli, derselbe Befund.

Meerschweinchen No. 3 wird am 23. Okt. 1913 getötet. Sektionsbefund: Gallenblase mäßig verdickt, die Serosa derselben mit zahlreichen feinen Bindegewebssäden an die Umgebung verwachsen (ausgeheilte Pericholecystitis). Die grünlich-gelbe klare Galle ist steril.

Meerschweinchen No. 4 wird am 23. Okt. 1913 getötet. An der Gallenblase keine pathologischen Veränderungen. Galle normal und steril.

Meerschweinchen No. 5 wird am 23. Okt. 1913 getötet und zeigt einen Sektionsbefund wie No. 3.

Meerschweinchen No. 6 wird am 7. Nov. 1913 getötet. Sektionsbefund: Gallenblase normal groß, beträchtlich verdickt, durch zahlreiche feine Bindegewebssäden und eine zarte Membran mit dem Anfangsteil des Dünndarmes und mit der Bauchwand verwachsen. Galle klar und steril.

Beim Meerschweinchen No. 3, 5 und 6 bestanden demnach alle Zeichen einer ausgeheilten Pericholecystitis mit bindegewebigen Residuen. Es ist wohl zweifellos anzunehmen, daß diese pathologischen Veränderungen auf eine durch die injizierten Typhusbacillen bedingte Infektion der Gallenblase mit konsekutiver spontaner Ausheilung derselben zurückzuführen sei. Wir haben viele Hunderte von normalen Meerschweinchen, die zur Komplementgewinnung entblutet worden waren, seziiert und niemals einen derartigen Befund erheben können.

Schließlich stellten wir es uns zur Aufgabe, zu untersuchen, ob auf serodiagnostischem Wege eine Möglichkeit vorhanden ist, Kaninchen-Typhusbacillenträger zu ermitteln.

Doerr hatte bereits finden können, daß die Anwesenheit der Typhusbacillen in der Galle den Agglutinintiter des Serums nicht zu flussunfähig imstande ist; der Titer hängt nach dem erwähnten Autor auf einer Versuchsreihe „nur von dem zeitlichen Intervall zwischen Injektion und Untersuchung, nicht aber von der Fortexistenz der Typhusbacillen in der Galle“ ab. Um so bemerkenswerter sind demnach die Ergebnisse, welche Aoki mit der Komplementbindungs- und der Hämolyse-reaktion nach Müller-Gaehgens-Aoki bei Kaninchen-Typhusbacillenträgern erzielte. Die Bordet-Gengousche Komplementbindungsreaktion ist, wie bekannt, eine äußerst empfindliche Antigen-Antikörperreaktion und wurde mit Erfolg bereits von Schöne u. a. (Temperatur bei Aoki) für die Diagnose von Bacillenträgern herangezogen.

Aoki erhielt mit dem Serum von 15 Kaninchen, welche nach Einbringung der Typhusbacillen direkt in das Innere der Gallenblase zu Bacillenträgern gemacht wurden und über 2 Monate lang Bacillenträger geblieben waren, eine positive Komplementbindung, und beobachtete ferner, daß das Serum jener Typhusbacillenträger, welche einer aktiven Typhusimmunisierung unterzogen wurden, an und für sich den Ablauf der Hämolyse nicht hemmten, daß dagegen das Serum der nicht behandelten Typhusbacillenträger einen deutlichen hemmenden Einfluß auf die Hämolyse ausübte.

Letzterwähnte Reaktion — die Hämolysehemmungsreaktion — wurde von Müller, Gaehgens und Aoki zuerst nach oraler Infektion von Pferden mit lebenden Rotzbacillen beobachtet; die Autoren konnten ferner nachweisen, daß „die spontan hemmende Kraft des Serums . . . in auffälliger Weise“ mit der Stärke der Komplementablenkung bei

Antigenzusatz parallel verläuft: je stärker die Komplementbindung, um so deutlicher ausgesprochen ist die Hämolysehemmungsreaktion. Mit dem Serum von normalen Kaninchen fällt sowohl die Komplementablenkungs- als auch die Hämolysehemmungsreaktion negativ aus. Die Tatsache, daß nach Aoki die Sera der Typhusbacillenträger-Kaninchen eine Hämolysehemmungsreaktion geben, ist insofern bemerkenswert, als nach unseren nicht veröffentlichten Versuchen Normalsera, antitoxische, hämolyzierende und zumeist auch agglutinierende Sera in den Dosen von 0,1—0,005 ccm die Hämolyse nicht verzögerten. Eine Ausnahme machten bloß präzipitierende Antieiweißsera, welche oftmals zu einer Hemmung der Hämolyse führten. Vollkommen im Einklange zu diesen Untersuchungen stehen die Befunde Lebaillys, der nur bei präzipitierenden Seris eine antikomplementäre Wirkung beobachtete, während zwei normale, ein agglutinierendes und drei hämolyzierende Kaninchensera diese Eigenschaft nicht besaßen.

In unseren Versuchen betreffend die Komplementablenkung hielten wir uns hinsichtlich der Technik an die Angaben Aokis. Als Antigen verwendeten wir die Aufschwemmung einer frisch gewachsenen 14-stündigen Typhusschrägagarkultur in 4,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung, von deren 10facher Verdünnung jeder Probe 0,2 ccm zugesetzt wurde. Die zu prüfenden Kaninchensera — wir hatten im ganzen das Serum von 15 Tieren untersucht — wurden $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° im Wasserbad inaktiviert, dann fallende Dosen des Serums mit dem Antigen vermischt und in jedes Röhrchen 0,5 ccm einer 10fachen Verdünnung Komplementserums beigefügt. Als Komplement wurde stets nur ganz frisches Serum normaler Meerschweinchen benutzt, von dessen Wirksamkeit wir uns durch entsprechende Kontrollen überzeugt hatten. Die Bindungszeit betrug in allen Versuchen genau 1 Stunde (bei 37°), sodann fügten wir die zweifach lösende Dosis eines hochwertigen Hammelblutambozeptors (enthalten in 0,1 ccm Flüssigkeit) und 1 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung frischen, dreimal gewaschenen Hammelblutes in physiologischer Kochsalzlösung zu. Das Reaktionsvolumen war in allen Röhrchen dasselbe und betrug 3,1 ccm. Die Ablesung der Proben erfolgte stets nach 20 Minuten; nur in jenen Fällen, in welchen die Kontrollen nach dieser Zeit noch nicht gelöst waren, wurde mit der Notierung des Resultates etwas länger gewartet.

Die Versuche hinsichtlich der Hämolysehemmung durch diese Kaninchensera wurden in der Weise angestellt, daß zu fallenden Dosen der zu prüfenden inaktivierten Sera 0,5 ccm einer 10fachen Komplementverdünnung (s. o.) zugesetzt, die Flüssigkeitsmengen in jedem Röhrchen auf das gleiche Volumen ergänzt und die Proben 1 Stunde bei 37° gehalten wurden. Sodann erfolgte wieder in der bereits oben beschriebenen Weise der Zusatz der Hammelblutambozeptordosis und der Hammelblutaufschwemmung. Die Ablesung der Proben erfolgte ebenfalls wieder nach 20 Minuten.

Um einen eventuellen Zusammenhang zwischen der Komplementbindung, Hämolysehemmung und Agglutination zu ermitteln, wurde auch immer der Agglutinintiter des untersuchten Serums bestimmt. Die Bestimmung des Agglutinintiters führten wir in der üblichen Weise nach der makroskopischen Methode durch.

Vorausgeschickt sei, daß Kaninchen, deren Serum nur wenige Tage nach erfolgter einmaliger intravenöser Injektion von Typhusbacillen

untersucht worden war, hinsichtlich der Komplementbindung und Hämolysehemmung negative Resultate ergaben. Diese Versuche bildeten gleichsam auch eine ergänzende Kontrolle für das Fehlen komplementbindender Antikörper und hämolysehemmender Substanzen in Normalkaninchenseris.

Im ganzen haben wir 15 Kaninchen untersucht, denen ein oder mehrere Male Typhusbacillen intravenös injiziert worden waren. Wir führen im folgenden jedoch nur mehrere markante Beispiele an, die gleichsam als Paradigmata für die verschiedenen Versuchsergebnisse gelten können. Vorerst sei lediglich der Gang der Untersuchungen und deren Ergebnisse beschrieben, wie wir sie bei den einzelnen Tieren fanden.

1) Kaninchen No. 994, 2380 g.

Am 3. Febr. 1914. 1 Oese Typhus (Stamm Agglutination) intravenös.

4. Febr. Aderlaß; das Serum wird inaktiviert und auf seinen Gehalt an komplementbindenden Ambozeptoren resp. seine hämolysehemmende Kraft und sein Agglutinität ausgewertet.

Die nachstehende zusammenfassende Tabelle zeigt die Versuchsergebnisse.

5. Febr. Punktion der Gallenblase: Typhusbacillen in Reinkultur.

12. Febr. 2. Aderlaß; Auswertungsversuche wie oben.

16. Febr. 3. Aderlaß.

20. Febr. 4. Aderlaß.

23. Febr. 5. Aderlaß; das Kaninchen wird unmittelbar darauf durch Nackenschlag getötet. Die Kultur der Galle ergibt reichlichste Typhusbacillen. Das Kaninchen war also durch 20 Tage Typhusbacillenträger.

Tabelle 3¹⁾.

Aderlaß am	Agglutination	Komplementbindung mit Typhusantigen					Hämolysehemmung					Anmerkung
		0,1	0,05	0,03	0,01	0,005	0,1	0,05	0,03	0,01	0,005	
4. Febr.	1:100—1:800	Ø	k	k	k	k	k	k	k	k	k	Kontrolle: hämolytisches System + Antigen = opslieszierend
12. „	1:200	+++	f. k	f. k	k	k	k	k	k	k	k	
16. „	1:200	+++	++	f. k	f. k	f. k	f. k	k	k	k	k	
	1:200—1:800		++	++	++	f. k	k	k	k	k	k	
	1:160	++	k	k	k	k	k	k	k	k	k	

Aus den Versuchen geht hervor, daß beim 1. Aderlaß weder eine Komplementbindung noch eine Hämolysehemmung zu beobachten waren. Am 2. Aderlaß fand sich eine ganz geringfügige Komplementbindung bei den zwei höchsten Dosen des Kaninchenserums; eine Hämolysehemmung blieb völlig aus. Agglutinine konnten in Serumverdünnungen von 1:100—1:800 nicht nachgewiesen werden. Beim 3. Aderlaß waren die Werte der komplementbindenden Ambozeptoren kaum gestiegen; eine hämolysehemmende Wirkung des Serums ebenfalls nicht festzustellen. Das Serum agglutinierte Typhusbacillen bis zu einer Verdünnung von 1:200. Der 4. Aderlaß lieferte ein Serum, das etwas komplementbindende Antikörper enthielt, jedoch ebenfalls wieder keine Hämolysehemmung ergab. Durch den 5. Aderlaß wurde ein Serum gewonnen, in dem komplementbindende Antikörper nicht nachge-

1) k komplette Hämolyse, f. k fast komplette Hämolyse, ++ starke Hämolyse
+ schwache Hämolyse, Sp spurenweise Hämolyse, Ø keine Hämolyse.

wiesen werden konnten, und das auch keine Hämolysehemmung bedingte, obwohl in der Gallenblase reichlich Typhusbacillen vorhanden waren. Der Agglutinationstiter war nunmehr auf 1:1600 gestiegen.

2) Kaninchen No. 936, ungebraucht, 2500 g, erhält am 11. Febr. 1 Oese Typhusbacillen Stamm Marschalek intravenös.

Aderlaß am	Agglutination	Komplementbindung mit Typhusantigen					Hämolysehemmung					Anmerkung
		0,1	0,05	0,03	0,01	0,005	0,1	0,05	0,03	0,01	0,005	
15. Febr.	100 ++ 200 +	f. k	f. k	f. k	f. k	f. k	k	k	k	k	k	Häm. Syst.+ Antigen opaleszierend (f. k)
20. „	.	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	
23. „	800 +++ 1600 +	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	
26. „	800 +++ 1600 +	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	
2. März	400 +++ 800 ++ 1600 +	++	Sp	Sp	ø	+	++	++	+	++	f. k	
7. „	400 +++ 800 + 1600 ø	ø	ø	ø	ø	ø	k	k	k	k	k	Häm. Syst.+ Antigen f. k
10. „	200 +++ 400 ++ 800 Sp	++	f. k	k	k	k	k	k	k	k	k	

Das untersuchte Kaninchen hatte bei der am 17. Febr., also 6 Tage nach erfolgter iv. Injektion der Typhusbacillen vorgenommenen Laparotomie reichlich Typhusbacillen in der Gallenblase. Die Komplementbindungsreaktion sowie die Prüfung der Hämolysehemmung ergab bis zum 9. Tag nach der Injektion durchweg negative Resultate. Nach 19 Tagen war jedoch eine ziemlich starke Komplementbindung und auch eine mäßige Hämolysehemmung zu bemerken; erstere fand sich auch noch nach 24 Tagen, verringerte sich jedoch wieder bedeutend nach 27 Tagen.

Das Kaninchen ging 29 Tage nach der Infektion ein und wies eine sterile Galle auf. Ob der beobachtete Rückgang des Gehaltes an komplementbindenden Antikörpern mit dem Zeitpunkte des Verschwindens der Typhusbacillen aus der Gallenblase zusammenfiel, läßt sich natürlich nicht entscheiden.

Auffallend erscheint das Versuchsergebnis beim 5. Aderlaß, insofern als hier die größeren Quantitäten des Kaninchenserums eine geringere Komplementbindung verursachten als die kleineren Mengen. Dieses scheinbar paradoxe Verhalten läßt sich vielleicht durch den Gehalt des Kaninchenserums an Normalambozeptoren für Hammelbluterythrocyten, wie er ja meist beobachtet wird, erklären. Wir haben eine Reihe von diesbezüglichen Versuchen angestellt und finden können, daß manche Kaninchen Sera liefern, die noch in Mengen von 0,06 ccm im Vereine mit Komplement eine wenn auch nur partielle Lyse der zugesetzten Hammelblutkörperchen bedingen. Es wäre demnach ganz gut denkbar, daß die Summation von Immun- und Normalambozeptor eine Verstärkung

der hämolytischen und dadurch eine scheinbare Verringerung der anti-komplementären Wirkung des Serums verursacht, die sich natürlich in stärkeren Serumkonzentrationen deutlicher ausprägt. Wir haben diese Erscheinung mehrfach bei verschiedenen Kaninchenseris zu beobachten Gelegenheit gehabt.

3) Kaninchen No. 943, 2000 g, erhält am 11. Febr. 1914 1 Oese Typhusbacillen (Stamm Marschalek) intravenös. Nach 6 Tagen (17. Febr.) wurden in der durch Punction der Gallenblase gewonnenen Galle reichlich Typhusbacillen nachgewiesen.

In Versuchen mit dem Serum, gewonnen durch Aderlässe nach 4 (15. Febr.), 9 (20. Febr.), 12 (23. Febr.) Tagen, waren zwischen den Testproben und den Kontrollen hinsichtlich der Komplementbindung und der Hämolysehemmung keinerlei Differenzen nachzuweisen. Der Agglutinintiter stieg von 1:100 beim 1. bis 1:800 beim 3. Aderlaß. Die Resultate der Aderlässe finden sich in der nachfolgenden Tabelle verzeichnet.

Aderlaß am	Agglutination	Komplementbindung mit Typhusantigen					Hämolysehemmung					Anmerkung
		0,1	0,05	0,03	0,01	0,005	0,1	0,05	0,03	0,01	0,005	
26. Febr.	800 +++ 1600 ++	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	
2. März	1600 +++ 3200 + 6400 0	0	0	0	Sp	Sp	k	k	k	k	k	
7. „	800 +++ 1600 ++ 3200 0	0	0	0	0	Sp	k	k	k	k	k	Häm. Syst. + Antigen f. k
10. „	800 ++ 1600 ++ 3200 0	0	0	0	Sp	Sp	k	k	k	k	k	Dgl.
14. „	400 +++ 800—1600 ++ 3200 Sp	0	0	0	+	++	k	k	k	k	k	Dgl.
17. „	800 + 1600 Sp 3200 0	0	0	0	+	+	k	k	k	k	k	
20. „	800 + 1600 Sp 3200 0	0	0	0	0	+	k	k	k	k	k	
23. „	400 ++ 800 + 1600 Sp	++	++	f. k	f. k	f. k	k	k	k	k	k	
26. „	200 +++ 400 ++ 800 Sp, 1600 0	f. k	f. k	k	k	k	k	k	k	k	k	
29. „	400 ++ 800 Sp 1600 0	++	k	k	k	k	k	k	k	k	k	Dgl.
3. April	200—400 + 800 Sp 1600 0	++	f. k	k	k	k	k	k	k	k	k	Dgl.

Das Serum zeigte also erst vom 19. Tage nach der Injektion einen ziemlich beträchtlichen Gehalt an komplementbindenden Antikörpern, der bis zum 38. Tage langsam, aber stetig zunahm, um dann bereits vom 41. Tage an rasch abzunehmen und am Tage vor der Tötung des Tieres (3. April) nur mehr ganz geringgradig vorhanden zu sein.

Eine hämolysehemmende Eigenschaft konnte, wie ersichtlich, während der ganzen Beobachtungszeit nicht festgestellt werden. Der Agglutinititer erreichte seinen höchsten Wert am 14. März und sinkt dann langsam, aber konstant ab. Bei der Sektion des Tieres konnten in der Galle trotz ihres noch „typischen“ Aussehens Typhusbacillen nicht nachgewiesen werden.

Erwähnt sei, daß die Versuche mit einem anderen Typhusbacillenträger-Kaninchen (No. 901), bei welchem innerhalb 30 Tagen 9 Aderlässe geprüft worden waren, ganz den Ergebnissen bei Kaninchen No. 943 entsprachen. Auch hier war der Gehalt des Serums an komplementbindenden Antikörpern nach 30 Tagen wieder ein außerordentlich geringer. Bei der Sektion wurde die Galle steril befunden.

4) Kaninchen No. 918, 2400 g, erhält am 9. Febr. 1914 1 Oese Typhusbacillen (Stamm Marschalek) intravenös. Die durch Punktion am 17. Febr. gewonnene Gallenblase enthält reichlich Typhusbacillen.

Die Resultate der Versuche über den Gehalt an komplementbindenden Antikörpern und Hämolysehemmung sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Aderlaß am	Agglutination	Komplementbindung mit Typhusantigen					Hämolysehemmung					Anmerkung
		0,1	0,05	0,03	0,01	0,005	0,1	0,05	0,03	0,01	0,005	
23. Febr.	800 +++ 1600 +	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	
26. „	1600 +++ 3200 ++	ø	+	++	k	k	k	k	k	k	k	
2. März	3200 +++	ø	ø	ø	Sp	+	f. k	f. k	f. k	f. k	f. k	Häm. Syst. + Antigen f. k
7. „	1600 +++ 3200 ++	ø	ø	ø	ø	ø	k	k	k	k	k	Dgl.
10. „	1600 +++ 3200 ++	ø	ø	ø	ø	ø	++	++	++	f. k	k	Dgl.
14. „	1600 +++ 3200 ++	ø	ø	ø	ø	Sp	k	k	k	k	k	
17. „	400 +++ 800 ++ 1600 +, 3200 Sp	ø	ø	ø	ø	ø	k	k	k	k	k	
20. „	400 +++ 800 ++ 1600 +, 3200 Sp	ø	ø	ø	ø	ø	++	k	k	k	k	
23. „	400 +++ 800 ++ 1600 +, 3200 ø	ø	ø	Sp	Sp	f. k	k	k	k	k	k	
26. „	400 +++ 800 + 1600 Sp	ø	ø	ø	+	++	k	k	k	k	k	
29. „	200 +++ 400 ++ 800 +	ø	ø	+	+	++	k	k	k	k	k	
2. April	200 ++ 400-800 + 1600 ø	ø	ø	+	++	++	++	++	k	k	k	

Aus der Tabelle ersehen wir, daß ca. 2 Wochen nach der 1. Injektion im Serum die komplementbindenden Antikörper auftreten, und

daß dieselben bis zum 36. Tage nach der Injektion nachgewiesen werden konnten, jedoch nunmehr in bedeutend geringeren Mengen, obwohl zu dieser Zeit noch reichlich Typhusbacillen in der Galle vorhanden waren, wie deren Untersuchung bei der Sektion (am 3. April) ergab. Wir finden auch einen mäßigen Grad von hämolysehemmenden Eigenschaften bei verschiedenen Aderlässen, der aber in keinem Parallelismus mit der Komplementbindung zu stehen scheint.

Die Kaninchen No. 909, 911 und 982 zeigten ein ähnliches Verhalten.

5) Kaninchen No. 900, 3000 g, erhält im Januar 1914 3 Injektionen von je $\frac{1}{2}$ Oese lebender Typhusbacillen (Stamm Agglut.). Am 18. Jan. wird 1 Oese lebender Typhusbacillen (Stamm Marschalek) intravenös injiziert und am 31. Jan. durch kulturelle Untersuchung der nach Punktion gewonnenen Galle das Tier als Typhusbacillenträger agnosziert, der es bis zu seiner Tötung am 3. April, also 65 Tage nach der letzten Injektion blieb.

Die Resultate der Versuche über Komplementbindung und Hämolysehemmung ergeben sich aus der folgenden Tabelle.

Aderlaß am	Agglutination	Komplementbindung mit Typhusantigen					Hämolysehemmung					Anmerkung
		0,1	0,05	0,03	0,01	0,005	0,1	0,05	0,03	0,01	0,005	
3. Febr.	4000 +++	θ	θ	θ	θ	θ	k	k	k	k	k	
17. "	800 +++ 1600 + 3200 θ	f. k	f. k	f. k	f. k	f. k	k	k	k	k	k	Häm. Syst + Anti- gen f. k
20. "	800 +++ 1600 +	f. k	f. k	f. k	f. k	f. k	k	k	k	k	k	Dgl.
26. "	800 +++ 1600 +	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	
2. März	200 +++ 400 ++ 800 +	θ	θ	θ	Sp	+	k	k	k	k	k	Dgl.
7. "	200 +++ 400 ++ 800 +	θ	θ	θ	θ	Sp	k	k	k	k	k	
10. "	100 +++ 200-400 ++ 800 +	Sp	θ	θ	θ	θ	k	k	k	k	k	
14. "	100 +++ 200 ++ 400 +, 800 Sp	θ	θ	θ	θ	θ	k	k	k	k	k	Dgl.
17. "	100-200 ++ 400 + 800-1600 θ	θ	θ	θ	θ	Sp	k	k	k	k	k	Dgl.
20. "	200 ++ 400 Sp	θ	θ	θ	θ	Sp	k	k	k	k	k	Dgl.
23. "	200 ++ 400 Sp	++	++	f. k	f. k	k	k	k	k	k	k	Dgl.
26. "	200 + 400 Sp	f. k	f. k	k	k	k	k	k	k	k	k	Dgl.
29. "	200 + 400 θ	++	++	f. k	k	k	k	k	k	k	k	
2. April	200 Sp ?	++	++	f. k	f. k	k	k	k	k	k	k	Dgl.

Der beim 1. Aderlaß am 3. Febr. festgestellte hohe Gehalt an komplementbindenden Antikörpern wie an Agglutininen ist auf die im Laufe des Januar 1914 erfolgten 3 Injektionen von Typhusbacillen zurückzuführen. Merkwürdig ist nur, daß trotz der neuerlichen Injektion am 28. Jan. doch ein Absinken der komplementbindenden Antikörper und der Agglutinine erfolgt, deren Anstieg erst ca. 4 Wochen nach der letzten Bacilleneinführung erscheint, sich dann ungefähr 3 Wochen auf gleicher Höhe hält, um im weiteren Verlaufe stetig abzunehmen, obwohl die Galle des Kaninchens noch immer reichlich Typhusbacillen enthielt. Eine hämolysehemmende Eigenschaft des Serums war auch bei diesem Kaninchen nicht wahrzunehmen. Auch der Agglutinationstiter war trotz der bestehenden Gallenblaseninfektion gesunken.

Aus den Versuchen geht hervor, daß das Auftreten und Vorkommen von komplementbindenden Antikörpern anscheinend ebensowenig von der Infektion der Gallenblase abhängig ist wie das der Agglutinine, worauf schon Doerr hinweist. Das Ergebnis dieser Experimente steht aber mit den Befunden Aokis nicht im Widerspruche, da dieser Autor ausdrücklich betont, daß er bei Kaninchen, welche länger als 2 Monate Typhusbacillenträger waren, positive Resultate erhalten hatte. Wir können auf Grund unserer Versuche in dieser Hinsicht nur sagen, daß eine Diagnose der Bacillenträgerschaft bei Kaninchen in allen Stadien nicht absolut sicher möglich ist. Ebenso konnten wir finden, daß bei kurzdauerndem Trägertum die hämolysehemmenden Eigenschaften des Kaninchenserums entweder gar nicht oder nur in sehr geringem, diagnostisch nicht verwertbarem Maße zum Ausdruck kommen.

Zusammenfassung.

1) Intravenös injizierte lebende Typhusbacillen treten um so häufiger in der Galle des Kaninchens auf, je größer die injizierte Menge ist. Dabei scheinen sich verschiedene Typhusstämmen different zu verhalten.

2) Prozentuell findet man in den ersten Wochen nach intravenöser Injektion mehr Tiere mit positivem Bacillenbefund in der Galle als nach längeren Zeiten.

3) In die Galle von Kaninchen eingedrungene Typhusbacillen vermögen spontan aus derselben wieder zu verschwinden.

4) Die Komplementbindungsreaktion besitzt für die Diagnose kurzfristiger Bacillenträgerschaft bei Kaninchen keinen absolut sicheren Wert und läuft mit der hämolysehemmenden Eigenschaft des Serums nicht parallel.

5) Das Vorhandensein von Typhusbacillen in der Gallenblase von Kaninchen ist ohne Einfluß auf den Gehalt von Agglutininen im Serum des Tieres.

Literatur.

- Aoki, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 19. H. 2.
 Blackstein u. Welch, Johns Hopkins Hosp. Bull. 1899.
 Blumenthal, München. med. Wochenschr. 1904.
 —, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910.
 Chiarolanza, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 62. 1909.
 Doerr, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. H. 5.

- Forster, Verhandl. d. Deutsch. Path. Gesellsch. XI. 1907.
 — u. Kayser, München. med. Wochenschr. 1905.
 Gilbert u. Dominici, zit. nach Uhlenhuth u. Messerschmidt.
 Hailer u. Rimpau, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt. Bd. 36.
 — u. Ungermann, Dtsche med. Wochenschr. 1912.
 Italia, zit. nach Uhlenhuth u. Messerschmidt.
 Lebailly, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 15.
 Marxer, Zeitschr. f. Chemother. u. verw. Geb. Orig. Bd. 2.
 Müller, Gaechtgens u. Aoki, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 8. H. 6.
 Richardson, zit. nach Uhlenhuth u. Messerschmidt.
 Schöne, Dtsche med. Wochenschr. 1908.
 Uhlenhuth u. Messerschmidt, Dtsche med. Wochenschr. 1912.

Nachdruck verboten.

Un Echinostome dans l'Intestin du Porc.

Par **Joan Clurea,**

Médecin vétérinaire de la ville de Piatra N. (Roumanie).

Avec 1 figure.

Les Echinostomes chez le porc ne sont pas connus. Parmi nos animaux domestiques, ce n'est que chez les carnivores que l'on a trouvé des Echinostomes; tels que l'*Echinochasmus perfoliatus* v. Rátz, dans l'intestin du chien et du chat et l'*Echinostomum piriforme* Blanc et Hedin (1) dans l'intestin du chien, en France.

Le premier de ces Distomes: l'*Echinochasmus perfoliatus*, qui fut trouvé également chez nous par Motas et Straulescu (2) à l'autopsie de deux chiens de chasse, a été identifié avec le *Distoma echinatum* Zeder, parasite considéré autrefois comme étant commun au chien et aux différentes espèces d'oiseaux aquatiques.

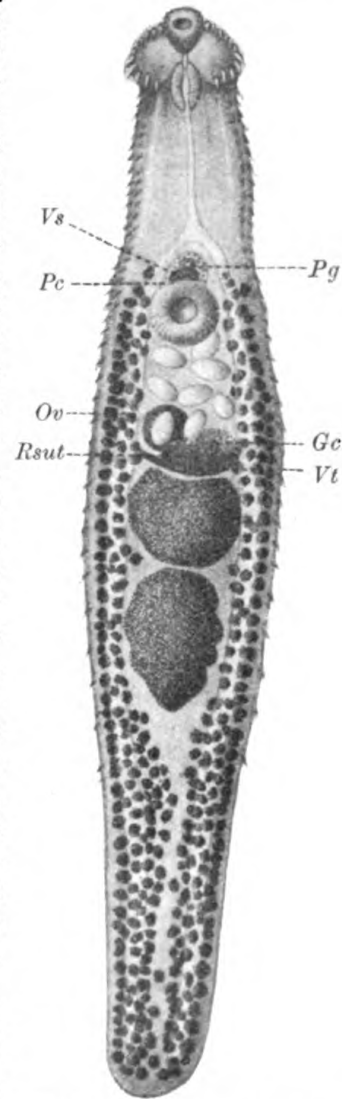
Railliet et Henry (3), qui ont reçu quelques exemplaires du matériel recueilli par Motas et Straulescu, ont observé que ces Echinostomes représentent une nouvelle espèce qu'ils ont nommée *Echinostoma gregale*, et en ont fait une très bonne description.

Peu avant l'apparition de l'ouvrage de Railliet et Henry, ce Distome a été trouvé chez le chien et le chat, en Hongrie par Rátz (4) et déjà décrit sous la dénomination d'*Echinostomum perfoliatum* n. sp.

Chez un porcelet, que nous avons nourri avec du poisson (*Carassius carassius*) pendant deux mois (5), nous avons trouvé à l'autopsie, dans le contenu intestinal, quatre Echinostomes adultes (ovigères) qui avaient toute l'apparence de l'*Echinochasmus perfoliatus*. En comparant ces exemplaires avec les Distomes recueillis par Motas et Straulescu, ainsi qu'avec d'autres exemplaires d'*Echinochasmus perfoliatus* trouvés par nous dans les intestins de chiens et de chats, en Dobrogéa, nous avons pu nous convaincre que les Echinostomes du porcelet, sont identiques à ceux du chien et du chat, et appartiennent donc à l'espèce *Echinochasmus perfoliatus*, d'après les caractères suivants:

Corps allongé, relativement aplati, surtout dans la partie antérieure; la plus grande largeur est devant le testicule antérieur; il se rétrécit peu à peu vers les deux extrémités. Longueur 2,11—3,26 m. m.; largeur 0,39—0,75 m. m.; grosseur moyenne devant la ventouse abdominale

0,13 m. m. L'extrémité céphalique présente un disque adoral, 0,220—0,297 m. m. de travers, auquel le bord ventral manque. Ce disque adoral porte sur ses bords une couronne incomplète de 24 bâtonnets, divisée par une portion libre (0,063—0,077 m. m.) du bord dorsal en deux séries latérales comptant chacune 12 bâtonnets. Les bâtonnets sont insérés sur la même rangée, sauf le premier et le troisième de deux côtés, qui sont insérés un peu plus bas. Ils mesurent 0,037—0,044 m. m. en longueur et 0,013—0,019 m. m. en largeur, à leur base; excepté le premier bâtonnet de chaque côté, qui est en moyenne de 3 μ plus court. La surface du corps est recouverte d'écailles triangulaires, la pointe en arrière, ayant 0,015 m. m. de longueur, en moyenne. Les écailles sont beaucoup plus rapprochées sur la partie antérieure, jusqu'au niveau de la ventouse abdominale; puis s'épaissant progressivement, et disparaissent tout à fait, un peu plus bas que le testicule postérieur. La ventouse buccale mesure 0,096—0,136 m. m. de diamètre; la ventouse abdominale beaucoup plus grande a 0,167—0,215 m. m. en diamètre. Le pharynx, de forme elliptique mesure environ 0,114—0,132 m. m. en longueur et 0,066—0,088 m. m. en largeur. Le pore génital s'ouvre immédiatement devant la ventouse abdominale. Les deux testicules sont placés à peu près au milieu du corps; l'un devant l'autre; leur forme est plus ou moins ovoïde; les bords sont entiers ou un peu crenelés. Par sections sagittales, nous avons pu remarquer que la poche du cirre ne dépasse pas le centre de la ventouse abdominale; très peu musculeuse, elle contient une vésicule séminale piriforme, étranglée vers son milieu, occupant la plus grande partie de la poche; la portion prostatique et peu développée; le canal éjaculateur est assez court et le cirre manque. Un peu plus haut et à droite du testicule antérieur est placé l'ovaire, presque globuleux; mais à la gauche de celui-ci et un peu plus bas la glande coquillière. Les glandes vitellogènes occupent toute la portion postérieure du corps, et s'élèvent sur les parties latérales du corps jusqu'au niveau de la ventouse abdominale, le vitellosac est fusiforme, placé entre l'ovaire, la glande coquillière, et le bord antérieur du premier testicule, qu'il déprime le plus souvent. L'utérus ne contient que peu d'œufs, de forme ellipsoïde, 0,092—0,110 m. m. longueur et 0,057—0,070 m. m. largeur



Echinochasmus perforiatus v. Rätz, de l'intestin du chien, grossi 68 fois. *Pg* Pore génital; *Pc* Poche du cirre; *Vs* Vésicule séminale; *Ov* Ovaire; *Gc* Glande coquillière; *Rsut* Receptaculum seminis uterinum; *Vt* Vitellosac.

Littérature.

- 1) **Blanc, R. G. et Hedin, H.**, Distomes de l'intestin du chien à Montpellier. (Compt. Rend. soc. biol. (15.) T. 74. 1913. p. 884—885.)
- 2) **Motas, C. et Straulescu, N.**, Distomatose intestinale du chien. (Bull. soc. méd. vétér. Bucarest, séance ord. 5. Déc. 1902.) [En roumain.]
- 3) **Railliet, A. et Henry, A.**, Sur un Echinostom de l'intestin du chien. (Compt. Rend. soc. biol. T. 66. 1909. v. 447.)
- 4) **v. Rátz, St.**, In Fleischfressern lebenden Trematoden. (Különlenyomat az Allattani Közlemények. VII. Kötetének 1. füzetéből. 1908. p. 16—20. Mit 2 Textfig.) [En hongrois avec un résumé en allemand.]
- 5) **Ciurea, J.**, Recherches sur la source d'infection de l'homme et des animaux par les Distomes de la famille des Opistorchiidés. (Bull. sec. sc. Acad. Roumaine. (7.) T. 2. 1914. p. 201—205.)

*Nachdruck verboten.***Veränderungen von Bakterien im Tierkörper.****X. Versuche über die Widerstandsfähigkeit kapselhaltiger und kapselloser Milzbrandbacillen.**

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.]

Von **Dr. Jiushiro Matsui.**

Durch die wichtigen Untersuchungen von **Deutsch, Gruber und Futaki, Preisz, Bail** und anderen ist die Bedeutung der Kapselbildung des Milzbrandbacillus für die Infektiosität desselben sichergestellt worden.

Durch eine Untersuchung von **Bail** ist zwischen Kapselbildung und Infektiosität des Milzbrandbacillus eine strenge Korrelation nachgewiesen worden, indem alle Eingriffe, welche die Kapselbildung verhindern, gleichzeitig die Infektiosität des Bacillus herabsetzen.

Es liegt nun nahe, anzunehmen, daß der seiner Infektiosität und damit seiner Kapselbildung beraubte Milzbrandbacillus den Körperschutzkräften leichter erliegt als der kapselhaltige infektiöse, womit das Ausbleiben der Infektion erklärt werden könnte. In der Tat ist durch **Gruber und Futaki**, namentlich aber durch **Preizz**, eine gesteigerte Widerstandskraft der kapselhaltigen Bacillen angenommen worden.

Die Untersuchungen von **Bail und Tsuda, Fiscoeder** und anderen führten jedoch zu einem negativen Resultate, indem sich ein durchgreifend verschiedenes Verhalten kapselhaltiger und kapselloser Bacillen im Reagensglasversuche nicht nachweisen ließ.

Da diese Versuche meist mit dem gleichen, an sich infektiösen Stamme, der das eine Mal in Bouillon kapsellos, das andere Mal in Serum oder im Tierkörper kapselhaltig gewachsen war, angestellt wurden, so erscheinen sie, wie bereits **Bail** bemerkte, nicht ganz einwandfrei. Der in Bouillon kapsellos wachsende Bacillus konnte bei der Uebertragung auf Serum sehr leicht wieder zur Kapselbildung gelangen.

Einwandfreie Resultate waren nur zu erwarten, wenn ein bestimmter, infektiöser und kapselbildender Stamm seiner Kapselbildung und Infektiosität beraubt wurde und jetzt die beiden Varietäten vergleichend untersucht wurden.

Im IX. Abschnitt dieser Untersuchungen über Veränderungen von Bakterien im Tierkörper hat Bail die Gewinnung einer nicht mehr infektiösen und kapsellosen Varietät des Milzbrandbacillus-Stammes Buchner durch Erhitzung auf 48° C beschrieben. Diese beiden Varietäten wurden zu den folgenden Versuchen benutzt. Ueberdies gelang es Herrn Dr. Gruschka, auf analoge Weise den Milzbrandbacillus-Stamm Fleissen vollständig abzuschwächen und kapsellos zum Wachsen zu bringen.

Der Milzbrandbacillus Fleissen wurde von Herrn Prof. Bail vor 2 Jahren aus den Abwässern einer Gerberei gezüchtet, ist wahrscheinlich mit Häuten nordafrikanischer Rinder eingeschleppt worden und verhielt sich in jeder Hinsicht als typischer Milzbrandbacillus.

Die abgeschwächte Varietät vermag Meerschweinchen nicht mehr zu infizieren und wächst unter allen Umständen kapsellos. Von beiden Varietäten dieser Stämme wurden Kulturen im flüssigen Rinder- und Pferdeserum sowie in Bouillon angelegt und nach ungefähr 16-stündigem Wachstum zur Einsaat verwendet. Die Serumkultur der infektiösen Ausgangsstämme zeigten stets das typische Aussehen der tierischen Milzbrandbacillen.

Bei der Untersuchung wurde das Verhalten der Varietäten in verschiedenen aktiven und durch $\frac{1}{2}$ Stunde Erhitzung bei 56° C inaktivierten Tierseren sowie in Mischungen von Serum und Leukocyten des Meerschweinchens geprüft.

Die Technik war die im Institut übliche, bei welcher eine bestimmte durch Agarplatte ermittelte Zahl von Bakterien in die Einzelproben eingesät wurde; nach 4-stündigem Aufenthalt bei 37° C wurde der ganze Inhalt jeder Probe zur Agarplatte verarbeitet.

Tabelle I.

Zum Versuche wurden frische Seren eines normalen Kaninchens, Meerschweinchens und Rindes verwendet.

Zeichenerklärung:

- B. S. = der Milzbrandstamm Buchner in Serum gezüchtet.
 B. B. = der Milzbrandstamm Buchner in Bouillon gezüchtet.
 A. S. = der abgeschwächte, kapsellose Milzbrandstamm Buchner in Serum gezüchtet.
 A. B. = der abgeschwächte, kapsellose Milzbrandstamm Buchner in Bouillon gezüchtet.
 K. a. = Kaninchenserum aktiv.
 K. i. = Kaninchenserum inaktiv.
 M. a. = Meerschweinchenserum aktiv.
 M. i. = Meerschweinchenserum inaktiv.
 R. a. = Rinderserum aktiv.
 R. i. = Rinderserum inaktiv.

Einsaat 720 B. S.		Einsaat 1100 B. B.		Einsaat 2100 A. S.		Einsaat 1900 A. B.	
K. a.	0,5 0	K. a.	0,5 0	K. a.	0,5 0	K. a.	0,5 0
K. i.	0,5 0	K. i.	0,5 0	K. i.	0,5 0	K. i.	0,5 0
M. a.	0,5 63	M. a.	0,5 25	M. a.	0,5 9000	M. a.	0,5 1800
M. i.	0,5 200	M. i.	0,5 104	M. i.	0,5 12000	M. i.	0,5 700
R. a.	0,5 3200	R. a.	0,5 120	R. a.	0,5 8000	R. a.	0,5 960
R. i.	0,5 1800	R. i.	0,5 1	R. i.	0,5 8000	R. i.	0,5 25

Man ersieht aus diesem Versuche, daß gegenüber der sehr starken, nach Erhitzen auf 56° C bleibenden Bakterizidie des Kaninchenserums beide Varietäten in genau gleicher Weise erliegen. Meerschweinchenserum hat sich nur dem kapselhaltigen Stamm gegenüber deutlich wirk-

sam erwiesen, während der kapsellose gut wächst; ähnlich verhalten sich beide auch im Rinderserum.

Es fällt in dieser Tabelle auf, daß die Bouillonbacillen deutlich stärker als die Serumbacillen beeinflußt werden, und zwar gleichmäßig für beide Varietäten.

Tabelle II.

Zeichenerklärung:

F. S. = der Milzbrandstamm Fleissen in Serum gezüchtet.

F. B. = der Milzbrandstamm Fleissen in Bouillon gezüchtet.

L. S. = der abgeschwächte, kapsellose Milzbrandstamm Fleissen im Serum gezüchtet.

L. B. = der abgeschwächte, kapsellose Milzbrandstamm Fleissen in Bouillon gezüchtet.

Einsaat 328 F. S.	Einsaat 600 F. B.	Einsaat 1708 L. S.	Einsaat 676 L. B.
K. a. 0,5 0	K. a. 0,5 0	K. a. 0,5 20	K. a. 0,5 0
K. i. 0,5 0	K. i. 0,5 10	K. i. 0,5 40	K. i. 0,5 13
M. a. 0,5 38	M. a. 0,5 45	M. a. 0,5 1548	M. a. 0,5 688
M. i. 0,5 61	M. i. 0,5 10	M. i. 0,5 1816	M. i. 0,5 548
R. a. 0,5 220	R. a. 0,5 968	R. a. 0,5 1256	R. a. 0,5 504
R. i. 0,5 146	R. i. 0,5 1140	R. i. 0,5 1672	R. i. 0,5 450

Im ganzen ist das Resultat mit den Milzbrandbacillen Fleissen den mit Buchner erhaltenen vollständig gleich.

Tabelle III.

Zeichenerklärung:

Pf. a. = Pferdeserum aktiv.

Pf. i. = Pferdeserum inaktiv.

Einsaat 2600 B. S.	Einsaat 2000 A. S.	Einsaat 2900 F. S.	Einsaat 5600 L. S.
Pf. a. 0,5 2	Pf. a. 0,5 9	Pf. a. 0,5 2	Pf. a. 0,5 5
Pf. i. 0,5 1400	Pf. i. 0,5 4500	Pf. i. 0,5 528	Pf. i. 0,5 10100

Tabelle IV.

Zeichenerklärung:

S. a. = Schweineserum aktiv.

S. i. = Schweineserum inaktiv.

R. a. = Rinderserum aktiv.

R. i. = Rinderserum inaktiv.

Einsaat 4900 B. S.	Einsaat 3700 B. B.	Einsaat 5900 A. S.	Einsaat 7900 A. B.
K. a. 0,5 0	K. a. 0,5 0	K. a. 0,5 0	K. a. 0,5 0
K. i. 0,5 0	K. i. 0,5 0	K. i. 0,5 0	K. i. 0,5 0
R. a. 0,5 1800	R. a. 0,5 33	R. a. 0,5 3100	R. a. 0,5 2200
R. i. 0,5 2900	R. i. 0,5 1200	R. i. 0,5 18400	R. i. 0,5 3700
S. a. 0,5 2300	S. a. 0,5 3600	S. a. 0,5 37200	S. a. 0,5 28300
S. i. 0,5 4600	S. i. 0,5 4000	S. i. 0,5 42200	S. i. 0,5 42500

Einsaat 4300 F. S.	Einsaat 5900 F. B.	Einsaat 3300 L. S.	Einsaat 2700 L. B.
K. a. 0,5 0	K. a. 0,5 0	K. a. 0,5 21	K. a. 0,5 44
K. i. 0,5 0	K. i. 0,5 0	K. i. 0,5 11	K. i. 0,5 8
R. a. 0,5 2300	R. a. 0,5 394	R. a. 0,5 800	R. a. 0,5 670
R. i. 0,5 3900	R. i. 0,5 800	R. i. 0,5 5400	R. i. 0,5 1900
S. a. 0,5 22600	S. a. 0,5 1700	S. a. 0,5 3700	S. a. 0,5 2400
S. i. 0,5 28300	S. i. 0,5 4700	S. i. 0,5 3200	S. i. 0,5 1900

Die Versuche mit den verschiedenen Tierseren, deren Einzelheiten ohne weiteres aus den Tabellen ersehen werden können, beweisen eindeutig, daß von einer geringen Widerstandskraft der kapsellosen Bacillen keine Rede sein kann. Sie verhalten sich in allen Seren, ob diese bakterizid oder nur entwicklungshemmend oder überhaupt unwirksam sind, im Prinzip vollständig gleich.

Tabelle V.

Zum Versuche diente das Serum eines großen Meerschweinchens, welches am Vortage eine intraperitoneale Bouilloninjektion erhalten hatte. Das aus der Bauchhöhle gewonnene Exsudat wurde zentrifugiert, die Leukocyten in die Menge von je 0,1 g verteilt und mit der Versuchsflüssigkeit vermenget. Ein Teil der Proben wurde in einer Kältemischung dreimal nacheinander eingefroren.

Zeichenerklärung:

L. = Meerschweinchenleukocyten.

L. g. = Meerschweinchenleukocyten (gefroren).

Einsaat 900 B. S.	Einsaat 1200 B. B.	Einsaat 3200 A. S.	Einsaat 4600 A. B.
M. a. 0,5 800 M. a. 0,5 + L. 0,1 0 M. a. 0,5 + L. g. 0,1 700	M. a. 0,5 100 M. a. 0,5 + L. 0,1 0	M. a. 0,5 8100 M. a. 0,5 + L. 0,1 0 M. a. 0,5 + L. g. 0,1 400	M. a. 0,5 2500 M. a. 0,5 + L. 0,1 0

Tabelle VI.

Versuchsordnung wie im Versuche der Tabelle V.

Einsaat 5800 B. S.	Einsaat 4400 B. B.	Einsaat 6900 A. S.	Einsaat 2600 A. B.
M. a. 0,5 1000 M. a. 0,5 + L. 0,1 0 M. a. 0,5 + L. g. 0,1 0	M. a. 0,5 800 M. a. 0,5 + L. 0,1 0 M. a. 0,5 + L. g. 0,1 0	M. a. 0,5 13900 M. a. 0,5 + L. 0,1 0 M. a. 0,5 + L. g. 0,1 0	M. a. 0,5 300 M. a. 0,5 + L. 0,1 0 M. a. 0,5 + L. g. 0,1 0
Einsaat 3300 F. S.	Einsaat 264 F. B.	Einsaat 3700 L. S.	Einsaat 624 L. B.
M. a. 0,5 500 M. a. 0,5 + L. 0,1 0 M. a. 0,5 + L. g. 0,1 0	M. a. 0,5 100 M. a. 0,5 + L. 0,1 0 M. a. 0,5 + L. g. 0,1 0	M. a. 0,5 4700 M. a. 0,5 + L. 0,1 0 M. a. 0,5 + L. g. 0,1 70	M. a. 0,5 600 M. a. 0,5 + L. 0,1 0 M. a. 0,5 + L. g. 0,1 0

Tabelle VII.

In diesem Versuche wurde zur Aufschwemmung der Leukocyten außer Serum noch NaCl-Lösung verwendet. Die Menge der Leukocyten betrug in jeder Probe nur 0,05 g.

Einsaat 2200 B. S.	Einsaat 5300 A. S.	Einsaat 1720 F. S.	Einsaat 2500 L. S.
M. a. 0,5 38 M. a. 0,5 + L. 0,05 2 M. a. 0,5 + L. g. 0,05 1	M. a. 0,5 6700 M. a. 0,5 + L. 0,05 1 M. a. 0,5 + L. g. 0,05 32	M. a. 0,5 214 M. a. 0,5 + L. 0,05 150 M. a. 0,5 + L. g. 0,05 7	M. a. 0,5 4000 M. a. 0,5 + L. 0,05 0 M. a. 0,5 + L. g. 0,05 4
NaCl 0,5 4700 NaCl 0,5 + L. 0,05 532 NaCl 0,5 + L. g. 0,05 2000	NaCl 0,5 20500 NaCl 0,5 + L. 0,05 1100 NaCl 0,5 + L. g. 0,05 3500	NaCl 0,5 6000 NaCl 0,5 + L. 0,05 700 NaCl 0,5 + L. g. 0,05 1200	NaCl 0,5 4100 NaCl 0,5 + L. 0,05 1300 NaCl 0,5 + L. g. 0,05 2000

Tabelle VIII.

Einsaat 3100 B. B.	Einsaat 8300 A. B.	Einsaat 6700 F. B.	Einsaat 1500 L. B.
M. a. 0,5 438	M. a. 0,5 6	M. a. 0,5 1240	M. a. 0,5 1204
M. a. 0,5 + L. 0,05 1	M. a. 0,5 + L. 0,05 2	M. a. 0,5 + L. 0,05 27	M. a. 0,5 + L. 0,05 2
M. a. 0,5 + L. g. 0,05 11	M. a. 0,5 + L. g. 0,05 448	M. a. 0,5 + L. g. 0,05 10	M. a. 0,5 + L. g. 0,05 5
Pf. a. 0,5 1	Pf. a. 0,5 6	Pf. a. 0,5 62	Pf. a. 0,5 59
Pf. i. 0,5 6600	Pf. i. 0,5 14600	Pf. i. 0,5 7100	Pf. i. 0,5 2400

Darauf, daß in einer Anzahl von Versuchen sogar die kapsellosen Varietäten besser Widerstand leisten, soll kein besonderes Gewicht gelegt werden. Wichtiger erscheint es, auf die bereits kurz erwähnte Eigentümlichkeit hinzuweisen, daß Bouillonkulturen deutlich stärker als Serumkulturen beeinflußt wurden.

Auch aus diesen Versuchen mit Leukocyten läßt sich in keiner Weise eine stärkere Widerstandskraft der abgeschwächten, kapsellosen Stämme ableiten. Es trifft somit auch bei dieser exakt vergleichenden Untersuchung des gleichen, einmal kapselhaltigen, das andere Mal kapsellosen Bacillus das schon früher ermittelte Ergebnis zu, daß die Kapselbildung keinen Schutz gegen bakterizide Körperwirkungen der verschiedenen Art verleiht.

Aus diesem Gesichtspunkte kann somit das Auftreten oder Ausbleiben der Milzbrandinfektion nicht erklärt werden.

Nachdruck verboten.

Einwirkung der seltenen Erden auf Bakterien.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien (Vorsteher: Prof. Dr. R. Doerr).]

Zweite Mitteilung.

Von Dr. A. Simonini.

In meiner ersten Mitteilung (Bd. 74 Heft 3/4 dieser Zeitschrift) habe ich die Veränderungen beschrieben, welche verschiedene Bakterien durch die Behandlung mit Thorsalzen erleiden. Die Alterationen des Bakterienprotoplasmas kommen nicht nur in Aenderungen des äußeren Bakterienkonturs, sondern auch in Umwandlungen der Innenstruktur zum Vorschein, indem nach der Thorfällung Körnelungen auftreten, die an dem Ausgangsmateriel nich zu beobachten sind. Auch das färberische Verhalten wird beeinflußt und können grampositive Arten durch Thor ihre Affinität zu der Jodverbindung des Rosanilins verlieren, während umgekehrt gramnegative gegen das Auswaschen dieses Farbstoffes durch Alkohol resistenter werden. Auch die pysiologische Wirkung des Bakterien-eiweißes auf den Organismus empfindlicher Tiere erfährt Modifikationen, deren Wesen ich a. a. O. bereits angedeutet habe, die mir aber sowohl in theoretischer als auch praktischer Hinsicht so interessant erschienen, daß ich sie durch weitere Untersuchungen ergänzte.

Insbesondere war es auffallend, daß das Thorverfahren eine völlige Zerstörung oder doch eine erhebliche Reduktion der primären spezifischen Giftigkeit des Bakterieneiweißes gestattete, ohne die Antigenfunktionen desselben (agglutininogenes und antitoxinbildendes Vermögen) wesentlich zu beeinträchtigen. Es schien dabei, soweit das aus meinen Experimenten geschlossen werden kann, gleichgültig zu sein, in welchem Verhältnis der Träger der Toxizität zum Bakterienleib stand, da sich positive Resultate in der gedachten Richtung sowohl bei Ektotoxinen (Diphtherie) als auch bei typischen Endotoxinen (Flexner-Bacillen) oder bei Bakterien erzielen ließen, bei welchen das toxische Substrat nach den herrschenden Auffassungen eine Mittelstellung einnimmt, wie bei den Ruhrbacillen vom Typus Shiga-Kruse.

Es ist bekannt, daß die Herstellung von hochwertigem für die Identifizierung von Bakterien geeigneten Kruse-Sera in der Praxis auf mehrfache Schwierigkeiten stößt. Sera vom Pferde sind nicht genügend spezifisch, da sie auch andere Typen von Ruhrbacillen ausflocken, und die Immunisierung von Kaninchen, bei welchen sich dieser Uebelstand nicht geltend macht, scheidet in der Regel an der enormen Giftigkeit der Kruse-Bacillen für dieses Versuchstier. Dagegen kann man durch die Verwendung von Thor leicht zum Ziele gelangen, d. h. auch von Kaninchen Sera von hohem Titer gewinnen, ohne die Immuntiere zu gefährden. So konnte durch vier intravenöse Injektionen von mit Thor gefällten Kruse-Bacillen ein Serum erzeugt werden, welches den homologen Stamm noch in einer Verdünnung von 1:140 000 agglutinierte. Deutlicher gehen die Verhältnisse aus dem folgenden ausführlicher wiedergegebenen Versuchsprotokoll hervor.

Ein Agarrasen von Kruse-Bacillen (60 qcm Flächeninhalt, Alter 24 Stunden) wurde in einem bestimmten Volum physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt; $\frac{2}{10}$ der Suspension blieben bei Zimmertemperatur stehen, $\frac{8}{10}$ wurden mit 2-proz. Thorammoniumnitratlösung gefällt und, nachdem sie 24 Stunden unter identischen Verhältnissen aufbewahrt worden waren, zentrifugiert, das Sediment mit Kochsalz gewaschen. Es bekamen nun:

Kaninchen No. 1 $\frac{1}{10}$ der Suspension subkutan; es verendete unter typischen Symptomen nach 3 Tagen.

Kaninchen No. 2 erhielt die gleiche Menge mit demselben Resultat.

Kaninchen No. 3 wurde subkutan mit Thorbakterien injiziert, und zwar entsprach die Menge einem Siebentel der ursprünglichen Suspension, war also wesentlich höher als bei den eben angeführten Kontrollen. Das Tier überlebte ohne unmittelbare Erscheinungen.

Kaninchen No. 4, in der gleichen Weise wie No. 3 behandelt, erkrankte unter charakteristischen Lähmungserscheinungen, erholte sich jedoch wieder und zeigte in der Folge (ebenso wie No. 3) eine Störung im Wachstum, die beim Vergleich mit anderen unter gleichen Verhältnissen gehaltenen Kaninchen zutage trat.

Die Herabminderung der Giftigkeit war also nicht zu verkennen. Um eine eventuelle Produktion von schützenden Antikörpern (Antitoxinen) festzustellen bzw. das Vorhandensein einer aktiven Immunität zu ermitteln, wurde den beiden Kaninchen No. 3 und No. 4 sowie 2 gleichschweren Kontrollen nach einem Intervall von ungefähr 3 Monaten nochmals eine Suspension von Kruse-Bacillen subkutan appliziert, und zwar bekam:

Kaninchen No. 3 $\frac{1}{8}$ einer Kruse-Bacillensuspension (24-stündiger Rasen von 60 qcm Flächeninhalt); es verendete am 11. Tage.

Kaninchen No. 4 die gleiche Dosis; es ging am 14. Tage ein.

Kaninchen No. 5 (Kontrolle) erhielt nur $\frac{1}{10}$ der gleichen Suspension subkutan und verendete in 3 Tagen.

Kaninchen No. 6 (Kontrolle) gab bei gleicher Dosis dasselbe Resultat wie No. 5.

Wenn man berücksichtigt, daß Kaninchen schon auf $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{50}$ Oese Kruse-Bacillen ganz konstant eingehen, so wird man die Verminderung der spezifischen Giftigkeit für das Kaninchen sowohl als auch den Grad der durch die erste Injektion hervorgerufenen Immunität als sehr beträchtlich bezeichnen müssen, besonders wenn man bedenkt, wie schwer es ist, Kaninchen gegen das Kruse-Gift zu festigen.

Ein Diphtheriestamm, von dem $\frac{1}{10}$ Normallöse subkutan für ein Meerschweinchen mittlerer Größe innerhalb 2 Tagen letal war, wurde durch Behandlung mit Thor so weit atoxisch, daß ein gleich schweres Tier nahezu den ganzen in einer Petri-Schale gewachsenen Rasen vertrug, ohne eine sichtliche Störung zu zeigen. Bemerkenswert wird hierzu, daß die Diphtheriebacillen nach erfolgter Fällung noch 1—3 Tage mit der Thorlösung in Kontakt blieben.

Die praktische Bedeutung dieser Beobachtungen beschränkt sich indes nicht nur auf die immunisatorische Verwendung von Giften oder toxischen Bakterien in Laboratorien und Seruminstituten, sondern dürfte auch bei der prophylaktischen und therapeutischen Verwendung solcher Präparate an Menschen (Vaccine) mit Vorteil herangezogen werden. Man hat sich ja in der letzten Zeit wiederholt bemüht, die störenden Nebenwirkungen von Bakterieninjektionen durch mehr oder minder kostspielige und komplizierte Methoden auszuschalten, und es sei in dieser Beziehung nur auf den eiweißfreien Typhusimpfstoff von Fornet und das von Dold vorgeschlagene Desanaphylatoxieren hingewiesen. Die Fällung mit Thor würde sich jedenfalls als sehr billig und einfach darstellen und würde vielleicht auch imstande sein, die Abtötung durch Erhitzen, durch Antiseptika oder durch ultraviolettes Licht zu verdrängen. Ich bin indes nicht in der Lage, mich schon jetzt über die Eignung von Thorbakterien und Thoroxinen für die Prophylaxe und Therapie der Infektionskrankheiten auszusprechen, da mir die Gelegenheit zu einer umfangreichen Erprobung am Menschen gemangelt hat; einige wenige Versuche, wie ich sie an mir und den Personen des Instituts hätte ausführen können, würden keine Entscheidung gebracht haben, da man ja weiß, in welcher außerordentlich weiten Grenzen die allgemeine und lokale Reaktion auf ein bestimmtes Vaccin schwankt.

II.

Die durch Thor gesetzten Veränderungen können, wie bereits erwähnt, wieder rückgängig gemacht werden, wenn man die Thorbakterien (Typhus-, Kruse-, Flexner-Bacillen oder Choleravibrionen) in Kochsalzlösung, Bouillon oder Halbbouillon einträgt und eine Zeitlang in diesen Flüssigkeiten beläßt. Dieser Vorgang der Restitution einzelner Eigenschaften des Ausgangsmaterials wurde der Kürze halber als „Regeneration“ bezeichnet¹⁾; es sei ausdrücklich hervorgehoben, daß die Rückumwandlung nur die Form und die Färbbarkeit, speziell das Verhalten gegen die Gramsche Methode betrifft. Es wäre immerhin möglich, daß der Aufenthalt der gewaschenen Thorbakterien in thorfreen Flüssigkeiten auch die geschwundene Toxizität wieder zum Vorschein

1) Diese Regeneration kann auch durch 2-proz. Sodalösungen in 1—2 Stunden durchgeführt werden. Zu diesem Zwecke werden die gefällten Bakterien in einer Lösung aufgeschwemmt, die 2 g kristallisierte Soda auf 100 g Wasser enthält.

bringt; ich habe aber diese Frage nicht weiter geprüft und halte auch eine Wiederherstellung der Giftigkeit aus gewissen Gründen nicht für wahrscheinlich.

Die Regeneration von Form und Färbbarkeit dagegen läßt sich zur Entscheidung eines anderen Problems verwenden. Es ist mir wiederholt aufgefallen, daß die Bakterienveränderungen, und zwar namentlich die Körnelungen, welche man im Reagensglas durch Thor erzeugen kann, auch im infizierten Organismus aufzutreten scheinen, so z. B. in Schnitten einer Typhusmilz, in Ausstrichen aus dem Eiter einer Pyorrhoea alveolaris und in Deckglaspräparaten aus dem Darmsekret einer Enteritisleiche. Es ist klar, daß im Falle der Richtigkeit meiner Vermutung Differenzen zwischen dem mikroskopischen Bilde eines pathologischen Produktes und den Züchtungsergebnissen entstehen könnten. So wäre es denkbar, daß die direkte mikroskopische Untersuchung grampositiv gekörnte Formen zeigt, während sich auf den Platten Kolonien einer ausgesprochen gramnegativen Bakterienart entwickeln. Es darf hier wohl daran erinnert werden, daß der *Bacillus pneumoniae* Friedländer in Reinkultur stets gramnegativ, im Sekret und namentlich in Gewebsschnitten dagegen grampositiv ist.

Wenn der Mechanismus der vermuteten durch den Körper erzeugten Bakterienveränderungen der gleiche ist wie der durch Thor hervorgerufenen, so müßte sich auch im ersten Falle das Regenerationsphänomen demonstrieren lassen; die in einem solchen Material vorhandenen grampositiv gekörnten Formen würden dann durch den Aufenthalt in Halbbouillon oder Sodalösung den als primär anzusehenden Typus und das originäre färberische Verhalten wieder annehmen.

III.

In Bouillon oder Halbbouillon scheinen sich Bakterien nicht zu vermehren, wenn sie vorher hinreichend lange unter der Einwirkung des Thors gestanden haben. Man sieht wenigstens nicht, daß eine Trübung der Bouillon auftritt. Wenn man aber den Aufenthalt der Thorbakterien in der Bouillon auf 1—3 Wochen ausdehnt und nach dieser Zeit 3 bis 4 Tropfen des Sediments auf Agarplatten verstreicht, so entwickeln sich doch Kolonien, die allerdings zunächst 2—4 Tage benötigen, bevor sie für das unbewaffnete Auge deutlich sichtbar werden.

Die Kolonien selbst bieten ein so merkwürdiges, von dem Ausgangsmaterial abweichendes Verhalten dar und die Bakterien, aus denen sie sich zusammensetzen, zeigen so eigentümliche morphologische und biologische Charaktere, daß man bei den immerhin umständlichen Prozeduren den Gedanken nicht von vornherein abweisen kann, daß man es hier mit irgendwelchen akzidentellen Verunreinigungen zu tun hat. Diese Möglichkeit konnte ich bisher nicht mit absoluter Sicherheit ausschließen und hatte daher ursprünglich die Absicht, die Erscheinung mit Hilfe einer einwandfreien Technik durchzuprüfen. Wenn ich schon jetzt meine Beobachtungen in dieser Richtung mitteile, so geschieht das einerseits deshalb, weil Frau Dr. Henry im Institut Pasteur in Paris durch Bestrahlung von Milzbrandbacillen wachstumsfähige Varianten erzielte, welche den von mir beobachteten aus Kruse-, Diphtherie und Typhusbacillen hervorgegangenen in einem gewissen Sinne analog sind, so daß ich vermuten durfte, daß chemisch wirksame Strahlen dieselben einschneidenden Veränderungen der Bakterien bei Konservierung der Lebens-

fähigkeit erzeugen wie die Lösungen der Thorsalze. Andererseits handelt es sich bei meinen Versuchen nicht um einen zufälligen Befund, sondern um Ergebnisse, welche bei verschiedenen Stämmen der gleichen Bakterienart zu verschiedenen Zeiten erzielt wurden, wobei — darauf ist wohl ein besonderes Gewicht zu legen — die Thorvariante für dieselbe Bakterienart charakteristisch war. So hatten die durch Thor dargestellten Abkömmlinge der Kruse- und Typhusbacillen immer die gleichen Eigenschaften, während die Derivate der Diphtheriebacillen von denselben abweichen. Daß durch Thor aus Kruse- und Typhusbacillen sehr nahe stehende, wenn auch nicht ganz gleiche Stämme erhalten wurden, schien um so weniger auffällig, als es sich um zwei Vertreter der Typhus-Coli-Gruppe handelte, welche, wenn man von der Begeißelung absieht, auch sonst zahlreiche Beziehungen aufweisen.

Coli selbst erwies sich bei gleicher Konzentration und Einwirkungs-dauer des Thor als resistenter. Es wurden Kolonien erhalten mit dunklen Knöpfen, welche letztere sich leicht durch Kultivieren trennen ließen. Während das Aussehen dieser Kolonien gar nichts mehr mit dem der Coli gemein hat, verraten die Bacillen in biologischer Hinsicht deutlich ihre Herkunft. Auf Drigalski, in Traubenzuckeragar, Traubenzucker-, Milchzucker- und Mannit-Nutrose verhalten sie sich ähnlich dem homologen Coli-Stamm, doch ist das Vergärungs- und Säurebildungs-vermögen stark herabgesetzt.

Auffällig ist die Erscheinung, daß die auf Agar sich entwickelnden Bakterien morphologisch von den in Halbbouillon „regenerierten“ verschieden sind, was als ein Beweis gegen die von mir vermutete Abstammung der ersteren von den letzteren angesehen werden könnte. Der letzte von mir angestellte Versuch mit Anthrax zeigt jedoch, daß zwischen den „regenerierten“ und auf Agar gewachsenen Formen morphologisch tatsächlich große Unterschiede bestehen können, ohne daß die Abstammung der einen von den anderen zweifelhaft wäre.

Anthrax mit Thor gefällt und in Halbbouillon regeneriert, zeigt lange grampositive Fäden ohne sichtbare Sporenbildung. Aus diesen entwickelten sich auf Agar Kolonien, die mit ihrem Löwenmähne-ähnlichen Aussehen sofort die Herkunft verraten. Die Gram-Färbung zeigte, daß diese nur 15-stündigen Kolonien aus Bacillen bestehen, deren Leiber von einer großen farblosen Spore ausgefüllt sind, während das Plasma nur durch eine nicht starke Verdickung der Hülle an beiden Enden gekennzeichnet war. Die Anordnung war in Kettenform. Daß bei einem Sporenbildner bei der Konzentration und Einwirkungs-dauer, wie sie von mir angewandt wurden, die Veränderungen nicht sehr durchgreifend waren, kann nicht wundernehmen.

Das nachfolgende Protokoll wird das Verhalten der aus den Thor-fällungen hervorgegangenen Bakterien näher beleuchten.

Protokoll.

Typhus- und Kruse-Kulturen wurden mit 2-proz. Thorlösungen gefällt, nach 24 Stunden in Halbbouillon regeneriert, und in dieser Lösung 1—3 Wochen stehen gelassen. Wurden dann einige Tropfen vom Sediment auf Agarplatten übertragen, so entwickelten sich nach 2—4 Tagen kleine, meist kreisrunde, selten ovale, stark gewölbte, weiße Kolonien mit einem scharf abgegrenzten, kleinen, dunkelgelben Knopf im Zentrum. Der Durchmesser wurde je nach der Größe der Kolonien auf $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{2}$ mm geschätzt, in alten, 14-tägigen Kulturen wohl auch auf 1 mm.

Beim Abstreichen der Kolonien mit Platindraht zeigte es sich, daß die Knöpfe in den Nährboden hineingewachsen waren. Bemühungen, die Bacillen dieser dunklen Knöpfe von denen des weißen Teiles durch Kultivieren zu trennen, blieben erfolglos. Die 80. Generation hatte das selbe Aussehen wie die erste.

Das Wachstum dieser Kulturen war in den ersten 4—6 Generationen sehr spärlich, so daß nach 24 Stunden Kolonien mit der Lupe noch nicht deutlich wahrgenommen werden konnten. Spätere Kulturen entwickelten sich etwas rascher, doch wurde immer nur ein dünner schleierartiger Belag auf Agar erhalten. Zurzeit, da diese Zeilen geschrieben werden (gegen Mitte Juli), 6½ Monate nach Auffindung der 1. Generation, ist eine Veränderung der Bacillen oder Kolonien noch nicht eingetreten¹⁾.

Auf Drigalski gehen die Bacillen schwer an, doch wachsen sie, wenn einmal angegangen, in dicken, derben Strichen mit großen, freien Flächen dazwischen.

In Gelatine geimpft und in Platten gegossen, entwickeln sie sich noch langsamer.

Erst nach 3—4 Tagen werden mit der Lupe kleine, gelbe, metallisch glänzende, kreisrunde Scheibchen sichtbar. Verflüssigung konnte weder hier noch im Stiche wahrgenommen werden.

Mit Lackmus versetzte Traubenzucker-Nutroselösung (Barsiekow) wird gerötet und es tritt wie bei Kruse schwache Opaleszenz auf. Die analogen Maltose-, Milchzucker- und Mannitlösungen behalten ihre Farbe.

Die Bacillen sind sehr kleine, schlanke, gramnegative, gerade Stäbchen, die in den ersten Generationen nach Gram schwer, aber vollkommen mit absolutem Alkohol entfärbbar sind, in späteren jedoch leicht. Sie liegen selbst bei sorgfältigem Ausstrich fast ausschließlich in palisadenförmiger Anordnung.

Im hängenden Tropfen zeigen sie eine sehr lebhafte pendelnde und drehende Bewegung. Eine deutliche Fortbewegung vom Zentrum der Brownschen Bewegung konnte nicht mit Sicherheit wahrgenommen werden. Aus 10 zu verschiedenen Zeiten vorgenommenen Fällungen und Regenerationen, wobei 2 verschiedene Kruse-Stämme und 1 Typhusstamm zur Verwendung kamen, wurden 7mal diese Bacillen erhalten.

Um zu prüfen, ob man es hier mit einer Veränderung von Kruse- und Typhusbacillen zu tun habe, wurden folgende Versuche angestellt:

Die aus der Kruse-Fällung hervorgegangenen Bacillen seien der Kürze halber mit A, die aus der Typhusfällung herrührenden mit B bezeichnet.

Einem Kaninchen wurde die Aufschwemmung einer ganzen 60 qcm-Platte von A intravenös injiziert; eine zweite gleiche Injektion erfolgte nach 6 Tagen. Ein anderes Kaninchen wurde in derselben Weise mit B behandelt.

Von den so erhaltenen Sera agglutinierten beide den Kruse-Stamm in Verdünnungen von 320, den Typhusstamm nicht und sowohl A und B in Verdünnungen von 6000.

Kaninchen-Kruse-Serum, welches durch 4 Injektionen von mit Thor gefällten Kruse-Bacillen hergestellt worden war und welches denselben

1) Eine anfangs Dezember 1914 angestellte Untersuchung ergab, daß Bacillen und deren Kolonien auch damals noch unverändert waren.

Kruse-Stamm in 140 000-facher Verdünnung agglutinierte, agglutinierte A und B in 400-facher Verdünnung. Das analoge Typhusserum agglutinierte weder A noch B.

Für Kaninchen erwiesen sich sowohl A als auch B ganz ungiftig.

Mit A vorbehandelte Tiere entwickelten gegen Kruse-Bacillen keine Immunität. Sie starben ebenso wie nicht vorbehandelte Tiere 3 Tage nach der subkutanen Injektion einer gewissen Menge ($\frac{1}{10}$ -Platte) von echten Kruse-Bacillen.

Eine zweite Kolonief orm anscheinend derselben Bacillen wie A wurde erhalten, als die mit Thor gefällten und mit Halbbouillon in 24 Stunden der Form nach regenerierten Kruse-Bacillen in der gleichen Weise noch einmal mit Thor gefällt, in Halbbouillon regeneriert und vom Sediment nach 1 Woche einige Tropfen auf Agar übertragen wurden. Neben den schon beschriebenen weißen Kolonien mit dunkelgelben Zentren wurden auch ganz kleine, kreisrunde, stark gewölbte, gelbe Kolonien erhalten, die innerhalb 2—3 Wochen sich wieder in die erstere Form A zu verwandeln scheinen. Auf Gelatine ist kein Unterschied zwischen diesen beiden Formen zu erkennen. Wenn von Gelatine auf Agar übertragen wird, wachsen diese gelben Kolonien wieder, wie beschrieben. Beim Abstreichen mit Platindraht sieht man, daß die Kolonie so wie die Zentren von A in den Nährboden hineinwachsen. Das Wachstum ist geringer als das von A.

Auch sie sind für Kaninchen ungiftig.

Von zwei gleich schweren Tieren, die mit diesen Bacillen vorbehandelt worden waren — jedes erhielt die Aufschwemmung einer Kultur von einer 60 qcm Petri-Schale einmal intravenös — und welchen nach 3 Wochen $\frac{1}{10}$ -Platte echter Kruse-Bacillen subkutan injiziert wurde, erkrankten beide an den charakteristischen Lähmungserscheinungen. Das eine überlebte, das zweite starb nach 12 Tagen. Zwei gleich schwere, nicht vorbehandelte Kontrolltiere, welche dieselbe Menge Kruse-Bacillen subkutan erhielten, starben am 3. Tage nach der Injektion.

Von den Bacillen B wurde eine Kultur, die auf einem Lanthan-Cer-Agar gewachsen war, mit Thor gefällt. Diese Fällung zeigte nach 24 Stunden grampositive Ovale ganz ähnlich denen, wie sie aus Typhus durch 1-stündige Einwirkung von Thor erhalten werden. Eine Körnung tritt aber auch nach mehrtägigem Verweilen im Brutschranke nicht auf. Durch Regeneration in Halbbouillon werden in 24 Stunden wieder gramnegative Stäbchen erhalten. Als nach 4-wöchigem Stehen im Brutschrank 3—4 Tropfen des Sediments auf Agar übertragen wurden, entwickelten sich darauf in 3—4 Tagen kleine, äußerst dünne, weiße Kolonien, die denen der Pneumokokken sehr ähnlich waren, aber bedeutend zarter erschienen. Sie bestanden aus großen, gramnegativen diplokokkenartigen Gebilden, verflüssigten Gelatine nicht und scheinen bei mäßiger Brownscher Bewegung nicht von Ort zu Ort beweglich.

Resistenter als Kruse- und Typhus- erwiesen sich Coli-Bacillen. Eine Coli-Kultur, die mit Thor gefällt und 24 Stunden der Einwirkung desselben ausgesetzt war, wurde in Halbbouillon regeneriert und nach 1 Woche vom Sediment eine kleine Menge auf Agar übertragen. Es wurden Coli-ähnliche Kolonien mit dunklen Knöpfen erhalten. Eine Trennung letzterer vom umgebenden hellen Teil ließ sich leicht bewerkstelligen durch Ueberimpfen auf Agar, davon in Bouillon, hieraus in flüssigen Agar bei 37°, der dann in Platten gegossen wurde. Diese

Operationen des Ueberimpfens wurden dreimal wiederholt. Schon nach der ersten Reihe zeigte die aus dem hellen Teile herrührende Fraktion keine Knöpfe mehr, während die Kultur, welche aus den Knöpfen erhalten wurde, unter der Lupe betrachtet, den Eindruck als aus vollkommen gleichartigen Kolonien bestehend, machte. Letztere waren klein, kreisrund, hochgewölbt, von bräunlicher, dunkler Farbe, die größeren mit einer kleinen Delle im Zentrum. Der Durchmesser war schätzungsweise $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{5}$ des Durchmessers der hellen Kolonien, welche letztere in jeder Beziehung denen des *Coli* glichen. Auf Drigalski und gegen Traubenzuckeragar, Traubenzucker-, Milchzucker-, Mannit-Nutrose (Barsiekow-Nährflüssigkeiten) verhielten sich die Bacillen dieser hellen Kolonien ebenfalls genau wie der *Coli* des Ausgangsmaterials, während die der kleinen bräunlichen Kolonien in ihrem Vergärungs- und Säurebildungsvermögen eine starke Einbuße erlitten hatten, so daß Lackmus-Mannit-Nutrose von ihnen in 24 Stunden nicht verändert, Traubenzucker-Nutrose nur rot und opaleszent geworden, Milchzucker-Nutrose undurchsichtig, aber nicht wirklich dickflüssig geworden war.

Der homologe *Coli*-Stamm und die hellen aus der Thorfällung hervorgegangenen Kolonien bewirkten in derselben Zeit eine bis zum Festwerden vollständige Gerinnung und Ausflockung der Traubenzucker-Nutrose und fast ebenso starke Gerinnung und Ausflockung der Milchzucker-Nutrose und ein Dickflüssigwerden der Mannit-Nutrose. In Form, Färbbarkeit und Beweglichkeit konnte unter diesen drei Reihen von Bacillen kein Unterschied beobachtet werden, außer daß die aus den Knöpfen stammenden kleiner schienen.

Die durch Thor gefällten Formen der Diphtherie, welche durch Regeneration ihre ursprüngliche Form und Färbbarkeit wieder erhalten haben, werden nach 3—4-wöchigem Stehen im Halbbouillon abermals gramnegativ. Wurden dann vom Sedimente einige Tropfen auf Agar übertragen, so entwickelten sich nach 3—4 Tagen sehr kleine weiße Dellen, die etwas gekörnt erscheinen. Nach 4—5 Tagen zeigt sich der Rand gelappt und stark aufgeworfen. Das Wachstum ist sehr spärlich und können in den ersten Generationen die Kolonien bei flüchtiger Beobachtung leicht übersehen werden. Es hat den Anschein, als ob die Größe und Dicke derselben mit der Zahl der Generationen etwas zunähme. Zurzeit wächst die 26. Generation. Vor 4 Monaten wurde die erste erhalten.

Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Kolonien bestehen aus eigentümlichen Gebilden von langen, dicken, 3—4-fach eingeschnürten Stäbchen und Diplokokken von derselben Dicke. Alle Formen sind gramnegativ. Die Einschnürungen sind auch im hängenden Tropfen deutlich zu beobachten. Alle zeigen mäßige Brownsche Bewegung; aber eine Wandung von Ort zu Ort konnte nicht mit Sicherheit beobachtet werden. Diese Bakterien wurden 5mal aus zwei verschiedenen Diphtheriestämmen erhalten.

Bei einem Versuche, in dem die Einwirkung des Thor auf Diphtherie nach 2 Stunden unterbrochen wurde, entwickelten sich auf Agar nach Regeneration in Halbbouillon Kolonien, die denen des Ausgangsmaterials ähnlich, aber grobkörniger waren. Sie bestanden aus Formen, die sich nicht von typischen Diphtheriebacillen unterschieden, sich aber als weniger giftig erwiesen als der Stamm, aus dem sie hervorgingen.

Zwei Meerschweinchen, welche je eine kleine, flachgestrichene Oese — nicht Normalöse — von letzteren subkutan erhalten hatten, starben nach 3 Tagen. Zwei gleich schwere Tiere, welchen je eine gehäufte Oese der durch die Thorfällung gegangenen Bacillen injiziert wurden, starben, das eine am 9., das andere am 13. Tage. Die Sektion zeigte bei den ersten Tieren die Erscheinungen eines typischen Diphtherietodes; bei den letzteren ein sulziges Oedem, Pleuraexsudat und nicht geronnenes Blut im Herzen, aber keine Nebennierenrötung, welche bei den ersteren sehr intensiv war.

Auch bei Typhus, Coli, Paratyphus B, Flexner und Kruse konnten nach 1-stündiger Einwirkung von Thor, als die Formen schon grampositiv geworden waren, durch Regeneration in Halbbouillon in dieser selbst schon Kulturen erhalten werden, welche die Halbbouillon trübten und sich von den Kolonien des Ausgangsmateriales nur durch Knopf und Wulstbildung unterschieden.

Versuche mit Anthrax wurden begonnen. Durch „Regeneration“ der mit Thor gefällten Bakterien wurden lange grampositive Fäden erhalten. Schon nach 24-stündigen Aufenthalt in Halbbouillon entwickelte sich aus diesen, als eine kleine Menge von 1—2 Tropfen auf Agar übertragen wurden, in 15 Stunden eine reichliche Kultur, die der des homologen Anthrax vollkommen glich, aber aus Ketten von Bacillen bestand, die fast ganz von der Masse der bei der Gram-Färbung farblos gebliebenen Sporen ausgefüllt waren, während das Plasma nur durch eine nicht starke Verdickung der Sporenhülle an beiden Enden gekennzeichnet war.

Während nun nach meiner Ansicht es als ziemlich sicher gelten kann, daß die hier beschriebenen Formen, welche aus der Thorfällung des Coli erhalten wurden, tatsächlich aus dem verwendeten Coli-Stamm hervorgegangen sind und desgleichen die wenig giftigen Diphtherieformen, welche durch kurze Einwirkung von Thor auf Diphtherie erzielt wurden, aus dem verwendeten Diphtheriestamm herrühren, fühle ich mich nicht berechtigt, ein abschließendes Urteil über die Herkunft der Bacillen A und B und über die gramnegativen, kokkenähnlichen Bakterien zu fällen.

Für die Auffassung, daß die Bacillen A aus Kruse hervorgegangen sind, spricht außer der konstanten Wiederkehr derselben bei den Kruse-Operationen und dem Fehlen derselben bei den analogen Diphtherieoperationen die Agglutinierbarkeit derselben, wenn auch in bescheidenen Grenzen (400) durch Kruse-Serum und Agglutinierbarkeit der Kruse-Bacillen durch Serum A (320). Dafür spricht auch das Verhalten dieser Bacillen A in den Barsiekow-Nährböden gegen Trauben- und Milchsucker, Mannit und Maltose. Auch die Unbeweglichkeit und das Fehlen des Gelatineverflüssigungsvermögens haben sie mit Kruse gemein.

Daß Kolonie und Stäbchenform der aus Typhusfällungen hervorgegangenen Bacillen B denen von A vollkommen gleichen, spricht nicht dagegen. Auffallend ist jedoch, daß A und B sich in den genannten Barsiekow-Nährböden gleich verhalten.

Gegen obige Auffassung spricht der Umstand, daß die Bacillen B weder vom Typhusserum agglutiniert werden, noch das Serum B den Typhusstamm agglutiniert.

Daß man es aber mit durch Thor veränderten Bacillen, wenn auch möglicherweise mit Verureinigungen zu tun hat, scheint mir aus folgenden Gründen wahrscheinlich: In den ausführlichen Tabellen Matsuschitas konnte weder eine Beschreibung der scharf charakterisierten Kolonien

von A und B, noch eine solche der übrigen Formen gefunden werden, obwohl ein Vergleich der hier beschriebenen, aus Diphtheriefällen erhaltenen Bakterien mit Tabellen schwierig ist.

Das Fehlen von positiven Eigenschaften bei allen Formen, wie Beweglichkeit, Gelatineverflüssigungsvermögen, Giftigkeit etc. scheint mir ein Fingerzeig, daß Veränderungen Platz gegriffen haben. Das spärliche Wachstum auf guten Nährböden und leichte Absterben der Kulturen deuten nicht auf unveränderte Luftverunreinigung.

Während durch meine Technik Luftverunreinigungen nicht mit Sicherheit auszuschließen sind, halte ich die Annahme, daß es sich um unveränderte Verunreinigung des Ausgangsmateriales handelt, nicht für stichhaltig, weil es sich hier um Laboratoriumstämmen handelt, die zu verschiedenen Zwecken verwendet werden, ohne daß ähnliche Befunde gemacht wurden, und weil Kolonien und Individuen zu verschieden von denen der Kruse-, Typhus- und Diphtheriebacillen sind, um lange unentdeckt zu bleiben. Da einer der verwendeten Kruse-Stämme im Laufe der Arbeit nahezu 100mal über eine Serie von 3 Platten geschickt wurde, so ist ein Nachkommen der spärlich wachsenden Kolonien von A wohl ausgeschlossen.

Daß auch Luftverunreinigungen durch Thor verändert werden können, dafür scheinen die seltsamen Formen, die ich beim folgenden Versuche erhielt, zu sprechen: Eine Agarplatte, die mit Paratyphus B geimpft wurde, blieb 10 Minuten unbedeckt stehen, wurde dann verstrichen und 48 Stunden im Brutschrank gelassen.

Durch Fällung mit Thor, 24-stündiger Einwirkung desselben, nachfolgende Regeneration, wurden nach weiteren 6 Tagen auf Agar weiße, unregelmäßige Kolonien erhalten, die nach 48 Stunden eine starke dunkle Körnung, gleichmäßig auf der ganzen Oberfläche verteilt, zeigten. Sie bestanden, wenn eine 18-stündige Kolonie gefärbt wurde, nur aus gramnegativen Stäbchen, Keulen und Lanzenformen.

40-stündige Kolonien nach Gram gefärbt, enthielten sehr viele grampositive, große Sporen, mit farblosen oder rötlichem Zentrum und kleinem gramnegativen Schwanz.

In der gegenwärtigen 12. Generation sind die Erscheinungen dieselben wie in der ersten.

Im hängenden Tropfen zeigen sie schwache Brownsche Bewegung. Gelatine wird nicht verflüssigt.

Herrn Stabsarzt Prof. Dr. Doerr sage ich für das mir entgegengebrachte Wohlwollen und Interesse und für die unentgeltliche Ueberlassung des Laboratoriums meinen innigsten Dank.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bakteriologie der giftarmen Dysenteriebacillen (Paradysenteriebacillen).

[Aus dem „Statens Seruminstitut“ zu Kopenhagen. (Direktor:
Dr. Th. Madsen).]

Von Dr. Carl Sonne, Assistenten am Institute.

Synonyme: Giftarme Dysenteriebacillen (Lentz), ungiftige Dysenteriebacillen (Kraus und Doerr), Pseudodysenteriebacillen (Kruse), Dysenteriebacillen der Typen: „Flexner“, „Strong“ und „Y“, Paradysenteriebacillen (Park, Liefmann und Nieter etc.).

Im Laufe von ca. 2 Jahren, d. h. von April 1911 bis März 1913, wurde in der zum „Statens Seruminstitut“ gehörigen Diagnostikstation die Isolierung giftarmer Dysenteriebacillen von 69 verschiedenen Individuen vorgenommen. Es handelte sich im wesentlichen um sporadisch auftretende Erkrankungen; von eigentlichen Epidemien ist niemals die Rede gewesen. Die Klinik und Epidemiologie dieser Fälle werden an anderer Stelle¹⁾ mitgeteilt werden; hier soll nur über meine Beobachtungen bezüglich der Bakteriologie dieser Bacillen, sowie in einer nachfolgenden Mitteilung in dieser Zeitschrift über die Bedeutung der Agglutination der Bacillen in Patientenseris Bericht erstattet werden.

Allgemeine Uebersicht.

Die giftarmen Dysenteriebacillen sind bekanntlich unbewegliche Stäbchen, die keine Sporen bilden, und sich bei der Gramschen Färbung entfärben. Ihre hauptsächlichsten kulturellen Eigenschaften sind: Ueppiges Wachstum auf allen gewöhnlich angewandten Nährböden, blaue Kolonien auf v. Drigalski-Conradischem Agar, farblose Kolonien auf Endo-Agar, keine Gas-, sondern Säureproduktion auf Glukoseagar, keine Verflüssigung der Gelatine, Säurebildung in den mit Mannit versetzten Nährböden, meist keine Veränderungen der Milch; es sind aber sowohl von Kruse wie von Flexner Bacillen gefunden worden, die Milch koagulierten. In der Regel bilden diese Bacillen Indol, doch sind nicht-indolbildende Bacillen unter anderem von Lentz und Kruse beobachtet worden. Von Kruse und anderen Verfassern wird angeführt, daß das Wachstum auf Kartoffeln am häufigsten in einer ganz schwachen, kaum sichtbaren Oberflächenausbreitung besteht.

Bei der Differenzierung der giftarmen Dysenteriebacillen hat man gewöhnlich zwischen den 3 Typen, dem Flexnerschen, dem Strongschen und dem Typus Y unterschieden. Als Einteilungsprinzip hat man das ungleiche Vergärungsvermögen der verschiedenen Bacillen Maltose und Saccharose gegenüber angewandt. Kruse sieht diese auf dem Vergärungsvermögen basierte Einteilung als nicht brauchbar an; er behauptet, es sei diese Fähigkeit der Bacillen sehr wechselnd, und er schlägt deshalb eine Einteilung in wenigstens 8 verschiedene Gruppen nach dem wechselnden Gehalt von Haupt- und Mitagglutinogenen vor.

1) Zeitschr. f. klin. Med.

Gegen eine derartige Gruppeneinteilung scheinen aber mehrere Einwände berechtigt, und zwar besonders von dem folgenden Gesichtspunkte aus: Woher wissen denn die verschiedenen Verfasser, daß es sich in allen Fällen, in denen sie Dysenteriebacillen beobachtet haben wollen, tatsächlich um Dysenteriebacillen gehandelt habe?

Bei einer gegebenen Infektion einen bei dem betreffenden Individuum vorgefundenen bisher unbekanntem Bacillus als den Krankheitserreger zu bezeichnen, ist bei weitem kein Leichtes und läßt sich überhaupt nicht wahrscheinlich machen, wenn nicht der Bacillus in einer ganzen Reihe ähnlicher Erkrankungen vorgefunden worden ist. Derartige umfassende Untersuchungen sind aber nur ganz ausnahmsweise gemacht worden, und bei weitem nicht jedesmal, wo eine neue Gruppe oder ein neuer Typus aufgestellt worden ist.

Die Untersuchungen, welche mittels des ursprünglich von Flexner gefundenen sogenannten Flexner-Bacillus und mittels einzelner Y-Bacillen vorgenommen sind, wie z. B. der von Lentz bei der Saarbrückener Epidemie, von Mayer bei der Fürther Epidemie, von Jürgens bei der Grupper Epidemie und von Kruse bei den in den Irrenhäusern vorgefundenen Bacillen, sind wohl in hinlänglich weitem Umfange angestellt worden, so daß die Pathogenität der betreffenden Bacillen dadurch gesichert ist. Bacillen, die sich in agglutinatorischer Beziehung nicht auf ähnliche Weise wie diese Bacillen verhalten, und die in kultureller Beziehung größere Abweichungen von den genannten Bacillen aufweisen, dürfen nicht ohne weiteres Dysenteriebacillen genannt werden. Daß die verschiedenen als wahre Dysenteriebacillen differenzierten Bacillen ein mehr oder weniger gemeinsames Mitagglutinogen besitzen können, beweist durchaus nicht, daß sie nicht auch Mitagglutinogen mit ganz anderen, vielleicht gar nicht pathogenen Bakterien besitzen können.

Einen neuentdeckten Bacillus vermittelt gewisser gegebener Dysenteriebacillengruppen als einen Dysenteriebacillus zu identifizieren, wenn genannter Bacillus von den schon bestehenden Gruppen so abweichend ist, daß man ihn in eine neue Gruppe einreihen muß, wie dies Kruse, Winter u. a. getan haben, kann doch kein einwandfreies Verfahren genannt werden, jedenfalls so lange nicht, wie es noch dahinsteht, ob nicht andere Bacillen als die Dysenteriebacillen dieselben morphologischen und kulturellen Eigenschaften besitzen.

Ebensowenig haltbar scheint mir das Verfahren, Bacillen, die in agglutinatorischer Beziehung verschieden sind, in dieselbe Gruppe einzureihen, nur weil sie ein gleiches Vergärungsvermögen bestimmten Zuckerarten gegenüber aufweisen und sonst kulturell übereinstimmen, wie es Lentz, Schroeter und Gutjahr, Lösener, Morgan, Tebbut, Lunz u. a. tun.

Wenn die Agglutination nicht bis zur Titergrenze mit sicheren Dysenterieimmunseris reicht, darf man es nicht als hinlänglich bewiesen ansehen, daß es sich tatsächlich um Dysenteriebacillen handelt, obgleich es nicht im voraus unmöglich genannt werden darf, daß Dysenteriebacillen, die bisweilen völlig inagglutinabel sein können, auch mitunter Schwankungen in der Agglutinationsfähigkeit aufweisen.

Eigene Untersuchungen über Bacillen, die sich in morphologischer und kultureller Beziehung wie giftarme Dysenteriebacillen verhalten.

Einleitende Bemerkungen über das Material und das Verfahren bei der Isolierung der Bacillen.

Wie man nach dem oben Gesagten verstehen wird, habe ich es bei meinen Untersuchungen zweckdienlich gefunden, nicht nur diejenigen Bacillen zu prüfen, die von Anfang an gleich in morphologischer, kultureller und serologischer Beziehung als Dysenteriebacillen identifiziert werden konnten, sondern auch die Bacillen, welche zwar in allen anderen Reaktionen mit den Dysenteriebacillen übereinstimmten, aber bei serologischer Prüfung doch nicht ohne weiteres als solche aufgefaßt werden konnten.

Ich wollte hierdurch nicht nur verhüten, daß Bacillen, die bei der ersten Untersuchung inagglutinabel waren, meiner Beobachtung entgingen, sondern zugleich auch feststellen, ob andere als die Dysenteriebacillen ähnliche morphologische und kulturelle Eigentümlichkeiten besaßen, und vielleicht als Ruhrbacillen zu bezeichnen waren.

Sämtliche Faeces- und Harnproben (ca. 1500+100), die während des eingangs genannten Zeitraumes dem Seruminstitut zur Untersuchung auf pathogene Keime (vorwiegend Typhus-, Paratyphus- und Dysenteriebacillen) zugestellt wurden, habe ich auf ihren Gehalt an Dysenterie- oder diesen in kultureller oder morphologischer Beziehung ähnlichen Bacillen untersucht.

Die bei diesen Untersuchungen isolierten Bakterien sind also unbewegliche Stäbchen, die keine Sporen bilden und nach der Gramschen Färbung entfärbt werden. Sie wachsen auf Conradi-Drigalski-Agar mit bläulichen, auf Endo-Agar mit farblosen (oder ganz schwach rötlichen) Kolonien, produzieren kein Gas in glukosehaltigem Nährboden, bilden aber hier und in Mannitsubstraten Säure; sie sind nicht imstande, Gelatine zu verflüssigen.

Mein Verfahren bei der Isolierung der Bacillen war das Folgende: Die Faecesprobe wird in eine flache Schale untergebracht, in welcher eventuell größere oder kleinere Schleimflocken ausgesucht werden; einige derselben werden, bevor man sie auf der Conradi-Drigalski- oder der Endo-Platte ausstrich, in steriler Kochsalzlösung abgespült; wenn sich keine Schleimflocken vorfanden, wurde ein Teil der Fäkalmassen in steriler Kochsalzlösung verrührt und von dieser Aufschwemmung einige Tropfen zum Ausstreichen verwandt. Es werden als Regel 4, bisweilen mehrere, Endo- und Conradi-Drigalski-Agarschalen mittels eines gebogenen sterilen Glasstäbchens besät, ganz wie bei Untersuchung auf Typhusbacillen.

Nachdem die Schalen ca. 18 Stunden bei 37° gestanden hatten, wurden die auf dem Conradi-Drigalski-Agar gewachsenen bläulichen und von dem Endo-Agar die farblosen Kolonien isoliert und in Bouillon übertragen. Von dieser wurde nach ca. 7-stündigem Wachstum bei 37°, und zwar noch an demselben Tage, in verflüssigten nicht zu heißen Lackmus-Glukoseagar übergeimpft. Diejenigen Kulturen, welche imstande waren, Säurebildung und somit Rotfärbung des Lackmus-Glukoseagars hervorzurufen, ohne Gas zu bilden, und die bei der mikroskopischen Untersuchung eines Tropfens der Bouillonkultur aus unbeweglichen Stäbchen bestanden, wurden sodann auf ihre Färbbarkeit nach Gram, sowie auf ihr Verhalten Gelatine und Mannit gegenüber geprüft.

Wie schon erwähnt reichen die Untersuchungen über ca. 2 Jahre, die Bacillen sind deshalb selbstredend nicht alle gleichzeitig endgültig untersucht und geprüft worden.

Ich habe in der folgenden Darstellung versucht, zunächst die Stämme teils nach dem Gärungsvermögen, teils nach dem Ausfall der Agglutination

(mit verschiedenen mit ihnen hergestellten Seris) zu gruppieren. Nachdem ich so diejenigen Stämme, die ich als gleich auffassen mußte, in geschlossenen Gruppen klassifiziert und gewisse kulturelle Eigentümlichkeiten besprochen habe, untersuchte ich schließlich durch Vergleich mit gegebenen Dysenteriebacillen sowie auf anderem Wege, welche Gruppen als Dysenteriebacillen aufgefaßt werden müssen, und welche nicht.

Die Untersuchung umfaßt 76 Stämme (von 75 Individuen)¹⁾.

75 Stämme wurden in Faeces vorgefunden, 1 Stamm (No. 69) in einem Harn, welcher zur Untersuchung auf Typhusbacillen eingeschickt war (Conradi-Drigalski-Agar).

Die Maltose- und Saccharosevergärung der frisch isolierten Stämme.

Es wurde für die Gärungsprüfung eine Fleischextraktlackmusbouillon mit einem Zusatz von Zucker in einer 1-proz. Lösung angewandt.

In den Vergärungsrubriken bedeutet S = Säurebildung, O = unveränderte Reaktion und R = Reduktion des Farbstoffes. Die beigefügten Ziffern geben an, nach Verlauf von wie vielen Tagen bei 37° die betreffende Reaktion eingetreten ist. Wenn 2 Ziffern angegeben sind, wie z. B. O1-3, bedeutet dies, daß die Reaktion in 3 Tagen unverändert gewesen war. In der Rubrik „Zahl von Kolonien“ bedeutet „sehr zahlreich“, daß fast ausschließlich diese Kolonien und nur ganz wenige Coli-Kolonien gewachsen sind; — „zahlreich“, daß die Zahl dieser Bacillen und diejenige der Coli-bacillen ungefähr gleich gewesen sei, und die Bezeichnungen: „recht zahlreich“, „mehrere“, „einzelne“, „ganz wenige“, daß diese Bacillen stufenweise abgenommen, während die Coli-Bacillen stufenweise zugenommen haben.

Falls alle diese 76 gefundenen Bacillensämme als Dysenteriebacillen anzusehen sind, so gehören nach dem Ausfall der Vergärungsprobe 2 derselben dem Typus Strong (No. 55 u. 69), 32 dem Typus Flexner und 42 dem Typus Yan; dies gilt aber nur, wenn mit der Vergärung in Maltosebouillon nach Verlauf von 24 Stunden gerechnet wird; falls dagegen eine Maltosevergärung von 2×24 Stunden entscheidend sein soll, dann werden 43 Bacillen dem Flexnerschen Typus und 31 dem Typus Y zugeschrieben werden müssen. Nach mehrtägiger Beobachtung ändert sich das Verhältnis noch weiter.

Wie schon aus der ersten Vergärungsuntersuchung hervorgeht, ist die Einteilung der Stämme nach dem Vergärungsvermögen mit Schwierigkeiten verbunden. Ich werde später versuchen, die näheren Vorgänge bei der Vergärung auseinanderzusetzen.

Die Einteilung der Stämme mittels der Agglutination.

Im ganzen sind mit 11 Stämmen Immunsera hergestellt worden, und zwar durch intravenöse Injektion lebender 24-stünd. Bouillonkultur an Kaninchen. In der Regel genügte es, die Injektion nur einmal nach Verlauf von 4 Tagen zu wiederholen; 4—5 Tage später hatte das Serum dann einen genügenden Titer; für die 1. Injektion wurde meist $\frac{1}{2}$ ccm der Kultur, für die 2. 1 ccm angewandt. Die Kaninchen haben in den meisten Fällen die Injektion gut vertragen; einige der Stämme wichen jedoch in dieser Beziehung von der Regel etwas ab, eine Erscheinung, die später besprochen werden soll.

1) Die beiden Stämme („Svendborg I“ und „Svendborg III“) rühren von zwei verschiedenen Faecesproben eines Individuums her. Es wurden mehrmals bei wiederholten Untersuchungen von dem Stuhl desselben Individuums Dysenteriebacillen vorgefunden; „Svendborg III“ ist hier nur mitgenommen, weil er gleich bei der Isolierung mehrere spezifische Eigentümlichkeiten aufwies.

Tabelle I.

Übersicht und Herkunft der Bacillenstämme in der Reihenfolge, nach welcher sie isoliert sind, gegenüber Maltose und Saccharose; ihr Vergärungsvermögen gleich nach der Isolierung.

No.	Bezeichnung des Stammes	Isoliert am	Eingeschickt von	Herkunft	Diagnose	Stuhl	Zahl der Kolonien	Maltosebouillon	Saccharosebouillon
1	Diakonisse	24. 4. 11	Diakonissenstift Kopenhagen	Erwachsener ♂	Diarrhöe	dünn übelriech.	recht zahlreich	O1-4	O1-4
2	Helsingör	26. 6. 11	Helsingör	40-jähr. ♂	vor 3 Monate ruhr-ähnliche Symptome ak. hämorrhagische Colitis	normal	—	S ¹	O1-4
3	Aarhus	13. 8. 11	Aarhus	Erwachsener ♂	rezidivierend. schleimiger Stuhl	—	—	S ¹	O1-4
4	Bogense	21. 8. 11	Bogense	3-jähr. ♂	gesund	etwas schleimig	—	S ¹	O1-4
5	117	21. 8. 11	Thisted	Erwachsener	„	normal	—	S ¹	O1-4
6	148	21. 8. 11	„	„	„	„	—	S ¹	O1-4
7	208	21. 8. 11	„	„	„	„	—	S ¹	O1-4
8	219	21. 8. 11	„	„	„	„	—	S ¹	O1-4
9	Braband	30. 8. 11	Aarhus	Erwachsene ♀	hämorrhag. Enterocolitis	—	—	S ¹	O1-4
10	Frederikshavn	1. 9. 11	Frederikshavn	23-jähr. ♂	ak. blutige Diarrhöe	—	—	O1-4	O1-4
11	Frau V.	2. 9. 11	Aarhus	Erwachsene ♀	blutige Diarrhöe	normal	—	S ¹	O1-4
12a	Svendborg I	6. 9. 11	Svendborg	57-jähr. ♀	Dysenterie	ein wenig Blut, einzelne u. Schleim enthaltend	einzelne	S ¹	O1-2
12b	„ III	12. 9. 11	„	dgl.	„	breiig, nicht schleimig	ganz wenige	O1-4	O1-4
13	B. 1	7. 9. 11	BH. Kopenhagen	3-monat. ♀	Gastroenteritis	dünn, gelbschleimig	einige	S ¹	O1-2
14	131	8. 9. 11	Aarhus	3-jähr. ♂	ak. blutige Diarrhöe	grün, schleimig	einzelne	S ¹	O1-2
15	132	8. 9. 11	„	4-jähr. ♀	hämorrhag. Enterocolitis	normal	ganz wenige	S ¹	S ¹
16	Rg. 2	12. 9. 11	Kinderabt. des Rigshospitals	2-monat. ♀	Gastroenteritis	grün, schleimig	—	O1-3S ⁴	O1-4
17	Svendborg II	12. 9. 11	Svendborg	60-jähr. ♂	ak. blutige Diarrhöe	breiig, etwas schleimig	mehrere	O1-4	O1-4

18	R.	13. 9. 11	Aarhus	53-jähr. ♀	hämorrhag. Enterocolitis	grün dünn, nicht schleimig	recht zahlreich	O ¹⁻⁴
19	Nysted	14. 9. 11	Nysted	58-jähr. ♀	ak. blutige Diarrhöe	wesentlich Blut u. Schleim	sehr zahlreich	S ¹
20	Rg. 11	18. 9. 11	Kinderabt. des Rigshospitals	4-monat. ♀	Gastroenteritis	klumpig, stark schleimig	dgl.	O ¹⁻⁴
21	Svendborg IV	18. 9. 11	Svendborg	5-jähr. ♀	blutige Diarrhöe	wasserdünn, blutig-schleimig	mehrere	O ¹⁻³
22	175	16. 9. 11	Hvalsö	Erwachsener ♂	ak. blutige Diarrhöe	wasserdünn, blutig, nicht schleimig	einzelne	O ¹⁻⁴
23	222	20. 9. 11	Aarhus	dgl.	dgl.	wasserdünn, blutig-schleimig	mehrere	O ¹⁻⁴
24	Rg. 13	20. 9. 11	Kinderabt. des Rigshospitals	2-monat. ♀	Gastroenteritis	gelb, leicht schleimig	einzelne	O ¹⁻⁴
25	323	3. 10. 11	Horsens	5-jähr. ♂	ak. Enterocolitis	wasserdünn, schleimig	"	O ¹
26	359	7. 10. 11	Aarhus	Erwachsener ♂	—	blutig-schleimig	recht zahlreich	O ¹⁻⁴
27	360	7. 10. 11	"	5-jähr. ♂	—	dünn, nicht schleimig	mehrere	O ¹⁻⁴
28	435	14. 10. 11	Horsens	2-jähr. ♂	ak. Enterocolitis	schleimig	einzelne	O ¹⁻²
29	494	12. 10. 11	Thisted	7-jähr. ♀	ak. Diarrhöe	sehr dünn, schleimig	sehr zahlreich	O ¹⁻³
30	453	17. 10. 11	"	Erwachsene ♀	—	normal	zahlreich	O ¹⁻³
31	721	30. 10. 11	Höjslev	49-jähr. ♂	ak. blutige Diarrhöe in Verdacht als Typhusbacillen-träger	grün, schleimig	recht zahlreich	S ¹
32	725	2. 12. 11	Aalborg	Erwachsene ♀	—	normal	"	O ¹
33	731	7. 12. 11	Odense	50-jähr. ♀	Cholerae	blutig-schleimig	mehrere	S ¹
34	768	18. 12. 11	"	13-monat. Kind	"	—	zahlreich	S ¹
35	825	7. 2. 12	Kinderabt. des Rigshospitals	4-monat. ♂	Gastroenteritis	—	"	S ¹
36	899	14. 4. 12	Herning	Erwachsener ♂	ak. blutige Diarrhöe subakute Colitis	schleimig grüngelb, Schleimklumpen	mehrere	S ¹
37	960	20. 6. 12	Kopenhagen	Kind	—	normal	"	O ¹⁻⁴
38	963	22. 6. 12	Helsingör	Erwachsener ♂	vor 2 Monaten ruhr-ähnliche Symptome	normal	"	O ¹⁻⁴
39	965	24. 6. 12	"	dgl.	dgl.	zottig, sonst normal	"	O ¹⁻⁴
40	B. 20	9. 7. 12	BH. Kopenhagen	14-monat. ♂	schleimige Diarrhöe	grün, schleimig	zahlreich	S ¹

No.	Bezeichnung des Stammes	Isoliert am	Eingeschickt von	Herkunft	Diagnose	Stuhl	Zahl der Kolonien	Maltosebouillon	Saccharosebouillon
41	B. 82	25. 7. 12	BH. Kopenhagen	6-jähr. ♀	schleimige Diarrhöe	blutfärbte Schleimklumpen dünn, grün, mit Schleimflocken	zahlreich	S ¹	O1-4
42	F. 85	29. 7. 12	Kopenhagen	2-jähr. ♂	Cholerae	Käsige, nicht deutlich schleimig grüne Schleimflocken	mehrere	S ¹	O1-4
43	B. 92	1. 8. 12	BH. Kopenhagen	10-monat. ♂	schleimige Diarrhöe	grüner Schleim	einzelne	O ¹ S ²	O1-4
44	Rg. 105	2. 8. 12	Kinderabt. des Rigshospitals	2-jähr. ♀	Gastroenteritis	grüner Schleim	„	O ¹ S ²	O1-4
45	B. 108	5. 8. 12	BH. Kopenhagen	4-monat. ♂	„	grüner Schleim	zahlreich	O ¹ S ²	O1-4
46	994	7. 8. 12	Aarhus	4-jähr. ♀	ak. Colitis	fließend schleimig blutiger Schleim	zahlreich	S ¹	O1-4
47	1013	11. 8. 12	Horsens	Erwachsener ♂	akute blutige Diarrhöe	blutiger Schleim	mehrere	O1-4	O1-4
48	P. 131	13. 8. 12	Poliklinik Kopenhagen	11-monat. ♂	Enterit. ac.	gelb, mit klarem Schleim	einzelne	S ¹	O1-4
49	Rg. 133	14. 8. 12	Kinderabt. des Rigshospitals	9-monat. ♀	Gastroenteritis	grün, blutigigierter Schleim wasserdünn, grün, etwas Schleim	recht zahlreich	O1-4	O1-4
50	Rg. 150	20. 8. 12	dgl.	2-monat. ♀	„	grüner Schleim	mehrere	O1-4	O1-4
51	B. 159	23. 8. 12	BH. Kopenhagen	4-monat. ♀	„	normal	zahlreich	O1-4	O1-4
52	1020	23. 8. 12	Kopenhagen	Erwachsene ♀	Typhusrekoneszent	grüner Schleim	einzelne	S ¹	O1-4
53	Rg. 161	24. 8. 12	Kinderabt. des Rigshospitals	6-monat. ♀	Gastroenteritis	grüner Schleim	„	O1-4	O1-4
54	1030	27. 8. 12	Skals	Erwachsene ♀	ak. blutige Diarrhöe	blutigigierter Schleim	recht zahlreich	O1-2S ³	O1-4
55	B. 168	27. 8. 12	BH. Kopenhagen	4-monat. ♀	Gastroenteritis	grüner Schleim	einzelne	O1-4	S ¹
56	B. 179	30. 8. 12	dgl.	2-monat. ♀	„	dünn, gelb, kein Schleim	„	O1-4	O1-4
57	P. 180	31. 8. 12	Poliklinik Kopenhagen	2-monat. ♀	„	gelb, käsige etwas Schleim	mehrere	S ¹	O1-4

58	Rg. 185	4. 9. 12	Kinderabt. des Righospitals	4-monat. ♀	Gastroenteritis	grüner Schleim	einzelne	S ¹	O1-4
59	Rg. 201	18. 9. 12	dgl.	3-monat. ♀	"	grün, klumpig, kein deutlicher Schleim	mehrere	S ¹	O1-4
60	1078	25. 9. 12	Garnisonkran-kenhaus Kopen-hagen	Erwachsener ♂	Ent. haemorrhag.	dünn, blutigin-gierter Schleim	recht zahlreich	O1-4	O1-4
61	1093	30. 9. 12	Dragör	10-jähr. ♂	Cholera	dünn, mit Schleimklumpen	zahlreich	S ¹	O1-4
62	Rg. 215	2. 10. 12	Kinderabt. des Righospitals	2-jähr. ♂	Gastroenteritis	dunkler, grüner Schleim	"	O'R ²	O1-3(RS) ⁴
63	Rg. 216	2. 10. 12	dgl.	3-monat. ♂	"	grüner Schleim	mehrere	O'S ²	O1-4
64	1100	4. 10. 12	Hellerup	3-jähr. ♂	ak. Diarrhöe	dgl.	zahlreich	O1-4	O1-4
65	1110	7. 10. 12	Frederiksberg-Hospital	Erwachsene ♀	Colitis chron.	dünn mit blut-tigiertem Schleim	einzelne	S ¹	O1-4
66	1133	14. 10. 12	Köge	9-jähr. ♂	Ent. ac. haemorrhag.	dünn, gelb, kein Schleim	"	O'S ²	O1-4
67	Rg. 222	15. 10. 12	Kinderabt. des Righospitals	3-monat. ♂	Gastroenteritis	grüner Schleim	zahlreich	O1-4	O1-4
68	B. 236	7. 11. 12	BH. Kopen-hagen	2-jähr. ♀	"	blutiger Schleim	"	O1-4	O1-4
69	1308a	25. 11. 12	ÖH. Kopen-hagen	—	Typhusrekonzales-ent	Harn	einzelne	O'S ²	S ¹
70	1320	27. 11. 12	K. H. Abt. VIII	2-jähr. ♂	Gastroenteritis	normal	"	S ¹	O'S ²
71	Rg. 245	28. 11. 12	Kinderabt. des Righospitals	9-monat. ♂	"	grüngelber Schleim	sehr zahlreich	O1-4	O1-3S ²
72	1362	17. 12. 12	Hellerup	18-monat. ♀	rezidivierende blutige Diarrhöe	grün, blutigin-gierter Schleim	einzelne	O1-4	O1-4
73	42	19. 2. 13	K. H. Abt. VIII	1 1/4-jähr. ♂	Ent. ac. haemorrhag.	dünn, mit klarem Schleim	"	O1-3(S) ⁴	O1-3(S) ⁴
74	65	16. 3. 13	Abt. A des Righospitals	Erwachsene ♀	blutige Diarrhöe	Blut u. Schleim	"	O1-4	O1-3(S) ⁴
75	82	2. 3. 13	Kinderabt. des Righospitals	3-jähr. ♂	Gastroenteritis	dünn, grün, schleimig	mehrere	O1-4	O1-4

Zur Herstellung der ersten Sera wurden einige der zuerst isolierten Stämme verwandt; mit jedem neuen isolierten Stamm, welcher nicht wie die vorausgehenden agglutiniert wurde, stellte ich ein neues Serum her. Einzelne der zuerst hergestellten Sera zeigten sich ganz gleich, und in der Tat waren nur 7 von den 11 Sera verschieden. Mit 2 Stämmen, die nicht wie die übrigen agglutiniert wurden, gelang es mir nicht, ein agglutinables Serum herzustellen, worauf ich später zurückkommen werde. In der Tabelle II ist das Resultat der mit den 7 verschiedenen Sera gemachten Prüfung aufgeführt.

Der Ausfall der Agglutination wurde makroskopisch beurteilt. Zur Anstellung ist stets eine 24stündige Bouillonkultur verwandt worden. Die Serumverdünnungen mit den Bakterien wurden erst 3 Stunden bei 37° und danach bei Zimmertemperatur bis zur Ablesung des Titers am folgenden Tage gehalten.

Die Agglutinationsstärke ist durch den reziproken Wert der stärksten Serumverdünnung, in welcher Agglutination beobachtet wurde, angegeben. Wo das Agglutinationsresultat in Parenthese eingeschaltet ist, bedeutet dies, daß die Agglutination in der entsprechenden Serumverdünnung nicht vollständig gewesen sei.

In der Tabelle sind diejenigen Bacillen, welche wenigstens bis zur Titergrenze in demselben Serum agglutiniert wurden, in einer Gruppe für sich aufgeführt.

Die 76 Stämme wurden hierdurch in 9 Gruppen geteilt:

Es finden sich 4 Hauptgruppen (I, II, III und VII); der Gruppe I gehören 19 Stämme an, der Gruppe II 12 Stämme, der Gruppe III 36 Stämme und der Gruppe VII 4 Stämme. Den übrigen Gruppen entsprechen nur einzelne Stämme.

Die Stämme 963 (No. 38) und 965 (No. 39) habe ich in die Gruppe II eingereiht, obgleich sie nicht bis zur Titergrenze in dem der Gruppe entsprechenden Serum „Frederikshavn“ geprüft worden sind; sie starben vor der endgültigen Untersuchung ab; der vorläufigen Prüfung nach müssen sie aber der Gruppe II zugeschrieben werden. Der Stamm 1013 (No. 47) wurde nicht ganz bis zur Titergrenze von dem Serum „Frederikshavn“ agglutiniert, aber doch so weit (2500/5000), daß man ihn mit großer Wahrscheinlichkeit — wie auch aus dem Folgenden hervorgehen wird — in die genannte Gruppe einreihen kann. Dies ist auch mit den 3 Stämmen 725 (No. 32 Gruppe IV), „Diakonie“ (No. I Gruppe V) und B. 179 (No. 56 Gruppe VI) der Fall. Da diese Stämme jedoch sonstige abweichendere Eigentümlichkeiten aufwiesen, sind sie in selbständigen Gruppen aufgeführt worden. Inwieweit dies ganz richtig sei, soll später besprochen werden.

Beobachtungen über die Schwankungen in dem Agglutinationsvermögen der Bacillen.

Die in der Tabelle II aufgeführten Agglutinationsergebnisse sind — was mehrere Stämme betrifft — nicht bei erster Untersuchung von den frisch isolierten Stämmen beobachtet worden; teils waren einige der Stämme von Anfang an völlig inagglutinabel und teils ging die Agglutinabilität einiger Stämme nicht bei jeder Beobachtung bis zur Titergrenze mit demselben Serum. In der Tabelle sind deshalb nur die Ergebnisse derjenigen Untersuchungen aufgeführt, in welchen die Agglutination mit einem der Sera wenigstens bis zur Titergrenze geht. Der Grad der Agglutination mit anderen Seris zeigt indessen bei Untersuchung derselben Bakterienkultur recht deutliche Unterschiede in bezug auf einige der innerhalb derselben Gruppe aufgeführten Stämme. Insbesondere gilt dies bei der Agglutination mit Serum 117 (Gruppe VII); hier finden sich sowohl in der Gruppe I als auch in der Gruppe III Stämme, die nicht agglutiniert werden, neben solchen die agglutiniert werden, einzelne sogar ziemlich hoch bis 1:500 (1:1000). Die Frage war dann, ob die zwischen den verschiedenen Stämmen bestehenden

Tabelle II.
Gruppierung der Stämme mittels der Agglutination.

Immunserum	Helsingör	Frederiks- havn	725	Aarhus	117	B. 168	1308/a
Titer	10 000	5000	2500	500	1000	250	1000
I. Stamm Helsingör	10 000	250 (500)	< 50	< 50	250 (500)	< 50	< 50
dgl. Svendborg I	10 000 (25 000)	500	50 (100)	< 50	< 50	< 50	< 50
„ Svendborg III	10 000	250 (500)	100	< 50	100	< 50	< 50
„ R.	10 000	1000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
„ 175	25 000	1000	100	< 50	500	< 50	< 50
„ 453	25 000	500 (1000)	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
„ Rg. 133	10 000	250 (500)	100 (250)	< 50	100 (250)	> 50	< 50
„ Rg. 150	25 000	500	50 (100)	< 50	500	> 50	< 50
„ B. 159	25 000	500	(50)	(50)	500	< 50	< 50
„ Rg. 151	25 000	250 (500)	< 50	< 50	500	< 50	< 50
„ 1078	25 000	250 (500)	50	< 50	250 (500)	< 50	< 50
„ Rg. 215	25 000	500 (1000)	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
„ 1100	25 000	500	100	< 50	(50)	< 50	< 50
„ B. 236	10 000 (25 000)	500 (1000)	< 50	< 50	250	< 50	< 50
„ Rg. 245	25 000	500	< 50	< 50	250 (500)	< 50	< 50
„ 1362	25 000	500	100	< 50	50	< 50	< 50
„ 42	25 000	250 (500)	100 (250)	< 50	100	< 50	< 50
„ 65	25 000 (50 000)	250	< 50	< 50	500	< 50	< 50
„ 82	25 000	250	< 50	< 50	250 (500)	< 50	< 50
II. Stamm Frederikshavn	100	5000	100 (250)	< 50	1000	< 50	< 50
dgl. 131	100	5000	250	< 50	50	< 50	< 50
„ Svendborg II	1000	5000	100	< 50	1000	< 50	< 50
„ Nysted	100	5000	100	< 50	250	< 50	< 50
„ 323	250 (500)	10 000	250	< 50	1000	< 50	< 50
„ 435	250 (500)	10 000	100	< 50	500	< 50	< 50
„ 1) 731	250	50 000	—	< 50	1000	—	—
„ 1) 963	> 1000	> 1000	—	< 50	—	—	—
„ 1) 965	—	> 2500	—	—	—	—	—
„ 1013	2500	2500	100 (250)	(50)	(50)	< 50	< 50
„ Rg. 216	1000	5000	100	< 50	500 (1000)	< 50	< 50
„ Rg. 222	100 (250)	5000	< 50	< 50	500	< 50	< 50
III. Stamm Aarhus	< 50	< 50	< 50	500 (1000)	(50)	< 50	< 50
dgl. Bogense	< 50	< 50	—	500	< 50	—	—
„ Brabrand	< 50	< 50	—	1000	50 (100)	—	—
„ Frau V.	< 50	< 50	—	500	(50)	—	—
„ B. 1	< 50	< 50	—	500	< 50	—	—
„ 132	< 50	< 50	—	500	< 50	—	—
„ Rg. 2	< 50	< 50	—	500 (1000)	< 50	—	—
„ Rg. 11	< 50	< 50	—	1000	50	—	—
„ Svendborg III	< 50	< 50	—	500 (1000)	< 50	—	—
„ 222	< 50	< 50	—	250 (500)	< 50	—	—
„ Rg. 13	< 50	< 50	—	500	< 50	—	—
„ 359	< 50	< 50	—	500 (1000)	< 50	—	—
„ 360	(50)	< 50	—	500	(50)	—	—
„ 394	< 50	< 50	—	500 (1000)	50 (100)	—	—
„ 721	< 50	< 50	—	500	(50)	—	—
„ 768	< 50	< 50	—	500	< 50	—	—
„ 825	< 50	< 50	—	500	< 50	—	—
„ 899	< 50	< 50	< 50	500 (1000)	50	< 50	< 50
„ 960	< 50	< 50	—	500 (1000)	(50)	—	—
„ B. 20	< 50	< 50	< 50	500 (1000)	(50)	< 50	< 50
„ B. 82	< 50	< 50	—	500	< 50	—	—

1) Vor der vollständigen Durchprüfung abgestorben.

Immuns Serum	Helsingör	Frederiks- havn	725	Aarhus	117	B. 168	1308/a
Titer	10 000	5000	2500	500	1000	250	1000
III. Stamm F. 85	< 50	< 50	—	500	(50)	—	—
dgl. B. 92	< 50	< 50	—	500	(50)	—	—
„ Rg. 105	< 50	< 50	—	500 (1000)	< 50	—	—
„ B. 108	< 50	< 50	—	500	50	—	—
„ 994	< 20	< 50	—	500 (1000)	50 (100)	—	—
„ P. 131	< 50	< 50	—	500 (1000)	50 (100)	—	—
„ 1020	< 50	< 50	—	500 (1000)	50 (100)	—	—
„ 1030	< 50	< 50	—	500	< 50	—	—
„ P. 180	< 50	< 50	—	500 (1000)	50 (100)	—	—
„ Rg. 185	< 30	< 50	—	500 (1000)	(50)	—	—
„ Rg. 201	< 50	< 50	—	500	(50)	—	—
„ 1093	< 50	< 50	—	500 (1000)	(50)	—	—
„ 1110	< 50	< 50	—	500 (1000)	50	—	—
„ 1133	< 50	< 50	—	500	(50)	—	—
„ 1320	< 50	< 50	< 50	500 (1000)	< 50	< 50	< 50
IV. Stamm 725	250	250	2500	(50)	< 50	< 50	< 50
V. Stamm Diakonisse	250	100 (250)	100	(50)	100	< 50	< 50
VI. Stamm B. 179	< 50	500	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
VII. Stamm 117	< 50	< 50	< 50	< 50	1000	< 50	< 50
dgl. 148	< 50	< 50	—	< 50	1000	—	—
„ 208	< 50	< 50	—	< 50	1000	—	—
„ 219	< 50	< 50	< 50	< 50	1000	< 50	< 50
VIII. Stamm B. 168	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	250	< 50
IX. Stamm 1308/a	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	1000

Schwankungen größer sind als diejenigen Variationen, welche derselbe Stamm eventuell bei wiederholter Agglutinationsprüfung mit diesen Seris hervorrief. Wenn die Unterschiede nicht größer sind, dann lassen sich nämlich mit Recht *ceteris paribus* die in derselben Gruppe aufgeführten Stämme als gleich ansehen.

Die Resultate einer derartigen Untersuchung von einigen Stämmen finden sich in der Tabelle III, die zugleich die Variationen den mutmaßlich homologen Seris gegenüber wiedergibt.

Die Sera „Helsingör“ und „175“ entsprechen der Gruppe I, „Frederikshavn“ der Gruppe II, „117“ der Gruppe VII und „394“, „Aarhus“ und „Bogense“ der Gruppe III.

Die erste Untersuchung ist möglichst bald nach der Isolierung des Stammes unternommen worden.

Was zunächst die Inagglutinabilität in den mutmaßlich homologen Sera anlangt, so findet sich in der Gruppe I der Stamm „Svendborg III“, welcher bei der Isolierung in diesen Sera gar nicht agglutiniert wurde, dagegen aber eine ganz schwache Agglutination mit den fernstehenden Sera „394“ und „Aarhus“ aufwies, und zwar eine Agglutination, die er später einbüßte; er ist von den Seris derjenigen Gruppe, in welcher er aufgeführt ist, bis zur Titergrenze gleichzeitig agglutiniert.

Die Gruppe II enthält keine inagglutinablen Stämme.

In der Gruppe III finden sich nicht wenige Stämme, die bei der Isolierung nicht oder jedenfalls nur schwach von den der Gruppe entsprechenden Seris agglutiniert wurden (siehe Stamm „Brabrand“, „Svendborg IV“, „222“ und „Rg. 13“, also 4 von 17 Stämmen). Im Juni 1912, nachdem sie ca. 1mal monatlich in Bouillon überimpft

Tabelle III.

Untersuchungen über die Schwankungen der Stämme in bezug auf Agglutinabilität.

Immunsorum		Helsingör (Gr. I)	175 (Gr. I)	Frederiks- havn (Gr. II)	117 (Gr. VII)	394 (Gr. III)	Aarhus (Gr. III)	Bogense (Gr. III)
Gruppe I Stamm Helsingör	Herbst 1911	10 000	5000	1000	500	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	25 000	5000	500	500	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	10 000 (25 000)	—	250 (500)	250 (500)	—	< 50	—
„ Svendborg I	Herbst 1911	2500	5000	500	100	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	50 000	25 000	500	250	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	10 000 (25 000)	—	500	< 50	—	< 50	—
„ Svendborg III	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	100	50	100	< 50
	Juni 1912	25 000	50 000	250	500	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	10 000	—	250 (500)	100	—	< 50	—
„ R.	Herbst 1911	10 000	10 000	1000	< 50	< 50	—	< 50
	Juni 1912	10 000	5000	500	< 50	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	25 000 (50 000)	—	1000	< 50	—	< 50	—
„ 175	Herbst 1911	2500	5000	1000	500	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	2500	5000	500	500	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	25 000	—	1000	500	—	< 50	—
„ 453	Herbst 1911	5000	5000	2500	< 50	< 50	—	< 50
	Juni 1912	50 000	10 000	1000	50	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	25 000	—	500 (1000)	< 50	—	< 50	—
Gruppe II Stamm Frederikshavn	Herbst 1911	100	250	10 000	50	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	100	250	5000	1000	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	250 (500)	—	10 000	500 (1000)	—	< 50	—
„ 131	Herbst 1911	100	250	5000	50	100	< 50	< 50
	Juni 1912	250	500	10 000	1000	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	1000	—	10 000	250	—	< 50	—
„ Svendborg II	Herbst 1911	1000	1000	5000	1000	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	2500	2500	10 000	1000	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	250	—	2500 (5000)	500	—	< 50	—
„ Nysted	Herbst 1911	100	1000	5000	250	100	50	50
	Juni 1912	50	500	2500	1000	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	250 (500)	—	5000 (10 000)	250 (500)	—	< 50	—
„ 323	Herbst 1911	100	50	20 000	100	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	250	500	10 000	1000	50	< 50	< 50
	Januar 1913	250 (500)	—	10 000	1000	—	< 50	—
„ 435	Herbst 1911	50	1000	50 000	1000	< 50	50	50
	Juni 1912	250	500	2500	2500	< 50	< 50	50
	Januar 1913	250 (500)	—	10 000	500	< 50	< 50	—
Gruppe III Stamm Aarhus	Herbst 1911	< 50	50	< 50	50	500	500	500
	Juni 1912	50	< 50	50	100	—	1000	100
	Januar 1913	50	—	< 50	(50)	—	500	—
„ Bogense	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	< 50	500	250	500
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	< 50	—	250	500
	Januar 1913	< 50	—	< 50	< 50	—	500	—
„ Brabrand	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	< 50	50	100	< 50
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	50	50	100	< 50
	Januar 1913	< 50	—	< 50	50 (100)	—	1000	—
„ Frau V.	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	< 50	500	500	250
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	< 50	250	250	250
	Januar 1913	< 50	—	< 50	(50)	—	500	—

Immunserum		Helsingör (Gr. I)	175 (Gr. I)	Frederiks- havn (Gr. II)	117 (Gr. VII)	394 (Gr. III)	Aarhus (Gr. III)	Bogense (Gr. III)
Gruppe III Stamm B. 1	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	< 50	500	250	250
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	< 50	500	250	250
	Januar 1913	< 50	—	< 50	< 50	—	500	—
" 132	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	< 50	500	100	100
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	< 50	500	500	500
	Januar 1913	< 50	—	< 50	< 50	—	500	—
" Rg. 2	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	100	1000	500	500
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	< 50	500	100	250
	Januar 1913	50 (100)	—	< 50	< 50	—	500 (1000)	—
" Rg. II	Herbst 1911	50	< 50	50	100	1000	500	500
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	< 50	500	100	250
	Januar 1913	< 50	—	< 50	50	—	1000	—
" Svendborg IV	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	50	50	< 50	50
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	< 50	500	100	500
	Januar 1913	< 50	—	< 50	< 50	—	500 (1000)	—
" 222	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	50	100	< 50	< 50
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	50	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	50	—	< 50	< 50	—	250 (500)	—
" Rg. 13	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	50	50	< 50	50
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	< 50	500	250	500
	Januar 1913	< 50	—	< 50	< 50	—	500	—
" 359	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	250	1000	500	500
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	50	500	250	500
	Januar 1913	< 50	—	< 50	< 50	—	500 (1000)	—
" 360	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	100	1000	500	500
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	100	250	250	500
	Januar 1913	(50)	—	< 50	(50)	—	500	—
" 394	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	100	1000	250	250
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	100	5000	1000	1000
	Januar 1913	< 50	—	< 50	50 (100)	—	500 (1000)	—
" 721	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	250	1000	1000	1000
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	< 50	500	500	500
	Januar 1913	< 50	—	< 50	(50)	—	500	—
" 825	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	< 50	1000	500	500
	Januar 1913	50	—	< 50	< 50	—	250 (500)	—
" 899	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	< 50	5000	1000	500
	Januar 1913	< 50	—	< 50	50	—	500 (1000)	—
Gruppe IV Stamm 725	Herbst 1911	500	1000	250	< 50	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	500	500	2500	< 50	< 50	—	< 50
	Januar 1913	250	—	250	< 50	—	(50)	—
Gruppe V Stamm Diakonisse	Herbst 1911	500	1000	100	< 50	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	250	1000	100	100	50	< 50	50
	Januar 1913	250	—	100 (250)	100	—	(50)	—
Gruppe VII Stamm 117	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	1000	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	1000	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	< 50	—	< 50	2500 (5000)	—	< 50	—
" 148	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	1000	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	1000	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	< 50	—	< 50	5000	—	< 50	—

Immunserum		Helsingör (Gr. I)	175 (Gr. I)	Frederiks- havn (Gr. II)	117 (Gr. VII)	394 (Gr. III)	Aarhus (Gr. III)	Bogense (Gr. III)
Gruppe VII Stamm 208	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	500	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	1000	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	< 50	—	< 50	2500	—	< 50	—
„ 219	Herbst 1911	< 50	< 50	< 50	500	< 50	< 50	< 50
	Juni 1912	< 50	< 50	< 50	1000	< 50	< 50	< 50
	Januar 1913	< 50	—	< 50	2500 (5000)	—	< 50	—

waren, sind die beiden Stämme „Svendborg IV“ und „Rg. 13“ agglutinabel geworden; „Brabrand“ und „222“ werden aber erst im Januar 1913 agglutiniert. Es geht aus dem Schema nicht hervor, daß ein Teil der Stämme innerhalb der Gruppe III, die vorher agglutiniert worden waren, bei der Agglutinationsprüfung im Januar 1913 ihre Agglutinabilität eingebüßt hatten. Bei besonderen Züchtungsmethoden gelang es mir nämlich schnell, die Stämme wieder agglutinabel zu machen, worüber noch später, ebenso über die besonderen kulturellen Verhältnisse der inagglutinablen Stämme, Bericht erstattet werden soll.

Was zweitens kleinere Schwankungen in der Agglutinabilität der Stämme anlangt, so findet man, daß sich innerhalb jeder Gruppe Stämme vorfinden, welche bei jeder Untersuchung in den verschiedenen Sera etwas ungleich agglutiniert werden.

Sieht man davon ab, daß zu Zeiten eine Inagglutinabilität beobachtet werden kann, so ist die Schwankung im Agglutinationsvermögen demjenigen Serum gegenüber am schwächsten, welches als das für den Stamm homologe betrachtet wird, wenn auch bisweilen ziemlich große Schwankungen vorhanden sein mögen, die ebenso häufig in der Richtung einer über die Titergrenze hinaus reichenden Agglutination wie den entgegengesetzten Weg gehen können. In der Gruppe I hat z. B. „Svendborg I“ in dem homologen Serum „Helsingör“ die Titer 2500, 50000 und 10000 (25000); ähnliche Variationen finden sich für die Stämme 175 und 453. In dem homologen Serum der Gruppe II „Frederikshavn“ werden ähnliche Variationen für den Stamm 435, weniger für die anderen Stämme vorgefunden. In der Gruppe III sind die Schwankungen in den homologen Sera 394, „Aarhus“ und „Bogense“ nicht besonders ausgesprochen.

Die Schwankungen der heterologen Sera sind für die Bacillen sämtlicher Gruppen sehr groß. Dies gilt besonders von der Agglutination mit dem Serum 117. Viele Stämme werden von diesem bald ziemlich stark, bald sehr schwach, bald überhaupt nicht agglutiniert. Ein etwas ähnliches Verhältnis, wenn auch weniger ausgesprochen, findet sich bei anderen heterologen Sera.

Ein sehr deutlicher Unterschied wird zwischen den Stämmen der Gruppe III und den anderen Stämmen beobachtet. Nur eine äußerst schwache und inkonstante Agglutination wird bei den der Gruppe entsprechenden Seris („394“, „Aarhus“ und „Bogense“) von den heterologen Stämmen erreicht; und auch mit den Seris der übrigen Gruppen zeigen die Stämme der Gruppe III ein ähnliches schwaches Agglutinationsvermögen.

Auch die Gruppe VII ist eine wohlabgegrenzte Gruppe; obgleich das homologe Serum „117“ oftmals die Stämme anderer Gruppen etwas

agglutiniert, werden die 4 Stämme in keinem anderen Serum agglutiniert.

Der Unterschied zwischen Gruppe I und II ist dagegen nicht besonders ausgesprochen, ist aber bei Agglutination der Stämme zu verschiedenen Zeiten immer konstant.

Was die 3 Stämme: „Diakonisse“, „725“ und „B. 179“ betrifft, die ich in 3 selbständigen Gruppen aufgeführt habe, so scheint mir die Möglichkeit vorzuliegen, daß sie in der Tat in die Gruppe I oder II gehören, daß es mir aber nur nicht gelungen ist, diese Stämme zu beobachten, als sie ihr volles Agglutinationsvermögen besaßen oder erreichten.

Die Stämme „B. 168“ und „1308a“ weichen entschieden voneinander sowie von den anderen Gruppen ab.

Ueber die Bedeutung der in der Agglutinabilität beobachteten Schwankungen läßt sich nur schwer ein sicheres Urteil bilden. Bei der Untersuchung anderer Bakterienkulturen (Typhus- und Coli-Bacillen) hat es sich herausgestellt (Madsen und Jörgensen), daß z. B. in zwei gleichzeitig und auf ganz gleiche Weise angelegten Kulturen desselben Bakterienstammes eine etwas verschiedene Agglutinabilität für die beiden Kulturen vorkommen kann, ohne daß sich dies irgendwie berechnen läßt; in Uebereinstimmung hiernit hat man bei Messungen der in dem Serum enthaltenen Agglutinmenge stets dieselbe Kultur angewandt (nach 24stündigem Wachstum entweder durch Kochen oder durch Formalinzusatz abgetötet). Bei meinen Versuchen, wo ich eine Feststellung der Schwankungen in der Agglutinabilität erstrebt habe, und wo demnach notwendigerweise verschiedene Kulturen angewandt werden mußten, wäre es also möglich, daß jedenfalls ein Teil der Variationen nur scheinbar und von der besprochenen technischen Unsicherheit bedingt gewesen ist. Aus der Tabelle III ergibt sich indessen, daß (abgesehen von der Inagglutinabilität) die Agglutination in den (mutmaßlich) homologen Sera stets sehr beträchtlich und nur minimalen Schwankungen ausgesetzt war, während im Gegensatz hierzu eine weit mehr schwankende Agglutinabilität in den heterologen Sera beobachtet wurde. Es ist daher zu vermuten, daß die von technischer Unsicherheit bedingten Fehler verhältnismäßig klein gewesen sind, und daß die Schwankungen in der Agglutinabilität tatsächlich im wesentlichen von reeller Bedeutung sein müssen.

Ich werde später auf einige Beobachtungen über die Wachstumsweise der Bakterien zurückkommen, die — meiner Ansicht nach — mit diesen Schwankungen in Verbindung zu stehen scheint.

Wie es sich auch verhalten mag, aus der vorgenommenen Untersuchung läßt sich jedenfalls hinsichtlich der Berechtigung einer auf die Agglutination basierten Einteilung der Bakterien in 9 Gruppen folgendes Resultat herleiten:

1) daß eine Einteilung in mehrere Gruppen auf Grundlage der in der einzelnen Gruppe vorhandenen Schwankungen im Agglutinationsvermögen der Stämme nicht berechtigt ist, weil derselbe Stamm zu verschiedenen Zeiten dieselbe Variation aufweisen kann, und

2) daß man — abgesehen von den zweifelhaften Stämmen „Diakonisse“, „725“ und „B. 179“ und zum Teil „1013“ — die Stämme der einzelnen Gruppen als verschieden von denjenigen der anderen Gruppen betrachten muß.

Es steht also nach dem Ausfall der Agglutination nichts im Wege, die in denselben Gruppen aufgeführten Stämme als gleich anzusehen. Inwieweit diese Auffassung übrigens berechtigt ist, wird aus dem Folgenden hervorgehen.

Kulturelle Eigentümlichkeiten der isolierten Bacillen auf zuckerhaltigen Nährsubstraten.

Wenn man das Vergärungsergebnis in Maltose- und Saccharosebouillon (s. Tabelle I) mit der auf die Agglutinationsverhältnisse basierten Gruppierung (s. Tabelle II) vergleicht, wird man sich sehr leicht davon überzeugen können, daß die Unterschiede im Gärungsvermögen keineswegs der aufgestellten Gruppierung entsprechen.

Wie alle früheren Verfasser (Shiga, Kruse, Lentz, Amako, Ohno u. a.) habe auch ich für die meisten der in der Tabelle I aufgeführten Vergärungen Zuckernährböden angewandt, welche durch wiederholtes Erhitzen (2—3mal ca. 10 Minuten in strömendem Wasserdampf) sterilisiert wurden. Es liegt aber die Möglichkeit vor, daß einzelne Zuckerarten, unter denen besonders eben Maltose und Saccharose, hierdurch destruiert werden können, und zwar so, daß eine Glukosevergärung stattfindet. Da Glukosesubstrate bekanntlich mit allen Dysenteriebacillen Säurebildung hervorrufen, so habe ich in den folgenden Versuchen nur diejenigen Nährmedien angewandt, die mittels Filtrierung durch das Chamberland-Filter sterilisiert und die nachher durch Aufbewahrung im Thermostaten bei 37° (48 Stunden) auf Sterilität geprüft worden waren.

Ich habe eine 1-proz. Zuckerlösung in 1-proz. Fleischextraktpepton- (1-proz.)-bouillon mit einem Zusatz von 6-proz. Lackmuslösung verwandt. Der Ablauf der Vergärung ist in der Regel 3 Wochen lang beobachtet worden, während welcher Zeit die Nährböden bei 37° gehalten wurden.

Um in den Vergärungsverhältnissen des einzelnen Stammes Variationen beobachten zu können, wurde die Vergärungsuntersuchung auf gleiche Weise wie die Agglutinationsuntersuchung an vielen Stämmen mit gewissen Intervallen wiederholt. Außer Maltose und Saccharose ist die Petruschkysche Lackmusmolke, Rhamnose und Dextrin benutzt worden. Ich habe Lackmusmolke mitverwandt, weil mehrere Verfasser (Flexner, Schroeter und Gutjahr u. a.) angeben, daß Dysenteriebacillen hierin eine charakteristische Vergärung hervorrufen, und Rhamnose, weil die Vergärung derselben bei einer vorläufigen Prüfung, die an verschiedenen Zuckerarten und ähnlichen Verbindungen vorgenommen wurde, einigermaßen konstante Verhältnisse aufwies; die anderen geprüften Stoffe waren Arabinose, Adonit, Erytrit und Glycerin; bei der Vergärung dieser Stoffe wurden keine besonderen Eigentümlichkeiten beobachtet. Obgleich zwar der Dextrinvergärung meist geringer Wert beigemessen wird, da das Handelspräparat oft nicht rein ist, so habe ich doch auch dieses mitbenutzt, und zwar deshalb, weil Hiss und Russel es zur Unterscheidung der sogenannten „Y“-Bacillen von den Bacillen des „Flexner“-schen Typus anwandten.

Insbesondere haben englische Verfasser (Morgan, Tebbutt u. a.) zwischen den Sorbit vergärenden und nicht Sorbit vergärenden Dysenteriebacillen unterscheiden wollen. Leider ist es mir nicht möglich gewesen, dieses Präparat zu erhalten.

Bei der ersten Untersuchung, die möglichst gleich nach der Isolierung der Stämme vorgenommen wurde, ist der Verlauf der Vergärung nicht so lange wie bei den späteren Untersuchungen der Stämme beobachtet worden, da erst später eine längere Beobachtungszeit zweckentsprechend gefunden wurde, wie aus der Tabelle IV hervorgeht.

Tabelle IV.
Das zu verschiedenen Zeiten vorgefundene Gärungsvermögen der Bacillen in verschiedenen Zuckernährböden.

Bacillenstamm	Untersucht	Lackmuskolke	Maltose	Saccharose	Rhamnose	Dextrin
Gruppe I. Helsingör	Herbst 1911	(S) ¹	S ¹	O ¹ -14	O ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -4O ⁶ -20	O ¹ -20	O ¹ -4S ⁶ -20	O ¹ -10(S) ¹¹ -12S ¹³ -21	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O ¹ -5(S) ⁶ -21	O ¹ -2S ³ -21	—	O ¹ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	O ¹ -2S ³ -10
Svendborg I	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ -2S ³	O ¹ -14	O ¹ S ² -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -2(S) ³ -4O ⁶ -20	O ¹ S ² RS ³ -20	O ¹ -2RS ³ -6R ⁹ -20	O ¹ S ² -4R ⁵ -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O ¹ -11R ¹² -21	O ¹ -2RS ³ -11R ¹² -21	O ¹ S ³ -16R ¹⁶ -21	O ¹ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	O ¹ -10
Svendborg III	Herbst 1911	(S) ¹	S ¹ -14	O ¹ -14	S ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -3O ⁴ -20	O ¹ -8R ⁹ -10R ¹¹ -20	O ¹ -9RS ¹⁰ -21	O ¹ S ² -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O ¹ -21	O ¹ -2RS ³ -21	O ¹ -2S ³ -21	O ¹ -10
	Juni 1913	(S) ¹	O ¹ -14	O ¹ -14	O ¹ S ² -14	—
R	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ -14	O ¹ -14	O ¹ S ² -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -3O ⁴ -20	O ¹ -10S ¹¹ -20	O ¹ -10RS ¹¹ -20	O ¹ S ² -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O ¹ S ² -21	O ¹ -2RS ³ -21	O ¹ S ² -21	O ¹ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	O ¹ -10
175	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ -4	O ¹ -14	O ¹ -4	—
	Juni 1912	(S) ¹ -5(S) ⁶ -20	O ¹ -9S ¹⁰ -20	O ¹ -3RS ⁴ -20	O ¹ S ² -14	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2(S) ³ -11O ¹² -21	O ¹ -11RS ¹² -21	O ¹ -3RS ⁴ -21	O ¹ (S) ⁷ S ³ -21	O ¹ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	O ¹ -3RS ⁴ -10
453	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ -14	O ¹ -14	O ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -2(S) ³ -4O ⁶ -20	O ¹ S ² -20	O ¹ -2S ³ -6RS ⁹ -20	O ¹ -14	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O ¹ -9S ¹⁰ -21	O ¹ S ² -21	O ¹ -20	O ¹ -10
	Juni 1913	—	—	—	O ¹ -19S ²⁰ -21	O ¹ -10
Rg. 133	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ -21	O ¹ S ² -10R ¹¹ -21	O ¹ (S) ⁷ S ³ -21	O ¹ -10
	Juni 1912	(S) ¹ -2O ³ -21	O ¹ -21	O ¹ S ² -13R ¹⁴ -21	O ¹ (S) ⁷ S ³ -21	O ¹ -10
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O ¹ -7RS ⁸ -21	O ¹ S ² -11R ¹² -21	O ¹ -21	O ¹ -10
	Juni 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O ¹ -6RS ⁷ -21	O ¹ S ² -4RS ⁵ -21	O ¹ (S) ⁷ S ³ -21	O ¹ -10
1078	Januar 1913	(S) ¹ O ² -21	O ¹ -21	O ¹ -2S ³ -4R ⁵ -21	O ¹ -21	O ¹ -10
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O ¹ -8RS ⁹ -21	O ¹ S ² -3RS ⁴ -21	O ¹ (S) ⁷ S ³ -21	O ¹ -10
	Januar 1913	—	—	—	—	—
	Januar 1913	—	—	—	—	—
Rg. 215	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ -4	O ¹ -14	O ¹ -4	—
	Juni 1912	(S) ¹ -5(S) ⁶ -20	O ¹ -9S ¹⁰ -20	O ¹ -3RS ⁴ -20	O ¹ S ² -14	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2(S) ³ -11O ¹² -21	O ¹ -11RS ¹² -21	O ¹ -3RS ⁴ -21	O ¹ (S) ⁷ S ³ -21	O ¹ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	O ¹ -10

Bacillensamm	Untersucht	Lackmusmilke	Maltose	Saccharose	Rhamnose	Dextrin
1100	Januar 1913	(S) ¹ O ² -21	O1-10RS11-21	O1S ² -6RS7-21	O ¹ (S) ² S ³ -21	O1-10
B. 236	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O1-8RS9-21	O1-2S ³ -4RS5-21	O ¹ (S) ² S ³ -21	O1-10
Rg. 245	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O1-21	O1-2S ³ -6RS6-21	O ¹ (S) ² S ³ -21	O1-10
1302	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O1-21	O1-2S ³ -4RS5-21	O1-2S ³ -11RS12-21	O1-10
42	Febr. 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O1-3(S) ⁴ S ⁵ -21	O1-3(S) ⁴ -11R12-21	—	O1-2RS ³ R4-10
65	März 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O1-21	O1-2(S) ³ S ⁴ -21	—	O1-10
82	März 1913	(S) ¹ -3O ⁴	O1-4	O1-4	—	O1-4
Gruppe II.	Herbst 1911	(S) ¹	O1-14	O1-14	O1-6S7-14	—
Frederikshavn	Juni 1912	(S) ¹ -6O ⁷ -20	O1-14S ¹⁵ -20	O1-20	O1-20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O1-21	O1-21	O1-21	O1-10
	Juni 1913	—	—	—	—	O1-10
131	Herbst 1911	(S) ¹	O1-14	O1-14	O1-14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -6O ⁷ -20	S1-20	O1-20	O1-13S14-21	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	S ¹ S ² -21	O1-21	O1-21	(S) ¹ -5O ⁶ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ -5O ⁶ -10
Svendborg II	Herbst 1911	(S) ¹	O1-14	O1-14	O1-14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -7O ⁸ -20	O1-6S7-20	O1-20	O1-6S7-21	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O1-13S14-21	O1-21	O1-21	O1-10
	Juni 1913	—	—	—	—	O1-10
Nysted	Herbst 1911	(S) ¹	S1-14	O1-14	O1-4S5-14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -3O ⁴ -20	S1-20	O1-20	O1-12(RS)13-20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	S1-21	O1-21	O1-21	S1-3(RS) ⁴ -5((R))6-10
	Juni 1913	—	—	—	—	S ¹ -5RS6-10
323	Herbst 1911	(S) ¹	O1-14	O1-14	O1-5S6-14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -4O ⁵ -21	O1-3S4-20	O1-20	O1-12RS13-20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O1-7S8-21	O1-21	O1-21	O1-10
	Juni 1913	—	—	—	—	O1-10
435	Herbst 1911	(S) ¹	O1-14	O1-14	O1-14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -6O ⁷ -20	O1-3S4-20	O1-20	O1-10S11-20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -21	O1-11S12-21	O1-21	O1-4S5-21	O1-3(RS) ⁴ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ (RS) ² -3S4-10

Bacillenstamm	Untersucht	Lackmuskmolke	Maltose	Saccharose	Rhamnose	Dextrin
731 ¹⁾	Herbst 1911	(S) ¹⁾	S ₁₋₁₄	—	O _{1-6S7-14}	—
963 ¹⁾	Juni 1912	(S) _{1-2O3-14}	O _{1-3S4-14}	O ¹	O ¹	—
965 ¹⁾	Juni 1912	(S) _{1-2O3-14}	O _{1-11R12-14}	O ¹	O ¹	—
1013	Januar 1913	(S) _{1-2O3-21}	O _{1-8RS9-21}	O ₁₋₂₁	O _{1-2S3-21}	O ₁₋₁₀
Rg. 216	Januar 1913	(S) ^{1)O2-21}	O _{1-11S12-21}	O ₁₋₂₁	O _{1-3S4-21}	O _{1-2RS9-10}
Rg. 222	Januar 1913	(S) _{1-2O3-21}	O _{1S2-21}	O ₁₋₂₁	O _{1-4S5-21}	O _{1-3(S)4-10}
Gruppe III. Aarhus	Herbst 1911	(S) ¹⁾	S ₁₋₁₄	O ₁₋₁₄	S ₁₋₁₄	—
	Juni 1912	(S) _{1-3(S)4O5S6-20}	S ₁₋₂₀	O _{1-2S3-20}	S ₁₋₂₀	—
	Januar 1913	(S) _{1-2O3-8S9-21}	S ₁₋₂₁	O _{1-5S6-17RS18-21}	S ₁₋₂₁	(S) _{1-2O3-10}
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) _{1-4(R)5-7O8-10}
Bogense	Herbst 1911	(S) ¹⁾	S ₁₋₁₄	O _{1-3S4-14}	S ₁₋₁₄	—
	Juni 1912	(S) _{1-3O4-6S7-20}	S ₁₋₂₀	O _{1-3RS3-21}	S ₁₋₂₀	—
	Januar 1913	(S) _{1-2O3-5S6-21}	S ₁₋₂₁	O _{1-5RS6-21}	S ₁₋₂₁	S _{1-3RS3-10}
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) _{1)RS2-7S8-10}
Brabrand	Herbst 1911	(S) ¹⁾	S ₁₋₁₄	O ₁₋₁₄	S ₁₋₁₄	—
	Juni 1912	(S) _{1-4O5-12S13-20}	S ₁₋₂₀	O _{1-4R6-20}	S ₁₋₂₀	—
	Januar 1913	(S) _{1-2O3-8S9-21}	S ₁₋₂₁	O _{1-5RS6-21}	S ₁₋₂₁	(S) _{1-2O3-10}
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) _{1-3S4-8R9-10}
Frau V	Herbst 1911	(S) ¹⁾	S ₁₋₁₄	O ₁₋₁₄	S ₁₋₁₄	—
	Juni 1912	(S) _{1-3O4-8S9-20}	S ₁₋₂₀	O _{1-2R3-20}	S ₁₋₂₀	—
	Januar 1913	(S) _{1-2O3-7S8-21}	S ₁₋₂₁	O _{1-5RS6-21}	S ₁₋₂₁	(S) _{1-2O3-10}
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) _{1-2O3-10}
B. 1	Herbst 1911	(S) ¹⁾	S ₁₋₁₄	O ₁₋₁₄	S ₁₋₁₄	—
	Juni 1912	(S) _{1-6O7-12S13-20}	S ₁₋₂₀	O _{1-5R6-20}	S ₁₋₂₀	—
	Januar 1913	(S) _{1-2O3-9S10-21}	S ₁₋₂₁	O _{1-6R7-21}	S ₁₋₂₁	(S) _{1-3O4-10}
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) _{1)O2-10}
132	Herbst 1911	(S) ¹⁾	S ₁₋₁₄	S ₁₋₁₄	S ₁₋₁₄	—
	Juni 1912	(S) _{1-3O4-6S7-20}	S ₁₋₂₀	O _{1-5R6-20}	S ₁₋₂₀	—
	Januar 1913	(S) _{1-2O3-7S8-21}	S ₁₋₂₁	O _{1-9S10-21}	S ₁₋₂₁	(S) _{1-2S3-10}
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) _{1-2S3-10}

1) Vor der 2. Prüfung abgestorben; bei der 1. Prüfung nur unvollständig beobachtet.

Bacillenstamm	Untersucht	Lackmusmilch	Maltose	Saccharose	Rhamnose	Dextrin
Rg. 2	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ -3S ⁴ -14	O ¹ -14	S ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹	S ¹ -20	O ¹ -4R ⁵ -20	S ¹ -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -6S ⁷ -21	S ¹ -21	O ¹ -3RS ⁴ -21	S ¹ -21	S ¹ -2O ³ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ O ² -10
Rg. 11	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ S ² -14	O ¹ -14	S ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹	S ¹ -20	O ¹ -6R ⁶ -20	S ¹ -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -6S ⁷ -21	S ¹ -21	O ¹ -3RS ⁴ -21	S ¹ -21	(S) ¹ -2(RS) ³ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ -5O ⁶ -10
Svendborg IV	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ -3S ⁴ -14	O ¹ -14	S ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -4O ⁵ -8S ⁹ -20	S ¹ -20	O ¹ -4S ⁵ -20	S ¹ -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -7S ⁸ -21	S ¹ -21	O ¹ -6S ⁷ -21	S ¹ -21	(S) ¹ -2O ³ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ O ² -10
2:22	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ -4S ⁵ -14	O ¹ -14	S ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -3O ⁴ -8S ⁹ -20	S ¹ -20	O ¹ -5RS ⁶ -21	S ¹ -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -3O ⁴ -5S ⁶ -21	S ¹ -21	O ¹ -5RS ⁶ -21	S ¹ -21	(S) ¹ -2RS ³ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ -2FS ³ -10
Rg. 13	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ S ² -14	O ¹ -3S ⁴ -14	S ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -3O ⁴ -10S ¹¹ -20	S ¹ -20	O ¹ -7RS ⁸ -20	S ¹ -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -9S ¹⁰ -21	S ¹ -21	O ¹ S ² -20	S ¹ -21	(S) ¹ -3(RS) ⁴ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ -5O ⁶ -10
359	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ S ² -14	O ¹ -14	S ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -4(O ⁵ -12S ¹³ -20	S ¹ -20	O ¹ -2RS ³ -20	S ¹ -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -6S ⁷ -21	S ¹ -21	O ¹ -6RS ⁷ -21	S ¹ -21	(S) ¹ -2O ³ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ O ² -10
360	Herbst 1911	(S) ¹	S ¹ -14	O ¹ -14	S ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -3O ⁴ -8S ⁹ -20	S ¹ -20	O ¹ -5R ⁶ -20	S ¹ -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -5S ⁶ -21	S ¹ -21	O ¹ -4R ⁵ -21	S ¹ -21	(S) ¹ O ² -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ O ² R ³ -10
394	Herbst 1911	(S) ¹	O ¹ S ² -14	O ¹ -14	S ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -6O ⁷ -12S ¹³ -20	S ¹ -20	O ¹ -6RS ⁶ -20	S ¹ -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ O ² S ³ -21	S ¹ -21	O ¹ -6S ⁷ -21	S ¹ -21	(S) ¹ O ² -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ O ² -5S ⁶ -10
721	Herbst 1911	(S) ¹	S ¹ -14	O ¹ -6S ⁷ -14	S ¹ -14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -3O ⁴ -12S ¹³ -20	S ¹ -20	O ¹ -6RS ⁷ -20	S ¹ -20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O ³ -5S ⁶ -21	S ¹ -21	O ¹ -6S ⁶ -21	S ¹ -21	(S) ¹ -2S ³ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ -5(RS) ⁷ -10

Bacillenstamm	Untersucht	Lackmuskmolke	Maltose	Saccharose	Rhamnose	Dextrin
76S ¹⁾	Herbst 1911	(S) ¹	S ₁ -14	—	S ₁ -14	—
825	Juni 1912	(S) ₁ -3O ₄ -10S ₁₁ -20	S ₁ -20	O ₁ -4RS-20	S ₁ -20	—
	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -7S ₈ -21	S ₁ -21	O ₁ -6RS7-21	S ₁ -21	(S) ₁ -2(O ₃) ₁₀
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ₁ -2(O ₂) ₁₀
899	Juni 1912	(S) ₁ -6O ₇ -10S ₁₁ -20	S ₁ -20	O ₁ -4RS-20	S ₁ -20	—
	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -5S ₆ -21	S ₁ -21	O ₁ -5RS ₆ -21	S ₁ -21	(S) ₁ -2S ₃ -10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ₁ -2S ₄ -10
960	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -6S ₇ -21	S ₁ -21	O ₁ -6RS7-21	S ₁ -21	(S) ₁ -3(O ₄) ₁₀
B. 20	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -7S ₈ -21	S ₁ -21	O ₁ -8R ₉ -15RS ₁₆ -21	S ₁ -21	(S) ₁ -2((S)) ₃ 6R7-10
B. 82	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -5S ₆ -21	S ₁ -21	O ₁ -4RS ₅ -21	S ₁ -21	(S) ₁ -2(O ₃) ₁₀
T. 85	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -6S ₇ -21	S ₁ -21	O ₁ -6RS7-21	S ₁ -21	(S) ₁ -2((S)) ₃ -10
B. 92	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -9S ₁₀ -21	S ₁ -21	O ₁ -6RS7-21	S ₁ -21	(S) ₁ -2((S)) ₃ -10
Rg. 105	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -6S ₇ -21	S ₁ -21	O ₁ -4RS ₅ -21	S ₁ -21	(S) ₁ -2((S)) ₃ -10
B. 108	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -6S ₇ -21	S ₁ -21	O ₁ -4RS ₅ -21	S ₁ -21	((S)) ₁ -10
994	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -7S ₈ -21	S ₁ -21	O ₁ -7RS-17RS ₁₈ -21	S ₁ -21	((S)) ₁ -10
P. 131	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -5S ₆ -21	S ₁ -21	O ₁ 4S ₅ -21	S ₁ -21	(S) ₁ -2((S)) ₃ 4(S) ₅ -10
1020	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -9S ₁₀ -21	S ₁ -21	O ₁ -9S ₁₀ -21	S ₁ -21	((S)) ₁ -10
1030	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -9S ₁₀ -21	S ₁ -21	O ₁ -7RS ₈ -21	S ₁ -21	(S) ₁ -2(O ₃) ₁₀
P. 180	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -4S ₅ -21	S ₁ -21	O ₁ -4RS ₅ -21	S ₁ -21	(S) ₁ -2RS ₃ 6(R) ₆ -10
Rg. 185	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -4S ₅ -21	S ₁ -21	O ₁ -6RS7-21	S ₁ -21	(S) ₁ -2(O ₃) ₁₀
Rg. 201	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -9S ₁₀ -21	S ₁ -21	O ₁ -4RS ₅ -21	S ₁ -21	(S) ₁ -3((RS)) ₁ 10
1093	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -5S ₆ -21	S ₁ -21	O ₁ -5RS ₆ -21	S ₁ -21	(S) ₁ -2(O ₃) ₁₀
1110	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -6S ₇ -21	S ₁ -21	O ₁ -6RS7-21	S ₁ -21	((S)) ₁ -10
1133	Januar 1913	(S) ₁ -2O ₃ -9S ₁₀ -21	S ₁ -21	O ₁ 6R7-13RS ₁₄ -21	S ₁ -21	((S)) ₁ -4(O ₅) ₁₀
1320	Januar 1913	(S) ₁ -2R ₃ -4RS ₅ -21	S ₁ -21	RS ₃ -4RS ₅ -21	S ₁ -21	S ₁ -2RS ₃ -10

1) Vor der 2. Prüfung abgestorben; bei der 1. Prüfung nur unvollständig beobachtet.

Bacillenstamm	Untersucht	Lackmuskmolke	Maltose	Saccharose	Rhamnose	Dextrin
Gruppe IV 725	Herbst 1911	(S) ¹	O1-14	O1-14	O1-6S7-14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -4O5-20	O1-13S14-21	O1-20	O1S2-14	—
	Januar 1913	(S) ¹ -2O3-21	O1-19S20-21	O1-21	O1-2S3-21	O1-10
Gruppe V Diakonisse	Herbst 1911	(S) ¹	O1-5S6-14	O1-5R6-14	O1-14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -3O6-20	S1-20	O1-2S3-4R5-20	O1-20	—
	Januar 1913	(S) ¹ -3O4-21	S1-21	O1-2S1-14(R)15-21	—	(S) ¹ -8(R) ⁹ -10
Gruppe VI B. 179	Januar 1913	(S) ¹ -2O3-21	O1-4S5-21	O1-21	O1-21	O1-2RS3-10
Gruppe VII 117	Herbst 1911	(S) ¹	S1-14	O1-3RS4-14	S1-14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -2O3-6S7-21	S1-20	O1-2S3-20	S1-14	—
	Januar 1913	(S) ¹ O ² A ³ -4O5-6S7-21	S1-21	O1-3S4-20	S1-20	(S) ¹ -4S5-10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ -5S6-10
	Herbst 1911	(S) ¹	S1-14	O1-4S5-14	O1-4S5-14	—
208	Juni 1912	(S) ¹ -3O4-5S6-20	S1-20	O1-3S4-20	S1-20	—
	Januar 1913	(S) ¹ O ² A ³ -5O6-7S8-21	S1-21	O1-2S3-21	S1-21	(S) ¹ S2-10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ S3-10
	Herbst 1911	(S) ¹	S1-14	O1-4S5-14	O1-4S5-14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -3O4-7S8-20	S1-20	O1-3S4-20	O1-3S4-20	—
219	Januar 1913	(S) ¹ O ² A ³ -4O5-7S8-21	S1-21	O1-3S4-11	S1-21	(S) ¹ S2-10
	Juni 1913	—	—	—	—	(S) ¹ S2-10
	Herbst 1911	(S) ¹	S1-14	O1-3SR4-14	O1-3SR4-14	—
	Juni 1912	(S) ¹ -2O3-4S5-20	S1-20	O1-4S5-20	O1-4S5-20	—
	Januar 1913	(S) ¹ O ² A ³ -4O5-6-21	S1-21	O1-3S4-21	O1-3S4-21	(S) ¹ -2S3-10
Gruppe VIII ¹ B. 168	Januar 1913	(S) ¹ O ² -21	O1-6R7-21	S1-21	S1-21	O1-10
Gruppe IX 1308a	Januar 1913	(A) ¹ S2-21	O1S2-7(R)S8-9(R)10-21	S1-9(R)10-21	—	((S) ¹) ¹ -10

O bedeutet keine Veränderung der Farbe des Nährbodens, S = starke Rotfärbung (Säurebildung), (S) = schwächere Rotfärbung und ((S)) = ganz schwache, sich dem O nähernde Rotfärbung. — R(R) und (R) bedeuten ähnliche Variationen in der Reduktion des Farbstoffes, A = eine stärkere Blaufärbung (s. = Alkalibildung) als O. Vielleicht sollte an mehreren Stellen eher (A) als O angegeben sein; es läßt sich aber der Unterschied so schwierig feststellen, daß ich es bevorzugt habe, die Einteilung nicht so minutiös zu machen, und mich damit begnüge, die Bezeichnung A nur in Fällen, wo typische Alkalibildung vorhanden ist, anzuwenden. Die dem Buchstaben beigefügte Ziffer gibt denjenigen Tag an, an welchem eine Aenderung im Aussehen des Substrates eingetreten ist. Wo 2 Ziffern angegeben sind, wie z. B. O¹⁻¹⁴ bedeutet dies, daß die Beobachtungszeit 14 Tage beträgt, während welcher die Reaktion unverändert O gewesen ist. Eine Beobachtung z. B., die auf folgende Weise wiedergegeben ist: O¹⁻⁵S⁶⁻²¹, bedeutet also: keine Veränderung der Farbe des Nährbodens in den ersten 5 Tagen, danach Rotfärbung, die sich bis zum Aufhören der Beobachtung am 21. Tage unverändert gehalten hat.

Lackmusmolke.

Der Verlauf der Vergärung in Lackmusmolke gibt ohne Zweifel einen wohlcharakterisierten Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen. Ein für alle Stämme gemeinsamer Zug — 1308a ausgenommen — ist der, daß schon nach 24 Stunden eine mäßig starke Säurebildung eintritt, die sich in 1—2 bis 7 × 24 Stunden halten kann, etwas schwankend je nach den verschiedenen Stämmen, und bei dem einzelnen Stamm je nach den verschiedenen Zeiten; hierauf folgt eine Rückkehr zur Ausgangsfarbe (O).

Bei fortgesetzter Beobachtung tritt der charakteristische Unterschied hervor.

Was die Bacillen der Gruppe I und II, sowie die alleinstehenden Stämme „Diakonisse“, 725, B. 179 und B. 168 betrifft, so hält sich die Farbe unverändert während der restierenden Beobachtungszeit; viele Stämme habe ich in der Lackmusmolke beobachtet, bis dieselbe im Reagensglase vollständig eingetrocknet war, und dabei nie einen Umschlag gesehen. Zwar wird die Farbe allmählich etwas blauer und nähert sich somit häufig (A); da aber diese Erscheinung hauptsächlich auf dem Eintrocknen beruht, und ich absichtlich nicht mit solchen kleinen Veränderungen rechnen wollte, so habe ich sie nicht aufgeführt.

Einen ganz anderen Verlauf der Reaktion findet man bei den Stämmen der Gruppe III und VII. Hier tritt konstant ein dritter Umschlag ein, indem die aufs neue erworbene Ausgangsfarbe nach einigen Tagen, meist in der 2. Woche, bisweilen aber auch schon am 5.—6.—7. Tage von einer starken Rotfärbung abgelöst wird, die danach bis zum Eintrocknen der Lackmusmolke ganz unverändert bleibt.

Was 1308a betrifft, so tritt im Laufe der ersten 24 Stunden eine schwache Alkalibildung ein, die schon während der nächsten 24 Stunden in eine Rotfärbung umschlägt, um sich danach immer unverändert zu halten.

Die Maltosevergärung.

In der Gruppe VII tritt konstant bei allen Stämmen Säurebildung in der Maltosebouillon nach Verlauf von 24 Stunden ein, ganz unabhängig von der Aufbewahrungszeit der Stämme auf künstlichem Nährboden.

Auch die Stämme der Gruppe III besitzen ganz entschieden das Vermögen, Maltose zu vergären, doch ist dasselbe nicht so konstant wie in der Gruppe VII, indem nämlich ein Teil der frisch isolierten Stämme erst nach einigen Tagen vergärt; ein einzelnes Mal erst nach Verlauf von 5 Tagen (Stamm 222). Allmählich tritt jedoch bei allen Stämmen

eine Vergärung ein, und zwar bei den etwas älteren Stämmen schon in den ersten 24 Stunden, um dann die ganze Beobachtungszeit hindurch ohne Umschlag zu bleiben.

Was die anderen Gruppen betrifft, so ist das Verhältnis ein etwas komplizierteres, weshalb sich hier ganz unmöglich eine Regel aufstellen läßt. Am häufigsten werden wohl die Bacillen in den ersten 24 Stunden nicht vergären, doch wird es ebenso gut vorkommen können, daß ein Stamm („Helsingör“) das erste Mal S¹, das zweite Mal O¹—¹⁴ und schließlich das dritte Mal O¹—⁵S⁶ zeigt, wie es geschehen mag, daß ein Stamm bei der ersten Untersuchung selbst nach 14 Tagen Maltose nicht angreift (Stamm 131), während er 1/2 Jahr später schon im Laufe von 24 Stunden Maltose vergärt. Ein einziger Stamm „Nysted“ weist immer Vergärung in 24 Stunden auf. In der Regel ist das Vergärungsvermögen Maltose gegenüber bei den frisch isolierten Stämmen am wenigsten ausgesprochen, doch ist auch dies zwar kein konstantes Phänomen.

Untersuchungen über die Schwankungen in dem Vermögen, Maltose zu vergären.

Wie oben erwähnt, habe ich ursprünglich gedacht, daß diese Schwankungen in der Tat nicht existierten, weil der Farbenumschlag auf eine durch wiederholte Dampfsterilisation der Maltoselösung bedingte Vergärung der Glukose beruhen könnte.

Wie aus der Tabelle IV deutlich hervorgeht — wo die Maltose keiner Erhitzung ausgesetzt gewesen, sondern lediglich mittels Filtration durch Chamberland-Filter sterilisiert worden ist — kann dies jedenfalls nicht die einzige Ursache sein; und es ist evident, daß der Umschlag tatsächlich von dem wechselnden Vermögen der Stämme, Maltose zu vergären, bedingt ist.

Bei den weiteren Versuchen, die ich anstellte, wurden dann auch ganz sonderbare Verhältnisse beobachtet.

Ich säte in einer Reihe von Maltosebouillongläsern, die auf verschiedene Weise im voraus behandelt waren, mehrere Stämme aus. Die Maltosebouillon war vom Anfang an in Reagensgläsern aus derselben filtrierten Portion abpipettiert. Einige der Gläser waren weiter im Dampf sterilisiert bei 100° (verschieden häufig 1—3mal; jedesmal 1/4 Stunde lang, mit einem Intervall von 24 Stunden). Man erhielt dann das folgende Resultat:

Tabelle V.

Datum 13. Dez. 1912	1) Nur filtriert	2) Filtriert + 1mal gekocht	3) Filtriert + 2mal gekocht	4) Filtriert + 3mal gekocht
„Helsingör“ Rg. 150	O ¹ — ²¹ O ¹ — ¹⁶ (R, ¹⁷ — ²¹)	O ¹ — ²¹ O ¹ — ¹³ R ¹⁴ — ²¹	O ¹ — ²¹ O ¹ — ⁴ S ⁵ — ²¹	O ¹ — ²¹ O ¹ — ⁷ RS ⁸ — ²¹
„Frederikshavn“	O ¹ — ²¹	O ¹ — ²¹	O ¹ — ²¹	O ¹ — ²¹
„Nysted“ Rg. 216	S ¹ — ²¹ O ¹ — ² S ³ — ²¹	S ¹ — ²¹ O ¹ — ⁹ RS ¹⁰ — ²¹	— O ¹ — ² S ³ — ²¹	— O ¹ — ⁹ RS ¹⁰ — ²¹
131	O ¹ S ² — ²¹	O ¹ S ² — ²¹	S ¹ — ²¹	S ¹ — ²¹

Es läßt sich nach diesem Versuch nicht beurteilen — es seien die Befunde des Stammes 131 ausgenommen — inwieweit die Dampfsterilisation die Vergärung und den Verlauf derselben auf irgendwelche Weise beeinflußt hat. Zwar wird bei einigen Stämmen ein verschiedener Ablauf der Reaktion in den verschiedenen Gläsern beobachtet, dies scheint aber entschieden durch andere Ursachen bedingt zu sein; besonders deutlich tritt dies an dem Stamm „Rg. 216“ hervor; hier kommt in dem Glas No. 1 und 3 eine starke Rotfärbung nach 3 × 24 Stunden, während die Gläser No. 2 und 4 nach 6 × 24 Stunden noch ganz unverändert sind, um dann erst eine blasse rote Farbe zu erhalten.

Daß in verschiedenen mit derselben Bouillonkultur gefüllten Gläsern, die gleichzeitig mit derselben Bacillenkultur geimpft waren, bald eine Vergärung der Maltose, bald keine eintreten kann, schien mir so bemerkenswert, daß ich dieses Phänomen einer genaueren Untersuchung unterwarf, und zwar besonders deshalb, weil eben die Maltosevergärung zur Differenzierung der verschiedenen Dysenteriestämme gewöhnlich angewandt wird.

Ich benutzte für diese Untersuchung den Stamm Rg. 216. Um den Versuch möglichst einwandfrei anzustellen, wurde der Stamm erst ad modum Burri reingezüchtet, und im folgenden ist nur diese Burri-Kultur angewandt worden. Auch wurde stets dieselbe durch Chamberland-Kerze filtrierte Maltosebouillon benutzt.

Ich erhielt dann folgende Resultate:

a) Die Burri-Kultur besitzt dieselben Eigenschaften wie die ursprüngliche Kultur.

Von derselben Bouillonkultur (bei Zimmertemperatur aufbewahrt) werden gleichzeitig je 6 Maltosebouillongläser besät. Die Aussaat wird in bestimmten Zeitabständen mehrfach wiederholt.

Tabelle VI.

Datum	1	2	3	4	5	6
14. Febr. 1913	O1-9S ¹⁰	O1-13S ¹⁴	O1-6S ⁷	O1-2S ³	O1-6S ⁷	O1-2S ³
15. „ 1913	O1-8S ⁹	O1-7S ⁸	O1-2S ³	O1-6S ⁷	O1-7S ⁸	O1-8S ⁹
16. „ 1913	O1-5S ⁶	O1-2S ³	O1-7S ⁸	O1-6S ⁷	O1-6S ⁷	O1-11S ¹³
17. „ 1913	O1-6S ⁷	O1-4S ⁵	O1-6S ⁷	O1-5S ⁶	O1-4S ⁵	O1-5S ⁶
20. „ 1913	O1-8S ⁹	O1-7S ⁸	O1-7S ⁸	O1-7S ⁸	O6-10S ¹¹	O1-10S ¹¹
24. „ 1913	O1-3S ⁴	O1-2S ³	O1-10S ¹¹	O1-2S ³	O1-2S ³	O1-8S ⁹

In einigen der Gläser tritt nach 3 × 24 Stunden Rotfärbung ein, während in anderen Gläsern etwa 14 Tage verlaufen können, ehe die Maltose angegriffen wird.

b) Beim Aussäen von Maltosebouillonkulturen mit und ohne Farbumschlag in neue Maltosebouillon werden im Laufe von den ersten 24 Stunden von den roten Kulturen nur rote Kulturen und von den blauen nur blaue erzeugt.

Die 6 Kulturen, die am 14. Febr. 1913 (Tabelle VI) angelegt wurden, geben am 3. Tage folgende Reaktion.

Glas No.	1	2	3	4	5	6
	O	O	O	S	O	S

Von jedem dieser Gläser werden 3 Gläser neu beschickt und nach 24 Stunden zeigen dieselben:

1	2	3	4	5	6
OOO	OOO	OOO	SSS	OOO	SSS

Von den am 15. Febr. 1913 beimpften Gläsern 1 und 3 (Tabelle VI), die im Laufe von 3 Tagen bzw. O und S gegeben haben, wird in 12 Maltosebouillongläser übergeimpft. Sämtliche Gläser aus No. 1: O¹, die von No. 3: S¹.

c) Beim Beimpfen einer Lackmusmaltosebouillon gleichzeitig sowohl mit einer blauen als auch mit einer roten Maltosebouillonkultur tritt immer Rotfärbung während der ersten 24 Stunden ein, und zwar anscheinend von dem Mengeverhältnisse der von den 2 Kulturen zugesetzten Bakterien unabhängig.

Dies ist mehrfach beobachtet worden; selbst wenn von einer roten Kultur nur so viel übertragen wird, wie an der äußersten Spitze einer dünnen Platinnadel hängen kann, während von der blauen Kultur zahlreiche große Platinösen voll überimpft wurden, tritt nach Verlauf von 24 Stunden in dem besäten Röhrchen immer Rotfärbung ein.

d) Es muß zwischen zwei verschiedenen roten Farbumschlägen in Lackmusmaltosebouillon gesondert werden, und zwar zwischen dem früh — etwa in einer Woche — eintretenden Umschlag, der mit einer hellen starken roten Farbe erscheint, und demjenigen Umschlag, welcher erst später eintritt und eine trübe unklare Rotfärbung mit leichter Reduktion hinterläßt. Der erstere wird vermutlich auf eine plötzlich erworbene Eigenschaft (Mutation) bei einem einzelnen (oder bei einigen wenigen) der Bakterien der Kultur beruhen, während in denjenigen Kulturen, wo noch kein Umschlag eingetreten ist, auch noch keine Bakterien mutiert haben; der letztere Umschlag scheint auf kompliziertere Verhältnisse zurückgeführt werden zu müssen und ist vielleicht nicht von der Maltose bedingt.

Daß es sich wirklich so verhält, kann bei täglichem Ausstreichen auf Lackmusmaltoseagar von Maltosebouillonkulturen beobachtet werden.

Ich gehe z. B. von 10 Lackmusmaltosebouillonkulturen aus, welche gleichzeitig beimpft und alle ohne Farbumschlag in 24 Stunden geblieben sind. Sie werden die ganze Zeit bei 37° gehalten, täglich beobachtet und täglich auf einem 2-proz. Agar ausgestrichen, welcher mit einem Zusatz von 1 Proz. Maltose und 6 Proz. Lackmuslösung auf flache Petri-Schalen ausgegossen ist.

Mit [S] wird bezeichnet, daß die Rotfärbung von der spät erscheinenden trüben Art ist, r bedeutet rote Kolonien auf Maltoseagar, b blaue, und r + b rote und blaue.

Die Schalen sind 24 Stunden nach dem Zusäen beobachtet worden, und das Ergebnis unter dem Tage des Ausstreichens angeführt.

Tabelle VII.

Kultur No.	An welchem Tage ausgestrichen?													
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.
1 Maltosebouillon	O	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Maltoseagar	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b
2 Maltosebouillon	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
Maltoseagar	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
3 Maltosebouillon	O	O	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Maltoseagar	b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b
4 Maltosebouillon	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
Maltoseagar	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
5 Maltosebouillon	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	[S]	[S]	[S]	[S]
Maltoseagar	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
6 Maltosebouillon	O	O	O	O	O	O	O	S	S	S	S	S	S	S
Maltoseagar	b	b	b	b	b	b	b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b	r + b
7 Maltosebouillon	O	O	O	O	O	O	O	[S]	[S]	[S]	[S]	[S]	[S]	[S]
Maltoseagar	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
8 Maltosebouillon	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
Maltoseagar	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
9 Maltosebouillon	O	O	O	O	O	O	O	O	O	[S]	[S]	[S]	[S]	[S]
Maltoseagar	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
10 Maltosebouillon	O	O	O	O	O	O	O	O	[S]	[S]	[S]	[S]	[S]	[S]
Maltoseagar	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist es nie gelungen, in blauer Lackmus-Maltosebouillonkultur einen einzigen Bacillus, welcher Maltose auf Maltoseagar binnen 24 Stunden angreift, nachzuweisen; keine der Bakterien einer derartigen Kultur besitzt scheinbar im Augenblicke das Vermögen, Maltose zu vergären. In den letzten 24 Stunden, ehe die Bouillon zu der typischen hellen roten Farbe umschlägt, gilt dies selbstredend nicht immer; beim Aussäen während dieser 24 Stunden können auf dem Maltoseagar einige rote Kolonien neben einigen blauen erscheinen, wie es bei den Röhrcchen 1 und 3 der Fall ist, je nachdem ein oder mehrere Bakterien auf diesem Zeitpunkt mutiert haben

und das Maltosevergärende Vermögen erworben haben. Dies zeigt sich selbstredend erst nach einigen Stunden in dem Farbenumschlag der Bouillon. Wenn dieser Umschlag erst eingetreten ist, sind Maltose vergärende Bakterien fortwährend nachzuweisen. Solange die Beobachtungen fortgesetzt worden sind, hat man auch in diesen Gläsern gleichzeitig immer Bakterien, die nicht mutiert haben, nachweisen können.

In denjenigen Gläsern, wo nach längerer Zeit der trübe unklare rötliche Farbenumschlag eintritt (mit [S] bezeichnet), scheint keine Mutation vorhanden zu sein; es ist mir nie gelungen, beim Aussäen von diesen Gläsern auf dem Maltoseagar irgendwelche rote selbständige Kolonie nach dem Verlaufe von 24 Stunden mit Sicherheit festzustellen.

Werden die Schalen mehrere Tage lang bei 37° gehalten und nach 2mal 24 Stunden oder noch längerer Zeit beobachtet, so wird man zwischen Schalen, auf denen sich die Aussaat von einer reinen blauen Lackmus-Maltosebouillonkultur vorfindet, und Schalen, auf denen von dieser [S]-Kultur ausgesät worden ist, einen deutlichen Unterschied nachweisen können. Die Kolonien der letzteren Schalen mutieren nämlich viel leichter als diejenigen der übrigen Schalen.

Die Mutation erscheint als rote Knospbildung auf den blauen Kolonien, und ist früher, was die Dysenteriebacillen betrifft, auf Maltoseagar unter anderem von Bernhard beobachtet worden. Auf den [S]-Schalen bilden sich nach etwa 48 Stunden zahlreiche rote Knospen auf jeder blauen Kolonie, während auf den anderen Schalen erst nach mehreren Tagen einzelne rote Knospen auf einigen der blauen Kolonien erscheinen.

Was die Mutation auf Maltoseagar betrifft, habe ich dasselbe, was Bernhard bei Dysenteriebacillen und Rh. Müller, Christiansen u. m. a. bei mehreren anderen Bakterien beobachtet haben, auf verschiedenen Zuckeragarnährböden gesehen.

Nach Verlauf einiger Zeit bilden sich auf den blauen Kolonien rote Knospen, und wenn dieselben entweder in Lackmus-Maltosebouillon oder -Agar übertragen werden, wachsen sie noch immer mit roter Farbe, während durch Uebertragung von der unveränderten blauen Kolonie selbst nur blaues Wachstum von Bacillen, die dasselbe Mutationsvermögen besitzen, erzeugt wird. Um zu prüfen, ob sich nun diese Mutationsfähigkeit z. B. durch häufige Ueberimpfung verstärken oder abschwächen läßt, habe ich durch mehrere Versuche festzustellen versucht, aber in dieser Beziehung nichts beobachten können.

Nur in denjenigen Lackmus-Maltosebouillonkulturen, wo nach längerer Zeit der trübe unklare Farbenumschlag eingetreten ist, habe ich — wie erwähnt — eine zunehmende Mutationsfähigkeit der Bakterien beobachtet.

e) Das Vermögen Maltose zu vergären wird auch ohne daß die Bacillen mit Maltose in Berührung kommen erworben¹⁾.

Wenn man die Tabelle IV betrachtet, wird man finden, daß z. B. der Stamm „131“ bei der ersten Untersuchung Maltose nicht vergärt, wogegen er ein halbes Jahr später gleich in den ersten 24 Stunden diese Zuckerart angreift. Ein paar Mal habe ich zweifelsfrei ein gleiches Phänomen auch an der Burri-Kultur von „Rg. 216“ beobachtet.

Wie die Tabelle VI zeigt, säte ich mehrmals von derselben Burri-Kultur in Lackmus-Maltosebouillon aus, ohne daß je eine Rottfärbung der Lackmus-Maltosebouillon gleich nach 24 Stunden beobachtet wurde, was also darauf deutet, daß sich in der ursprünglichen Bouillonkultur keine Bakterien vorfanden, die imstande waren, Maltose direkt zu vergären. Auch bei späterem Aussäen am 26. Februar 1913 wurde O¹ in den Maltosebouillonkulturen wahrgenommen. Beim Aussäen am 5. März 1913 — 7 Tage später — tritt indessen S¹ in allen 6 Gläsern ein, und beim Ausstreichen von der Bouillonkultur auf Lackmus-Maltoseagar erscheint nun auch Wachstum sowohl von roten als von blauen Kolonien. Einige Bakterien der Kalbsbouillonkultur haben also, ohne daß sie in oder auf Maltosenährboden gewachsen sind, das Vermögen erhalten, Maltose direkt zu vergären. Hiergegen läßt sich vielleicht die Einwendung machen,

1) Christiansen, der übrigens eine ganz ähnliche Mutation der Paracolibacillen in Arabinosebouillon und auf Arabinoseagar beobachtet hat, konnte ohne Vorhandensein der Arabinose Mutation nicht hervorrufen.

daß diese Kultur bei der wiederholten Anwendung als Aussaat in Maltosebouillon durch die hierzu angewandte Platinöse ganz kleine Mengen von Maltose aufgenommen haben könnte. Eine derartige Einwendung läßt sich dagegen nicht in dem folgenden Fall machen. Es handelte sich hier um eine andere Bouillonkultur des Burri-Stammes Rg. 216, die durch längere Zeit täglich auf neue Bouillon und gleichzeitig auf Lackmus-Maltosebouillon umgesät wurde. Nach 13tägigem Umsäen wird stets O¹ in dem Maltosebouillon beobachtet. Am 14. Tage tritt indessen S¹ ein und dauert bei fortgesetztem Umsäen noch 6 Tage. Beim Ausstreichen auf Lackmus-Maltoseagar von der 14mal umgesäten Kalbsbouillon werden auch sowohl blaue als rote freistehende Kolonien erzeugt, wogegen beim Ausstreichen von einer Kalbsbouillon, welche beim Aussäen in Maltosebouillon nur O¹ gibt, immer Wachstum von ausschließlich blauen Kolonien beobachtet wird.

In allen anderen Bouillonkulturen von „Rg. 216“, die ich längere Zeit hindurch auf verschiedene Weise behandelt habe (mit Aufbewahrung im Thermostaten und bei Zimmertemperatur usw.), ist es mir nicht gelungen, an dem Vergärungsvermögen Maltose gegenüber irgendeiner Veränderung nachzuweisen. Der Zeitpunkt des Eintretens einer solchen Veränderung in den Substraten, die keine Maltose enthalten, ist scheinbar ebenso schwierig zu berechnen wie in den maltosehaltigen, wo sie nur viel leichter zustande kommt, aber sonst einen ganz ungleichen Verlauf hat, selbst unter möglichst gleichartigen Bedingungen.

Trotzdem ich durch längere Zeit Kalbsbouillonkulturen von Rg. 216, die in 24 Stunden maltosevergärend sind, beobachtete, gelang es mir nicht festzustellen, daß dieselben dieses Vermögen wieder eingebüßt haben; die Beobachtung bezog sich aber nur auf ca. 1 Monat. Daß andere Kulturen ein solches Vermögen verlieren können, ergibt sich bei den Stämmen „Helsingör“ und „Svendborg III“ (Tabelle IV); die Vergärung des Stammes „Nysted“ dürfte dagegen darauf deuten, daß dieses Vermögen auch außerordentlich standhaft sein kann und eventuell nie abnimmt; dieser Stamm hat konstant in anderthalb Jahre Maltose im Laufe der ersten 24 Stunden vergoren; daß „Nysted“ deswegen mit den anderen Stämmen der Gruppe II nicht übereinstimmen sollte, wird man nicht mit Recht behaupten können.

Die Saccharosevergärung.

Mit Ausnahme von den beiden einzelnen Stämmen „B. 168“ und „1308a“ findet sich in den übrigen Gruppen nur ein Stamm, welcher gleich in den ersten 24 Stunden Saccharose vergärt, nämlich Kultur „132“ aus der Gruppe III; es war jedoch nur bei der ersten Untersuchung und nicht später der Fall. Die von den Stämmen einzelner Gruppen erworbene Neigung zu Vergärung, die durch längere Aufbewahrung auf dem Nährboden hervorgerufen wird, zeigt auch nicht ganz konstante Verhältnisse für alle Stämme. Die 7 ersten Gruppen und die einzelnen Stämme innerhalb derselben Gruppe sind so z. B. in bezug auf die Saccharosevergärung nicht voneinander zu unterscheiden.

Die Rhamnosevergärung.

Ich habe die Rhamnosevergärung mitgeprüft, weil alle Stämme der Gruppe III und VII zu jeder Zeit die Rhamnosebouillon im Laufe der ersten 24 Stunden vergoren haben, und weil diese Vergärung, was die genannten Stämme betrifft, konstanter ist als die Maltosevergärung.

Mit Rücksicht auf die übrigen Gruppen weist die Vergärung etwas ähnliche Verhältnisse wie die Maltosevergärung auf, doch tritt sie nicht häufig im Laufe von 24 Stunden ein, obgleich sie auch hier vorgefunden worden ist („Svendborg III“ bei der ersten Untersuchung). Dagegen wird sie häufig am 2. Tage oder später stattfinden, indem sie — wie es mit den Maltosenährböden der Fall war — wahrscheinlich auf einer Mutation beruht, was gut damit übereinstimmt, daß R. Müller eben auf Rhamnoseagar eine sehr rege Mutation gewisser Dysenteriebacillen vorgefunden habe.

Die Rhamnosevergärung geht jedoch keineswegs mit der Saccharosevergärung parallel, was an dem Stamm „Nysted“ sehr deutlich wahrzunehmen ist. Obgleich dieser Stamm fortwährend die Maltosebouillon im Laufe von 24 Stunden vergärt, zeigt er nur eine schwache Neigung dazu, Rhamnose anzugreifen, und zwar nie in den ersten 24 Stunden.

Die Dextrinvergärung.

Diese Vergärung ist nicht in so weitem Umfange wie die vorausgehende untersucht worden, scheint aber auch kein besonderes Interesse darzubieten. Die Bacillen der Gruppe I, II, IV, V und VI vergären Dextrin in 24 Stunden, d. h. nur wenn sie Maltose vergären, sonst aber nicht (s. die Stämme „131“, „Nysted“ und „Diakonisse“). Dies stimmt gut damit überein, daß Hiss und Russel für die Sonderung zwischen den „Y“- und „Flexner“-Stämmen Dextrin bevorzugen, während Lentz und Martini Maltose verwandten.

Was die Gruppe III und VII anlangt, so ist dieses Zusammentreffen indessen nicht so charakteristisch. Alle Stämme, die im Laufe der ersten 24 Stunden Maltose vergären, greifen wohl auch mehr oder weniger stark nach Verlauf desselben Zeitraumes Dextrin an; es ist aber diese Beeinflussung bei mehreren Stämmen so schwach [s. ((S))], daß die Reaktion sehr zweifelhaft ist. Nach Verlauf einiger Tage ist jedenfalls bei vielen Stämmen absolut keine deutliche Säurebildung in der Lackmus-Maltosebouillon eingetreten — bei anderen Stämmen wird sie dagegen nach und nach ausgesprochen. Die Reaktion ist aber so schwierig zu beurteilen und gibt auch bei demselben Stamm einen so verschiedenen Ausfall bei beiden Untersuchungen (s. u. a. die Stämme „Rg. 11“, „Rg. 13“ und „117“), daß eine sichere Differenzierung der Stämme innerhalb der 2 Gruppen III und VII mittels dieser Vergärung nicht durchführbar ist.

Die Indolprüfung.

Die Indolprüfung wurde mit allen Stämmen nach der Ehrlich'schen Methode ausgeführt. Die Stämme sind in 1-proz. Peptonwasser ausgesät. Nach 5–10-tägigem Wachstum erfolgt Zusatz von 1 Teil Paradimethylamidobenzaldehydlösung¹⁾, 1 Teil gesättigter Kaliumpersulfatlösung in 2 Teilen Peptonwasser, hierauf Schütteln und Ablesen nach einigen Minuten, wobei eine Rotfärbung eintritt, falls Indol vorhanden war, sonst aber nicht. Die Indolbildung der Stämme findet nach folgendem Schema statt:

Gruppe I + Indol; die meisten Stämme geben eine ziemlich starke Reaktion, einzelne aber nur eine ganz schwache.

Gruppe II + Indol.

Gruppe III 0 Indol.

Gruppe IV + Indol.

Gruppe V 0 Indol.

Gruppe VI 0 Indol.

Gruppe VII + Indol; bei allen kräftige Reaktion.

Gruppe VIII + Indol.

Gruppe IX 0 Indol.

1) Paradimethylamidobenzaldehyd 4 g, 96-proz. Alkohol 380 g, konzentrierte Salzsäure 80 g.

Bei allen Stämmen, die nach 10-tägigem Wachstum Reaktion gaben, wurde auch nach 5 Tagen Reaktion beobachtet. Die Stämme innerhalb derselben Gruppe geben alle dieselbe Indolreaktion, jedoch oft von ungleicher Stärke.

In der Gruppe I ist z. B. die Reaktion der Stämme „Helsingör“, „175“, „B. 159“, „B. 236“ und „Rg. 245“ ziemlich schwach; in der Gruppe II auch schwache Reaktion bei den Stämmen „Frederikshavn“, „131“ und „Rg. 216“; die Stämme der Gruppe V, VI und IX sowie diejenigen der großen Gruppe III geben dagegen keine Reaktion.

Die Milchprüfung.

Die Milchprüfung wurde an den meisten Stämmen nur 1mal ausgeführt; einige sind jedoch 2mal untersucht worden. Es wurde immer gewöhnliche abgerahmte Milch benutzt. Diese wurde auf sterile Reagensgläser abgezogen und durch 2maliges wiederholtes Aufkochen in einem Intervall von 2 Tagen in strömendem Wasserdampf 10 Minuten sterilisiert. Die Sterilität der Milch wurde durch Aufbewahrung bei 37° ein paar Tage lang geprüft. Im Herbst 1911 wurden folgende Stämme geprüft:

Gruppe I: „Helsingör“, „Svendborg I“, „Svendborg III“, „R“ und „175“.

Gruppe II: „Frederikshavn“, „Svendborg II“ und „Nysted“.

Gruppe III: „Aarhus“, „Bogense“, „Brabrand“, „Frau V“, „B. I“, „Rg. 2“, „Rg. 11“, „Rg. 13“, „Svendborg IV“, „222“, „359“, „360“ und „394“.

Gruppe V: „Diakonisse“.

Gruppe VII: „117“, „148“, „208“ und „219“.

Es erscheint mir von Bedeutung, daß keiner dieser Stämme die im Herbst 1911 geprüfte Milch koagulierte, selbst nicht nach 10-tägiger Aufbewahrung bei 37°, während alle Stämme ohne Ausnahme, auch die nun frisch isolierten, im Januar 1912 Milch koagulieren, und zwar als Regel so, daß nach 24 Stunden die Milch nur schwach klumpig und zähflüssig war, nach 2×24 Stunden ganz steif und nach 3×24 Stunden eine beginnende klare Molkenbildung aufwies. Diese nahm später zu, während das Koagel in einen festen Klumpen zusammenlief und nicht mehr aufgelöst werden konnte. Meiner Ansicht nach ist keine andere Erklärung für dieses Verhalten möglich, als daß es auf Variationen in der Zusammensetzung der Milch beruht. Ich meine behaupten zu dürfen, daß es gefährlich ist, dem Ausfall der Koagulationsprüfung in einem so komplizierten Präparat wie die Milch eine entscheidende Bedeutung bei der Differentialdiagnose verschiedener Bakterien beizumessen.

Das Wachstum auf Kartoffeln.

Hierfür sind Kartoffelscheiben angewandt, die in Petri-Schalen untergebracht und in strömendem Wasserdampf 2mal 10 Minuten mit 1-tägigem Intervall sterilisiert wurden. Die Kartoffeln wurden nach dem Beimpfen sowohl nach 1-tägiger wie nach 2-tägiger Aufbewahrung im Thermostaten bei 37° beobachtet.

Der Stamm B. 168 (Gruppe VIII) wächst mit ziemlich großen, deutlichen gelben Kolonien.

Der Stamm 1308 a (Gruppe IX) wächst mit einer außerordentlich starken, feuchten, gelbgrauen Oberflächenausbreitung.

Alle übrigen Stämme wachsen mit einem feinen, schwach glänzenden Belag, der in der Regel nur bei einer gewissen Beleuchtung sichtbar ist. Was die Gruppe III betrifft, scheint diese schwache Andeutung von Wachstum vielleicht einen ganz schwach gelblichen Farbenton zu haben, dieser ist jedoch so unbedeutend, daß es sich als kein sicheres Unterscheidungsmerkmal dieser Bacillen aufstellen läßt.

**Die Wachstumsweise auf gewöhnlich angewandten Nährböden;
Beobachtungen über die Inagglutinabilität.**

Mit der Bezeichnung gewöhnlich angewandte Nährböden meine ich Bouillon, Agar und Gelatine.

Die beiden Stämme „B. 168“ (Gruppe VIII) und „1308 a“ (Gruppe IX) weisen keine besonderen Eigentümlichkeiten auf diesen Substraten auf, abgesehen davon, daß 1308 a nach längerer Zeit oft ein etwas klumpiges Wachstum in der Bouillon hervorruft. Das Nachfolgende bezieht sich nur auf die übrigen Stämme.

a) Bouillon.

Das Wachstum in Bouillon erfolgt meist gleichmäßig, ohne Häufchenbildung. Es wird jedoch nicht selten auch ein ungleiches Wachstum, besonders am Boden des Reagensglases beobachtet; diese Erscheinung kommt vor, wenn ältere Kulturen auf neuem Nährboden gesät werden; die Bacillen sind hier kürzer und in langen Ketten gelagert. Diese Kulturen zeigen sich häufig mehr oder weniger inagglutinabel. Besonders konstant ist dies bei den Bacillen der Gruppe III. Kulturen mit dieser Wachstumsweise werden dabei immer inagglutinabel.

b) Agar.

Die gewöhnliche Wachstumsform auf einer Agarplatte besteht in runden, scharfeckigen, etwas prominierenden, ziemlich klaren Kolonien oder es ähnelt dem Wachstum, das für die meisten Coli-Bacillen charakteristisch ist; in der Regel sind jedoch die Kolonien etwas durchscheinender, selten aber so klar wie diejenigen der Typhusbacillen, von welchen sie auch häufig dadurch abweichen, daß sie nach Verlauf derselben Wachstumsperiode etwas größer sind.

Häufig sieht man aber beim Ausstreichen von einer Bouillonkultur außer diesen Kolonien mehr oder weniger Kolonien von einem ganz anderen Aussehen. Ihr charakteristisches Gepräge besteht darin, daß sie ziemlich groß und flach mit unregelmäßigen Konturen und gerippter Oberfläche sind, und häufig ein graues Aussehen mit ziemlich schwacher Durchsichtigkeit darbieten. Bisweilen können diese Kolonien ganz klein, etwa punktförmig sein, haben aber auch dann ein graues, trockenes, etwas durchscheinbares Aussehen; zu anderen Zeiten sieht man auch Kolonien, die dem zuerst beschriebenen normalen Typus fast ganz ähnlich sind und nur durch eine ganz feine netzförmige peripherische Ausbreitung von den letzteren zu unterscheiden sind. Es ist mir nicht möglich gewesen, einen bestimmten Unterschied in bezug auf das Bildungsvermögen zu solchen Kolonien weder bei den Bacillen der verschiedenen Gruppen (siehe jedoch unten die Stämme 725, „Diakonisse“ und B. 179) noch bei einzelnen Bacillen derselben Gruppe festzustellen. Doch sind die Bacillen der Gruppe I und II vielleicht am meisten geneigt, kleine unklare Kolonien zu bilden, während die Bacillen der Gruppe III meistens große ausfließende Kolonien hervorrufen.

Die Hauptbedeutung dieser Kolonien liegt indessen darin, daß ihre Kulturen nicht oder in sehr beschränktem Umfange in dem sonst agglutinierenden Serum agglutiniert werden, und daß eben von diesen Kolonien Bouillonkulturen mit dem oben besprochenen unregelmäßigen Wachstum mit Niederschlagbildung erzeugt werden. Ob Bouillonkulturen möglicherweise auch unter anderen Umständen inagglutinabel sein können, d. h. ohne daß spezielle Kolonieförmigkeiten auf Agar diesen Kulturen entsprächen, habe ich nicht beobachtet, da die Inagglutination immer mit reichlichem Wachstum dieser Kolonien auf Agar einhergegangen ist und (umgekehrt) diese Kolonien stets inagglutinable Kulturen erzeugt haben.

Meist sind solche Kolonien dann beobachtet worden, wenn eine ältere Kultur auf neuen Nährboden übertragen wurde, doch habe ich sie auch mehrmals auf denjenigen Platten beobachtet, auf welchen Faeces von Dysenteriepatienten ausgestrichen waren, hierauf deutet ja auch der Befund von Bacillen, die gleich bei der Isolierung inagglutinabel sind.

Wenn man versucht, mittels Bakterien dieser Kolonien durch Injektion an Kaninchen ein Agglutinin herzustellen, so wird man hier ein solches mit ganz niedrigem Titer erhalten, und das Serum agglutiniert auch nur ganz schwach die sonst agglutinablen Bakterien desselben Stammes.

Ist eine Kultur inagglutinabel, wird es oft möglich sein, durch Ausstreichen derselben solche Kolonien hervorzurufen, die agglutinable Kulturen geben; geschieht dies nicht, so wird die Kultur jedoch in der Regel durch häufiges Ueberimpfen in einiger Zeit agglutinabel werden. Bei einigen Kulturen ist ein lange dauerndes Umsäen erforderlich, und in einigen Fällen wird es vielleicht dennoch nicht möglich sein, Agglutination hervorzurufen.

Dies war vielleicht mit den drei einzelnen Stämmen „725“, „Diakonisse“ und „B. 179“ der Fall, und zwar besonders mit den beiden letzten, die ausschließlich mit kleinen, ziemlich trüben, trockenen, etwas ausfließenden Kolonien wuchsen, was nach mehrtägigem Wachstum auf der Platte besonders deutlich wurde. Obgleich diese Stämme mehrfach umgesät wurden, habe ich mit den gegebenen Seris keine stärkere Agglutination hervorrufen können als die auf der Tabelle II und III aufgeführte; trotzdem daß ich mehrmals an verschiedenen Kaninchen die Stämme in lebender Kultur intravenös einspritzte, gelang es mir nicht, Sera herzustellen, welche die eingespritzten Stämme in wesentlichem Grade agglutinierten.

Der Stamm „725“ wächst mit mehr regelmäßigen Kolonien auf Agar, und ich habe mit demselben ein Serum hergestellt, welches den Stamm bis zur Verdünnung 1:2500 agglutinierte (s. Tabelle II).

Als ich dieses Serum herstellte, wurde der Stamm in dem Serum „Frederikshavn“ nur bis 1:250 agglutiniert, während er vorher den Agglutinationstiter 1:2500 gehabt hatte. In einem noch früheren Zeitpunkt würde er vielleicht ganz bis zur Titergrenze agglutiniert worden sein. Es scheint mir jedenfalls wahrscheinlich, daß ein Serum, welches mit diesem Stamm zu einem Zeitpunkt, wo er den Titer 1:2500 mit dem Serum „Frederikshavn“ hatte, hergestellt worden wäre, das ein noch größeres Agglutinationsvermögen den Stämmen der Gruppe II gegenüber gehabt hätte als das jetzt hergestellte Serum 725.

Die komplizierten Agglutinationsverhältnisse der gefundenen Bacillen fordern überhaupt zu der größten Vorsicht bei der Aufstellung neuer Gruppen auf Grund der Unterschiede in der Agglutinabilität, und es ist nicht ausgeschlossen, daß die 3 Gruppen IV, V und VI (die Stämme 725, „Diakonisse“ und B. 179) in der Tat den Gruppen I und II zugeschrieben werden sollten.

c) Gelatine.

Das Wachstum auf Gelatine stimmt mit demjenigen auf der Agarplatte völlig überein. In der Gelatine weist das Wachstum keine Eigentümlichkeiten auf.

Tabelle VIII.

Zusammenfassung der

	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
Agglutination in Serum „Hölsingör“ (Gruppe I)	10 000 oder > 10 000	2500 oder < 2500	50 (100) oder < 50 (100)
Agglutination in Serum „Frederikshavn“ (Gruppe II)	2500 oder < 2500	5000 oder > 5000	50 oder < 50
Agglutination in Serum „725“ (Gruppe IV)	100 (250) oder < 100 (250)	250 oder < 250	< 50
Agglutination in Serum „Aarhus“ (Gruppe III)	50 oder < 50	50 oder < 50	500 oder > 500
Agglutination in Serum „117“ (Gruppe VII)	500 oder < 500	1000 oder < 1000	250 oder < 250
Agglutination in Serum B „168“ (Gruppe VIII)	< 50	< 50	< 50
Agglutination in Serum „1308a“ (Gruppe IX)	< 50	< 50	< 50
Vergärung in Lackmusmolke	(S), später O	(S), später O	(S), dann O, später S
Vergärung in Maltosebouillon	nichts Sicheres, als Regel O, oft später S	nichts Sicheres, als Regel O, oft später S	mitunter gleich O, später im- mer S
Vergärung in Saccharosebouillon	O, oft später S oder RS	O in längerer Zeit	als Regel O, oft später S oder RS
Vergärung in Rhamnosebouillon	nichts Sicheres, als Regel O, oft später S	O, oft später S	S
Vergärung in Dextrinbouillon	nichts Sicheres, als Regel O in längerer Zeit	nichts Sicheres, oft O in längerer Zeit	oft gleich S, spä- ter S oder O
Indolbildung	+ (bisweilen schwach)	+ (bisweilen schwach)	O
Wachstum auf Kartoffeln	ganz schwach	ganz schwach	ganz schwach

Die Gruppeneinteilung und ihre Berechtigung.

Die über die kulturellen Eigenschaften der gefundenen Bacillen angestellte Untersuchung hat folgendes Resultat gegeben:

Diejenigen Stämme, die in agglutinatorischer Beziehung zusammengehören, bieten auch nicht auf andere Weise Unterschiede dar, so daß die auf der Agglutination fußenden Gruppeneinteilung berechtigt ist; jedenfalls ist es unberechtigt, mehrere Gruppen aufzustellen; vielmehr lassen sich nach meiner Ansicht eher einige Gruppen zusammenfassen.

Es ist selbstredend immerhin nur eine beschränkte Anzahl von Prüfungen, die man mit einer gegebenen Bakterienkultur anzustellen vermag. Je nachdem die bakteriologische Wissenschaft vorwärts geschritten ist, hat man durch Einführung neuer Reaktionen Bakterien, die vorher als gleich angesehen waren, voneinander unterscheiden können.

Bei dem gegenwärtigen Standpunkt ist indessen eine weitere Unterscheidung der hier gefundenen Stämme nicht zulässig.

In der Tabelle VIII finden sich die bei den Stämmen der einzelnen Gruppen vor gefundenen Eigenschaften zusammengestellt.

Tabelle VIII.
Reaktionen der Bacillengruppen.

Gruppe IV	Gruppe V	Gruppe VI	Gruppe VII	Gruppe VIII	Gruppe IX
500 oder < 500	500 oder < 500	< 50	< 50	< 50	< 50
2500 oder < 2500	100 (250) oder < 100 (250)	500	< 50	< 50	< 50
2500	100	< 50	< 50	< 50	< 50
(50) oder < (50)	(50) oder < (50)	< 50	< 50	< 50	< 50
< 50	100 oder < 100	< 50	1000 oder > 1000	< 50	< 50
< 50	< 50	< 50	< 50	250	< 50
< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	1000
(S), später O	(S), später O	(S), später O	S, dann O, später S	((S)), später O	(A), später S
O, später S	O, später S	O, später S	S	O, später R	O, später S
O in längerer Zeit	O später S oder R	O in längerer Zeit	O, später S	S	S, später (R)
O, später S	O in längerer Zeit	O in längerer Zeit	S	S	—
O in längerer Zeit	(S), später R	O, später RS	(S), später S	O in längerer Zeit	((S)) in längerer Zeit
+	O	O	+	+	O
ganz schwach	ganz schwach	ganz schwach	ganz schwach	starke gelbe Belegung	starke gelbe Belegung

In der Rubrik: „Agglutination in homologem Serum“ ist aufgeführt, daß die Agglutination zum wenigsten bis zur Titergrenze reicht; ich habe zwar gelegentlich beobachtet, daß viele Stämme nicht so stark agglutiniert wurden, ich habe aber andeuten wollen, daß ich, solange ich nicht die Agglutination eines Stammes mindestens bis zur Titergrenze in dem den übrigens gleichen Stämmen entsprechenden Serum beobachtet habe, den betreffenden Stamm nicht mit diesen Stämmen habe gleichstellen wollen.

In der Rubrik: „Agglutination in heterologem Serum“ ist die größte Agglutinabilität, die in dieser Beziehung von einem oder mehreren Kulturen der verschiedenen Gruppen erreicht worden ist, aufgeführt.

Am unbedeutendsten ist der Unterschied zwischen der Gruppe I und II, und, wie besprochen, liegt die Möglichkeit vor, daß die Gruppe IV, V und VI in der Tat einer dieser Gruppen angehören. Die Gruppen III, VII, VIII und IX sind dagegen von den anderen Gruppen, sowie gegenseitig voneinander scharf abgetrennt.

Nur mittels Lackmusmolke gibt die Vergärung eine scharfe Unterscheidung der Gruppen III und VII einerseits und der Gruppen I, II, IV, V und VI andererseits. Der Unterschied ist hier absolut konstant.

Tabelle IX.

„Y“	„Strong“	„Leitermann“	„Offenbacher I“	„Offenbacher II“
10 000	100	10 000 (25 000)	10 000 (25 000)	10 000 (25 000)
1000 (2500)	5000	250	250	250
100 (250)	< 50	—	—	—
< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
250 (500)	250 (500)	500	500	500
< 50	< 50	—	—	—
< 50	< 50	—	—	—
S1-2O3-21	S1-2O3-21	S1-5((S)) ⁴ O7-21	S1-4O5-21	S1-4O5-21
O1-21	S1-21	((S)) ¹⁻² S3-21	O ¹ ((S)) ²⁻³ S4-21	O ¹ ((S)) ²⁻³ S4-21
O1-3S ² RS4-21	O1-21	O1-3(R) ⁴⁻⁹ RS ¹⁰⁻²¹	O1-4(R) ⁵⁻⁹ RS ¹⁰⁻²¹	O ¹ (R) ⁵⁻⁴ RS ¹⁵⁻²¹
O ¹ S3-21	O ¹ (S)7-21	—	—	—
O1-10	O1-2S3-10	((S)) ¹ (S) ²⁻⁴ (R) ⁵⁻²¹	O ¹ (S) ²⁻⁴ (R) ⁵⁻²¹	O ¹ (S) ²⁻⁴ (R) ⁵⁻²¹
+ Spuren	+	+	+	+
ganz schwach	ganz schwach	ganz schwach	ganz schwach	ganz schwach

Die Maltosevergärung gibt dagegen nichts Sicheres, wenn auch bei den Gruppen III und VII ein größeres Vergärungsvermögen wie bei den übrigen Gruppen beobachtet wird. Etwas Ähnliches gilt der Rhamnosevergärung; eine Bakterie, die übrigens den Bedingungen dieser Gruppen entspricht, und die sowohl Rhamnose als auch Maltose in den ersten 24 Stunden angreift, kann mit großer Wahrscheinlichkeit den Gruppen III oder VII zugerechnet werden.

Bei der Indolprüfung trennt sich die Gruppe III entschieden von der Gruppe I und II ab, wobei jedoch die Indolbildung in den beiden letzten Gruppen gelegentlich sehr schwach sein kann. Zwischen der Gruppe III und VII findet bei der Indolprüfung eine absolute Unterscheidung statt.

Beim Wachstum auf Kartoffeln trennen sich die Gruppen VIII und IX von den übrigen Gruppen scharf ab.

Alle anderen vorgenommenen Prüfungen sind bei einer Differenzierung der Gruppen wertlos.

Welche Bacillen sind unter den gefundenen Typen Dysenteriebacillen?

Alle Stämme besitzen die für die Dysenteriebacillen charakteristischen morphologischen und kulturellen Eigenschaften. Zur Identifizierung fehlt nur noch die Agglutination in einem Dysenterieimmenserum.

Statt einer Agglutination der Stämme in bekannten Dysenterieimmenseris habe ich — was praktisch gesehen dasselbe ist — untersucht, ob bekannte Dysenteriebacillen unter irgendwelche der aufgestellten Gruppen fallen, deren Stämme dann im Bejahungsfalle als Dysenteriebacillen betrachtet werden müssen.

Zu diesem Zwecke habe ich 7 gegebene Dysenteriestämme benutzt, und zwar:

1) 1 Stamm, „Ohno“ bezeichnet, welcher vor längerer Zeit in den Besitz des Seruminstituts gelangt war und ursprünglich von dem Japaner Ohno herrührte, und auf den Philippineninseln im Jahre 1904 isoliert war. Das Institut hatte ursprünglich diesen Stamm aus Deutschland zusammen mit anderen Ohnoschen Stämmen empfangen; die anderen waren inzwischen abgestorben.

Die Stämme 2), 3) und 4) die ich vor einiger Zeit vom „Kaiserlichen Gesundheitsamt“ in Berlin empfangen habe, und die von dort aus als Dysenterie „Flexner“, „Y“ und „Strong“ benannt waren. Die Stämme „Flexner“ und „Strong“ sind vermeintlich Originalkulturen, die im Jahre 1900 isoliert und später aus Amerika nach

Tabelle IX.

	„Ohno“	„Flexner“
Agglutination in Serum „Helsingör“	50 000	2 500
„ „ „ „Frederikshavn“	2 500	10 000
„ „ „ „725“	< 30	100 (250)
„ „ „ „Aarhus“	(50)	< 50
„ „ „ „117“	< 50	500
„ „ „ „B. 168“	< 50	< 50
„ „ „ „1308 a“	< 50	< 50
Vergärung in Lackmusmolke	(S)1-2 O3-21	(S)1-7((S))8-10 O11-21
„ „ Maltosebouillon	S1-21	S1-21
„ „ Saccharosebouillon	O1-2 S3-21	O1-6 S7-21
„ „ Rhamnosebouillon	O1-21	O1-21
„ „ Dextrinbouillon	S1-10	(S)1 S2-10
Indolbildung	+	+
Wachstum auf Kartoffeln	ganz schwach	ganz schwach

Europa geschickt sind. Der Stamm „Y“ wird vermutlich auch ein älterer Laboratoriums stamm sein.

Schließlich sind mir die Stämme 5), 6) und 7) von dem Herrn Stabsarzt Otto-Mayer (Nürnberg) zugeschickt, der sie von Dysenteriefällen während der Soldaten-epidemie in Fürth 1909 isoliert hat. Sie werden „Leitermann“, „Offenbacher I“ und „Offenbacher II“ genannt.

Mit diesen 7 Stämmen habe ich nun dieselben Prüfungen wie mit meinen eigenen Stämmen angestellt.

Wie zu erwarten, wurden die Forderungen, die ich in morphologischer und kultureller Beziehung im voraus für meine Stämme aufgestellt habe, erfüllt, und diese Untersuchungen bedürfen daher keiner näheren Besprechung. Es wurde bei diesen 7 Stämmen kein wesentlicher Unterschied von den meinigen beim Wachstum auf den gewöhnlichen Nährböden beobachtet; es dürfte von Interesse sein, daß alle 7 Stämme, die im Januar 1913 auf derselben Milch und gleichzeitig mit meinen eigenen Stämmen untersucht wurden, diese Milch auf ganz gleiche Weise koagulierten.

Es bleibt dann nur noch außer der Agglutinationsprüfung eine Darlegung der Reaktionen der 7 Stämme bei den kulturellen Prüfungen übrig, welche für die von mir aufgestellten Bacillengruppen mehr oder weniger charakteristisch sind. Das Resultat dieser Untersuchungen gibt die vorstehende Tabelle IX wieder.

Wenn man diese Tabelle mit der Tabelle VIII zusammenhält, gelangt man — wenn jede Gruppe für sich genommen wird — zu dem folgenden Ergebnis:

Gruppe I (19 Stämme).

In diese Gruppe müssen entschieden die Stämme „Ohno“ der „Y“-Stamm und die 3 letzten Stämme „Leitermann“, „Offenbacher I und II“ eingereiht werden.

Die Stämme dieser Gruppe sind also als Dysenteriebacillen des sogenannten Typus „Y“ anzusehen. Nach der Untersuchung über die Variationen des einzelnen Stammes ist man nicht berechtigt darauf Gewicht zu legen, daß der Stamm „Ohno“ sowie auch in mehr oder weniger hohem Grade die 3 letzteren Stämme Maltose vergären, während dies mit dem „Y“-Stamm nicht der Fall ist, ebensowenig wie man dem un-

bedeutenden Unterschiede im Agglutinationsvermögen Bedeutung beimessen darf.

Gruppe II (12 Stämme).

Die Stämme „Flexner“ und „Strong“ gehören dieser Gruppe an. Daß „Flexner“ in den ersten 24 Stunden Maltose vergärt, ist ohne Bedeutung¹⁾. Der „Strong“-Stamm, den wir empfangen haben, und der wahrscheinlich mit demjenigen Stamm identisch ist, von welchem Lentz und Martini angaben, daß er Saccharose und nicht Maltose vergäre — was ihn eben von den anderen Typen abtrennte — weist nun das umgekehrte Vergärungsverhältnis auf. Dies scheint also eben zu bestätigen, daß die Vergärung dieser Zuckerarten für die Differenzierung der Stämme in der Tat bedeutungslos sei. Da die Agglutinationsverhältnisse des „Strong“-Stammes auch nicht anders sind, als daß dieser Stamm mit dem Flexnerschen identisch genannt werden muß, ist es berechtigt, die Stämme der Gruppe II als Dysenteriebacillen von dem „Flexner“-schen oder von dem hiermit identischen „Strong“-schen Typus anzusehen.

Gruppe IV, V und VI (die Stämme „725“, „Diakonisse“ und „B. 179“).

Da keine der bekannten Dysenteriebacillen zu diesen Gruppen gehören, läßt es sich nicht entscheiden, ob diese Stämme Dysenteriebacillen sind oder nicht; da sie indessen in kultureller Beziehung vollständig mit denselben übereinstimmen, da sie alle etwas (nur nicht genügend hoch) von den bekannten Dysenterieseris agglutiniert werden und da in ihrem besonderen Wachstumsverhältnis — wie erwähnt — sich vieles vorfindet, was an die inagglutinablen Dysenteriebacillen erinnert, so läßt sich sehr wohl annehmen, daß auch diese Stämme Dysenteriebacillen und somit entweder der Gruppe I oder II angehörig sind.

Gruppe III (36 Stämme).

Keiner der gegebenen Dysenteriebacillen fällt unter die Gruppe III. Es handelt sich also hier um Bakterien, die von den bekannten giftarmen Dysenteriebacillen so scharf abgetrennt sind, daß nur zwei Möglichkeiten vorliegen können: 1) daß die Bacillen dieser Gruppe nicht Dysenteriebacillen sind, oder 2) daß diese Bacillen bisher nicht als solche erkannt worden sind. Diese Gruppe ist die größte aller Gruppen und umfaßt 36 Stämme.

Was spricht denn dafür, daß auch diese Stämme Dysenteriebacillen sind?

1) Ein einziger Stamm ausgenommen (Stamm 1020) sind alle diese Stämme bei Individuen vorgefunden worden, die mehr oder weniger ausgesprochene dysenterieähnliche Krankheitserscheinungen darboten. Der Stamm 1020 wurde bei einem anscheinend gesunden Individuum nachgewiesen, das jedoch einige Zeit vorher Typhus

1) Daß „Flexner“ nach längerer Zeit (6 Tagen) Saccharose angreift, im Gegensatz zu den Stämmen der Gruppe II, ist von keinem Belang, weil „Flexner“ ein alter Laboratoriumstamm ist, und man z. B. an dem „Strong“-schen Stamm sehen kann, wie wertlos die Saccharosevergärung für derartige ältere Stämme ist; der letztere Stamm vergärt nun überhaupt nicht Saccharose, während früher eben diese Vergärung als charakteristisch für ihn angesehen wurde.

durchgemacht hatte und sich auch als Typhusbacillenträger erwies. Es läßt sich daher die Möglichkeit nicht ausschließen, das dieses Individuum neben der typhoiden Infektion noch eine andere Darminfektion gehabt habe, obgleich die Patientin sehr genau beobachtet wurde.

Bei zahlreichen anscheinend darmgesunden Individuen: Erwachsenen und Kindern (ca. 1000) werden diese Bacillen nie vorgefunden.

2) Es ist ein paar Mal möglich gewesen diese Bacillen bei Individuen mit dysenterieähnlichen Symptomen nachzuweisen, wo eben auch in bezug auf die Klinik große Wahrscheinlichkeit für Uebertragung des Infektionsstoffes vorhanden gewesen ist. Dies gilt z. B. von den Stämmen 1030 und 1110. Der erstere wurde in einem typischen Fall von akuter Dysenterie bei einem Individuum vorgefunden, dessen Schwester, die (gerade zu dieser Zeit bei ihr auf Besuch war) an einer chronischen Dysenterie mit akuten typischen Anfällen litt. Bei dieser fand ich später den entsprechenden Stamm 1110 vor. Unter ähnlichen Verhältnissen fanden sich die Stämme B. 20, B. 82 und B. 92. Sie rühren alle von Kindern her, die an anderen Erkrankungen als Darmleiden litten, aber in demselben Krankenzimmer untergebracht waren und kurz nacheinander schnell verlaufende akute dysenterieähnliche Symptome darboten, bei welcher Gelegenheit die Bacillen nachgewiesen wurden.

3) Die Bacillen werden sehr oft in großen Mengen in den Patientenstühlen vorgefunden, wie aus der Tabelle I hervorgeht; bisweilen sind sie beinahe in Reinkultur nachgewiesen worden.

4) Das Blut der betreffenden Patienten agglutinierte häufig die Bacillen, wogegen das Serum normaler Menschen sie nicht agglutinierte, selbst nicht in ganz schwacher Verdünnung.

Ich habe das Serum von 12 Patienten untersucht, und zwar mit folgendem Resultat:

Tabelle XI.

Serum der Patienten, bei denen die folgenden Stämme vorgefunden wurden	Alter des Patienten	Agglutination	
		Stamm B. 20	Eigener Stamm
B. 20	1 Jahr	250	250
B. 82	6 Jahre		0 (d. h. < 50)
F. 85	2 Jahre	10	
B. 92	< 1 Jahr	25	50
Rg. 105	2 Jahre	50	
B. 108	< 1 Jahr	50	100
1030	Erwachsener	50	50
Rg. 185	1 Jahr	50	
Rg. 201	< 1 Jahr	25	
1093	10 Jahre	50	25
1110	Erwachsener	10 (St. 1030)	
1320	2 Jahre	50	50

Bei allen geprüften Seris (mit Ausnahme von dem B. 82 entsprechenden Patientenserum, das jedoch in keiner schwächeren Verdünnung als $\frac{1}{50}$ geprüft wurde) ist die Reaktion beobachtet worden; bei 2 Seris nur in der Verdünnung $\frac{1}{10}$, bei den meisten in der Verdünnung $\frac{1}{50}$ und bei einem einzelnen in der Verdünnung $\frac{1}{250}$.

Als Vergleich habe ich 245 Sera von verschiedenen Individuen, bei denen die betreffenden Bacillen nicht vorgefunden wurden, untersucht. In allen Seris wurde Agglutination des Stammes B. 20 versucht. Aus Mangel an Serum mußte die schwächste Serumverdünnung verschieden gewählt werden, wie aus dem Nachfolgenden hervorgeht:

84 Sera zur Anstellung der Wassermannschen und Widalschen Reaktion eingeschickt — schwächste Verdünnung $\frac{1}{50}$ — keine Agglutination.

31 Sera zur Wassermannschen und Widalschen Reaktion eingeschickt — schwächste Verdünnung $\frac{1}{25}$ — 30 keine Agglutination, 1 schwach 25.

70 Sera zur Wassermannschen und Widalschen Reaktion eingeschickt — schwächste Verdünnung $\frac{1}{10}$ — keine Agglutination.

26 Sera von Kindern, bei denen keine Zeichen von Darminfektion beobachtet wurden — schwächste Verdünnung $\frac{1}{10}$ — keine Agglutination.

9 Sera von Kindern mit Cholera ohne Dysenteriebacillenbefund — schwächste Verdünnung $\frac{1}{50}$ — keine Agglutination.

15 Sera von Kindern mit Cholera ohne Dysenteriebacillenbefund — schwächste Verdünnung $\frac{1}{25}$ — keine Agglutination.

2 Sera von Patienten mit Dysenteriebacillenbefund anderer Art — schwächste Verdünnung $\frac{1}{50}$ — keine Agglutination.

8 Sera von Patienten mit Dysenteriebacillenbefund anderer Art — schwächste Verdünnung $\frac{1}{75}$ — keine Agglutination.

Wie man sieht, kommt kaum jemals eine einigermaßen beträchtliche Menge von Agglutininen in den Seris normaler Menschen oder anderer Darmkranker vor; selbst die Agglutination in der Verdünnung $\frac{1}{10}$ bleibt also von großer Bedeutung in der Beurteilung der Pathogenität der Bacillen.

5) Durch Einverleiben der Bacillen per os an einem Affen gelang es mir, eine dysenterieähnliche Erkrankung hervorzurufen.

Ich versuchte zuerst ein Kaninchen mit einem Bacillus der Gruppe III zu infizieren; mittels Sonde wurden 10 ccm frischer Bouillonkultur des Stammes „Aarhus“ verfüttert. Das Tier hatte in 24 Stunden vorher kein Futter, sondern nur 2mal einige Tropfen Tinct. thebaic. (2—3 Tropfen) in Wasser bekommen. Bei einer 2mal wiederholten Untersuchung der Exkremente — dem Rectum direkt mittels einer Glasstange entnommen — waren vor der Eingabe der Kultur keine Dysenteriebacillen, sondern nur Colibacillen und einzelne Kokken nachgewiesen worden. Während einer 14-tägigen Beobachtung erschienen keine Zeichen von Dysenterie und bei mehrmals wiederholter Untersuchung der Faeces wurden weder Bacillen der einverlebten Art noch andere dysenterieähnliche Bakterien vorgefunden. Die Sektion ergab auch völlig normale Verhältnisse.

Ich versuchte danach an einem Affen (*Mac. rhesus*) einen ähnlichen Bacillus (Stamm 1030) zu verfüttern, verfuhr aber hier, wie aus dem Nachfolgenden hervorgeht, auf eine etwas andere Weise, und zwar deshalb, weil die Sondenfütterung an dem schwer umgänglichen Affen mit großen Schwierigkeiten verbunden war.

10. Januar 1913. Eine Faecesprobe (mittels Glasstab direkt aus dem Rectum entnommen, von gelblicher breiiger Konsistenz ohne Schleim und Blut) wird für die Untersuchung verwandt. Es werden auf Conradi-Drigalski-Platten nur coliähnliche Kolonien erzeugt, und keine dysenterieähnliche Bakterien vorgefunden. Der Affe wird mit Mohrrübenscheiben und Weißbrot gefüttert; auf die Rübenscheiben wird eine reichliche Menge Agarkultur des Stammes gestrichen. Wegen der Unzugänglichkeit des Affen begnügt man sich vorläufig damit, ihn täglich zu beobachten, und verschiebt eine weitere Untersuchung bis zu einer eventuellen Erkrankung des Affen.

15. Januar 1913. Allgemeinbefinden gut. Kein Durchfall. Die Fütterung wird heute darum wieder aufgenommen und die Kultur sowohl mit dem Weißbrot als mit den Mohrrübenscheiben verfüttert.

16. Januar 1913. Fortsetzung der Verfütterung der Kultur wie vorher.

17. Januar 1913. Fortsetzung der Verfütterung der Kultur wie vorher.

18. Januar 1913. Vielleicht ein wenig Durchfall, das Befinden sonst gut.

20. Januar 1913. Fortsetzung der Verfütterung der Kultur.

21. Januar 1913. Fortsetzung der Verfütterung der Kultur. Der Affe hat jetzt deutlichen Durchfall; ist reizbarer als gewöhnlich, befindet sich sonst anscheinend wohl. Die Entleerungen gelb, dünn, mit einzelnen Schleimflocken, enthalten aber kein Blut. Durch Ausstreichen auf Conradi-Drigalski-Platten und auf Endo-Platten wird außer einzelnen Kokkenkolonien auf der Endo-Platte ausschließliches Wachstum von dysenterieähnlichen bläulich gefärbten Kolonien, deren Bacillen in kultureller und agglutinatorischer Beziehung mit denjenigen der einverlebten Kultur identisch sind, vorgefunden.

22. Januar 1913. Fortsetzung der Verfütterung der Kultur (ehe das Resultat der Faecesuntersuchung vorlag).

23. Januar 1913. Der Durchfall dauert fort. Der Affe stets sehr reizbar und aufgeregt, sonstiges Befinden anscheinend gut.

24. Januar 1913. Der Zustand unverändert.

25. Januar 1913. Der Zustand unverändert.

Nach fortdauerndem Durchfall wird der Affe heute in Aethernarkose durch Aderlaß getötet. Es finden sich am Anus reichliche Mengen dünner Fäkalmassen.

Sektion: Peritoneum, Milz, Leber, Niere normal. Reichliche Luft im unteren Teil des Darms. Die Mesenterialdrüsen überall angeschwollen, an mehreren Stellen bis erbsengroß. Sonst keine Drüsenanschwellung. Darminhalt dünn, sonst ziemlich normal. Die Schleimhaut im Colon stark kontrahiert. Deutliche Follikelgeschwulst im ganzen Mastdarm, besonders nach oben im Coecum, wo mehrere Follikel ein zerfallenes Aus-

sehen darbieten mit einem geschwellenen Wall und kraterförmigem Zerfall in der Mitte.

Bei der mikroskopischen Untersuchung eines solchen Follikels wird eine deutliche, kleine begrenzte Ulzeration nachgewiesen.

Auf Conradi-Drigalski-Platten wird ausgesät:

1) einige Mesenterialdrüsen; Resultat: Reinkulturen von Bacillen, die mit den eingegebenen völlig übereinstimmen.

2) Ein geschwollener Darmfollikel: ebenfalls Reinkultur von Bacillen, die den eingegebenen ganz ähnlich sind.

3) Faeces und Schleimhautabschabsel vom Colon: ebenfalls Reinkultur von Bacillen wie die einverleibten.

Schließlich wurde Agglutination folgender Stämme beobachtet:

B. 20, 1030 und der Stamm des Affen selbst (am 22. Januar isoliert) in dem Serum des Affen (vom 25. Januar 1913) in der Verdünnung $\frac{1}{35}$.

Vor dem Einverleiben der Kultur agglutinierte das Serum des Affen nicht den Stamm 1030 in dieser Verdünnung.

Um den Verlauf der Infektion bei Affen eventuell genauer verfolgen zu können und eine mehr umfassende bakteriologische Untersuchung des Darmes und der Organe anzustellen, habe ich nachher 2mal versucht, den obigen Versuch an anderen Affen zu wiederholen. Nur an einem gelang es mir, ein einziges Mal einige wenige Dysenteriebacillen in den Faeces nachzuweisen, und bei keinem dieser 2 Tiere wurden Spuren von krankhaften Symptomen festgestellt. Es müssen also offenbar besonders günstige Bedingungen vorhanden sein, um einen positiven Ausfall dieser Infektionsversuche an Tieren zu erhalten.

Die Verfütterung der besprochenen Kultur an dem einen Affen hat jedoch ein solches Resultat gegeben, daß die Pathogenität des Bakteriums für das Tier und die Erzeugung einer Erkrankung mit gewissen dysenterieähnlichen Symptomen kaum in Zweifel gezogen werden darf.

Die oben genannten 5 Gründe:

1) Das scheinbar einzige Vorkommen der Bacillen bei Individuen mit dysenterieähnlichen Symptomen.

2) Der Nachweis dieser Bacillen bei 2 oder mehreren Personen, bei denen mit großer Wahrscheinlichkeit eine Uebertragung des Infektionsstoffes vorliegt.

3) Das Vorkommen der Bacillen fast in Reinkultur in den Entleerungen mehrerer Patienten.

4) Die in hohem Grade spezifische Agglutinabilität der Bacillen in dem Serum derjenigen Patienten, bei denen sie vorgefunden worden sind, und

5) der positive Ausfall meines Infektionsversuches an einem Affen scheinen mir hinreichend, um die Pathogenität der Stämme der Gruppe III anzunehmen. Da die Krankheitserscheinungen, welche durch diese Bakterien beim Menschen erzeugt werden, von dem Krankheitsbild, das von den Stämmen der Gruppe I und II hervorgerufen werden kann, nicht besonders abweichen, müssen diese Bacillen der Gruppe III auch als Dysenteriebacillen bezeichnet werden, und zwar um so mehr, als sie zugleich die für die giftarmen Dysenteriebacillen charakteristischen morphologischen und kulturellen Eigenschaften besitzen.

Baerthlein hat neuerdings berichtet, daß er während einer dysenterieähnlichen Epidemie in Berlin 1911 in 4 Fällen Bacillen vorgefunden hat, welche auf den für die Typhusdifferentialdiagnose gebräuchlichen Nährböden als Typhusbacillen imponierten. Nutroshaltige Substrate, „Barsiekow I“, „Loeffler I“ und „Hetsch“ wurden koaguliert; morphologisch zeigten sie ein den Dysenteriebacillen ähnliches Verhalten, doch wurden sie weder von dem „Y-“, „Flexner-“ oder Shiga-Kruse-Serum noch vom Typhuserum agglutiniert, mit Ausnahme eines Stammes, der in der Verdünnung 1:100 vom „Y“-Serum, nicht aber von den übrigen Seris agglutiniert wurde. Da Baerthlein an die Möglichkeit dachte, daß es sich um schwer agglutinable gewöhnliche Dysenteriebacillenstämme handele, impfte er sie ein paar Mal um und agglutinierte sie wieder nach einiger Zeit mit fast demselben Resultat; es war nur ein anderer Stamm,

welcher jetzt im „Y“-Serum bis auf 100 agglutiniert wurde, während dies mit den erstgenannten nicht mehr der Fall war. Mit 3 Patientenseris wurde Agglutination in der Verdünnung 1:100 hervorgerufen, während 40 Normalsera in der Verdünnung 1:50 nicht agglutinierten. Einige mittels der 2 Stämme hergestellte Kaninchenimmunsera, deren Titer 1:1000 war, agglutinierten die anderen Stämme bis zur Titergrenze, nicht aber die Dysenteriebacillen der Typen „Y“, „Flexner“, „Strong“ oder „Shiga-Kruse“. Die Verfütterung lebender Kulturen ergab nichts Besonderes.

Später fand Baerthlein bei zwei anderen Patienten, die ähnliche Symptome darboten, ohne mit den vorigen in Berührung gewesen zu sein, ganz ähnliche Bacillen.

Baerthlein ist nun der Ansicht, daß dieser nicht vorher beschriebene Bacillus zu den Erkrankungen derjenigen 6 Personen, bei denen er vorgefunden worden ist, in kausalem Verhältnis stehe.

Als ich Ende des Jahres 1912, zu einem Zeitpunkt, wo meine Untersuchungen ihrer Vollendung nahe waren, auf die Baerthleinsche Arbeit aufmerksam wurde, und es mir möglich schien, daß dieser von Baerthlein gefundene Bacillus mit denjenigen der Gruppe III von mir gefundenen Bacillen eventuell übereinstimmen könnte, schrieb ich sofort an Baerthlein und erhielt von ihm liebenswürdigst ein Exemplar von einem der 6 Stämme zugeschickt. Bei der Untersuchung zeigte sich dieser Stamm nicht nur im Besitz der gewöhnlichen Merkmale aller Dysenteriebacillen, sondern auch imstande, folgende Reaktionen hervorzurufen:

Agglutination im Serum	„Helsingör“	(100)
„	„Frederikshavn“	(50)
„	117	(100)
„	„Aarhus“	500
„	725	< 50
„	168	< 50
„	1308a	< 50
Vergärung in Lackmusmolke	S ¹ -2((S)) ³ O ⁴ -6S ⁷ -21	
„	„Maltose	S ¹ -21
„	„Saccharose	O ¹ -6(R)7-21
„	„Dextrose	((S)) ¹ O ² -10

In jeder Beziehung stimmt also dieser Stamm mit den Bacillen der Gruppe III überein.

Was die Reaktionen auf den von Baerthlein angewandten Nährböden anlangt, durch welche sich sein Bacillus von den Dysenteriebacillen der Typen „Y“ und „Flexner“ (nämlich Koagulation in „Barsiekow I“, „Loeffler I“ und „Hetsch“) unterscheiden sollte, so habe ich zum Vergleich auch mit diesen Nährböden verschiedene Bacillienstämme geprüft (siehe Tabelle XII).

S = Säurebildung, K = Säurebildung + Koagulation, () = daß die betreffende Reaktion in weniger ausgesprochenem Grade vorhanden war.

Es ist leicht zu sehen, daß diese Reaktionen absolut keinen Beitrag zur Differenzierung der Gruppen liefern. Baerthlein hat ihnen auch keine absolute Bedeutung zugeschrieben, scheint aber nur hierdurch die Ähnlichkeit seines Bacillus mit dem Typhusbacillus hervorheben zu wollen, da die Dysenteriebacillen der Typen „Y“ und „Flexner“ in diesen Substraten meist dadurch von den letzteren abweichen, daß sie zwar Säure bilden, aber keine Koagulation hervorrufen.

Ich habe dies also nicht bestätigen können. Die einzige Ähnlichkeit zwischen den Typhusbacillen und den Bacillen der Gruppe III im Gegensatz zu den Bacillen der Gruppen I und II ist diejenige, daß die letzteren selten in 24 Stunden Maltose vergären, während Typhusbacillen dies immer und die Bacillen der Gruppe III fast immer tun.

Daß überhaupt nur eine außerordentlich geringfügige Bedeutung für die Diagnostik der Bacillen den Reaktionen der Zucker-Nutrosesubstrate zugeschrieben werden darf, zeigt übrigens unter anderem deutlich eine jüngst von Dithorn veröffentlichte Arbeit, aus welcher z. B. hervorgeht, daß derselbe Typhusbacillus bald Koagulation erzeugt, bald nicht.

Baerthlein gibt an, daß sein Bacillus Milch nicht koaguliert. Der mir von Baerthlein zugeschickte Bacillus koagulierte Milch auf gleiche Weise wie die Bacillen der Gruppe III. Dies zeugt wieder von der Wertlosigkeit dieser Prüfung.

Die Lackmusmolkenvergärung, die ich für diese Bacillen als in hohem Grade charakteristisch fand, hat Baerthlein nicht näher untersucht.

Tabelle XII.

Gruppe und Stamm	Barsiekow I	Loeffler I	Hetsch
I. „Y“	(S)	K	(S)
I. „Helsingör“	S	K	S
I. 175	(S)	K	S
I. Rg. 150	K	K	K
II. „Flexner“	(S)	K	(S)
II. „Frederikshavn“	K	K	(K)
II. „Nysted“	K	K	K
II. Rg. 216	K	K	K
III. „Baerthlein“	S	K	K
III. „Aarhus“	(K)	K	(S)
III. „Bogense“	S	—	(S)
III. B. 20	S	K	S
V. „Diakonisse“	(S)	K	(S)
VI. B. 179	(S)	K	(S)
VII. 117	K	K	K
VII. 208	S	K	S

Was die Virulenz der Bacillen für Tiere anlangt, so zeigen sich Kaninchen etwas mehr empfänglich für Einspritzung von lebenden oder getöteten Kulturen dieser Bacillen als für eine solche mit Bacillen der Gruppen I und II. Nach der Einspritzung dieser Kulturen tritt übrigens eine beträchtliche Abmagerung der Tiere ein. Die Giftigkeit der Shiga-Kruse-Bacillen für Kaninchen besitzen sie aber bei weitem nicht. Diese Beobachtungen stimmen ganz mit denen Baerthleins überein. Er hat festzustellen versucht, eine wie große Menge von Bacillen ein Kaninchen von einer bestimmten Größe vertragen kann, hat aber sehr beträchtliche Schwankungen bei den verschiedenen Kaninchen vorgefunden.

Gruppe VII.

Keine der angegebenen 7 Dysenteriebacillen fallen unter die Gruppe VII, und die Literatur enthält — meines Wissens — keine Angabe, daß Bacillen dieser Gruppe vorher beschrieben worden sind. Die Bacillen wurden alle zu derselben Zeit während einer Shiga-Kruse-Epidemie in Thisted 1911 bei vier verschiedenen Personen vorgefunden, die vermutlich mit den Patienten in Berührung gekommen waren, ohne daß sie selbst sichere Krankheitserscheinungen dargeboten hatten. Es ist mir leider nicht möglich gewesen, ganz erschöpfende Aufschlüsse über diese Individuen herbeizuschaffen, da unser Interesse damals besonders von den Patienten, die an der Shiga-Kruse-Epidemie litten, in Anspruch genommen wurde. In den seit damals verlaufenen 1½ Jahren habe ich nie weder bei gesunden noch bei kranken Individuen ähnliche Bacillen vorgefunden, obgleich meine Aufmerksamkeit stets darauf gerichtet gewesen ist, und ich seit jener Zeit Faecesproben von mehr als 1000 Individuen untersucht habe.

Diejenigen Bacillen, welche in kultureller Beziehung (durch Lackmusmolke-, Maltose- und Rhamnosevergärung) von der Gruppe III nicht unterschieden werden können, stehen sonst von allen Gruppen schar abgetrennt, indem sie überhaupt in den mit diesen Stämmen erzeugten Seris nicht agglutiniert wurden. Merkwürdigerweise werden dagegen viele Bakterien der übrigen Gruppen von dem homologen Serum dieser Gruppe gewissermaßen agglutiniert, was bei der Gruppe II besonders deutlich der Fall ist.

Da die Bacillen der Gruppe VII ausschließlich bei Individuen, die keine krankhaften Symptome darboten, vorgefunden worden sind, ist

a priori nichts vorhanden, was auf ihre Pathogenität deuten könnte; und es läßt sich deshalb auch nicht mit Recht vermuten, daß sie Dysenteriebacillen seien.

Konrich hat im Jahre 1908 einen sonderbaren Bacillus beschrieben, den er während einer Shiga-Kruse-Epidemie in Triptis in Deutschland bei einem Individuum vorfand, welches vermutlich Bacillenträger war, obgleich seine Entleerungen damals normal waren. Der Bacillus verhielt sich in kultureller Beziehung wie ein „Flexner“-Bacillus, d. h. er vergor Mannit und Maltose, wurde aber nicht in „Flexner“-Serum, sondern bis zur Titergrenze in dem Shiga-Kruse-Serum agglutiniert. Die Bacillen der Gruppe VII, die also erstens dadurch, daß sie während einer Shiga-Kruse-Epidemie vorgefunden worden sind, und zweitens dadurch, daß sie Mannit und Maltose in 24 Stunden vergären, und drittens dadurch, daß sie in Flexnerschen Sera gar nicht agglutiniert werden, diesem Bacillus vollständig ähnlich sind, werden dagegen in Shiga-Kruse-Serum nicht agglutiniert. Zufälligerweise besaß das Seruminstitut den Konrichschen Stamm, welcher auf ähnliche Weise wie die anderen Bacillen untersucht wurde. Es stellte sich auch jetzt heraus, daß er auch Maltose in 24 Stunden zu vergären vermochte und in Shiga-Kruse-Serum bis zur Titergrenze agglutiniert wurde, während ihn das Serum „Helsingör“ und „Frederikshavn“ nicht agglutinierte. Das der Gruppe VII entsprechende Serum 117 agglutinierte er nur bis 1:50, und in Lackmusmolke wies die Vergärung einen Verlauf auf, welcher der Gruppe I und II entsprach. Es unterliegt danach keinem Zweifel, daß der Bacillus weder mit den Bacillen der Gruppe VII noch überhaupt mit einigen der von mir gefundenen Bacillen identisch ist.

Gruppe VIII und IX (B. 168 und 1308a).

Beide Stämme (B. 168 und 1308a) weichen in kultureller Beziehung von allen übrigen Stämmen dadurch ab, daß sie eine üppige gelbliche Oberflächenausbreitung auf Kartoffeln hervorrufen, während die anderen nur ein ganz schwaches Wachstum aufweisen. Was die Agglutination betrifft, so sind sie vollständig ungleich den anderen Stämmen, und es finden sich — meines Wissens — keine pathogenen Bakterien dieser Art in der Literatur beschrieben.

B. 168 ist in den grünen schleimigen Entleerungen eines 4-monatigen Kindes mit Gastroenteritis vorgefunden. Das Serum des Patienten agglutinierte diesen Bacillus nicht in der Verdünnung $\frac{1}{25}$.

Der Stamm 1308a wurde in dem Harn eines Typhusrekonvaleszenten nachgewiesen.

Da die Pathogenität dieser 2 Bakterien nicht ohnehin vorauszusetzen ist, liegt auch hier kein Grund vor, sie als Dysenteriebacillen aufzufassen.

Zusammenfassung und weitere Darlegung der bei der bakteriologischen Untersuchung erzielten Resultate.

Bei 75 verschiedenen Individuen habe ich Bacillenstämme isoliert, deren morphologische und kulturelle Eigenschaften mit denjenigen übereinstimmen, durch welche giftarme Dysenteriebacillen im allgemeinen charakterisiert werden.

Diese 75 Stämme teilen sich der Agglutination nach — und zum Teil auch den kulturellen Eigenschaften nach — in 9 Gruppen.

Teils durch Vergleich dieser Bacillen mit bekannten Dysenteriebacillen, teils durch meine eigenen Untersuchungen über ihre Pathogenität und ihr Vermögen, eine Erkrankung mit dysenterischen Symptomen hervorzurufen, ist es mir gelungen nachzuweisen, daß

die Bacillen der 3 ersten Gruppen (I, II und III) giftarme Dysenteriebacillen sind.

Die Bacillen der 3 nächsten Gruppen (IV, V und VI), die alle drei nur je 1 Bacillenstamm enthalten, habe ich

nicht mit Sicherheit als Dysenteriebacillen ansprechen können; da sie aber in vielen Beziehungen inagglutinablen Dysenteriebacillen ähnlich sind, habe ich es jedoch für richtig befunden, sie — praktisch gesprochen — als solche aufzufassen. Es ist zu vermuten, daß sie in der Tat in die Gruppe I oder II gehören.

Was die Bacillen der 3 letzten Gruppen (VII, VIII und IX) betrifft, so liegt sowohl in bezug auf ihre eventuelle Pathogenität als bei Vergleich mit bekannten Dysenteriebacillen, absolut nichts vor, was darauf deuten könnte, daß sie als Dysenteriebacillen aufzufassen wären. Die Bacillen der Gruppe VIII und IX geben außerdem ein von den Dysenteriebacillen abweichendes Wachstum auf Kartoffeln.

Da es bei Durchsicht der Literatur nicht möglich war festzustellen, inwieweit schon andere Verfasser bewiesen haben, daß es andere Typen von giftarmen wie die schon besprochenen 7 Bacillenstämme gab, und da alle diese 7 Stämme unter die Gruppen I und II gehören, gelangte ich in Verbindung mit den übrigen Ergebnissen der Untersuchung zu folgender Ansicht:

1) Wenn andere Verfasser meinen, daß sich unter den früher bekannten giftarmen Dysenteriebacillen 3 („Flexner“, „Y“ und „Strong“) oder mehrere (z. B. Kruse wenigstens 8, und Winter wenigstens 15) verschiedene Arten vorfinden, so müssen diese Bacillen entweder nur 2 Gruppen zugeschrieben werden; oder man wird kaum zugeben dürfen, daß es endgültig bewiesen ist, daß die gefundenen Bacillen Dysenteriebacillen sind.

2) Es finden sich nämlich Bacillen (Gruppe VII), welche (auch wenn das Wachstum auf Kartoffeln mitgerechnet wird) in morphologischer und kultureller Beziehung von Dysenteriebacillen absolut nicht zu unterscheiden sind und demnach nicht als solche aufgefaßt werden können.

3) Da die Immunsera solcher Bacillen Mitagglutination mit bekannten Dysenteriebacillen geben können, bleibt auch die Mitagglutination ohne entscheidende Bedeutung für die Diagnostik der Dysenteriebacillen.

4) Ohne starke Agglutination (bis zur Titergrenze) mit einem bekannten Immunserum ist es nicht möglich, einen gefundenen Bacillus als Dysenteriebacillus zu identifizieren.

5) Da Dysenteriebacillen leicht inagglutinabel oder nur in geringerem Grade agglutinabel werden, kann man gelegentlich Bacillen nachweisen, welche erst nach längerer Beobachtung als Dysenteriebacillen zu diagnostizieren sind; ja es liegt die Möglichkeit vor, daß man überhaupt nicht zu dieser Erkenntnis gelangen kann, sondern sich damit begnügen muß, eine mehr oder weniger wohlbegründete Vermutung auszusprechen.

Es liegt — meiner Meinung nach — der Gedanke sehr nahe, daß die Ursache der häufigen Inagglutinabilität, und der kleineren Schwankungen des Agglutinationsvermögens der Dysenteriebacillen darin zu

suchen ist, daß diese Bacillen sehr geneigt sind, Involutionsformen¹⁾ zu bilden. In Zusammenhang mit den Veränderungen, welche in verschiedenen Kulturen desselben Stammes bald nur wenige und bald zahlreiche Bacillen Abweichungen in morphologischer Beziehung und in bezug auf die Wachstumsweise aufweisen, wird vielleicht auch die Agglutinabilität schwanken.

6) Die Bacillen der Gruppe III sind als giftarme Dysenteriebacillen aufzufassen, obgleich ähnliche Bacillen nicht vorher mit Sicherheit als solche erkannt worden sind.

7) Auf den Kartoffeln, die mir zur Verfügung standen, haben alle Dysenteriebacillen dasselbe ganz schwach glänzende unbedeutende Wachstum aufgewiesen.

8) Da die Maltose- und Saccharosevergärung nur bedingte, aber nicht absolut konstante Verhältnisse aufweist, ist das Gärungsvermögen der Dysenteriebacillen diesen Nährböden gegenüber ohne entscheidende Bedeutung für die Gruppierung, da man dadurch, und zwar auch bei der Untersuchung frisch isolierter Stämme, zu ganz falschen Resultaten gelangen kann.

In der Tat läßt sich der *Bacillus Flexner* ungedrungen in eine Gruppe von Dysenteriebacillen einreihen, welche eben in der Regel in Maltosesubstraten keine Säure bilden; der untersuchte Strongische *Bacillus* weicht in keiner Beziehung von dem „Flexnerischen *Bacillus*“ ab.

9) Nur eine der untersuchten Vergärungsprüfungen — nämlich die in der Lackmusmolke — hat konstante Verhältnisse aufgewiesen; es zeigt sich hier eine typisch verlaufende Reaktion für die Bacillen der Gruppe III, die verschieden ist von derjenigen bei der Gruppe I und II. Diese letzteren lassen sich überhaupt nicht durch irgendwelche kulturelle Prüfung, sondern nur durch die Agglutination unterscheiden.

Die Bacillen des neuen Typus (Gruppe III) sind früher nur von Baerthlein nachgewiesen worden, welcher sie 6mal bei Individuen mit dysenterischen Krankheitserscheinungen angetroffen hat.

Es treten bei diesem *Bacillus* 3 charakteristische Farbumschläge in Lackmusmolke ein; im Gegensatz zu dem bisher bekannten, bei denen nur ein zweimaliger Umschlag, nämlich zunächst eine leichte Säurebildung und dann Alkalibildung, eintrat.

Daß die früher bekannten giftarmen Dysenteriebacillen diesen alkalischen Umschlag in Lackmusmolke geben, ist schon auch einzelnen anderen Verfassern bekannt gewesen; doch haben die meisten, die überhaupt Lackmusmolke bei der Diagnose benutzt haben, die Vergärung im Verlaufe zu weniger Tage beobachtet. Shiga, Flexner und seine Schüler, Avelin, Boycott und Macdonald, Liefmann und Nieter, Schroeter und Gutjahr und Winter haben indessen eine so lange Beobachtungszeit gehabt, daß sie den Umschlag vom Sauren ins Alkalische gesehen haben, und ihn als charakteristisch für ihre Dysenteriebacillen anführen. Insbesondere scheinen

1) Baerthlein, Schroeter und Gutjahr, Winter u. m. a. haben früher diese Neigung der Dysenteriebacillen besprochen. Baerthlein sieht diese Erscheinung als Mutation an.

Flexner und seine Schüler diese Eigentümlichkeiten allgemein beim Aufsuchen der Dysenteriebacillen benutzt zu haben.

Daß kein Autor vor dem Jahre 1911 die Bacillen des neuen Typus bei den zahlreichen Untersuchungen von dysenterischen Entleerungen, die im Laufe der vergangenen Zeit vorgenommen worden sind, beobachtet und als Dysenteriebacillen gedeutet hat, muß selbstredend Erstaunen erwecken, und zwar besonders mit Rücksicht auf die große Zahl von Fällen, in denen ich derartige Keime vorgefunden habe. Ganz unbekannt werden die Bacillen kaum gewesen sein; es sei überhaupt auf folgende Umstände hingewiesen:

1) Bei dem von vielen Verfassern empfohlenen und angewandten Verfahren bei der Untersuchung der als Dysenteriebacillen verdächtigen Kolonien auf der Agarplatte nach Ausstreichen von Faeces verfährt man so, daß nur diejenigen Kolonien, deren Bakterien gleich von der Platte mikroskopische Tropfenagglutination in bestimmten Verdünnungen geben, einer weiteren Untersuchung unterworfen werden, während diejenigen Kolonien, deren Bakterien hier nicht agglutiniert werden, überhaupt nicht in Betracht gezogen werden. Selbstredend wird man unter diesen Bedingungen in keinem Falle Bakterien der neuen Gruppe vorfinden können.

2) Nach den Beschreibungen zu urteilen, scheinen viele Verfasser ohne Zweifel mehrmals diese Bacillen in Dysenteriefällen vorgefunden zu haben; doch haben sie entweder ohne weiteres dieselben als Dysenteriebacillen aufgefaßt, indem sie in morphologischer und kultureller Beziehung von gegebenen Dysenteriebacillen nicht zu unterscheiden gewesen sind, oder sie haben im Gegenteil nicht gewagt, diesen Bakterien pathogene Bedeutung zuzuschreiben, da sie trotz großer Aehnlichkeit mit den gekannten Dysenteriebacillen nicht völlig übereinstimmten.

Es fußt dann eine derartige Vermutung sowohl auf der Darlegung der Agglutinationsverhältnisse als auch — und besonders — auf der abweichenden Vergärung der Lackmusmolke, die von einzelnen Verfassern sehr ausführlich beschrieben worden ist.

Daß Flexner und seine Schüler bei den im Jahre 1905 angestellten und sehr umfangreichen Untersuchungen der Entleerungen mehrerer Hunderter von Kindern, die unter dem Verdacht standen, mit Dysenteriebacillen infiziert zu sein — wie es anderswo ausführlich beschrieben werden soll — niemals diese Bakterien beobachtet haben sollten, wäre kaum denkbar, ohne daß man zu der a priori sehr unwahrscheinlichen Vermutung seine Zuflucht nehmen müsse, daß speziell diese Bacilleninfektion in Amerika nicht vorkommt. In der Tat zeigt es sich nun auch, daß mehrere Untersucher ohne Zweifel mehrmals mit diesen Bacillen in Berührung gewesen sind, ohne Stellung zur Bedeutung derselben genommen zu haben. Dies gilt so z. B. Duval und Shorer, Gay und Stanton, sowie Kendall, die alle mehrmals Bacillen vorgefunden haben, die bei der Vergärung in Lackmusmolke von den gekannten Dysenteriebacillen abwichen und darum nicht als solche aufgefaßt wurden. Wenn von diesen Bacillen mit den 3 Umschlägen in Lackmusmolke bemerkt wird, daß sie in den gebräuchlichen Dysenterieimmunsera oft recht beträchtlich agglutiniert werden, so darf diesem Umstande keine Bedeutung beigemessen werden, da die Agglutinationsergebnisse dieser Verfasser sicher als recht wertlos betrachtet werden müssen. Dies beruht darauf, daß sie zu den Agglutinationsversuchen das zu diesem Zwecke weniger brauchbare Pferdeimmenserum benutzt haben. Wie es von mehreren Verfassern (Händel, Eisenberg und zum Teil auch Gay) nachgewiesen worden ist, ist dieses Serum wegen der häufig darin enthaltenen reichlichen Normalagglutinine bei der Diagnostik der Dysenteriebacillen nicht anwendbar.

Was die Bacillen mit den 3 Umschlägen in Lackmusmolke betrifft, so bemerkt Flexner in seiner Zusammenfassung der Untersuchungen seiner Mitarbeiter, daß diese Bacillen eventuell auch als Dysenteriebacillen aufzufassen sind, daß es aber anderen künftigen Untersuchern vorbehalten sein muß, dies festzustellen.

Kurz nachher werden die Bacillen von einem anderen amerikanischen Verfasser, Torrey, beschrieben, der sie in 6 Fällen von Enteritis bei Kindern vorgefunden hat. Er zeigt, daß sie in agglutinatorischer Beziehung tatsächlich von den gekannten Dysenteriebacillen abweichen, und vermutet, daß sie als Pseudodysenteriebacillen aufgefaßt werden müssen. Doch gelingt es auch ihm nicht, die Pathogenität der Bacillen festzustellen.

Unter den Verfassern, die auch möglicherweise diese Bacillen beobachtet haben, seien Doerr, Hilgermann, Morgan, Leiner,

Böse, Lösener, Koponaris, Langiorgi und Bangiomnini genannt; sie haben alle Bacillen vorgefunden, die in morphologischer und kultureller Beziehung Dysenteriebacillen ähnlich sind, die aber wegen des vollständigen Mangels an Agglutination in Dysenteriebacillenserum entweder nicht als solche diagnostiziert werden können (Doerr, Morgan, Hilgermann), sondern atypische Coli-Bacillen sind (Doerr) oder, wie es von Flexner behauptet wird, vielleicht als Dysenteriebacillen aufgefaßt werden müssen (Leiner, Langiorgi und Bangiomnini), was erst künftige Untersucher vielleicht werden entscheiden können (Leiner). Lösener, der zwei von ihm sogenannte „Flexner“-Stämme findet, die weder von dem Typus „Y“ noch dem „Strong“ oder „Flexner“ agglutiniert werden, ist deshalb der Ansicht, daß vieles in der Bakteriologie der Dysenteriebacillen noch unaufgeklärt sei; und Koponaris behauptet auf Grundlage zweier von ihm gefundenen „Flexner“(?)-Bacillen, daß die Agglutinationsreaktion für die Diagnostik der Dysenteriebacillen ganz wertlos ist.

Unter den oben genannten europäischen Verfassern scheint Leiner allein den Verlauf der Vergärung durch längere Zeit beobachtet zu haben. In der Besprechung seiner sogenannten „atypischen“ Dysenteriebacillen bemerkt er, daß Lackmusmolke zum Schluß dauernd sauer bleibt, was eben sagen will, daß hier eine Vergärung vorliegt, die derjenigen der Bacillen des neuen Typus entspricht.

Ob sich diese Bacillen unter den vielen Gruppen Kruses vorfinden, darüber kann ich mich nicht aussprechen. Eine seiner Gruppen will er durch fehlende Indolbildung charakterisiert sehen; da aber solche Bacillen auch gelegentlich unter den wohlbekannteren „Y“-Dysenteriebacillen vorkommen können, und da diese Gruppe (E) doch auch eine gewisse Mitagglutination mit anderen Gruppen gemein hat, so scheinen diese Bacillen kaum mit denjenigen der Gruppe III übereinzustimmen¹⁾.

Viel eher wird dies mit zwei von Böse in Ostasien gefundenen Stämmen der Fall sein. Auch sie gaben keine Indolbildung und wurden von Kruse, dem sie zugeschickt waren, als Pseudodysenteriebacillen diagnostiziert, wenn auch von einem anderen Typus, als die früher von ihm beschriebenen, da sie in keinem seiner Sera agglutiniert wurden.

Es geht also alles in allem aus den verschiedenen Beobachtungen hervor, daß man diesem neuen Bacillen-

1) Soeben ist von einem der Mitarbeiter Kruses, Hutt, eine Mitteilung über mehrere neu gefundene Dysenteriebacillen, die er nach der Kruseschen Methode einteilt, erschienen. Er hat unter anderem einige von Baerthleins Bacillen zur Untersuchung gehabt; die meisten der Kruseschen Bacillen aus dem Jahre 1907 sind jetzt abgestorben, und es sind keine übrig, die mit denen Baerthleins übereinstimmen. Der Immunitätsreaktion nach meint er jedoch, daß die Bacillen mit denjenigen der Gruppe E identisch sind. Eine solche schwache Mitagglutination, die Baerthlein und ich bisweilen, aber ganz inkonstant bei einzelnen der Bacillen in den „Y“ und „Flexner“-Seris beobachtet haben, ist dann vermutlich zufälligerweise für die 4 E Bacillen vorhanden gewesen zu der Zeit, als Kruse sie in agglutinatorischer Beziehung untersuchte. Uebrigens bemerkt Hutt, daß Baerthleins Bacillen sehr leicht spontan agglutinabel werden; vermeintlich wird Hutt das oft etwas klumpige Wachstum sowie den reichlichen Niederschlag, die ich als charakteristisch für die Kulturen, wenn sie inagglutinabel sind, beschrieben habe, als Spontanagglutination auffassen. Ob man diese Bezeichnung bevorzugen soll, ist natürlich Geschmacksache.

Wie früher bemerkt, läßt es sich nicht zugeben, daß Kruse je eine Andeutung von Beweis geliefert hat, daß die E-Bacillen Dysenteriebacillen sind.

typus auf der Spur gewesen ist; es hat aber eine Weile gedauert, bis er als solcher diagnostiziert wurde.

Wie aus den Arbeiten von Lösener und Koponaris hervorgeht, scheint es mir nicht unwahrscheinlich, daß Bacillen dieses neuen Typus in vielen Fällen als „Flexner“-Bacillen gedeutet und vielleicht sogar überdies zur Herstellung der sogenannten „Flexner“-Sera angewandt worden sind; dies mag eventuell von größter Bedeutung gewesen sein und vielleicht die absprechenden Aeußerungen vieler Verfasser in bezug auf die Agglutinationsreaktion in der Dysenteriebacillendiagnostik gewissermaßen verursacht haben.

Wie aus einer an anderer Stelle¹⁾ veröffentlichten Arbeit über die Klinik und Epidemiologie der Infektionen hervorgehen wird, habe ich zahlreiche Fälle nachweisen können, wo Infektion mit giftarmen Dysenteriebacillen vorhanden war, ohne daß je von größeren Epidemien die Rede gewesen ist. Ich habe fast ausschließlich nur zerstreute sporadische Fälle, die häufig wenig an klinische Dysenterie erinnern haben, beobachtet; bisweilen sind zwar auch Fälle erschienen, die typische sogar ernsthafte Dysenteriesymptome aufwiesen, meistens hat es sich aber nur um eine ganz vorübergehende, oft nicht einmal blutige Diarrhöe, fast ohne Spur von Allgemeinleiden, gehandelt. Da es also wegen der relativen Ungefährlichkeit der Infektion nicht als notwendig, und wegen der Menge der Fälle überhaupt auch nicht als durchführbar anzusehen ist, diese Infektion nach den in den meisten Ländern geltenden Gesetzen für Dysenterieepidemien zu behandeln, dürfte es im höchsten Grade notwendig scheinen, andere Benennungen als Dysenterie und Dysenteriebacillen anzuwenden. Die Gefahr, eine Terminologie zu ändern, ist in diesem Falle nicht so groß, weil doch ein bestimmter Name noch nicht angenommen ist. Pseudodysenterie (und Pseudodysenteriebacillen) scheinen uns nicht brauchbar, da sehr wohl auch klinisch echte Dysenterie durch die Infektion mit diesen Bakterien bedingt sein kann.

Dagegen scheinen mir die Namen Paradyenterie und Paradyenteriebacillen viel eher brauchbar, und zwar deshalb, weil bei dieser Infektion das Verhältnis des Krankheitsbildes zu dem der wirklichen Dysenterie (Shiga-Kruse) in der Regel ganz dasselbe ist, wie das des Paratyphus zum Typhus. Ebenso wie Paratyphus gelegentlich in schweren typhusähnlichen Fällen auftritt, so kann auch Paradyenterie mitunter ganz an Dysenterie erinnern; aber Paratyphus wie auch Paradyenterie sind in der Regel sehr viel milder verlaufende Infektionen als wie Typhus und Dysenterie (Shiga-Kruse). Wenn wirklich bakteriologisch, klinisch und epidemiologisch ein charakteristischer Unterschied zwischen echter Dysenterie (Shiga-Kruse) und Paradyenterie vorliegt, wäre es auch, in Uebereinstimmung mit den gegenwärtigen Ansichten, eine Krankheit nach ihrer Aetiologie zu benennen, passend, diesen Tatsachen bei der Benennung der Krankheit Ausdruck zu geben. Daß Kruse und seine Schüler mit diesem Namen ganz andere, vielleicht gar nicht pathogene Bacillen belegt haben, ein paar Jahre nachdem der Name vorgeschlagen war (Park, Liefmann und

1) Zeitschr. f. klin. Med.

Nieter u. a.) macht ihn nicht weniger brauchbar, ebensowenig wie der — jedenfalls in klinischer Beziehung ganz unwesentliche — Umstand, daß Paratyphusbacillen in Glukosenährböden Gas produzieren, was bei Typhusbacillen ja nicht der Fall ist, während sowohl Dysenteriebacillen (Shiga-Kruse) als auch Paradynteriebacillen kein Gas entwickeln.

In Fällen, wo Paradynterie in größeren Epidemien auftritt, und wo der Nachweis der Infektionsquelle schwierig sein wird, lassen sich in ähnlicher Weise strenge Maßregeln treffen, wie man sie oft bei Paratyphusepidemien oder ähnlichen Infektionen ergreift.

Angaben der in dem Verzeichnis von Lentz: „Dysenterie“ (Handbuch der path. Mikroorganismen, Kolle-Wassermann, 1913) nicht angeführte Literatur.

Baerthlein, Ueber neuere bakteriologische Befunde bei Ruhrerkrankungen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 16.)

Christiansen, Mutationsartige Aendringer i Gaeringsevnen hos paracoli og Kød-forgiftningsbakterier. (Oversigt over det Kgl. Danske Videnskab. Selsk. Forhandl. 1912. No. 1.)

Ditthorn, Verhalten der Typhus- und Typhus-ähnlichen Bacillen zu verschiedenen Zuckerarten und diesen nahestehenden mehratomigen Alkoholen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913.)

Dreyer and Douglas, On the absorption of agglutinin by bacteria and the application of physico-chemical laws thereto. (Proceed. Royal Soc. Biol. Vol. 82. 1910.)

Madsen and Jörgensen, The fate of the typhoid and cholera agglutinins during active and passive immunisation. (Festskrift ved Indvielsen af Statens Serum-Institut. København 1902.)

Hutt, Neuere Beiträge zur Kenntnis der Pseudodysenterie und Paradynterie, sowie sogenannte Mutation. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 74. 1913. p. 108.)

Langiorgi u. Bangiomnini, Eine Bacillenseuche in Piemont. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. p. 37.)

Nachdruck verboten.

Ueber bei der Diagnose der Rattenpest Schwierigkeiten bereitende Bakterien.

[Aus dem Laboratorium des Gemeindl. Gesundheitsamtes in Amsterdam (Direktor: Dr. H. G. Ringeling).]

Von

Dr. N. H. Swellengrebel

und

H. W. Hoesen

Privatdozent,

Assistent,

am Hygienischen Institut der Universität Amsterdam.

Mit 2 Figuren

Am 5. Oktober 1911 wurde auf dem Dampfer „Rynland“ aus Buenos-Aires ein auffallendes Rattensterben konstatiert. Unter 160 tot aufgefundenen Ratten zeigten 8 eine Vergrößerung und zum Teil auch eine Vereiterung der inguinalen Lymphdrüsen, geschwollene, teilweise auch granulierende Milz, hämorrhagische Pleuritis und Peritonitis und hyperämische Cervicaldrüsen. In den Ausstrichpräparaten der Milz (Färbung mit Löfflerschem Methylenblau) wurden bipolar gefärbte, gramnegative, pestähnliche Bakterien aufgefunden.

Die Beantwortung der Frage, ob hier Rattenpest vorlag, wurde erschwert durch den Umstand, daß man bei der Diagnose dieser Krankheit mit der Existenz einer Reihe von Bakterien zu rechnen hat, die man unter dem Namen „Pseudopestbakterien“ zusammenfaßt. Diese Organismen können Schwierigkeiten bereiten in einem der 3 Stadien der bakteriologischen Diagnose der Rattenpest, nämlich 1) bei der anfänglichen Untersuchung der verdächtigen Rattenkadaver, 2) bei der kulturellen Untersuchung und 3) beim Tierversuche. Diese Schwierigkeiten entstehen dadurch, daß diese Pseudopest-Bakterien in einem dieser 3 Stadien der Untersuchung Eigenschaften aufweisen, welche eine Unterscheidung von den authentischen Pestbacillen schwierig oder unter Umständen unmöglich macht.

Die Tatsache, daß man im Laboratorium meistens nach einigen Tagen bei den isolierten Organismen Eigenschaften entdeckt, welche die Unterscheidung der Pseudopestbakterien von den echten Pestbakterien ermöglichen, verringert die praktische Schwierigkeit eines Falles, wie jenes, den wir oben angedeutet haben nicht, da der Bakteriologe verpflichtet ist, den Behörden umgehend das vorläufige Resultat seiner Befunde mitzuteilen. Eine solche umgehende Meldung ist dringend geboten, wie auch aus folgender Bemerkung von Dunbar und Kister (1904), zwei erfahrenen Männern auf dem Gebiete des sanitären Hafendienstes, hervorgeht: „In Fällen, wo die Sektion pathologisch-anatomische Veränderungen ergibt, wie sie bei Pestratten vorkommen, wo namentlich in den Organen der Ratten sich Bakterien finden, die sich in Form und Färbbarkeit wie Pestbakterien verhalten, erheischen es die Interessen des Handels sowohl als auch der öffentlichen Sicherheit, daß der Bakteriologe den zuständigen Behörden unverzüglich Meldung macht“. Wir wollen die praktischen Folgen dieser Meldung hier nicht näher besprechen, sondern nur betonen, daß es von allergrößter Wichtigkeit ist, diese Pseudopestbakterien so genau wie möglich kennen zu lernen, um sie unverzüglich von den echten Pestbakterien zu differenzieren.

Ueberall, wo eine regelmäßige Ueberwachung der Schiffsratten stattgefunden hat, hat man diese Pseudopestbakterien gefunden. Aus den Berichten des Hamburger Hafens (Dunbar und Kister 1904, Kister und Schmidt 1904, Trautmann 1906, Kister 1906), aus London (Klein 1902), aus den Rapporten der kleinen Suffolker Pestepidemie (Petrie und Macalister 1911) und aus den Britisch-Indischen Pest-rapporten (1908) kann man verschiedene Daten entnehmen, die mehr oder weniger direkt auf die Pseudopestbakterien Beziehung nehmen.

Diese Organismen gehören im allgemeinen drei verschiedenen Gruppen an:

1) Die Bakterien der Gruppe „Enteritis Gärtner“ (hierher gehören auch die verschiedenen „Rattenschädlinge“ von Danysz, Issatschenko, Loeffler usw.) und der „Coli“-Gruppe. Diese Organismen sind durch ihr Vermögen, in zuckerhaltigen Medien Gas zu bilden, von den echten Pestbakterien zu unterscheiden. Morphologisch sind sie aber durch die Polarfärbung und die negative Gramfärbung den Pestbacillen oft täuschend ähnlich (zumal im Tierkörper).

2) Die Bakterien der „hämorrhagischen Septikämie“, welche schon mehr Eigenschaften wie die Organismen der vorigen Gruppe mit den Pestbacillen gemein haben. Sehr schwierig, bisweilen sogar unmöglich, ist die Differentialdiagnose zwischen Pestbacillen und:

3) *Bacillus pseudotuberculosis rodentium* von Pfeiffer, die man nach Zlatogoroff (1904) nur durch die Präzipitationsreaktion mit Mikrobenfiltrat und Antipestserum erbringen kann. Petrie und Macalister (1911) geben allerdings noch einige Zuckerreaktionen an, die bei der Differentialdiagnose Verwendung finden können.

Wir wollen hier die Resultate unserer Untersuchungen über die Ursachen des im Anfange dieser Arbeit erwähnten Rattensterbens mitteilen, dann noch einige andere Befunde über Pseudopestbakterien erwähnen und zum Schlusse die kulturellen und anderen Eigenschaften dieser verschiedenen Stämme zur besseren Uebersicht in tabellarischer Form wiedergeben.

Stamm „Rynland II“. Die Bacillen aus den toten Ratten, die im Dampfer „Rynland“ aufgefunden wurden, zeigten sich, wie gesagt, als bipolar sich färbende, gramnegative Stäbchen von 1,2—2,1 μ Länge und 0,45—0,6 μ Breite. Die kulturellen Eigenschaften (s. Tabelle 1 u. 2) deuteten auf eine Verwandtschaft mit *B. coli* hin, von welchem Bakterium *B. Rynland* sich aber unterscheidet durch die langsame Koagulation der Milch, durch Gasbildung aus Glyzerin und durch das Ausbleiben der Entfärbung der Inulin-Lackmus und Galaktose-Lackmus-Bouillon.

B. Rynland II war anfänglich hochvirulent, doch konnten die Versuchstiere bei kutaner Impfung nicht getötet werden. Bei subkutaner Impfung kleinster Teilchen der Milz der verstorbenen Ratten starben Meerschweinchen in 3—5 Tagen, wobei (neben lokalen Erscheinungen von Entzündung) Hyperämie der Darmwand, große, gelbweiße Knoten in der geschwollenen Milz und eine gelblichweiße Granulation der Leber auftrat. Bisweilen fanden wir Petechien in der Wand des Colons und Hämorrhagien der Pleura pulmonum. *B. Rynland* fand sich in allen Organen in großer Zahl vor, auch im Eiter der Impfstelle; dort waren die Stäbchen aber dünner (1,95—2,3 μ lang und 0,3—0,45 μ breit).

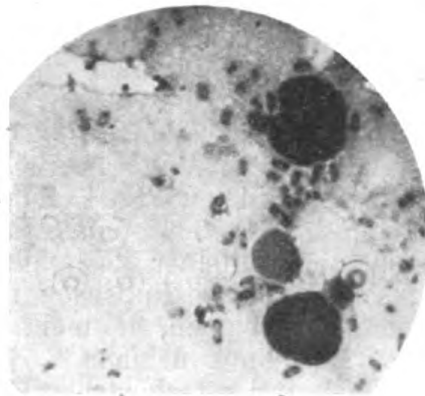


Fig. 1. *B. Rynland II*.

Beim Fortzüchten verlor das Bakterium schnell seine Virulenz. Doch waren Mäuse noch durch intraperitoneale Impfung von $\frac{1}{2}$ ccm einer Aufschwemmung einer Agarkultur in wenigen Stunden zu töten. Die Erscheinungen stimmten überein mit jenen, die bei der Impfung mit *Bac. Eemland* (siehe diese) erhalten wurden, nur war die Pleuritis

und Peritonitis bisweilen deutlicher hämorrhagisch und es fanden sich Schwellungen der Submaxillardrüsen vor. Meerschweinchen, die mit der Milz solcher Mäuse geimpft wurden (die immer von Bakterien wimmelte), zeigten eine lokale, purulente Reaktion, wobei *B. Rynland* (dünne Form) wieder nachzuweisen war. Die Tiere blieben am Leben oder starben nach 12—14 Tagen mit stark hyperämischem Peritoneum, Darmwand und Pleura, ohne daß aber Bakterien in den Organen nachzuweisen

waren. Subkutane oder intraperitoneale Impfung mit Bacillen aus Reinkulturen töteten die Meerschweinchen nicht, dieses gelang aber, wenn man mehrere Male kurz nacheinander mit Kulturmaterial impfte. An der Impfstelle bildete sich dann ein hämorrhagisch-purulenten Infiltrat, bisweilen trat hämorrhagische Schwellung der inguinalen Lymphdrüsen auf und fibrinöse Peritonitis. Die Serosa von Magen und Darm waren hyperämisch und zeigten bisweilen Petechien. Die Leber war normal oder mit Abszessen durchsetzt und mit einem fibrinösen Belage bedeckt. Pleura und Lungen waren hyperämisch, letztere waren ödematös geschwollen, bisweilen bestand Hydropericard. Nur im Eiter an der Impfstelle waren die Bacillen wiederzufinden.

Ratten konnten nur durch intraperitoneale Impfung größerer Bacillmengen getötet werden; die pathologisch-anatomischen Befunde stimmen mit jenen überein, die bei Mäusen erhoben wurden. Die Infektion gelang leichter, wenn die Ratten mit Kadavern von Ratten oder Mäusen gefüttert wurden, die der Infektion mit dem Bacillus erlegen waren. Von 5 in dieser Weise gefütterten Ratten starben 4 in 2–7 Tagen. Kurz vor dem Tode wurde ein ausgesprochener Durchfall beobachtet. Die Darmwand war stark hyperämisch; es bestand weiter fibrinöse Peritonitis, Schwellung der mesenterialen Lymphdrüsen, subkutane Hyperämie, Hämorrhagien in den inguinalen und axillaren Regionen. Der Inhalt des Ileums und des Colons war meistens durch Blutbeimischung schwarz verfärbt. Einmal fanden wir im Mesenterium 2 mm große, harte Knötchen, die neben Lymphocyten viele bipolar gefärbte Stäbchen beherbergten. Abgesehen von diesem Befunde, konnten nirgendwo Bacillen aufgefunden werden.

2) Bacterium „Eemland“. Dieser Bacillus stammt aus den geschwollenen inguinalen Drüsen einer Ratte (*Mus rattus*) auf dem Dampfer „Eemland“ (von Buenos-Aires). Die geschwollenen Drüsen waren teilweise vereitert und von hämorrhagisch infiltriertem Gewebe umgeben. Auch in der Axillargegend wurden Hämorrhagien gefunden. Die Lungen waren stark hyperämisch, die Milz war vergrößert. In den Inguinaldrüsen wurde B. Eemland gefunden als ein bipolar sich färbendes, gramnegatives Stäbchen von 1,3–3,2 μ Länge und 0,3–0,6 μ Breite. Das Stäbchen zeigte lebhaft molekulare Bewegung, die aber nicht als Eigenbewegung aufzufassen war, da sie auch nach Behandlung mit Chloroform zu beobachten war. Der Bacillus ist *B. coli* sehr ähnlich, er bildet aber kein Gas aus Saccharose; Inulin-Lackmus und Glycerin-Lackmus-Bouillon wird innerhalb 3 Tagen nicht entfärbt, auch weichen die Kolonien auf Gelatine von den typischen *Coli*-Kolonien ab.

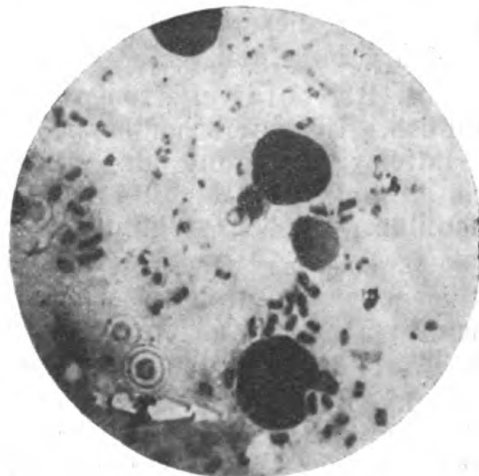


Fig. 2. B. Eemland.

Der Bacillus ist ziemlich stark pathogen für Mäuse; $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ ccm einer Aufschwemmung einer 24 Stunden alten Agarkultur tötete sie in 24 Stunden bei intraperitonealer Impfung. Nach dem Tode wurden die

Bacillen in allen Organen wiedergefunden. Sie zeigten wiederum deutliche Polarfärbung, waren aber größer als die ursprünglich beobachteten Bacillen (1—3,2 μ lang und 0,7—0,98 μ breit). Bei den gestorbenen Mäusen wurde Exsudat in der Pleural- und Peritonealhöhle beobachtet, weiter subkutane Hyperämie, Hämorrhagien in der Axillargegend und eine vergrößerte, hyperämische Milz.

Weißer Ratten starben unter ähnlichen Symptomen bei Impfung von 1 ccm einer Aufschwemmung der Agarkultur; Meerschweinchen waren sehr resistent, da sie erst nach Impfung von $\frac{1}{2}$ —1 Agarkultur starben; auch hier gelang die kutane Impfung nicht.

Wie gesagt, wurde B. Eemland isoliert aus einer Rattenleiche, wobei von vornherein die Diagnose Pest keineswegs auszuschließen war. Die übrigen 4 Stämme der Pseudopestbakterien, die hier zu beschreiben sind, wurden isoliert aus den geschwollenen und teilweise vereiterten Lymphdrüsen von Schiffsratten (*Mus rattus* und *M. alexandrinus*) aus den Dampfern „Pyrrhus“ (aus Java), „Rynland“ (aus Buenos-Ayres), „Amsterdam“ (aus Java), „Loppersum“ (aus Archangel). Abgesehen von der Schwellung der Lymphdrüsen (die bei Schiffsratten sehr häufig ist und an und für sich für Pest kaum pathognomonische Bedeutung hat), und der Milz (die oft auf Trypanosomiasis zurückgeführt werden kann), zeigten diese Tiere keine Erscheinungen, die auf Pest hindeuteten. Da aber bei allen Stäbchen gefunden wurden, die sich bipolar färbten, gramnegativ waren und keine Eigenbewegung zeigten, so hielten wir eine nähere Untersuchung für erwünscht.

3. Bacterium „Pyrrhus“. Diese Art ist, wie die beiden folgenden, eng mit *B. coli* verwandt. Der Bacillus unterscheidet sich von *B. coli* durch das Wachstum in Glukose-Barsikow-Bouillon (keine Koagulation, schwach saure Reaktion), durch die Gasbildung aus Glycerin, durch die Entfärbung der Saccharose-, Laktose- und Maltose-Lackmusbouillon und durch das Ausbleiben der Entfärbung der Galaktose-Lackmusbouillon. Die Pathogenität dieser und der folgenden Stämme stimmt überein mit jener des B. Eemland und Rynland II. In den Lymphdrüsen ist dieser Bacillus 1,5—2,1 μ lang und 0,5 μ breit, im Blute 1—1,8 μ lang und 0,5—0,9 μ breit.

4. Bacterium „Loppersum“. Auch dieser Stamm ist sehr *coli*-ähnlich. Er unterscheidet sich durch folgende Merkmale: Keine Indolreaktion, Gasbildung aus Glycerin, keine Gasbildung aus Saccharose, Entfärbung der Mannit-, Glukose-, Maltose- und Lävulose-Lackmusbouillon. Größenverhältnis: 1—2,4 μ lang, 0,5—0,7 μ breit.

5. Bacterium „Amsterdam“. Diese Art war wegen des abweichenden kulturellen Verhaltens mit keinem der bekannten Pseudopestbakterien zu identifizieren; der Bacillus ist 1—1,8 μ lang und 0,4—0,6 μ breit. Wegen weiterer Merkmale vgl. Tabelle 1—3.

6. Bacterium „Rynland I“. Dieser Stamm zeigt einige Uebereinstimmung mit *B. pseudotuberculosis rodentium*, weicht aber doch zu sehr von dieser Art ab, um auf Identität schließen zu können. Der Bacillus bildet aus keinem der untersuchten Zucker Gas, weitere Merkmale sind in Tabelle 1 und 2 nachzulesen. Die Länge ist 1—3 μ , die Breite 0,3—0,6 μ .

In den folgenden Tabellen haben wir die kulturellen (Tabelle 1—3) und agglutinatorischen (Tabelle 4) Eigenschaften der hier erörterten

Bakterien zusammengestellt, wobei wir zur Vergleichung auch die nächst verwandten Organismen: *B. coli commune*, *B. paratyphi B*, *B. enteritidis* Gärtner, *B. typhi murium* (aus Rotterdam bezogen), *B. tuberculosis rodentium* Pfeiffer und *B. pestis* (aus Medan) untersucht haben. Die Untersuchung der Repräsentanten der „hämorrhagischen Septikämie“ mußte unterlassen werden, da keine Kultur dieser Organismen aus der Sammlung des Amsterdamer hygienischen Instituts oder aus der Sammlung Král zu haben war.

Aus diesen Tabellen geht hervor:

Daß mit *B. coli commune* eng verwandt sind die Stämme: „Eemland“, „Pyrrhus“, „Loppersum“ und „Rynland II“.

Daß die Stämme „Amsterdam“ und „Rynland I“ zwar einige Uebereinstimmung zeigen mit *B. typhi murium* und *B. pseudotuberculosis rodentium*, daß diese Aehnlichkeit aber eine Identifizierung nicht gestattet.

Für die Praxis der Untersuchung verdächtiger Schiffsratten ist noch folgendes zu bemerken:

Durch die Resultate der Impfung auf Zucker- (zumal Glukose-) Lackmusbouillon sind die Repräsentanten der Coli-Gruppe von den echten Pestbacillen zu unterscheiden. Entfärbung der Glukose-Lackmusbouillon (ohne Gasbildung) kommt bei *B. pestis* nicht vor. Hat man keine Reinkultur des verdächtigen Organismus zur Verfügung, so kann die Form der Kolonien auf Agar oder Gelatine noch wertvolle Indikationen geben: Die jungen (24 Stunden alten) Kolonien des *B. pestis* sind sehr charakteristisch durch den glashellen, dünnen Saum und das erhabene, leicht körnige Zentrum. Aeltere Kolonien sind weniger leicht von jenen der Pseudopestbakterien zu unterscheiden; dort hilft aber die meistens sehr deutlich ausgeprägte Viskosität der Kolonien des *B. pestis*. Die Bildung der „Involutionsformen“ auf Salzagar (3-proz.) ist auch differentialdiagnostisch zu verwerten: Bei unseren Pseudopest-

• Tabelle 1.

Form der Kolonien der untersuchten Stämme auf Gelatine,
24 Stunden alt.

Stamm	Form der Kolonien
1) Rynland I <i>B. typhi murium</i>	Bläulichweiße, flachkuppenförmige Kolonien, $\frac{3}{4}$ mm im Durchschnitt. Zentrum bräunlich, feinkörnig. Nach der Peripherie Uebergang in eine schmale, farblose, schwach gewellte Randzone. Die Kolonie ist kreisrund.
2) <i>B. Amsterdam</i>	Wie oben, aber Randzone stark gewellt.
3) <i>B. Rynland II</i> <i>B. Loppersum</i> <i>B. Pyrrhus</i> <i>B. coli</i> <i>B. paratyphi B</i> <i>B. enteritidis</i> Gärtner	Bläulichweiße Kolonien, Diameter $1\frac{1}{2}$ —2 mm. Zentrum gelblich, unscharf, von breiter, hyaliner Randzone getrennt. Letztere gelappt, mit wellenförmigen, parallel der Kontur verlaufenden Linien.
4) <i>B. Eemland</i> <i>B. lactis aerogenes</i>	Kolonien $\frac{3}{4}$ mm im Diameter, bräunlich. Rand fein gelappt, grobkörnig, bisweilen mit radiären Linien. Randzone und Zentrum nicht zu unterscheiden.
5) <i>B. pestis</i> <i>B. tuberculosis rodentium</i>	Kolonien $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ mm im Diameter. Hellgelbes, erhabenes Zentrum, sehr dünne, aber breite, fein gewellte, hyaline Randzone

Tabelle 2.
Kulturelle Eigenschaften der untersuchten

Kulturmedium	Eemland	Pýrrhus	Rynland I	Amsterdam	Loppersum
Agarstrich, 24 St.	üppiges Wachstum	id.	ganze Agaroberfläche bewachsen	üppiges Wachstum	id.
Gelatinestich, 1 Woche	nicht verflüssigt	id.	id.	id.	id.
Bouillon, 48 St.	getrübt	getrübt, Bodensatz	getrübt	id.	getrühte Häutchen, Stalaktiten
Indolbildung nach 1 u. 3 Tagen	+	+	—	—	—
Lackmusmolke	sauer, nach 1×24 und 4×24 St. getrübt	sauer, nach 1×24 und 4×24 St. getrübt	nach 24 St. neutral, nach 3×24 St. sauer, nach 8×24 St. alkalisch	sauer, nach 1×24 und 4×24 St. getrübt	id.
Oldekoppagar	entfärbt, Gasbildung	entfärbt	id.	unverändert	entfärbt, Gasbildung
Milch	koaguliert nach 1 Tag	id. nach 2 Tg.	unverändert	koaguliert nach 3 Woch.	id. nach 2 Tg.
Kartoffel, 24 St.	wenig gelbweißer Belag	dünnere, weißkörniger Belag	wenig weißlicher Belag	dünnere, gelbgrüner Belag	schmutzigweißer, dünner Belag
Endo-Agar, 24 St.	weiß	weiß	unverändert	weiß	weiß
Malachitgrün-Agar (Löffler)	Präzipitat	id.	entfärbt	Präzipitat	id.
Barsikow-Bouillon mit Glukose	rot, koaguliert nach 1 Tag	unverändert nach 4 Tg.	nach 3 Tg. unverändert	rot, koaguliert nach 1 Tg.	id. nach 2 Tg.
Basikow-Bouillon mit Laktose	rot, koaguliert nach 1 Tg.	id. nach 2 Tg.	nach 3 Tg. rot	nach 1 Tg. koaguliert	nach 2 Tg. rot, koaguliert
Mc Conkey-Bouillon mit Glukose	Präzipitat nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	Präzipitat, rot nach 3 Tg.	id. nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.
Mc Conkey-Bouillon mit Mannit	Präzipitat nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	entfärbt nach 7 Tg.	Präzipitat, rot nach 1 Tg.	Präzipitat, entfärbt nach 1 Tg.
Mc Conkey-Bouillon mit Laktose	Präzipitat nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	entfärbt nach 7 Tg.	Präzipitat nach 1 Tg.	entfärbt nach 1 Tg.

Tabelle 2.

Stämme auf den gebräuchlichen Medien.

Ryn-land II	Pest Medan	Paratyph. B	Typhimurium	Coli comm.	Lactis aerogenes	Enterit. Gärtner	Pseudotub. rodentium
id.	isolierte kleine Kolonien	üppiges Wachstum	id.	id.	id.	id.	ziemlich gutes Wachstum
id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.
getrübt	Bodensatz	id.	getrübt, Häutchen	id.	getrübt, einzelne Kolonien an der Oberfl. mit herabhängenden Fäden	Hautchen getrübt	Bodensatz
+	—	—	—	+	+	—	—
id.	sauer, nach 8×24 St.	nach 1×24 St. sauer, nach 3×24 St. alkalisch, getrübt	id.	sauer, nach 1×24 und 4×24 St. getrübt	id.	sauer, nach 1×24 St. alkalisch, nach 2×24 St. getrübt	sauer nach 1×24 St., neutral, nach 3×24 St., alkalisch nach 4×24 St.
id.	unveränd.	entfärbt, Gasbildg.	id.	id.	entfärbt	entfärbt, Gasbildg.	unverändert
id. nach 3 Wochen	unveränd.	id.	id.	koaguliert nach 2 Tg.	koaguliert nach 4 Tg.	unveränd.	id.
id.	kein Wachstum	Belag gelbweiß, dünn	Belag wenig, gelbweiß	Belag wenig, schmutzigweiß	dünn, schmutzigweißer Belag	dünn, gelber, Belag	kein Wachstum
weiß	unveränd.	unveränd.	unveränd.	weiß	weiß	unveränd.	unveränd.
id.	kein Wachstum	entfärbt	entfärbt	Präzipitat	id.	entfärbt	entfärbt
id. nach 3 Tg.	unveränd.	rot, koaguliert nach 2 Tg.	id. nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	id. nach 2 Tg.	id. nach 2 Tg.	nach 1 Tg. rot
id. nach 2 Tg.	rot nach 1 Tg.	rot nach 3 Tg.	rot nach 3 Tg.	rot, koaguliert nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	id. nach 3 Tg.	rot nach 1 Tg.
id. nach 1 Tg.	id. nach 3 Tg.	id. nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	id. nach 3 Tg.
Präzipitat nach 1 Tg.	Präzipitat, rot nach 3 Tg.	Präzipitat, entfärbt nach 1 Tg.	Präzipitat nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	id. nach 1 Tg.	Präzipitat, rot nach 4 Tg.
Präzipitat nach 1 Tg.	unveränd. nach 9 Tg.	entfärbt nach 4 Tg.	entfärbt nach 4 Tg.	Präzipitat, entfärbt nach 2 Tg.	Präzipitat nach 1 Tg.	entfärbt nach 3 Tg.	entfärbt nach 9 Tg.

Tabelle 3.
Gärungsreaktionen in Zucker-Lackmusbouillon in Gärungsröhrchen

Zucker (resp. Alkohol)	Eemland		Pyrrhus		Rynland I		Amsterdam		Loppersum		Rynland II	
	nach		nach		nach		nach		nach		nach	
	1 Tage	3 Tg.	1 Tage	3 Tg.	1 Tage	3 Tg.	1 Tage	3 Tg.	1 Tage	3 Tg.	1 Tage	3 Tg.
Glukose	GS -		GS -		N +	N +	S -	S -	GS +		GS -	
Lävulose	GS -		GS -		S ±	S +	S -	S -	GS ±		GS -	
Galaktose	GS ±		GS -		S +	S +	S -	S -	GS +		GS -	
Saccharose	N -	N -	GS +		N ±	N ±	N ±	S ±	N ±	N ±	GS -	
Laktose	GS -		GS ±		N ±	A +	S -	S -	GS -		GS -	
Maltose	GS -		GS +		N +	N +	S -	S -	GS +		GS -	
Arabinose	GS ±		GS ±		N ±	A ±	S ±	S ±	GS +		GS ±	
Xylose	GS ±		GS ±		S ±	S ±	S ±	S -	GS ±		GS ±	
Sorbose	GS ±		GS ±		N ±	A ±	S ±	S ±	A ±	A ±	GS ±	
Inulin	S -	N -	N ±	N ±	N +	N +	S -	N -	N -	N -	S -	N -
Glyzerin	S -	GS -	S -	GS ±	N -	N +	S -	S -	GS -		S -	S -
Dextrin	GS ±		GS ±		N ±	N ±	S -	S -	GS +		GS ±	
Mannit	GS -		GS -		N +	N +	S -	S -	GS +		GS -	
Dulcit	N -	GS -	GS +		N ±	A +	N ±	A ±	GS +		A ±	A ±
Isodulcit	GS ±		GS -		N +	N +	S ±	S ±	S +	S +	GS -	

G = Gasbildung (fehlt dieser Buchstabe, so wurde kein Gas gebildet).
 N = neutral.
 S = sauer.
 A = alkalisch.
 + = Entfärbung des Lackmus.
 ± = Entfärbung nur in dem geschlossenen Schenkel des Gärungsröhrchens.
 - = keine Entfärbung.

Tabelle 4.
Agglutinationsreaktionen der untersuchten Stämme.
Makroskopische Beobachtung nach 2 Stunden (37°).

Stamm	Antipestserum, Institut Pasteur					Paratyphus B-Serum, Berlin					Enteritis Gärtner-Serum, Berlin							
	Kontrolle	1:50	1:100	1:500	1:800	1:1000	Kontrolle	1:50	1:100	1:500	1:800	1:1000	Kontrolle	1:50	1:100	1:500	1:800	1:1000
Eemland	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pyrrhus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rynland I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amsterdam	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Loppersum	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rynland II	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pest (Medan)	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Paratyphus B	0	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Typhus murium	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	4	4	4	4
Coli	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0	0
Lactis aërogenes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enteritis Gärtner	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4
Pseudotuberkulose	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0 = keine Agglutination.
 1 = schwach, aber noch deutlich.
 2 = mittelstark.
 3 = stark.
 4 = sehr stark.

Tabelle 3.
mit einem offenen und einem verschlossenen Schenkel.

Pest (Medan)		Paratyphus B		Typhi murium		Coli commune		Lactis aërogenes		Enteritis Gärtner		Pseudotub. rodentium	
nach		nach		nach		nach		nach		nach		nach	
1 Tage	3 Tg.	1 Tage	3 Tg.	1 Tage	3 Tg.	1 Tage	3 Tg.	1 Tage	3 Tg.	1 Tage	3 Tg.	1 Tage	3 Tg.
N -	S -	GS +		GS +		GS -		GS -		GS +		S -	S -
N -	S -	GS +		GS ±		GS -		GS -		GS +		S -	S -
N -	S -	GS +		S -	S -	GS +		S -	S -	GS +		N -	S -
N -	A -	N +	N ±	N +	N +	GS -		GS -		A +	A +	N -	S -
N -	N -	N -	A -	S ±	A +	GS -		GS -		A +	A +	N -	N -
N -	S -	GS ±		S ±	S ±	GS -		S -	S -	GS -		S -	S -
S -	S -	GS +		S ±	S ±	GS ±		GS ±		GS ±		N ±	S -
S -	S -	GS ±		S -	S -	GS ±		S ±	S ±	GS ±		N ±	S -
N -	S -	N ±	N ±	N ±	A ±	A ±	A ±	GS ±		A ±	A ±	N -	N ±
N -	S -	N ±	N ±	N +	A +	S -	N +	GS ±		A +	A +	N -	S -
N -	N -	N ±	N ±	S ±	S ±	S ±	S +	GS -		S +	S +	N -	S -
N -	S -	GS ±		S ±	S ±	GS +		S -	S -	GS +		S -	S -
N -	S ±	GS +		N +	A +	GS +		GS -		GS +		S -	S -
N -	S -	GS ±		GS ±		GS +		GS -		GS +		N -	S -
N -	S -	S ±	S ±	S -	S -	GS -		S -	S -	GS -		N -	S -

bakterien bildeten sich auf diesem Kulturmedium nur längere, oft schlecht färbbare Fäden aus, aber nicht die typische Kugel- und Kolbenform. Nur bei *B. pseudotuberculosis rodentium* haben wir Anläufe zur Bildung der Kolbenform beobachtet. Es ist noch zu bemerken, daß die Involutionsformen des *B. pestis* sich nur dann gut ausbilden, wenn der Salzagar frisch bereitet ist; in einem alten Kulturmedium kommen sie oft nicht zur Beobachtung.

Die bekannten kugeligen oder ringförmigen Degenerationsformen, zu welchen die Pestbacillen sich im faulenden Tierkörper umbilden, sind ebenso beachtenswert; dergleichen Degenerationsformen haben wir niemals bei unseren Pseudopestbakterien beobachtet; letztere werden im faulenden Tierkörper schlecht färbbar und verschwinden zuletzt, ohne die Kugel- resp. Ringform angenommen zu haben. Die Bildung der „Stalaktiten“ in Bouillon bleibt auch bei echten Peststämmen nicht selten aus.

Was endlich die Agglutination anbetrifft (2 Stunden bei 37°, makroskopische Beobachtung mit Serum antipesteux vom Institut Pasteur, Paris), so können wir dieser nur bei Verdünnung von mindestens 1:100 praktische Bedeutung beimessen, weil außer *B. pestis* selbst auch *B. „Eemland“* (Verdünnung 1:50) und *B. „Rynland II“* (Verdünnung 1:50) agglutiniert wurden. Andererseits wurde *B. pseudotuberculosis rodentium* nicht von diesem Serum agglutiniert. Es ist noch zu bemerken, daß dieser letztere Bacillus nach unseren Untersuchungen nicht so schwierig von *B. pestis* zu unterscheiden ist, wie allgemein angegeben wird. Nicht nur fällt die Agglutinationsprobe mit Antipestserum negativ aus, sondern es verlaufen auch verschiedene Zuckerreaktionen bei den beiden Arten ganz verschieden (vgl. Tabelle 3) und sie verhalten sich auch in anderen kulturellen Beziehungen ungleich (vgl. Tabelle 2).

Schlußfolgerungen.

Die Bakterien, die man in den Kadavern der unter pestähnlichen Symptomen verstorbenen Ratten findet, gehören (soweit es sich nicht um wirkliche Pest handelt) meist coliähnlichen Typen an, die durch Kultur und Tierexperiment unschwer von *B. pestis* zu trennen sind. Für die Schnelldiagnose kommt neben der kutanen Impfung vor allem das Aussehen der Kolonien auf Agar oder Gelatine und das Verhalten verschiedenen Zuckerarten gegenüber in Betracht.

Nur die nicht Zucker vergärenden Arten (wie *B. pseudotuberculosis rodentium*, *B. Rymland I*, *B. Amsterdam*) können größere Schwierigkeiten bereiten; auch dort bilden aber die Zuckerreaktionen (Entfärbung des Lackmus usw.) wertvolle Hilfsmittel bei der Differentialdiagnose.

Die Agglutinationsprobe hat nur dann Bedeutung, wenn sie positiv ausfällt in einer Verdünnung von mindestens 1 : 100.

Literatur.

- Dunbar u. Kister, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1904. p. 127.
 Galli-Valerio, ebenda. Bd. 68. 1913. p. 188 u. Bd. 70. p. 278.
 Mc Coy and Chapin, Journ. inf. dis. Vol. 10. 1912. p. 61.
 Kister, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906. p. 780, 858.
 —, ebenda. Bd. 42. 1906. p. 91.
 Kister u. Schmidt, ebenda. Bd. 36. 1904. p. 454.
 Klein, ebenda. Bd. 32. 1902. p. 673.
 Petrie and Macalister, Report loc. Govt. Board of Health. New Ser. No. 52. 1911. p. 56.
 Reports Indian Plague-Commission. (Journ. of Hyg. Vol. 8. 1908. p. 302.)
 Ringeling, Tijdschr. Soc. Hyg. Bd. 14. 1912. No. 24.
 Trautmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 54. 1906. p. 104.
 Zlatogoroff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. 1904. p. 654.

Nachdruck verboten.

Die Serodiagnose der Pest mit Hilfe der Präzipitationsmethode nach Ascoli.

[Aus dem Hygienischen Institut der freien und Hansestadt Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. Dunbar).]

Von Stabsarzt Dr. **H. Berlin**, kommandiert zum Institut.

Für eine wirksame prophylaktische Bekämpfung der Pest ist die möglichst frühzeitige Diagnostizierung von Pestfällen unter den Ratten der Schiffe, die aus pestverseuchten oder -verdächtigen Gegenden in sonst pestfreien Häfen eintreffen, von größter Wichtigkeit. Jeder aber, der mit derartigen praktischen Untersuchungen zur Feststellung von Rattenpest zu tun gehabt hat, weiß, welche Schwierigkeiten man nur zu häufig zu überwinden hat, ehe man vollkommen einwandfrei und eindeutig die Diagnose „Pest“ stellen kann. Sind die Rattenkadaver noch frisch, so ist es freilich gewöhnlich leicht, durch direkte Züchtung aus den Organen eine Reinkultur zu gewinnen, und bereits nach 24 Stunden kann man in der Lage sein, die Diagnose sicherzustellen. Leider bekommt man jedoch nur in den seltensten Fällen frische Kadaver zur Untersuchung, in der Regel weisen sie einen mehr oder weniger hohen Fäulnisgrad auf. Wenn auch die gefärbten mikroskopischen Präparate von Organaustrichen bei Vorhandensein von Pest die Diagnose meistens schon als höchstwahrscheinlich erscheinen lassen, so ist zur „amtlichen“ Diagnose doch die Gewinnung der Reinkultur zwecks Agglutination sowie der positive Ausfall des Tierversuches notwendig. Und dabei begegnet man gerade den Schwierigkeiten. Das Kulturverfahren durch Ausstreichen der Organe auf Nährböden führt gewöhnlich nicht zum Ziele, weil von den zahlreichen Fäulnisbakterien alles überwuchert wird, zumal wenn auch, wie sehr häufig, der *Proteus* vertreten ist, der ja bekanntlich schleierartig die ganze Kulturplatte überzieht und durch seine Stoffwechselprodukte die Entwicklung anderer Keime hindert. Selbst bei Bebrütung der Kulturen in Eisschranktemperatur, bei der die Pestbakterien sich noch entwickeln, während die Begleitbakterien nicht wachsen, ist die Gewinnung einer Reinkultur, wenn überhaupt, doch erst spät möglich. Etwas günstiger, aber häufig immer noch schwierig genug, liegen die Verhältnisse beim Tierversuch. Bei subkutaner Impfung mit einer Organaufschwemmung oder einem Organstück erliegen die Tiere häufig einer Mischinfektion, und die Isolierung der Pestbacillen aus ihnen ist oft eben so schwer wie aus den Originalratten. Werden die Versuchstiere kutan geimpft, so werden freilich die Fäulnisbakterien durch die gleichsam als Filter wirkende Haut in der Regel zurückgehalten, und die Tiere sterben an reiner Pestinfektion, jedoch gehen darüber stets mehrere Tage hin, unter Umständen bis zu 6 Tagen, und dann erst kann man nach weiteren 24 Stunden die zur Agglutination notwendige Reinkultur erwarten.

Es liegt auf der Hand, daß durch derartig erschwerte und verzögerte Diagnosenstellung schwere Schäden erstehen können, nicht nur in sanitärer, sondern auch in wirtschaftlicher und handelspolitischer Beziehung. Deshalb wäre es mit Freuden zu begrüßen, wenn uns ein

30*

Mittel in die Hand gegeben würde, das uns ermöglicht, auch aus faulen Kadavern binnen kurzer Zeit, aber auch mit derselben Sicherheit wie sonst, das Vorhandensein von Pest festzustellen. Eine derartige Möglichkeit schien mir durch die Thermopräzipitation nach Ascoli geschaffen zu sein, und ich habe es mir deshalb zur Aufgabe gemacht, durch Versuche festzustellen, ob diese Methode zur Pestdiagnose praktisch zu verwenden ist, wozu mir ja durch das reiche Material, das der Hamburger Hafen liefert, besonders günstige Gelegenheit geboten wurde¹⁾.

Die nach ihrem Begründer A. Ascoli benannte Präzipitationsmethode besteht bekanntlich darin, daß Extrakte aus Organen von Tieren, die an gewissen Infektionskrankheiten gestorben sind, bei Unterschichtung mit dem entsprechenden spezifischen Serum an der Berührungsstelle eine weißgraue Trübung, den Präzipitationsring, bilden. Die Extrakte können sowohl durch Ausziehen der Organe mit Chloroform wie durch Kochen in physiologischer Kochsalzlösung bereitet werden; dieser letzteren Herstellungsweise und der dabei erwiesenen Thermostabilität der Präzipitogene verdankt die Methode auch den Namen Thermopräzipitation. Dieselbe ist zuerst von Ascoli und Valenti für die Milzbranddiagnose angegeben und dann von Ascoli weiter ausgebaut worden. Als besonderer Vorzug der Reaktion wurde dabei festgestellt, daß sie auch bei faulem Material, bei dem die sonst üblichen bakteriologischen Methoden im Stich lassen, vorzügliche Resultate liefert. Ascoli sieht auf Grund mannigfaltigster Untersuchungen die Reaktion als spezifisch für Milzbrand an, höchstens mit der Einschränkung, daß auch bei Infektion mit anthrakoiden Bakterien eventuell ein positiver Ausfall auftreten kann. Die Methode ist dann von zahlreichen anderen Untersuchern nachgeprüft worden, und zwar größtenteils mit demselben guten Erfolg, so daß die Mehrzahl der Autoren dieselbe für spezifisch hält (Bierbaum, Pfeiler, Roncaglio, Favero, Casalotti, Granucci, Hobstetter, Pressler, Floris, Schütz u. Pfeiler, Oscander, Isabolinsky u. Patzewitsch, Lebre, Djoubelieff, Quevedo u. Maag, Profé, Declich, Silva, Flemming, Isabolinsky, Tempel, Hoffmann, Seibold, Heffter).

Freilich wollen die meisten, wie auch Ascoli selbst, sie nicht als Ersatz für die bisher üblichen bakteriologischen Untersuchungsmethoden, sondern nur als ein wertvolles Unterstützungsmittel für die Diagnostizierung des Milzbrandes betrachtet wissen. In diesem Sinne ist auch, wie ich aus einer Notiz in der „Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene“ (Jahrg. 22. H. 8) ersehen habe, von der Großherzoglich Hessischen und der Herzoglich Anhaltischen Regierung das Ascolische Verfahren als Hilfsmittel zur veterinärpolizeilichen Feststellung von Milzbrand amtlich zugelassen worden. Andere Autoren freilich sind zu weniger günstigen Resultaten gelangt und sprechen der Methode die strenge Spezifität ab (De Gasperi, Fiscoeder, Szymanowski u. Zagaja, O. Meyer, Ruppert, Pfeiler u. Drescher, Blan u. Wallen-

1) Dem Hamburger Hygienischen Institut wurden beispielsweise im Jahre 1913 zur Untersuchung auf Pest 10 258 Ratten und 173 Mäuse eingeliefert, die von 511 Schiffen aus pestverseuchten Häfen stammten. Darunter wurde Pest festgestellt bei 166 Ratten, die sich auf 8 verschiedene Schiffe verteilten.

berg, Finzi, Zingle). Analog dem Verfahren bei der Feststellung von Milzbrand wurde die Thermopräzipitation dann bald auch der Diagnostizierung anderer Infektionskrankheiten dienstbar gemacht, namentlich des Schweinerotlaufes, bei dem sie sich ebenfalls gerade für die Untersuchung verfaulten Materials bewährte und gleichfalls von einer Anzahl Autoren für spezifisch erklärt wird (Ascoli, Silva, Zagaja, Declich, Gauss, Hecht, Schulte, Isabolinsky u. Patzewitsch), während Doescher, Seibold und Iwicki weniger gute Erfahrungen gemacht haben und namentlich eine Spezifität der Präzipitation für Rotlauf nicht anerkennen wollen. Ferner hat man die Ascolische Methode benutzt zur Diagnose von Infektionen mit Paratyphus B und Bac. enteritidis Gärtner, und zwar haben Reinhard, Kübler, Murschel und Rothacker gute Resultate damit erzielt, letzterer namentlich auch bei der Feststellung von Fleischvergiftungen, und erklären die Reaktion für spezifisch, während Isabolinsky und Patzewitsch diese Beobachtungen nicht bestätigen können. Sodann ist die Thermopräzipitation angewandt worden teils mit gutem, teils mit weniger zufriedenstellendem Erfolg bei Rotzinfektion von Sawitzkiy und von Lenfeld, bei Rauschbrand von Hecht, bei Tuberkulose von Faginoli und bei Maltafieber von Viano.

Versuche, die Ascolische Präzipitationsmethode auch für die Feststellung der Pest zu verwerten, sind bisher, soweit ich aus der Literatur ersehen konnte, nur erst von Piras veröffentlicht worden. Derselbe benutzt als Untersuchungsmaterial die Organe — vorwiegend Leber und Milz — von an künstlicher Pestinfektion krepiereten Ratten und Meerschweinchen, in einem Falle auch von einer spontan infizierten Ratte, und stellte die Extrakte in der von Ascoli angegebenen Weise durch Kochen in physiologischer Kochsalzlösung bzw. in destilliertem Wasser her. Außerdem untersuchte er Extrakte von Faeces pestifizierter Ratten. Das zur Verwendung kommende hochwertige Serum stammte zum Teil aus dem serotherapeutischen Institut in Bern, zum Teil von selbst immunisierten Kaninchen. Piras kommt auf Grund seiner Versuche zu dem Resultat, daß in den Organen von an Pest gestorbenen Tieren ein zu den Pestserumpräzipitinen passendes thermostabiles, spezifisches Präzipitinogen vorhanden ist, das bei Berührung mit dem Pestserum einen charakteristischen Präzipitationsring gibt. Dieselbe Reaktion tritt auf mit Extrakten aus Faeces von Pestratten. Der Konservierungszustand des Materials spielt dabei keine Rolle, auch bei hochgradig faulen Organen ist die Reaktion positiv. Piras bezeichnet die Reaktion als spezifisch und empfiehlt ihre Anwendung besonders, wenn es sich um faules oder eingetrocknetes Material handelt, bei dem die sonstigen Untersuchungsmethoden versagen.

Eigene Versuche.

Allgemeines: Als Ausgangsmaterial für meine Untersuchungen verwandte ich zunächst die Organe von Tieren — Meerschweinchen, Ratten und Mäusen —, die ich künstlich, teils kutan, teils subkutan mit Pest geimpft hatte. Dann aber hatte ich wiederholt Gelegenheit, auch solche Ratten zu den Versuchen heranzuziehen, die an natürlicher Pestinfektion zugrunde gegangen waren, da wir während der Zeit, als ich mit meinen Untersuchungen beschäftigt war, unter den aus dem Hafen

eingelieferten Ratten von vier verschiedenen Schiffen Pest feststellen konnten. Es war dies für mich besonders wertvoll, konnte ich doch an der Hand größerer Versuchsreihen feststellen, ob bzw. wieweit die bei künstlich infizierten Tieren gemachten Beobachtungen auch bei spontan infizierten zutreffen, was ja für die Frage der praktischen Verwendung der Methode von großer Wichtigkeit ist.

Zur Herstellung der Extrakte benutzte ich in der Regel Milz und Leber, da erfahrungsgemäß diese Organe gewöhnlich die meisten Pestbacillen enthalten, und zwar verwandte ich häufig ein Gemisch aus diesen beiden Organen. In einigen Fällen bereitete ich Extrakte auch aus Bubonen, wenn dieselben besonders stark ausgeprägt waren, und aus Lungen. Was den Konservierungszustand des Materials anbetrifft, so untersuchte ich bei den geimpften Tieren die Organe zunächst in frischem und später bei einem großen Teil wiederholt auch in mehr oder weniger faulem Zustande, nachdem sie verschieden lange Zeit bei Zimmertemperatur aufbewahrt worden waren. Von den an natürlicher Pestinfektion krepiereten Ratten standen mir meistens nur faule Organe zur Verfügung, da die Mehrzahl der Kadaver in mehr oder weniger starkem Verwesungsgrade eingeliefert worden waren; jedoch fanden sich auch einige frische oder fast frische dabei. Diese wurden dann meistens einige Zeit später, nachdem sie in Fäulnis übergegangen waren, zum Vergleich nochmals untersucht.

Bei der Extraktion der Präzipitinogene verfuhr ich nach der einfachen Kochmethode: Ein Stückchen des zu untersuchenden Organs wurde mit der Schere zerkleinert und mit einer breiten Pinzette zu Brei zerquetscht, dann in ein Reagensglas gebracht und mit dem 5—10fachen Volumen physiologischer Kochsalzlösung 5—10 Minuten lang im Wasserbade gekocht. Die Flüssigkeit wurde darauf so lange filtriert, bis sie vollkommen klar war. Bei Verwendung von destilliertem Wasser an Stelle der Kochsalzlösung habe ich keinen nennenswerten Unterschied in den Extrakten gefunden. Dagegen scheinen durch längeres Kochen — ich habe einige Parallelversuche mit 30 Minuten langem Kochen gemacht — die Präzipitinogene eine Abschwächung in ihrer Wirksamkeit zu erfahren. Die Extraktion der Präzipitinogene mittels Chloroform, wie sie von einigen Autoren für Milzbranduntersuchung bevorzugt wird gegenüber den Extrakten durch Kochen mit NaCl-Lösung, habe ich nicht angewandt, weil mir dieses Verfahren zu umständlich und zeitraubend erschien.

Von größter Wichtigkeit ist es für ein exaktes Arbeiten und zur Erzielung einwandfreier Resultate, vollkommen klare und nicht opaleszierende Extrakte zu haben. Ich benutzte zur Filtration die von der Firma Schleicher und Schüll in Düren hergestellten gehärteten Filter. Während es bei Verwendung frischer Organe keine Schwierigkeiten machte, die Filtrate klar zu bekommen, da sie in der Regel schon nach 1—3maligem Filtrieren vollkommen klar waren, erforderte die Filtration der Extrakte aus faulem Material meistens große Geduld und lange Zeit. Druckfilter aus Asbestwolle oder Berkefeld-Filter konnte ich nicht anwenden, weil in unserem Pestlaboratorium, auf das ich ja laut gesetzlicher Bestimmungen beim Arbeiten mit Pestmaterial angewiesen war, keine Einrichtung zur Druckfiltration vorhanden ist; ich mußte mich also mit den gehärteten Papierfiltern behelfen. Und es ist mir damit auch fast stets gelungen, durch häufiges Filtrieren,

indem ich die Flüssigkeit immer wieder durch dasselbe Filter goß, befriedigende Extrakte zu bekommen, freilich oft erst nach längerer Zeit.

Dieselbe Forderung wie für die Extrakte, nämlich vollkommene Klarheit, gilt natürlich auch für das zur Verwendung kommende Serum. Als präzipitierendes Serum benutzte ich in der ersten Zeit meiner Versuche ein vom serotherapeutischen Institut in Bern erhaltenes Pestserum mit einem Agglutinationstiter von 1:500 und bekam damit gute Präzipitation; später, und zwar für die Mehrzahl der Versuche, verwandte ich therapeutische Sera aus dem Institut Pasteur, die aus verschiedenen Jahrgängen stammten. Dieselben zeigten sich als sehr gut brauchbar. Die Prüfung der Sera auf präzipitierende Wirkung nahm ich in der Weise vor, daß ich aus Pestkulturabschwemmungen (je eine 48-stündige Schrägagarkultur mit 1 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt) durch 10 Minuten langes Kochen und darauf folgendes Filtrieren einen Extrakt herstellte, der dann in verschiedenen Verdünnungen mit dem zu prüfenden Pestserum unterschichtet wurde. Dabei konnte ich feststellen, daß — selbstverständlich unter Ansetzung der nötigen Kontrollen — die Extrakte noch in Verdünnungen von 1:200 mit dem Pariser Serum deutliche Trübungsringe aufwiesen. Jedoch ist dazu zu bemerken, daß eine genaue Titerbestimmung des präzipitierenden Serums nach Analogie der Prüfung von Antieiweißsera nicht möglich ist, weil die Anzahl der Bakterien und die Menge ihrer Zerfallsprodukte und damit die Konzentration des Extraktes keine konstanten Werte sind. Ich benutzte für die Präzipitation das Serum sowohl in konzentriertem wie in verdünntem Zustande, mußte aber beobachten, daß schon in dem verhältnismäßig niedrigen Verdünnungsgrade von 1:4 die Präzipitation häufig ausblieb in Fällen, wo bei Unterschichtung mit konzentriertem Serum sofort eine starke Trübungszone aufgetreten war. Solche negativen Ausfälle kamen bei höheren Verdünnungsstufen natürlich immer häufiger vor. Ich habe späterhin nur noch konzentriertes Serum verwendet, und bei den im speziellen Teil ausführlicher berichteten Versuchen handelt es sich stets um solches Serum.

Auch bereitet die Unterschichtung mit verdünntem Serum oft Schwierigkeiten, weil, je mehr NaCl-Lösung zum Serum zugesetzt wird, das spezifische Gewicht desselben um so niedriger wird und dem des Extraktes immer näher kommt, so daß aus der beabsichtigten Unterschichtung leicht eine Vermischung wird.

Für die Ausführung der Präzipitationsreaktion selbst benutzte ich sogenannte Präzipitationsröhrchen von ca. 12 cm Länge und ca. 0,8 cm Durchmesser, die in den bekannten Uhlenhuthschen Gestellen aufgehängt wurden. Dahinein wurde mittels Pipette 1 ccm des zu prüfenden Organkochextraktes gefüllt und derselbe mit 0,1 ccm Serum unterschichtet. In der ersten Zeit benutzte ich nur konzentrierten Extrakt, später daneben auch solchen in der Verdünnung 1:10. Bei positivem Ausfall der Reaktion mußte sich an der Berührungsstelle zwischen Extrakt und Serum eine meist sofort auftretende allmählich an Intensität zunehmende grau-weiße Trübung, der sogenannte Präzipitationsring, bilden. Die Ablesung der Resultate erfolgte einmal sofort und dann nach 5 und nach 30 Minuten langem Aufenthalt im Brutschrank bei 37°. Ich machte dabei die Beobachtung, daß eine Zunahme der Trübung in der Regel nur bis zu 5 Minuten erfolgte, darüber hinaus jedoch nur noch in verhältnismäßig

seltenen Fällen. Als unumgänglich nötige Kontrollen dienten mir bei jedem Versuch 1,0 Extrakt + 0,1 ccm Normalserum und 1,0 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung + 0,1 ccm Pestserum; in beiden Röhrchen mußte eine Trübung natürlich ausbleiben. Wiederholt hatte ich Pestsera bekommen, die schon mit Kochsalzlösung allein eine Trübungszone ergaben; dieselben mußten natürlich von der weiteren Verwendung ausgeschlossen werden. Ebenso durften auch solche Normalsera nicht zu Kontrollen benutzt werden, die mit Kochsalzlösung Trübung gaben, da sie unspezifische Reaktionen vortäuschen konnten. Außer den genannten, regelmäßig mitangesetzten Kontrollen habe ich zur weiteren Kontrolle der Methode noch einige größere Versuchsreihen angestellt, bei denen einmal Organextrakte von gesunden oder sicher nicht an Pest gestorbenen Tieren mit Pestserum unterschichtet, und andererseits Extrakte aus Pestorganen, die mit Pestserum positiv reagiert hatten, mit anderen Immunsera zusammengebracht wurden. Genauere Auskunft über diese Versuche werden die im speziellen Teil folgenden Tabellen geben.

Spezielles: Zunächst galt es festzustellen, ob das zur Verwendung kommende Pestserum spezifische Präzipitine von genügender Wirksamkeit enthielt. Zu diesem Zweck wurden in der oben beschriebenen Weise Extrakte aus Pestkulturen hergestellt und sowohl mit Pestserum wie mit Normalserum und mit verschiedenen anderen Immunsera unterschichtet. Zur weiteren Kontrolle wurden sowohl Kochsalzlösung wie Extrakte aus mehreren anderen Bakterienkulturen ebenfalls mit Pestserum unterschichtet (s. Tabelle I).

Tabelle I.

Serum	Extrakt vom Peststamm				Extrakt aus Kultur von				
	Ebg.	Mbg.	C. Ro.	Gra.	Diphtherie	Milzbrand	Typh.	Paratyph.-Bac.	NaCl-Lösung
Pestserum konz.	+	+	+	+	—	—	—	—	—
„ 1:10	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Typhusserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Paratyphusserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Gärtner-Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—

+ Präzipitation positiv, — Präzipitation negativ.

Aus dieser Tabelle geht also hervor, daß ein positiver Ausfall der Präzipitationsreaktion nur stattfand beim Zusammenbringen von Pestserum mit Pestkulturextrakten, nicht aber mit Extrakten von anderen Bakterienkulturen oder mit Kochsalzlösung, ebensowenig zwischen Pestkulturextrakt und anderen Sera, daß also im Pestserum spezifische Präzipitine vorhanden waren. Ähnliche Prüfungen wurden ausgeführt, so oft ein neues Pestserum in Gebrauch genommen wurde. Die Titerbestimmung des Serums geschah dann in der Weise, daß ein Extrakt aus Pestkulturen sowohl konzentriert wie in verschiedenen Verdünnungsstufen, in der Regel bis 1:500, mit konzentriertem Pestserum unterschichtet wurde.

Darauf ging ich an die Untersuchung der Organe von an experimenteller Pestinfektion eingegangenen Tieren. Tabelle II gibt Aus-

kunft über die Resultate, die ich bei Verwendung nur frischer Organe gewann, und zwar habe ich bei einem Teil der Versuche — in der ersten Zeit meiner Arbeiten — den Extrakt nur in konzentrierter Form, später bei den übrigen daneben stets auch in der Verdünnung 1:10 untersucht.

Tabelle II.

No.	Tier	Organ	Gehalt an Pestbacillen	Präzipitation mit						Normalserum Kontrolle
				Extrakt konzentr.			Extrakt 1:10			
				sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.	sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.	
1	Meersch. 34	Milz	sehr zahlr.	+	+	++				—
2	Maus 9	Milz u. Leber	agl.	+	+	+				—
3	Meersch. 45	Bubo	"	+	+	++				—
4	Ratte 64	Lunge	"	+	++	++				—
5	Meersch. 38	Lunge	"	+	+	+				—
6	" 38	Bubo	"	++	++	++				—
7	" 39	Milz u. Bubo	zahlreich	+	++	++				—
8	Ratte 80	Bubo	sehr zahlr.	++	++	+++	+	+	+	—
9	" 96	Leber	spärlich	+	+	+	+	+	+	—
10	" 98	Milz u. Leber	vereinzelt	±	±	+	±	±	±	—
11	Meersch. 57	agl.	spärlich	+	+	+	+	+	+	—
12	Ratte 102	"	sehr zahlr.	++	++	+++	+	+	+	—
13	Ratte 103	"	sehr spärlich	±	±	±	±	±	±	—

+ Präzipitation deutlich
 ++ " stark
 +++ " besonders stark
 ± Präzipitation fraglich
 — " negativ

(Dieselben Zeichen gelten auch für die folgenden Tabellen.)

Diese Tabelle lehrt, was auch durch die weiterhin mitgeteilten Versuche bestätigt wird, daß in den Extrakten aus frischen Organen von an Pest gestorbenen Versuchstieren Präzipitine enthalten sind, die beim Zusammentreffen mit den Präzipitinen des Pestserums eine typische Reaktion ergeben. Die Reaktion tritt bei konzentriertem Extrakt stärker auf als bei verdünntem, hier ist sie nicht immer ganz sicher. Ferner ist die Intensität der Reaktion in den meisten Fällen abhängig von der Menge der in den Organen vorhandenen Pestbacillen, bei sehr geringem Bacillengehalt kann, wie in Fall 10 und 13, die Reaktion fraglich werden. Es ist dies auch ja nicht weiter verwunderlich, denn von einer großen Anzahl Bacillen können eben mehr Präzipitine produziert werden als von einer kleinen. Dieselbe Beobachtung ist übrigens auch von verschiedenen Autoren bei der Milzbrandpräzipitation gemacht worden (Symanonowski und Zagaja, Pfeiler u. a.).

In der folgenden Tabelle III habe ich die Ergebnisse von Paralleluntersuchungen zwischen frischen und faulen Organen aufgeführt, und zwar sind hier nur konzentrierte Extrakte benutzt worden. Ueber den Ausfall der Reaktion mit verdünnten Extrakten aus faulen Organen wird eine spätere Tabelle Aufschluß geben.

Es haben also die Extrakte aus frischen Organen jedesmal eine positive Präzipitation ergeben, wenn auch die Intensität derselben nicht in allen Fällen mit der Menge der Pestbacillen gleichen Schritt hielt. Bei den aus faulen Organen bereiteten Extrakten fiel die Reaktion nur in einem Teil der Fälle sicher positiv aus, in einem anderen Falle war

Tabelle III.

No.	Tier	Organ	Gehalt an Pestbacillen	I. Untersuchung (Organe frisch)			Normalserum Kontrolle	Tage post-mort.	Konservierungs-zustand	II. Untersuchung (Organe faul)			Normalserum Kontrolle
				Präzipitation						Präzipitation			
				sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.				sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.	
1	Meerschw. 34	Leber	sehr zahlreich	++	++	++	—	total faul	++	++	++	—	
2	Ratte 56	Milz	zahlreich	++	++	++	—	dgl.	++	++	++	—	
3	Ratte 59	Milz u. Leber	ziemlich zahlr.	++	++	++	—	"	++	++	++	—	
4	Meerschw. 38	Leber	sehr zahlreich	++	++	++	—	"	++	++	++	—	
5	"	Milz	dgl.	++	++	++	—	"	++	++	++	—	
6	"	Milz u. Bubo	"	++	++	++	—	"	++	++	++	—	
7	"	Milz u. Leber	"	++	++	++	—	stark faul	++	++	++	—	
8	"	dgl.	"	++	++	++	—	dgl.	++	++	++	—	
9	"	"	"	++	++	++	—	"	++	++	++	—	
10	"	"	"	++	++	++	—	total faul	++	++	++	—	
11	"	"	"	++	++	++	—	mäßig faul	++	++	++	—	
12	"	"	"	++	++	++	—	total faul	++	++	++	—	
13	Ratte 67	"	spärlich	++	++	++	—	total faul	++	++	++	—	
14	" 69	"	ziemlich spärlich	++	++	++	—	total faul	++	++	++	—	
15	" 70	"	ziemlich spärlich	++	++	++	—	total faul	++	++	++	—	
16	Maus 10	"	sehr zahlreich	++	++	++	—	fast eingetr.	++	++	++	—	
17	" 11	"	dgl.	++	++	++	—	eingetrocknet	++	++	++	—	
18	" 13	"	"	±	±	±	—	dgl.	±	±	±	—	
19	Ratte 75	"	zahlreich	++	++	++	—	"	++	++	++	—	
20	Meerschw. 48	"	zahlreich	++	++	++	—	total faul	++	++	++	—	
21	Maus 14	"	mäßig zahlreich	++	++	++	—	total faul eingetrocknet	++	++	++	—	

sie fraglich, für eine Diagnosenstellung also nicht zu verwerten, in einem vorher deutlich positiv gewesenen Falle (20) sogar negativ. Im allgemeinen kamen die als fraglich bezeichneten Reaktionen bei den Fällen vor, wo der Trübungsring mit dem frischen Extrakt weniger intensiv ausgefallen war. Es scheint, als ob die Präzipitogene in faulen Organen in vielen Fällen geschädigt sind, jedoch besteht eine Regelmäßigkeit in dieser Beziehung nicht.

Außer diesen Versuchen habe ich bei einer Anzahl von Impftieren die Organe in gewissen Zeitabständen in verschiedenen Konservierungsstadien häufiger untersucht und dabei jedesmal neben dem konzentrierten Extrakt auch solchen in einer Verdünnung von 1:10 verwendet. Die Resultate hiervon gibt Tabelle IV wieder.

Durch diese Versuche sah ich zunächst das bestätigt, was ich bereits vorher, bei der Besprechung der Ergebnisse der Tabelle III erwähnt habe, daß nämlich die Präzipitogene durch die fortschreitende Fäulnis der Organe geschädigt — entweder abgeschwächt oder ganz zerstört — werden, daß aber eine bestimmte Gesetzmäßigkeit darüber nicht zu bestehen scheint, da die Resultate nicht ganz gleichmäßig sind. Jedenfalls kann ich die von vielen Autoren bei Milzbrand und Schweinerotlauf und die von Piras bei Pest gemachten Beobachtungen, daß die Thermopräzipitation besonders bei der Untersuchung verfaulten Materials gute Dienste leistet, nach diesen Befunden nicht bestätigen, wenigstens nicht soweit es sich um künstlich mit Pest infizierte Tiere handelt. Die Verwendung verdünnter Extrakte ferner erscheint mir nach diesen Versuchen nicht empfehlenswert, weil sie in vielen Fällen entweder ganz versagen, oder, was für die Diagnosenstellung gleichbedeutend ist, fragliche Resultate ergeben oder aber die Reaktion wesentlich schwächer ausfallen lassen als in konzentriertem Zustande. Meine Befunde stimmen auch in dieser Beziehung mit denen von Piras nicht überein, denn Piras fand positive Reaktion auch noch bei erheblichen Verdünnungen des Extraktes (bis 1:120), und erst mit fortschreitender Fäulnis trat bei ihm eine Abnahme der Präzipitogene ein, immerhin aber hatte er nach 58 Tagen bei einer Verdünnung von 1:20 noch einen positiven Ausfall der Präzipitation. Für Milzbrand und Schweinerotlauf werden ähnliche günstige Resultate bei Verwendung verdünnter Extrakte berichtet (Favero, Schulte u. a.).

Während die bisher beschriebenen Untersuchungen sich auf Tiere erstreckten, die künstlicher Pestinfektion erlegen waren, sollen im folgenden die Befunde bei Ratten wiedergegeben werden, die an spontan akquirierter Pest eingegangen waren. Wie bereits oben erwähnt, habe ich Ratten von vier verschiedenen Dampfern, bei denen nach den üblichen bakteriologischen Methoden Pest festgestellt worden war, in meine Untersuchungen mithineinziehen können. Es waren dies die Dampfer „Granada“ mit Ladung aus Rosario, „Roath“ aus Rangoon, „Campus“ aus Santa Fé und „Tropea“ aus Buenos Aires. Die Rattenkadaver befanden sich bei ihrer Einlieferung zum großen Teil in mehr oder weniger fortgeschrittenem Verwesungszustand, doch wurden auch frisch tote angetroffen. Die Diagnose „Pest“ wurde durch Kulturverfahren bzw. durch den Tierversuch sichergestellt; meine Präzipitationsversuche sollten also nur zur Prüfung des Verfahrens dienen. Einen Teil der Organe habe ich mehrmals untersucht, zuerst bei der Einlieferung der

Tabelle IV.

No.	Tier	Organ	Gehalt an Pestbacillen	Tage post mort.	Konservierungszustand	Präzipitation								Normalserumkontrolle	
						Extrakt konzentriert		Extrakt 1:10		Extrakt konzentriert		Extrakt 1:10			
						sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.	sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.	sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.	
1	Ratte 87	Leber und Milz	sehr spärlich	1 5 9 15 25	frisch mäßig faul stark faul total faul fast eingetrocknet	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	— — — — —
2	Ratte 82	Leber und Milz	mäßig reich	0 5 10 24	frisch mäßig faul stark faul total faul	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	— — — —
3	Ratte 83	Leber und Milz	mäßig reich	1 5 9 15	frisch mäßig faul stark faul total faul	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	— — — —
4	Ratte 84	Leber und Milz	ziemlich spärlich	0 5 10 15	frisch ziemlich faul stark faul total faul	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	— — — —
5	Ratte 85	Leber und Milz	ziemlich spärlich	0 5 10 21	frisch mäßig faul stark faul total faul	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	— — — —
6	Ratte 86	Leber und Milz	mäßig reich	0 5 10 15	frisch mäßig faul stark faul total faul	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	± ± ± ±	— — — —
7	Ratte 87	Leber und Milz	mäßig reich	0 5 10 15 23	frisch mäßig faul stark faul total faul eingetrocknet	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	— — — — —

No.	Tier	Organ	Gehalt an Pestbacillen	Tage post mort.	Konservierungszustand	Präzipitation								Normalserum Kontrolle	
						Extrakt konzentriert		Extrakt 1:10		Extrakt konzentriert		Extrakt 1:10			
						sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.	sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.	sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.	
8	Ratte 88	Leber und Milz	mäßig zahlreich	0 4 15 23	frisch leicht faul total faul fast eingetrocknet	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—
9	Ratte 90	Leber und Milz	zahlreich	0 5 10 16 22	frisch mäßig faul stark faul total faul total faul	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—
10	Ratte 93	Leber und Milz	spärlich	0 5 10 15 24	frisch mäßig faul stark faul total faul total faul	±	±	±	±	±	±	±	±	±	—
11	Ratte 97	Leber und Milz	ziemlich zahlreich	1 8 13 15 25 36 42	frisch total faul fast eingetrocknet ziemlich faul stark faul total faul total faul	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—
12	Meerschw. 49	Leber und Milz	sehr zahlreich		frisch mäßig faul stark faul total faul total faul	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—

Tabelle V.

Lfde No.	Tier, Organ	Gehalt an Pest-bacillen	Konservierungszustand	I. Untersuchung			Normalserum Kontrolle	Wieviel Tage später	Konservierungszustand	II. Untersuchung			Normalserum Kontrolle
				Präzipitation		Präzipitation							
				sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.				sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.	
1	R. 486 Leber	mäßig zahlreich	stark faul	+	++	++	—						
2	R. 486 Milz	mäßig zahlreich	stark faul	++	++	+++	—						
I. Dampfer „Granada“.													
3	R. 3242 Milz und Leber	zahlreich	ziemlich faul	++	+++	+++	—	23	total faul	++	++	++	—
4	R. 3243 Leber	sehr zahlreich	ziemlich faul	++	+++	+++	—	23	total faul	+	+	+	—
5	R. 3283 Milz und Leber	sehr zahlreich	ziemlich faul	++	++	++	—	21	total faul	++	++	++	—
6	R. 3284 Milz und Leber	zahlreich	ziemlich faul	++	++	+++	—	20	total faul	++	++	++	—
7	R. 3287 Milz und Leber	zahlreich	ziemlich faul	++	++	++	—	20	total faul	++	++	++	—
8	R. 3290 Milz und Leber	sehr zahlreich	ziemlich faul	+	++	++	—	20	total faul	++	++	++	—
9	R. 3292 Milz und Leber	sehr zahlreich	ziemlich faul	+	++	++	—	22	total faul	+	++	++	—
10	R. 3295 Milz und Leber	zahlreich	ziemlich faul	++	+++	+++	—	22	total faul	++	++	++	—
11	R. 3297 Milz und Leber	sehr zahlreich	ziemlich faul	++	+++	+++	—	22	total faul	++	++	++	—
12	R. 3300 Milz und Leber	zahlreich	ziemlich faul	+	++	++	—	22	total faul	+	+	+	—
13	R. 3301 Milz und Leber	mäßig zahlreich	ziemlich faul	+	+	+	—	22	total faul	±	±	±	—
14	R. 3410 Milz und Leber	?	total faul	+	++	++	—						
15	R. 3411 Milz und Leber	?	total faul	++	+++	+++	—						
16	R. 3527 Milz und Leber	sehr zahlreich	fast frisch	+	++	++	—	19	total faul	+	++	++	—
II. Dampfer „Roath“.													

Lfde No.	Tier, Organ	Gehalt an Pest-bacillen	I. Untersuchung					II. Untersuchung					
			Konservierungs-zustand	Präzipitation			Normal-serum Kontrolle	Wieviel Tage später	Konservierungs-zustand	Präzipitation			Normal-serum Kontrolle
				sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.				sofort	nach 5 Min.	nach 30 Min.	
III. Dampfer „Campus“.													
17	R. 4956 Milz und Leber	zahlreich	frisch	++	+++	+++	—	10					
18	R. 4958 Milz und Leber	sehr zahlreich	frisch	++	+++	+++	—	10					
19	R. 4960 Milz und Leber	mäßig zahlreich	frisch	±	+	+	—	10					
IV. Dampfer „Tropea“.													
20	R. 5095 Milz und Leber	ziemlich zahlreich	ziemlich faul	++	+++	+++	—	10	total faul	±	+	—	
21	R. 5113 Milz und Leber	ziemlich zahlreich	fast frisch	+++	+++	+++	—	10	total faul	++	++	—	
22	R. 5114 Milz und Leber	ziemlich zahlreich	fast frisch	+	+	+	—	10	total faul	±	±	—	
23	R. 5135 Milz und Leber	sehr zahlreich	mäßig faul	+	+	+	—	10	total faul	±	±	—	
24	R. 5137 Leber	sehr zahlreich	mäßig faul	+++	+++	+++	—	10	total faul	+	+	—	
25	R. 5138 Leber	zahlreich	mäßig faul	++	+++	+++	—	10	total faul	++	++	—	
26	R. 5159 Milz und Leber	zahlreich	fast frisch	+++	+++	+++	—	10	total faul	++	++	—	
27	R. 5188 Milz und Leber	zahlreich	frisch	++	+++	+++	—	11	total faul	+	+	—	
28	R. 5200 Milz und Leber	sehr zahlreich	fast frisch	++	+++	+++	—	10	total faul	++	++	—	
29	R. 5201 Milz und Leber	zahlreich	ziemlich faul	++	+++	+++	—	10	total faul	±	+	—	
30	R. 5211 Milz und Leber	sehr zahlreich	ziemlich faul	++	+++	+++	—	10	total faul	++	++	—	
31	R. 5394 Milz und Leber	sehr zahlreich	fast frisch	++	+++	+++	—	10	total faul	±	±	—	

Kadaver, später bei fortgeschrittenerer Fäulnis. Näheres darüber sagt Tabelle V.

Wir sehen also, daß die Reaktion bei spontan infizierten Pestratten regelmäßig positiv ausfällt, und zwar daß sie in den meisten Fällen sehr intensiv auftritt, durchschnittlich intensiver als bei künstlicher Infektion, auch wenn hier der Bacillengehalt sehr groß ist. Der Konservierungszustand der Organe ist ohne Einfluß auf das Vorhandensein der Präzipitogene, sowohl bei frischen Organen wie bei solchen in den verschiedensten Verwesungsgraden war die Reaktion positiv. Auffallend ist jedoch das Ergebnis bei der zweiten Untersuchung der vom Dampfer „Tropæa“ stammenden Ratten. Obgleich nur 10 bzw. 11 Tage zwischen den beiden Untersuchungen lagen, ergab ein Teil der anfangs stark positiv reagierenden Fälle jetzt eine fragliche, also für die Diagnose unbrauchbare Reaktion. Worauf dieser Unterschied beruht, vermag ich nicht zu sagen. Es war zwar ein anderes Pestserum mit einem etwas niedrigeren Präzipitationstiter zur Verwendung gekommen, jedoch kann meines Erachtens darin nicht der Grund liegen, da ja doch andere Fälle (No. 21, 28 und 30) keine Differenz gegen das Resultat der ersten Untersuchung ergaben. Erwähnen will ich noch, was in der Tabelle nicht mit aufgeführt ist, daß ich auch bei einem Teil dieser Versuche die Extrakte außerdem in der Verdünnung 1:10 verwendet habe, daß aber auch dabei eine größere Anzahl Versager zu beobachten waren in Fällen, wo der konzentrierte Extrakt deutlich positive Reaktion aufwies.

Waren die eben besprochenen Untersuchungen ausgeführt mit Material, an dem bereits die Diagnose „Pest“ auf andere Weise gestellt war, so will ich daneben einen Fall erwähnen, bei dem ich die Präzipitation mit zur Orientierung über einen zweifelhaften Befund heranzog. Es handelt sich um eine in mäßig faulem Zustande eingelieferte Ratte vom Dampfer „Mediterrano“. Der anatomische Befund war nicht unverdächtig für Pest, im gefärbten Ausstrichpräparat fanden sich neben vielen anderen Keimen polgefärbte Stäbchen von charakteristischer Form, so daß Pestverdacht nicht ausgeschlossen werden konnte. Gleichzeitig mit dem Tierversuch und dem Anlegen von Kulturplatten machte ich die Präzipitinreaktion: Es bildete sich kein Trübungsring. Bestätigung fand dieses Resultat später durch den negativen Ausfall des Tierversuches und des Kulturverfahrens.

Während alle bisher aufgeführten Versuche dem Zwecke dienten, nachzuweisen, ob in den Organen von an Pest krepierenden Tieren Präzipitogene enthalten sind, die mit den Präzipitinen des Pestserums eine typische Reaktion ergaben, handelte es sich jetzt noch darum, festzustellen, ob diese Reaktion spezifisch ist. Es war also noch zu untersuchen, erstens, ob bei Berührung von Extrakten aus sicher nicht pestbacillenhaltigen Organen mit Pestserum die Reaktion ausbleibt, und zweitens, wie sich die Extrakte aus Pestorganen bei Unterschichtung mit anderen Sera — Normal- und Immunsera — verhalten. Um diese letztere Frage zunächst zu erledigen, habe ich jeden Extrakt aus Pestorganen, wie das auch in den einzelnen Tabellen mitaufgeführt ist, mit Normalserum — Pferde-, Rinder- und Kaninchenserum — zusammengebracht. Diese Kontrollen sind vorschriftsmäßig sämtlich negativ; ich kann deshalb von der Darstellung in Tabellenform absehen.

Wie verhielten sich nun die Extrakte aus sicher nicht pestbacillenhaltigen Organen bei Unterschichtung mit Pestserum? Ich lasse hier

zunächst die diesbezügliche Tabelle folgen (Tabelle VI), aus der die Resultate zu ersehen sind.

Wenn man also auf Grund der mit pesthaltigem Material gemachten Beobachtungen angenommen hatte, durch die Präzipitationsmethode ein gutes Hilfsmittel für die Feststellung der Pest gefunden zu haben, so muß diese Annahme durch die in Tabelle VI demonstrierten Ergebnisse mit sicher nicht-pesthaltigem Material leider stark erschüttert werden, denn es zeigt sich, daß eine nicht unbeträchtliche Zahl von aus Normalorganen hergestellten Extrakten bei Unterschichtung mit Pestserum ebenfalls eine typische Ringbildung auftreten läßt, zum Teil sogar in recht intensiver Form. In einigen Fällen (No. 13, 14, 15) wurde die Reaktion erst positiv, nachdem die Organe einen hohen Fäulnisgrad erreicht hatten, während sie bei mehrfachen vorhergehenden Untersuchungen negativ ausgefallen war. In allen diesen auffallenden und den Erwartungen widersprechenden Fällen waren die Kontrollen natürlich mit besonderer Aufmerksamkeit angesetzt worden, es ließen sich Fehlerquellen auf diese Weise jedoch nicht entdecken. Es bleibt also nichts übrig, als anzunehmen, daß die Präzipitine des Pestserums auch mit anderen als mit den von Pestbacillen produzierten Präzipitinogenen jene Verbindung eingehen können, die zu der charakteristischen Reaktion führt, daß somit die Reaktion nicht als spezifisch angesehen werden kann. Es könnte hier jemand einwenden, daß man in den Fällen, wo die unspezifischen Trübungen auftraten, durch weitere Extraktverdünnungen quantitativ hätte feststellen sollen, bis zu welchem Verdünnungsgrade sich diese Trübungen zeigten, um dadurch einen Vergleich zu haben gegenüber den Reaktionen bei aus Pestorganen bereiteten Extrakten, und um dann eine Verdünnungsgrenze finden zu können, über die hinaus nur noch spezifische Trübungen vorkommen. Dieses Verfahren habe ich jedoch als aussichtslos aufgegeben, weil, wie oben gesagt, schon die geringen Verdünnungen der Pestextrakte von 1:10 häufig fragliche oder negative Reaktionen ergaben, während andererseits Normalextrakte in der Konzentration 1:10 noch deutlich positiven Ausfall zeigten. Eine bestimmte Grenze ließe sich hier also nicht ziehen.

Zur weiteren Kontrolle für die Spezifität der Präzipitinreaktion habe ich dann noch eine Anzahl Tiere, die an anderen Infektionskrankheiten (Tuberkulose, Pseudotuberkulose, Milzbrand, Typhus murium, Streptokokkensepsis) eingegangen waren, untersucht und bei allen ein Ausbleiben der Präzipitation feststellen können.

Schließlich habe ich noch einige Versuche darüber angestellt, ob bei Konservierung von pestbacillenhaltigen Organen in Formalin und in Alkohol die Präzipitinogene erhalten bleiben oder geschädigt werden. Aehnliche Untersuchungen sind mit milzbrandigen Organen von Oscauder und mit Rotlauforganen von Gauss gemacht worden mit dem Resultat, daß durch Aufbewahrung in Alkohol und Formalin die Präzipitinreaktion nicht beeinflußt wird. Ich benutzte Organstücke, teils frische, teils faule, die zahlreiche Pestbacillen erhielten und die vor dem Einlegen in die Konservierungsflüssigkeit mit Pestserum stark positive Präzipitation gezeigt hatten. Nach 6—7-wöchigem Aufenthalt in 4-proz. Formalinlösung bzw. in 96-proz. Alkohol wurde dann die Präzipitation wiederholt, nachdem die Konservierungsflüssigkeit durch sorgfältiges Auswaschen entfernt worden war. Zur Kontrolle wurden ebenso be-

handelte Organstücke eines Normaltieres untersucht, bei denen in frischem Zustande die Präzipitation negativ gewesen war. Tabelle VII gibt über die Einzelheiten dieses Versuches Auskunft.

Tabelle VII.

Lfd. No.	Tier	Organ	Zu- stand	Wie lange konser- viert?	Präzipitation							
					Formalin				Alkohol			
					sofort	nach 5 M.	nach 30 M.	Kontr.	sofort	nach 5 M.	nach 30 M.	Kontr.
1	Meersch. 46	Leber	frisch	46 Tage	+	+	++	-	++	++	++	-
2	Ratte 3243	„	zieml. frisch	46 „	+	++	++	-	++	++	++	-
3	Ratte 3300	„	stark faul	40 „	±	±	±	-	+	++	++	-
4	Meersch. 45	„	total faul	40 „	±	±	±	-	++	++	++	-
5	Ratte 3252 (Normaltier)	Leber u. Milz	frisch	45 „	-	-	-	-	-	-	-	-

Soviel aus dieser allerdings nur kleinen Versuchsreihe zu ersehen ist, wird also die Reaktion durch Aufbewahrung der Organe in Alkohol nicht beeinflusst, während durch Formalin eine Schädigung der Präzipitinogene erfolgen zu können scheint.

Wenn ich das Ergebnis meiner Untersuchungen zum Schluß noch einmal kurz überblicke und mir die Frage vorlege, welchen Nutzen uns die Präzipitationsmethode für die Diagnose der Pest verspricht, so komme ich zu dem Resultat, daß die Reaktion wohl ein Hilfsmittel ist für die Feststellung von Pest neben den anderen bewährten bakteriologischen Untersuchungsmethoden, daß sie aber vorläufig nicht als Ersatz für dieselben angewandt werden kann, da ihr die dafür erforderliche Haupteigenschaft, die strenge Spezifität, fehlt. Maßgebend für die Diagnose „Pest“ muß daher der Ausfall des Tierversuches, des Kulturverfahrens und der Agglutination bleiben, und die Nachteile, welche die dadurch eventuell bedingte Verzögerung der Diagnose bringt, muß man eben nach wie vor mit in Kauf nehmen.

Zusammenfassung.

1) In den Organen von an Pest eingegangenen Tieren, sowohl bei künstlicher wie bei natürlicher Infektion, läßt sich durch Extraktion mittels Kochens mit physiologischer NaCl-Lösung ein Präzipitinogen nachweisen, das bei Unterschichtung mit Pestserum an der Berührungsstelle einen grauweißen Trübungsring bildet.

2) Diese Reaktion tritt sowohl bei frischen wie bei faulen Organen auf, bei letzteren jedoch weniger regelmäßig.

3) Die Intensität der Trübung ist im allgemeinen abhängig von der Menge der in den Organen enthaltenen Pestbacillen.

4) Zur Anstellung der Reaktion ist die Verwendung konzentrierten Serums und konzentrierter Extrakte nötig, weil Verdünnungen leicht negative oder zweifelhafte Resultate ergeben.

5) Die Reaktion fällt zuweilen auch positiv aus, wenn an Stelle der aus Pestorganen hergestellten Extrakte solche aus Normalorganen mit Pestserum zusammengebracht werden. Sie kann daher nicht als spezifisch angesehen werden.

6) Auch nach längerer Aufbewahrung in Formalin oder Alkohol liefern pestbacillenhaltige Organe positive Präzipitinreaktion.

7) Die bakteriologischen Methoden zur Feststellung der Pest können nicht entbehrt werden, die Präzipitation kann nur ein Unterstützungsmittel für dieselben bedeuten.

Literatur.

- Ascoli, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911.
 — Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 11. 1911.
 — Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1911. No. 22.
 — Dtsche med. Wochenschr. 1911. No. 8.
 — Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912.
 — Virchows Arch. Bd. 213. 1913.
 — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913.
 Ascoli u. Valenti, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. 1910. No. 5/6.
 Bierbaum, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1911. No. 12.
 Blau u. Wallenberg, Tierärztl. Rundsch. 1913. No. 25.
 Casalotti, Berlin. tierärztl. Wochenschr., 1911. No. 49.
 Declich, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 12. 1912.
 Djnoubelieff, Rev. gén. de méd. vétérin. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. 1913.)
 Drescher, Mitteil. d. Kaiser-Wilhelms-Instituts f. Landwirtsch. in Bromberg. 1913. Heft 5.
 Faginoli, München. med. Wochenschr. 1913. No. 27.
 Favero, Fol. serolog. Vol. 7. 1911.
 Finzi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913.
 Fiscoeder, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 12. 1912.
 — Ebenda. Bd. 13. 1913.
 Flemming, Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 6, 7, 8.
 Floris Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 14.
 De Gasperi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1912.
 Gauss, [Inaug. Diss.] Stuttgart 1912; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 56. 1913.
 Granucci, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 10. 1911.
 Hecht, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913.
 Heffter, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1913. No. 22.
 Hobstetter, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 7.
 Hoffmann, Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1913. No. 38.
 Isabolinsky, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 14. 1913.
 Isabolinsky u. Patzewitsch, Russky Wratsch. 1912; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 55.
 — — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913.
 — — Ebenda. Bd. 70.
 Iwicky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913.
 Kübler, [Inaug. Diss.] Leipzig 1913; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 59. 1914.
 Lebre, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 12. 1912.
 Lenfeld, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 14. 1913.
 Meyer, O., Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 24. 1912.
 Murschel, [Inaug. Diss.] Stuttgart 1912; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. 1913.

- Oseander, [Inaug. Diss.] Stuttgart 1912; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 55.
- Pfeiler u. Drescher, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 13. 1913.
- Pfeiler, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1911. No. 13.
- Ebenda. 1912. No. 9 und 10.
- Ebenda. 1912. No. 25.
- Piras, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913.
- Preßler, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 11.
- Profé, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 64. 1912.
- Quevedo u. Maag, Rev. Zootecon. Buenos Ayres. 1912. No. 4. (Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 58. 1913).
- Reinhard, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1913. H. 3.
- Roncaglio, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 9. 1911.
- Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 12. 1912.
- Rothacker, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 16. 1913.
- Ruppert, Mittel. d. Kaiser-Wilhelms-Institut. f. Landwirtsch. in Bromberg. Bd. 4. 1912. H. 3.
- Sawitzki, J., Arch. veterinarisch. Nauk. 1911. No. 9; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 51.
- Schulte, [Inaug. Diss.] Hannover 1913; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 59.
- Schütz u. Pfeiler, Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 38. 1912.
- Seibold, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Bd. 23. 1913.
- Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 13. 1913.
- Silva, ebenda. Bd. 12. 1912.
- Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 21.
- Szymanowsky u. Zagaja, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 12. 1912.
- Tempel, Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1913. No. 29.
- Vigano, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913.
- Zagaja, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 45.
- Zingle, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. 1914. H. 2.

Nachdruck verboten.

Ueber das von Conradi angegebene Verfahren der elektiven Züchtung von Diphtheriebacillen durch Ausschütteln mit Kohlenwasserstoffen.

[Aus dem Hygienischen Institut zu Posen
(Direktor: Geheimrat Professor Dr. E. Wernicke).]

Von Dr. **K. Günther**,

Oberarzt beim Inf.-Regt. 46, kommandiert zum Institut.

In Bd. 71. H. 3 dieser Zeitschrift berichteten Gildemeister und ich über unsere Erfahrungen mit einigen neueren Methoden des Diphtheriebacillennachweises.

Die Ginessche Modifikation der M. Neisserschen Doppelfärbung hatte sich auch uns für die Besichtigung von Originalpräparaten aus frischen Rachenfällen als sehr brauchbar erwiesen; dagegen hatten der Tellurnährboden nach Conradi und Troch, die Galleplatte nach v. Drigalski und Bierast uns keine besseren Resultate geliefert als der Originalnährboden nach Loeffler. Auch mit dem Heymannschen Anreicherungsverfahren hatten wir keine günstigen Ergebnisse erzielt.

In Ergänzung dieser Arbeit sei es mir gestattet, die Ergebnisse mitzuteilen, die mir das Conradische Verfahren der elektiven Züchtung von Diphtheriebacillen durch Ausschütteln mit Kohlenwasserstoffen lieferte.

Das Prinzip dieser Methode beruht auf der Beobachtung von Lange und Nitsche, daß Bakterien, die eine an Lipoiden reiche Hülle besitzen, aus wässerigen Bakterienaufschwemmungen durch Kohlenwasserstoffe sich ausschütteln lassen. Sie gehen beim Entmischen der Flüssigkeiten in den Kohlenwasserstoff über oder sammeln sich in der Grenzschicht an. Zu den Bakterien, die reich an Lipoiden sind, gehören auch die Diphtheriebacillen.

Das Conradische Verfahren besteht nun in folgenden Maßnahmen: Diphtherieverdächtige Rachenabstriche werden auf $\frac{1}{4}$ Stunde in Kochsalzröhrchen, die auf 37° angewärmt sind, gebracht und in der Kochsalzlösung tüchtig ausgeschüttelt. Darauf werden 2 ccm Petroläther oder Pentan zugesetzt, die Röhrchen mit einem Gummistopfen fest geschlossen und tüchtig geschüttelt.

Nach dem Entmischen der Flüssigkeiten befinden sich nach Conradi die Diphtheriebacillen in dem Petroläther bzw. Pentan und in der Grenzschicht zwischen diesen Medien und der Kochsalzlösung. Die Verimpfung auf Nährböden erfolgt nun mit Hilfe eines Oelstäbchens, das aus einem mit einem kleinen Wattetampon, über den dünnes Fließpapier gespannt ist, armierten Draht besteht. Kurz vor dem Gebrauch wird das armierte Ende des Stäbchens in steriles Olivenöl getaucht, alsdann erfolgt mit diesem Oelstabe die Entnahme der im Petroläther bzw. Pentan und in der Grenzschicht befindlichen Keime, die an dem Oelstäbchen hängen bleiben und auf einen festen Nährboden ausgestrichen werden können, während die im Wasser befindlichen Keime an der Oelschicht abgleiten.

Das Ergebnis dieser Maßnahmen soll nun sein, daß entweder Diphtheriebacillen wachsen oder der Nährboden nahezu steril bleibt.

Es liegen bereits einige Nachprüfungen dieser Methode vor, deren Resultate hier kurz wiedergegeben seien.

Rhodovi fand zwar eine Ansammlung der Diphtheriebacillen im Kohlenwasserstoff und besonders in der Grenzschicht, aber auch Begleitbakterien, wenn auch in verminderter Zahl. Nach seinen Ergebnissen verdient das alte Loefflersche Ausstrichverfahren den Vorzug vor der Conradischen Methode, da er mit ersterem in 67 Proz., mit letzterem nur in 55 Proz. der untersuchten Fälle ein positives Resultat erzielen konnte. Die Angaben Conradis, entweder wachsen Diphtheriebacillen oder die Platte bleibt nahezu steril, konnte er nicht bestätigen.

Schulze erzielte mit dem Petrolätherverfahren weniger positive Resultate als mit der Loefflerschen Originalmethode, das Pentanverfahren lieferte ihm annähernd die gleiche Zahl positiver Ergebnisse.

Orkin schreibt dem Zufall eine große Rolle bei dem Ausschüttelungsverfahren zu; auch Lange konnte sich nicht von den Vorteilen der neuen Methode überzeugen, er erzielte zwar mit dem Pentanverfahren annähernd dieselben Resultate wie mit der Loefflerschen Originalmethode, glaubt aber, daß mit Rücksicht auf die Umständlichkeit des Verfahrens seine Einführung in die Praxis ausgeschlossen sei.

Bevor ich an die Untersuchung von Rachenabstrichen ging, stellte ich einige orientierende Versuche mit künstlichen Bakteriengemischen an. Eine Reinkultur von Diphtheriebacillen aus dem Petroläther oder der Grenzschicht habe ich in keinem Falle erhalten. Im allgemeinen fanden sich auf der Platte alle Keime wieder, die im Bakteriengemisch waren, teils war die Zahl der Diphtheriebacillen im Vergleich zu den beigemengten Bakterien deutlich vermehrt, teils war eine Verminderung der Begleitbakterien nicht zu finden.

Bei der Untersuchung von Rachenabstrichen ging ich in der Weise vor, daß ich die Rachenabstriche zuerst auf einer Loeffler-Platte (Platte I) ausstrich. Alsdann wurden sie nach dem Conradischen Verfahren mit Petroläther oder Pentan ausgeschüttelt und auf einer zweiten Loeffler-Platte (Platte II) ausgestrichen. Untersucht habe ich im ganzen 287 Fälle, davon wurden 187 mit Petroläther und 100 mit Pentan ausgeschüttelt. Bebrütet wurden die Platten 24 bzw. 48 Stunden. War ein Fall schon nach 24 Stunden auf Platte I und II positiv, so wurde er von der weiteren Untersuchung ausgeschlossen.

Die Ausschüttelung mit Petroläther hatte folgendes Ergebnis:

Zahl der untersuchten Fälle 187	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
Auf Platte I (Originalausstrich auf Loeffler-Serum) positiv	35	38
Auf Platte II (nach Ausschüttelung mit Petroläther) positiv .	29	33
Auf beiden Platten positiv	27	31
Nur auf Platte I positiv	8	7
Nur auf Platte II positiv	2	2
Insgesamt positiv	37	40

Die Ausschüttelung mit Pentan hatte folgendes Ergebnis:

Zahl der untersuchten Fälle 100	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
Auf Platte I (Originalausstrich auf Loeffler-Serum) positiv	28	29
Auf Platte II (nach Ausschüttelung mit Pentan) positiv . . .	25	29
Auf beiden Platten positiv	22	27
Nur auf Platte I positiv	6	2
Nur auf Platte II positiv	3	2
Insgesamt positiv	31	31

Bei Ausschüttelung mit Petroläther lieferte also das Conradische Verfahren etwas weniger positive Resultate als das Loefflersche Ausstrichverfahren, bei Ausschüttelung mit Pentan waren die Ergebnisse dieselben.

Kulturen, die fast Reinkulturen von Diphtheriebacillen waren, habe ich durch das Ausschüttelungsverfahren in den Fällen gesehen, die auch nach dem gewöhnlichen Ausstrichverfahren schon beinahe Reinkulturen von Diphtheriebacillen lieferten. Es kamen allerdings auch Fälle vor, wo die Ausstrichplatte nur wenige Diphtheriekeime enthielt, während die nach dem Ausschütteln mit Kohlenwasserstoff angelegte Platte fast

eine Reinkultur von Diphtherie ergab. Dem stehen jedoch Fälle gegenüber, in denen das Conradische Verfahren, insbesondere bei Anwendung von Petroläther, völlig versagte, während die gewöhnliche Ausstrichplatte mehr oder minder reichliches Wachstum von Diphtheriebacillen zeigte.

Im Durchschnitt war aber bei den positiven Fällen eine Vermehrung der Diphtheriebacillen und eine Verminderung der Begleitbakterien auf den nach dem Conradischen Verfahren angelegten Platten zu finden.

Bei den negativen Fällen war im allgemeinen auf den nach dem Conradischen Verfahren angelegten Platten eine Verminderung der Keime gegenüber der Ausstrichplatte zu konstatieren. In einigen Fällen erhielt ich sterile oder nahezu sterile Platten, in anderen dagegen wieder von Heubacillen, Kokken und Hefen völlig überwucherte Platten.

Zusammenfassung.

Das Conradische Verfahren liefert annähernd dieselben Ergebnisse wie das alte Loefflersche Ausstrichverfahren.

In Anbetracht des Zeitaufwandes und der Umständlichkeit des Conradischen Verfahrens ist es nicht geeignet, das Loefflersche Verfahren zu ersetzen.

Literatur.

- Bötticher, Hyg. Rundsch. 1914. No. 13.
Conradi, C., München. med. Wochenschr. 1913. No. 20.
Lange u. Nitsche, Dtsche med. Wochenschr. 1909. No. 10.
Langer, Hyg. Rundsch. 1914. No. 8.
Orkin, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. H. 4/5.
Rhodovi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. H. 2/3.
Schulze, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. H. 2.

Nachdruck verboten.

Ein billiger Nährboden (Bouillon) aus Blutkuchen.

[Aus dem Königl. Ungar. Bakteriologischen Institut in Budapest.

Leiter: Prof. Dr. Aladár Aujeszky.]

Von Privatdozent Dr. Alfred Szász, Königl. Oberbakteriolog.

Mit 1 Figur im Texte.

Im allgemeinen hält man die Fleischbrühe (Bouillon) oder den Fleischsaft für den geeigneten Nährboden der Bakterien, besonders der pathogenen. Nach den bisherigen Auffassungen enthält nämlich der nach den üblichen Methoden hergestellte Fleischsaft, welcher auch bekanntlich den wesentlichsten Bestandteil der mit Agar oder Gelatine hergestellten starren Nährboden bildet, in geeigneter Form und bestem Verhältnisse jene Eiweißarten und sonstigen Stoffe, welche die pathogenen Bakterien in den menschlichen und tierischen Organismus, besonders im Blute (Friedberger-Reiter u. a.), vorfinden und die sie daher, an diese schon gewöhnt, auch bei der künstlichen Züchtung erfordern. Die meisten der bekannten pathogenen Bakterien gedeihen in der Tat ausgezeichnet in den verschiedenartigen Fleischbrühen resp. auf den mit diesen hergestellten starren (Gelatine, Agar) Nährböden und nur einige, sehr anspruchsvolle Bakterienarten erfordern, daß diese Nährböden noch mit reinem, frischem Blute für sie vorteilhafter gemacht werden.

In den medizinisch-bakteriologischen Instituten werden die Nährböden im allgemeinen von Fleischarten hergestellt, welche am leichtesten zu beschaffen sind, d. h. von den billigsten. Neben Rind-, Kalb- und Pferdefleisch nimmt man die menschliche Placenta und den Fötus resp. andere normale oder pathologische Exkrete und Stoffe des menschlichen und tierischen Organismus nur sehr wenig in Anspruch. Hier sind die zu den verschiedenartigen bakteriologischen Untersuchungen erforderlichen speziellen Nährböden, wie die von Kaltblütern, hauptsächlich Seefische, ferner von Obst-, Getreidearten, Knollen, Pflanzenteilen, Dünger etc. bereiteten flüssigen oder starren Nährböden natürlich nicht mitgerechnet.

In kleineren bakteriologischen Instituten verursacht die Herstellung der Nährböden keine größeren Ausgaben, da 2000 ccm Bouillon oder starrer Nährboden aus 1 kg Rind- oder Pferdefleisch leicht herzustellen ist; dies ist allerdings ein ansehnliches Quantum, da sich die Arbeit und Forschung nur im kleineren Kreise bewegt. Nicht so aber liegt es in den größeren bakteriologischen Instituten. Die jährliche Ausgabe für die Nährböden ist hier unglaublich groß, denn schon die Erhaltung der Bakteriensammlungen verschlingt ein großes Quantum; nichtsdestoweniger wird auch dort sehr viel Nährboden verbraucht, wo die verschiedenen bakteriellen Impfstoffe oder Sera im Großen hergestellt werden. In solchen Instituten ist daher die billigere Bereitung der Nährböden gar keine zu vernachlässigende Frage, besonders jetzt, wo auch schon 1 kg Pferdefleisch 70—90 Heller kostet.

In der Abteilung für Impfstoffherzeugung unseres Institutes kam dem Präparator Joseph Eugen Szász bei der Verarbeitung der verschie-

denen Sera der Gedanke, ob man die nach Absaugen des Serums zurückbleibende Blutsubstanz, den Blutkuchen, namentlich das koagulierte Fibrin und die von diesem umgebene Masse der weißen und roten Blutkörperchen nicht in irgendeiner Weise bei der Bereitung der Nährböden, besonders der Bouillon, verwerten könnte, um so mehr, da die hierzu verwendete Fleischmenge in den letzten Jahren schon eine wesentliche Summe unserer Dotation in Anspruch nahm.

Der praktische Wert dieses Gedankens wird mir vom ersten Moment an klar, der große Eiweißgehalt des Blutes ist ja allgemein bekannt, sowie daß einige anspruchsvolle Bakterienarten, z. B. die Gonokokken, Influenzabakterien, ziemlich am besten nur auf den mit Blut verbesserten Nährböden zu züchten sind, andererseits scheint es aber auch sicher zu sein, daß die direkt aus Blut hergestellten Nährböden eher jene Stoffe enthalten, an welche die pathogenen Bakterien im menschlichen und tierischen Organismus sich gewöhnt haben und welche auch den wesentlichsten Bestandteil der von Fleisch hergestellten Nährböden bilden. Besonders vom wirtschaftlichen Standpunkte aus scheint mir dieser Gedanke geradezu verlockend zu sein, teilweise weil wir bisher die bei der Serumerzeugung zurückbleibenden Blutkuchen nicht verwerten konnten. Wir glaubten daher unsere Nährböden von nun an gratis erlangen zu können. Wenn wir aber auch das Blut vom Schlachthofe herbeschaffen müssen, bleiben die Herstellungskosten für die Nährböden neben dem kaum in Betracht kommenden Preise, wie wir später sehen werden, doch immer unvergleichbar geringe; sie betragen kaum einige Heller.

Bei den schnell vorgenommenen Versuchen habe ich alsbald einen Weg gefunden, auf welchem die beim Kochen entstehenden und später noch zu erwähnenden störenden und unangenehmen Erscheinungen ganz ausgeschaltet werden können, jedenfalls wenigstens in solchem Maße, daß die aus Blut gekochte Bouillon von der üblichen sich in keiner Weise mehr unterscheidet.

Die Besorgnis, daß die aus Blutkuchen hergestellte Bouillon infolge ihres großen Hämoglobingehaltes dunkel gefärbt wird, ist unmotiviert, wenn wir in Betracht ziehen, daß das Hämoglobin während des Kochens in nicht farbige Substanzen zerfällt. Die Blutbouillon wie auch die Fleischbouillon wird bekanntlich nur dann rot gefärbt, wenn entweder das Kochen, oder noch mehr das nachherige Sterilisieren der schon fertigen Bouillon das gewünschte Maß überschreitet.

Die Versuchsergebnisse haben unsere Voraussetzung in jeder Hinsicht bestätigt. Man kann aus den bei der Serumerzeugung zurückbleibenden Blutkuchen sowie aus den vom Schlachthofe bezogenen verschiedenen Blutarten (Rind, Schwein, Pferd) vorzügliche Bouillon kochen, in welcher die pathogenen Bakterien, auch die schwerer zuchtbareren, in auffälliger Menge gedeihen. Wie unsere bisherigen Beobachtungen ergeben, ist die Toxinbildung der Bakterien nicht nur einwandfrei, sondern ist wahrscheinlich in vielen Hinsichten stärker als bei der üblichen Bouillonkultur.

Derzeit werden in unserem Institute die Nährböden schon größtenteils aus den bei Erzeugung der verschiedenen Sera zurückbleibenden Blutkuchen hergestellt, welche wir bisher nicht verwerten konnten; es hindert uns nichts mehr daran, unsere Nährböden konstant aus diesen Blutkuchen zu bereiten.

Man hat bekanntlich die verschiedenen Blutarten resp. deren einzelne Substanzen, wie Serum, rote Blutkörperchen, Hämoglobin, schon längst zur Herstellung spezieller Nährböden verwertet, und Cutolo¹⁾ hat sogar aus Ochsenblut einen speziellen Nährboden für Bakterien, die Hämoglobin beanspruchen, hergestellt. Aber die Blutkuchen resp. das Blut ist zur Herstellung der alltäglichen Nährböden bisher noch nicht empfohlen worden, zumindest nicht in einer Form, daß wir zur Herstellung der Bouillon und überhaupt der starren Nährböden das teure Fleisch durch das so billige Blut ersetzt haben.

* * *

Die empfohlene und in unserem Institute schon seit längerer Zeit geprüfte Blutbouillon wird im allgemeinen bereitet wie die Fleischbouillon. Da jedoch, wie schon erwähnt, die eigenartige Zusammensetzung des Blutkuchens, noch mehr aber die Konsistenz desselben, beim Kochen anfangs Schwierigkeiten verursacht (es kann sogar ohne besondere Kniffe keine reine [glänzende] Bouillon hergestellt werden), so will ich doch die wesentlichsten Momente resp. Kniffe schildern.

Zu 1 kg des bei der Serumerzeugung zurückbleibenden Blutes oder der vom Schlachthofe bezogenen Menge von koaguliertem Blut und Serum nehmen wir 2000 g destilliertes Wasser und lassen das Ganze kurze Zeit kochen.

Durch dieses Aufkochen erhält der bisher weiche Blutkuchen eine mehr oder weniger massive Konsistenz, worauf wir denselben in nußgroße Stücke zerkleinern und in derselben Flüssigkeit weiterkochen.

Das Zerkleinern des Blutkuchens vor dem Aufkochen empfehle ich nicht, da die äußere Schicht des Blutkuchens unter dem Einflusse der Hitze beim beginnenden Kochen sich stark verdichtet und den inneren Teil wie eine Rinde umgibt.

Dieser Umstand verhindert resp. verlangsamt das Durchkochen und zugleich das wünschenswerte Auslaugen (Extrahieren) der Blutkuchenklumpen, und dies ist zugleich der Grund, daß das Innere der Blutknochenklumpen auch nach verhältnismäßig langem Kochen rotgefärbt bleibt.

Infolge des begonnenen Aufkochens können wir jetzt den in seiner äußeren Schicht schon mehr massiven Blutkuchen leichter in dünnere Stücke zerkleinern, welche natürlich viel rascher durchzukochen sind.

Ich will noch bemerken, daß der Blutkuchen infolge seines großen spezifischen Gewichtes sofort auf den Boden sinkt und sich sogar dank seiner weichen Konsistenz auf den ganzen Boden ausbreitet und daran klebt. Dieser Umstand verursacht, daß das geronnene Blut, wahrscheinlich die geronnene Fibrinsubstanz, gleich beim beginnenden Aufkochen auf dem Boden sehr leicht anbrennt.

Dieses auch die Reinheit der Bouillon störende, unangenehme Anbrennen kann man vermeiden, wenn man das Kochgeschirr nicht auf die Flamme stellt, sondern den das Kochgeschirr haltenden Dreifuß vorerst mit einer dünneren Ziegel- oder einer Asbestscheibe

1) Cutolo, Brodo di sangue, nuovo terreno di cultura. (Boll. d. Soc. de natural. in Napoli. Anno 16; Ref. Baumgartens Jahresber. XVIII. 1902.)

resp. mit einer 2—3-reihigen Drahtplatte zudeckt und das Kochgeschirr erst dann darauf stellt. Auch jetzt ist es noch ratsam, zumindest am Anfange, den Blutkuchen mit irgendeinem Gegenstand (einem Holzlöffel) öfters vom Platze zu bewegen resp. langsam umzuführen.

Noch sicherer und einfacher können wir das Anbrennen des Blutkuchens verhindern, wenn wir auf den Boden des Kochgeschirres ein 2—3mal zusammengefaltetes Leinwandstück oder ein ganz gewöhnliches, rein gewaschenes Abwisch Tuch und den Blutkuchen erst auf diesen in die womöglich schon vorher bestimmte Wassermenge legen. Durch dieses Verfahren können wir das unangenehme Anbrennen mit Bestimmtheit vermeiden, besonders dann, wenn die auf den Boden plazierte Leinwand die Seitenwand des Kochgeschirres in einer gewissen Höhe bedeckt. Noch besser ist es, wenn die Ränder der Leinwand aus dem Kochgeschirr herausragen und an der äußeren Wand mit einer Schnur befestigt werden.

Der schon zerstückelte Blutkuchen wird nach dem ersten Aufkochen einem zweiten Aufkochen unterworfen. Wenn wir auch bei diesem Aufkochen das Anbrennen des Blutes nicht mehr zu fürchten haben, ist es doch der Einfachheit halber angezeigt, daß man auch zum weiteren Kochen das mit Leinwand bedeckte Geschirr verwendet.

Nach diesem Aufkochen wird die Bouillon durch eine grobe Leinwand filtriert, hernach, der üblichen Bouillonbereitung entsprechend, mit den gewünschten Stoffen, wie Pepton, Salz u. a. vermengt, sodann die Reaktion, entsprechend dem Bedürfnisse, modifiziert. Erwähnen will ich noch, daß die aus Blut gekochte Bouillon immer stark alkalisch ist, daher die Neutralisierung resp. Säuerung kaum fortbleiben kann: andererseits kann aber auch die Zugabe von Kochsalz reduziert werden resp. das Kochsalz ganz wegbleiben.

Die so hergestellte Bouillon wird entsprechend dem Zwecke weiter behandelt. Wenn wir eine tadellos glänzende, kristallreine Bouillon benötigen, was bekanntlich bei der Beurteilung der nur langsam wachsenden oder schwach gedeihenden Bakterien in erster Linie erforderlich ist, mengen wir vor dem letzten Filtrieren zur Bouillon das zu Schaum geschlagene Eiweiß von 1—2 Eiern resp. wir kochen die Bouillon hernach noch mäßig auf.

Mit diesem Verfahren bekommen wir eine in jeder Hinsicht tadellose, auch die größten Anforderungen befriedigende Bouillon. Selbstverständlich können wir auch vom Blutbouillonkochen die Erfahrung machen, daß das langandauernde Kochen die Reinheit der Bouillon erhöht, allerdings auf Rechnung der Nährsubstanzen.

Wollen wir nicht Bouillon bereiten, sondern das Blut, ähnlich dem Fleischsaft, mazerieren und extrahieren, so geschieht das Mazerieren wie beim Fleischsaft, nur mit dem Unterschiede, daß wir die während des Stehens auf den Boden gesunkene Masse öfters umrühren.

Den großen Gehalt der Blutbouillon an geeigneten Nährstoffen, die für die Züchtung der pathogenen Bakterien besonders geeignet sind, beweist am besten die große Zahl der in dieser Bouillon vorzüglich gedeihenden Bakterien, die ich weiter unten noch anführen will, andererseits aber auch der Umstand, daß wir auch dann hinreichend befriedigende, gute Bouillon bekommen, wenn wir aus 1 kg Blut nicht 2, sondern 3 Liter Bouillon kochen.

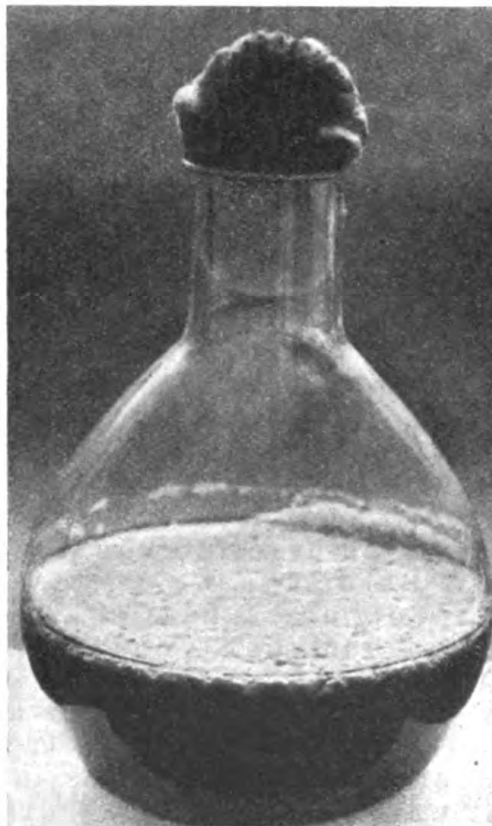
In der oben beschriebenen Blutbouillon züchteten wir, nachdem deren chemische Reaktion entsprechend modifiziert worden war, die Bakterien der Coli-Typhusgruppe, den Milzbrandbacillus, den des Schweinerotlaufes, der Geflügelcholera, des Malleus, der Diphtherie, Vibrionen der asiatischen Cholera, Streptokokken, verschiedene Staphylokokken, sowie noch viele andere Bakterien.

Die verschiedenen Tuberkelbacillen (humane resp. bovine) gedeihen ebenfalls üppig in der 3–5-proz. Glycerinblutbouillon. Bei der Tuberkulinbereitung haben wir auf diesen Umstand besonders großes Gewicht gelegt. Unsere Erfahrungen beweisen, wie wir später sehen werden, daß sich die Kultur der Tuberkelbacillen in dieser Blutbouillon von jener in der bisher üblichen Fleischbouillon gezüchteten nicht unterscheidet; auch die Tuberkulinbildung ist (wie wir noch sehen werden) gleichwertig.

Die beigegebene Figur veranschaulicht eine 6 Wochen alte Blutbouillonkultur des Typus humanus (s. Figur).

Ich will noch erwähnen, daß sowohl der Tuberkelbacillus wie auch sämtliche anderen Bakterien noch reichlicher und üppiger auf solcher Blutbouillon gedeihen, zu deren Bereitung auf 1 kg Blut nicht 2 Liter, sondern nur 15 Liter Wasser verbraucht werden.

Die Blutbouillon ist auch zur Toxinbildung der Bakterien gut verwendbar. Von einer 6 Wochen alten Blutbouillonkultur des Tuberkelbacillus kann man einwandfrei wirkendes Tuberkulin herstellen; dieses löst bei subkutaner Anwendung bei an Tuberkulose erkrankten Rindern eine sehr starke Reaktion aus. Weiter unten gebe ich die Fieberkurve von 4 Reaktionen wieder, die mit den 0,5 ccm enthaltenden Dosen des aus von einer 6 Wochen alten Blutbouillonkultur (von bovinem Type) hergestellten Rohtuberkulin ausgelöst worden sind:



Ein billiger Nährboden (Bouillon) aus Blutkuchen.

		No. 1.	No. 2.	No. 3.	No. 4.
Temperatur vor der Injektion		39,0	38,9	39,0	39,0
„ 9 Stunden nach der Injektion		40,8	39,2	40,1	39,2
„ 12 „ „ „ „		41,2	40,2	40,7	40,8
„ 15 „ „ „ „		40,3	40,0	40,9	40,8
„ 18 „ „ „ „		40,0	40,1	40,8	40,8
„ 21 „ „ „ „		39,7	40,4	40,6	40,6

Die Tuberkulinimpfung hat Herr königl. Obertierarzt Heinrich, Hetzel an ausgemusterten Tieren des Gödöllöer Krongutes vorgenommen. Für seine Bemühungen, sowie für die mir überlassenen Fiebertafeln sage ich ihm hier besten Dank.

Erwähnen will ich noch, daß ich zur Kontrolle und Feststellung der verschiedenen Verwertbarkeit der Blutbouillon diese dem bakteriologischen Institute der Budapester königl. Universität (Direktor Prof. Preisz) zur Verfügung gestellt habe, wo Herr Assistent Lénárd mit der Blutbouillon resp. mit den aus dieser im bakteriologischen Institute der Universität hergestellten starren Nährböden in verschiedener Richtung Versuche angestellt hat. Nach Lénárds Erfahrung und Mitteilung gedeihen die verschiedenen Bakterienarten in dieser Blutbouillon sehr gut.

Die mit der Blutbouillon bereiteten starren Nährböden, wie Agar-Agar, Gelatine von verschiedener Reaktion und Zusammensetzung bewähren sich ebenfalls tadellos. Außer den schon erwähnten Bakterien entwickeln sich auch die sehr anspruchsvollen Bakterien auf dem Blutbouillonagar. In dieser Hinsicht berufe ich mich außer auf meine eigenen Erfahrungen ebenfalls auf das Institut des Herrn Prof. Preisz, wo aus Blutbouillon Agar bereitet wurde, auf welchem auch die anspruchsvollsten, sonst sehr schwer gedeihenden Bakterien, wie Streptokokken, der Pneumobacillus und Pneumococcus sehr gut wachsen, ja sogar gewisse Bakterien besser als auf dem bisherigen Fleischsaft oder Bouillonagar.

Meine bisherigen Koch- und Züchtungsversuche ergeben daher entschieden, daß wir aus den Blutkuchen verschiedener Herkunft vorzügliche flüssige und starre Nährböden bereiten können. Allerdings ist die geschilderte Bereitungsweise der Blutbouillon noch nicht als vollendet und gänzlich abgeschlossen zu betrachten. Mein bisheriges Streben hat sich in erster Linie nur darauf richten können, daß ich das Verfahren der Bereitung der billigen Blutbouillon ausfindig machte, sowie daß ich die beim Kochen auftretenden störenden Erscheinungen eliminierte. Dies ist mir gelungen; daher ist es sehr wahrscheinlich, daß die Blutbouillon bei ihrer ausgedehnten Anwendung weiter vervollkommnet wird.

Zuletzt noch einige Worte über die Herstellungskosten.

In solchen Instituten, wo ein- oder mehrerlei Sera erzeugt werden, kann man den beim Absaugen des Serums zurückbleibenden Blutkuchen zur Bereitung der Nährböden sehr gut verwerten, namentlich bei der Herstellung von Bouillon, Agar und Gelatine. In solchen Instituten verdient das Verfahren um so größere Aufmerksamkeit als die bedeutende Menge des bei der Serumerzeugung zurückbleibenden Blutkuchens bisher kaum oder richtiger gar nicht verwertet worden ist. Zwar versuchte man in einigen Instituten, die Blutkuchen im eingetrockneten und pulverisierten Zustande als Futterpulver zu verwerten; dies bedeutet aber — wenigstens wie ich informiert wurde — wegen den bedeutenden Bearbeitungs- resp. Betriebskosten keine „Verwertung“, sondern eher neue Ausgaben. Die Verarbeitung der in den Serumherzeugungsinstituten zurückbleibenden Blutkuchen zu Nährböden be-

deutet dagegen wirklich eine Verwertung, da diese Laboratorien gratis zu den teuersten Nährböden, zur Bouillon, kommen.

Die Bouillonbereitung aus Blut bedeutet auch für solche Institute eine große Ersparnis, welche das Blut von Schlachthöfen beziehen müssen. 1 kg Rinderblut kostet in den Schlachthöfen großer Städte 2—3 Heller, Pferdeblut ist aber noch billiger. Im Vergleiche mit den jetzigen Fleischpreisen (auch zu denen des Pferdefleisches) bedeutet dies eine solche Minderausgabe, daß die jetzige ansehnliche Ausgabe für Nährböden als beseitigt betrachtet werden kann, besonders wenn wir noch in Betracht ziehen, daß die Bearbeitung, das Kochen etc. bei der Herstellung der Blutbouillon nicht länger dauert, als bei der Verarbeitung des Fleisches, ja dieses Verfahren sogar noch einfacher ist, besonders bei Anwendung der mitgeteilten Kniffe, da das Zerkleinern und Zerreiben des Fleisches bei der Bereitung der Blutbouillon selbstverständlich bald gänzlich wegfällt.

Bemerkung bei der Korrektur.

Indem ich vorausschicke, daß wir die in unserem Institut benötigten Nährböden in den letzten 7 Monaten bereits gänzlich aus den bei der Serumerzeugung zurückgebliebenen Blutkuchen herstellten, also völlig gratis bekamen, möchte ich schon jetzt bemerken, daß ich eine einfache und sehr leichte Herstellungsweise dieses Nährbodens hier demnächst behandeln werde. Bei dieser Herstellungsweise wird das Kochen auf das Minimum reduziert, was zur Folge hat, daß einerseits die Original-Eiweißstoffe intakt erhalten bleiben und andererseits Herstellungskosten und Arbeit auch auf das Geringste herabgebracht werden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der 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.

- Berlin, H.**, Die Serodiagnose der Pest mit Hilfe der Präzipitationsmethode nach Ascoli, p. 467.
- Ciurea, Joan.**, Un Echinostome dans l'Intestin du Porc, p. 392.
- Goebel**, Ueber einen atypischen Typhusstamm, p. 376.
- Günther, K.**, Ueber das von Conradi angegebene Verfahren der elektiven Züchtung von Diphtheriebacillen durch Ausschütteln von Kohlenwasserstoffen, p. 485.
- Matsui, Jiushiro**, Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. X. Versuche über die Widerstandsfähigkeit kapselhaltiger und kapselloser Milzbrandbacillen, p. 394.
- Simonini, A.**, Einwirkung der seltenen Erden auf Bakterien, p. 398.
- Sonne, Carl**, Ueber die Bakteriologie der giftarmen Dysenteriebacillen (Paradysenteriebacillen), p. 408.
- Swellengrebel, H. H. u. Hoosen, H. W.**, Ueber bei der Diagnose der Rattenpest Schwierigkeiten bereitende Bakterien, p. 456.
- Szász, Alfred**, Ein billiger Nährboden (Bouillon) aus Blutkuchen, p. 489.
- Weinfurter, Franz**, Experimentelle Typhusbacillenträger bei Kaninchen, p. 379.
- Zettnow, E.**, Ein in Normal-Schwefelsäure wachsender Fadenpilz, p. 369.
— —, Eine Gallertbildung in javanischem Zuckersaft, p. 374.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Reduktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Befunde bei Fleckfieber.

[Aus dem Hygienischen Institut der Technischen Hochschule Danzig.]

(Vorläufige Mitteilung.)

Von Prof. Dr. J. Petruschky-Danzig, Vorstand des Instituts.

1) Von einer größeren Anzahl von Fleckfieberfällen, die im Kriegsgefangenenlager Tuchel aufgetreten waren, wurde Blut, Harn und Auswurf bakteriologisch untersucht. Ein konstanter Befund fand sich im Auswurf. Dieser zeigte regelmäßig bei mikroskopischer Untersuchung sehr zahlreiche, kleinste Stäbchen von der ungefähren Form, Größe und Färbbarkeit der Influenzabacillen.

2) Der Auswurf selbst glich in seiner Beschaffenheit keineswegs dem bekannten Typ des Influenzaauswurfs, welcher schaumig, stark eiterig, zuweilen geronnenem Eiweiß ähnlich, leukocytenreich ist, sondern er zeigte eine zäh-schleimige, oft an flüssigen Leim erinnernde Beschaffenheit und war durchweg überaus leukocytenarm, oft durchsetzt mit Blutpünktchen.

3) Der Kulturversuch zeigte, daß die beobachteten Stäbchen nicht wie die Influenzabacillen ausschließlich Nährböden mit roten Blutkörperchen bevorzugen, sondern auch auf gewöhnlichem Agar, besser auf Nutrose-Milchzucker-Agar, wachsen, wenn auch anfänglich in überaus kleinen, nur mit der Lupe sichtbaren Kolonien.

4) Das Bild einer Agarplatte, welche mit einer großen Oese Auswurf vermittelt eines v. Drigalskischen Glasspatels bestrichen ist, war nach 24-stündiger Bebrütung bei 37° C insofern überraschend, als bei Betrachtung mit bloßem Auge nur wenige Kolonien erkennbar waren. Bei Untersuchung mit der Lupe zeigte sich indessen ein ganzer Sternenhimmel kleiner und kleinster Kolonien, von denen die allerkleinsten, massenhaft vorhanden, etwa den Sternen der Milchstraße zu vergleichen sind, zwischen denen hier und da ein Sternchen erheblicherer Größe zu beobachten ist.

5) Es ist nicht ganz leicht, gelingt aber bei einiger Geduld, einzelne der kleinsten Kolonien auf dem gleichen Nährboden zu verwischen und auf neue Nährböden zu übertragen. Es zeigt sich hierbei, daß nicht immer sämtliche der kleinen Kolonien der gleichen Art angehören, sondern, daß zwischen den am zahlreichsten vorhandenen Kolonien der kleinsten Stäbchen vielfach auch etwas größere Kolonien von *Streptococcus brevis*, oder auch junge Kolonien von *Streptococcus longus* und *Pneumococcus* verstreut liegen. Nach 48 Stunden ist der Größenunterschied der Kolonien auf der Originalplatte bereits viel erheblicher. Die Verimpfung der kleinen Stäbchenkolonien gelingt leichter. Die erhaltenen Reinkulturen lassen sich auf neue Nährböden ohne Blutbeimischung übertragen. Sie haben eine Lebensdauer von mehreren Tagen.

6) Kontrolluntersuchungen bei zahlreichen Auswurfproben anderen Ursprungs ergaben weder mikroskopisch noch kulturell ein gleiches Bild. Waren Influenzabacillen darin, so konnte die Originalplatte ein dem der Fleckfiebersputen ähnliches Bild vortäuschen, die weitere Uebertragung der Influenzokolonien gelang aber nicht ohne Blutnährboden. Bei anderen Sputumproben waren zahlreiche Kolonien von Strepto- bzw. Pneumokokken zu beobachten, die ja häufig Bewohner der Mundhöhle sind, aber nicht die bei Fleckfieber konstant beobachteten Stäbchen, welche kulturell scharf unterscheidbar sind.

7) Mit der Deutung der beschriebenen Befunde muß noch zurückgehalten werden, bis festgestellt worden ist, ob analoge Befunde auch an anderen Stellen bei Fleckfieber zu beobachten sind. Andernfalls wäre anzunehmen, daß es sich bei den vorliegenden Befunden um eine bei den Tucheler Fällen konstant vorkommende Begleitinfektion mit eigenartigen Erregern handelt.

8) Für alle Fälle dürfte es sich empfehlen, bei der Prophylaxis des Fleckfiebers nicht ausschließlich die Uebertragung durch Läuse im Auge zu behalten, sondern auch an die Möglichkeit einer Uebertragung durch Auswurf, durch ausgehustete Tröpfchen und durch Verschmierung von Auswurf zu denken.

Es wird die Möglichkeit nicht außer Betracht zu lassen sein, daß das Fleckfieber vielleicht ähnlich der Pest in verschiedenen Erscheinungsformen auftreten kann: einer mehr septischen, durch Ungeziefer übertragbaren und einer mehr katarrhalischen, durch Sputum übertragbaren Form, bei der vielleicht sogar das Exanthem gelegentlich fehlen könnte. Bei allen Formen wäre kulturell nach dem mutmaßlichen Erreger zu fahnden.

Eingegangen den 24. Febr. 1915.

Nachdruck verboten.

Neue Untersuchungen über die experimentellen leprösen Läsionen des Kaninchenauges.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Neapel
(Direktor: Prof. Vincenzo De Giaxa).]

Von Prof. **Rodolfo Stanziale.**

Mit 2 Tafeln und 2 Textfiguren.

Anknüpfend an die verschiedenen bereits von mir gemachten Mitteilungen¹⁾ über das Wachstum menschlichen leprösen Materials in der

1) a) Inoculazioni di materiale leproso nella camera anteriore dell'occhio del coniglio. (Giorn. ital. delle malattie ven. e della pelle. Fasc. 5. 1910.)

b) Ulteriori ricerche sulle inoculazioni di materiale leproso nella camera anteriore dell'occhio del coniglio. (Atti della R. Accad. med. chir. di Napoli. 1911. No. 1.)

c) Weitere Untersuchungen über die Inokulierbarkeit leprösen Materials in die vordere Augenkammer von Kaninchen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1911.)

vorderen Kammer des Kaninchenauges glaube ich, daß es von Interesse sein dürfte, über die weiteren Uebertragungsversuche von Kaninchen auf Kaninchen, sowie über die Resultate einiger bakteriologischer Untersuchungen an dem aus den experimentell reproduzierten Läsionen gewonnenen Material zu berichten.

Bereits in der vorausgehenden Reihe von Untersuchungen war es gelungen, von 2 Kaninchen erster Impfung bei sukzessiver Uebertragung auf andere Tiere positive Resultate zu erhalten. Allerdings haben sich nicht bei sämtlichen geimpften Kaninchen positive Resultate ergeben, ja der Prozentsatz daran war merklich niedriger als bei den direkt vom Menschen geimpften Tieren. Doch war kein Zweifel darüber möglich, daß das dem Kaninchenauge entnommene Material imstande war, ähnlich wie die menschlichen Leprome, charakteristische, noduläre Läsionen in den die Vorderkammer des Kaninchenauges begrenzenden Geweben mit ganz gleichem bakterioskopischen und pathologisch-anatomischen Befund wie bei den Tieren erster Impfung hervorzurufen.

Es schien mir daher von Interesse, in den Serientransplantationen fortzufahren, um zu sehen, ob es möglich sei, noch weitere sukzessive Passagen mit positivem Ausgang zu erhalten.

Und so impfte ich von einem Fall von *Lepra tuberculosa anaesthetica*, den ich am 16. Aug. 1911 in meiner Privatpraxis beobachtete, 2 Kaninchen mit einem floriden Lepraknoten, wobei ich bei beiden positiven Erfolg erzielte. Am 3. Dez. 1911 schritt ich zur Oeffnung der vorderen Augenkammer der Kaninchen, und da die bakteriologische Untersuchung das aus der Iris entnommene Material reich an Leprabacillen zeigte, verimpfte ich das Material auf 4 frische Kaninchen. Doch erhielt ich hier nur bei 2 ein positives Resultat durch Ausbildung von Irisknoten und Hornhautläsionen. Mit dem einem der genannten Kaninchen entnommenen Material impfte ich am 25. Febr. 1912 weitere 3 Kaninchen dritter Passage. Bei 2 von ihnen erzielte ich ein negatives Resultat und das Impfmateriale wurde nach und nach absorbiert, während bei dem anderen nach der gewöhnlichen Inkubationsperiode die charakteristischen Veränderungen der stattgefundenen Ueberpflanzung auftraten, die sich nach und nach weiter entwickelten, wie aus den beigefügten Abbildungen zu ersehen ist, die ich kurz beschreiben will.

Die Hornhaut zeigte sich in ihrer oberen Hälfte in der Nähe des Limbus, und zwar entsprechend dem oberen Ende des vertikalen Meridians, ein wenig ektatisch und ist in einer gewissen Ausdehnung graulich verfärbt mit einer zentralen, rosafarbenen Partie; auf der Oberfläche ist sie von großen, von der angrenzenden Bindehaut kommenden Gefäßen durchzogen. Obgleich die Hornhauttrübung hier nicht sehr ausgedehnt war, erlaubte sie dennoch nicht, den dahinterliegenden Teil der Iris zu beobachten, welcher an einzelnen Stellen mit der Hornhaut verwachsen zu sein schien und auf diese Weise die Vorderkammer verengerte. Außerdem war in der unteren parazentralen Region der Hornhaut eine kleine, graulich getrübe Fläche von länglich-ovaler Form und scharfer Begrenzung zu sehen. Die Vorderkammer war in dem mittleren Teil normal tief, in den peripheren Partien durch den Schwellungszustand der Iris, auf den ich gleich zu sprechen kommen werde, unregelmäßig abgeflacht.

In der Vorderkammer wurde deutlich eine grauliche oder bräunlich-graue Masse mit pigmentierten Rillen beobachtet, die zwischen dem

oberen Sektor der Iris in der Nähe des Pupillarrandes und der Hinterfläche der Hornhaut lag.

Bei sehr aufmerksamer Betrachtung der Iris erschien diese durch zahlreiche, mit starker Vaskularisation einhergehende Schwellungszonen in breite, radiäre Streifen geteilt. Die einer jeden dieser Zonen entsprechende vaskularisierte Partie lag mehr gegen die Peripherie hin, während gegen den Pupillarrand eine ins Gelblichgraue spielende Farbe beobachtet wurde.

Interessant war in diesen Zonen und besonders in den sie trennenden Furchen die Anwesenheit von kleinsten, erhabenen Pünktchen von rosagrauer Farbe, die zu 2 oder 3 nahe beieinander lagen und in gleichem Maße über die ganze Irisoberfläche zerstreut waren. Auch die Sphinkterzone schien mehr hyperämisch als normalerweise. Das Pupillargebiet schien frei von Exsudaten. Die Pupille war länglich-oval im vertikalen Sinn, wahrscheinlich infolge der oben verzeichneten Verwachsung der Iris mit der Hornhaut. In einer späteren Zeit, 5 Monate nach erfolgter Impfung, erreichten die Läsionen ihren Höhepunkt und bei der objektiven Untersuchung war folgendes zu sehen: Es bestand noch die gelbliche Verfärbung des oberen ektatischen Teiles der Hornhaut ohne bemerkenswerte Zunahme der entsprechenden Vaskularisierung. Das zirkumskripte Trübungsareal der Hornhaut war noch deutlicher geworden und zeigte sich durch einen hier und da stärker grauen Saum begrenzt.

In der unteren Hälfte der Hornhaut beobachtete man zwischen der unteren Grenze dieser Trübung und der Corneoscleralgrenze ein milchiges Aussehen der Hornhaut selbst mit zahlreichen feinsten, parenchymalen Gefäßchen, die, vom Limbus ausgehend, sich bis in den mittleren Teil dieser milchweißen Zone hinzogen.

Eine weitere neue Erscheinung war, daß über dem Haupthornhautfleck ein zweiter, bedeutend weniger auffallender und noch ausgedehnter als der vorhergehende zu bemerken war, der von diesem durch einen dazwischenliegenden, durchsichtigen Strich getrennt war. Zwischen dem oberen Rand dieses zweiten, zarteren Trübungsfleckens und dem gelblichen ektatischen Areal der Hornhaut sah man bei genauer Beobachtung kaum merkliche Streifen, die von dieser Infiltrationsstelle ausstrahlten und der undurchsichtigen Stelle der Hornhaut zustrebten. In der Vorderkammer war die in dem oberen Teil des Pupillengebietes liegende weißliche Masse immer unverändert, nach hinten mit der Iris und nach vorn mit der Hornhaut verwachsen.

Merklich zurückgegangen war die Injektion, und zwar war sie auf den peripheren Teil der Iris beschränkt. Hier aber war sie an einigen Stellen ausgeprägter und bildete Gefäßagglomerate. Zu sehen waren stets die kleinen, über die Iris zerstreuten, grauichen, punktförmigen Erhebungen, von denen eine, im nasalen Sektor gelegen, eine üppigere Entwicklung als die anderen aufwies.

In diesem Entwicklungszustand der Läsionen ließ ich das Tier durch die Professoren d'Antona, Schrön, Pellizzari, Pianese, Pansini, Pepere, de Lieto-Vollaro und Frugiuele beobachten. Die Läsionen gingen in der Folgezeit allmählich zurück. Die weißlichgraue Masse in der vorderen Kammer wurde nach und nach fast vollständig resorbiert, und es blieben nur einige unbedeutende, pigmentierte Ueberreste zurück; die Irisknötchen verschwanden langsam.

Kurz, nach wenig mehr als 2 Monaten blieb von dem ganzen Prozeß nichts weiter übrig als eine Deformation der Pupille und weißliche Flecke in der Hornhaut.

Es ist somit anzunehmen, daß die experimentell im Kaninchenauge erzeugten Läsionen bis zu einem gewissen Punkt weiterhin reproduziert werden können, indem man das neugebildete Material in Stückchen direkt von einem Tier auf das andere überträgt.

Aus der Gesamtheit der Resultate aller bisher von mir in einem Zeitraum von 4 Jahren durchgeführten Untersuchungen, wobei ich das Material aus 8 Leprafällen entnahm und es zahlreichen Kaninchen erster, zweiter und dritter Impfung inokulierte, ergibt sich deutlich, daß trotz gleichbleibender Technik die direkt vom Menschen geimpften Kaninchen einen sehr hohen Prozentsatz an positiven Resultaten geben, der bei einem Geübten von ca. 42—75 Proz. schwankt; bei den Kaninchen zweiter Ueberpflanzung dagegen ist der Prozentsatz bedeutend herabgesetzt und schwankt zwischen 25—40 Proz. Bei den Kaninchen dritter Ueberpflanzung nehmen zwar die positiven Resultate merklich ab, immerhin aber ist es noch möglich, solche zu erzielen, wodurch zweifellos die Vitalität des Keimes bezeugt wird. Es ist deshalb anzunehmen, daß das Lepramaterial zwar in dem Organismus des Kaninchens sein pathogenes Vermögen bewahrt, aber darin doch eine derartige Anpassung erfährt, daß es abgeschwächt wird. Diese Abschwächung ergibt sich sowohl aus dem endlichen Schicksal der Läsionen bei den Tieren der dritten Passage wie aus der immer kleineren Anzahl positiver Resultate.

Gleichzeitig mit den oben erwähnten Untersuchungen habe ich es noch für nützlich erachtet, bakteriologische Untersuchungen an den im Kaninchenauge experimentell hervorgerufenen Läsionen anzustellen. Ueber das Resultat derselben habe ich schon auszugsweise in einer vorläufigen Mitteilung in der Kgl. medizinisch-chirurgischen Akademie zu Neapel in der Sitzung vom 27. Juli 1913 berichtet¹⁾.

Es ist bereits bekannt, daß Kedrowski²⁾ aus menschlichen Lepromen einen säurefesten Bacillus isoliert hat, der auch Gegenstand einer sorgfältigen kulturellen und bakteriologischen Untersuchung von seiten Kritschewskis und Briegers³⁾ war. Und eben infolge dieser Studien hat der von Kedrowski aus menschlichen Lepromen isolierte Bacillus große Bedeutung erlangt.

Von mehreren Kaninchen erster und zweiter Ueberpflanzung habe ich unter allen aseptischen Kautelen für die bakteriologische Untersuchung eine gewisse Menge Material entnommen, und zwar namentlich entsprechend den neugebildeten Knötchen und in der Periode der üppigsten Entwicklung.

Mit diesem Material stellte ich auf verschiedene Weise Kulturen her, wobei ich die verschiedenartigsten Nährböden, und zwar sowohl aërobe wie anaërobe, verwendete. Die Kulturböden blieben indessen, auch wenn

1) Isolamento culturale di un bacillo acido-resistente da occhio leproso di coniglio. (Atti della R. Accad. Med.-chir. di Napoli. Fasc. 2. 1913.)

2) Experimentelle Untersuchungen über Lepraempfindungen bei Tieren. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1903. p. 368 u. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 66. 1910. p. 1.)

3) Zur Frage über das Verhältnis des Bacillus leprae Hansen zu einigen bei Lepra gezüchteten Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 73. p. 509.)

sie lange Zeit bei einer Temperatur von 37° C gehalten wurden, fast immer steril.

Von einem Kaninchen, das am 20. Nov. 1912 direkt mit einem Lepraknötchen der Deltoideushaut einer Leprakranken geimpft worden war, impfte ich 128 Tage nach der Inokulation mit den Knötchen, die sich auf der Iris entwickelt hatten, verschiedene Nährböden, darunter klarinetschnabelartig erstarrte Agarröhren mit Zusatz von Glycerin, Milchzucker und Eigelb in dicken Röhren nach vorheriger fraktionierter Sterilisierung. Diese Röhren, die mit einer bedeutenden Menge Material beschickt wurden, das sich bei der mikroskopischen Untersuchung als sehr reich an Bacillen erwiesen hatte, wurden zur Entwicklung bei 37° C in den Brutofen gestellt, nachdem nur bei einigen von ihnen die Luft herausgepumpt und ein luftdichter Verschuß angebracht worden war.



Fig. 1. Kultur in Agar-Eidotter mit Zusatz von Glycerin u. Milchzucker nach 20 Tagen der Entwicklung.

In einem der Röhren, das Agar-Eigelb enthielt und anaërob gezüchtet wurde, wurden 1 Monat nach der Impfung kleine Kolonien bemerkt, die sich bei der weiteren Untersuchung durch einen dem Kedrowskischen sehr ähnlichen Bacillus gebildet erwiesen, der namentlich dadurch eine gewisse Bedeutung gewinnen dürfte, daß er aus experimentell im Kaninchenauge erzielten Knötchen isoliert wurde.

Die kleinen Kolonien, die sich der Stelle entsprechend entwickelt hatten, wo das zur Impfung benutzte Material am dichtesten lag, zeigten sich opak, trocken, gelblich-weiß, mit runzlicher Oberfläche und von der Größe einer kleinen Linse. Die Entwicklung der Kolonien fuhr einige Tage fort, dann aber war keine weitere Vergrößerung gegen die Peripherie mehr zu erkennen, und die zentrale Masse der Kolo-



Fig. 2. Kultur in Glycerinagar mit Milchzuckerzusatz nach 3 Monaten Entwicklung.

nien nahm eine immer dunklere Färbung an und wurde zuletzt graulich-gelb. Die Runzelbildung der Oberfläche wurde immer deutlicher.

Bei der mikroskopischen Untersuchung erwiesen sich die Kolonien durch einen kurzen säurefesten Bacillus gebildet, der nach Form und der zumeist haufenweisen Anordnung mit dem Hansenschen Bacillus identisch war. Im Inneren aber zeigte er in größter Deutlichkeit eine Reihe von säurefesten Körnchen von verschiedener Größe, die nie über die Größe des Bacillus hinausgingen. Mit dem aus diesen Kolonien entnommenen Material wurden weitere Kulturen in verschiedenen Nährböden sowohl aërob wie anaërob versucht. Die Anpassung war nun derart, daß sich die Kulturen sekundär in den verschiedensten Verhältnissen entwickelten, auch in den gewöhnlichen Kulturböden, und zwar in nur 24—48 Stunden. Im allgemeinen läßt sich nach der Untersuchung

der verschiedenen Kulturen sagen, daß die Entwicklung des von mir isolierten Bacillus nicht nur dem von Kedrowski beschriebenen bis auf einige geringe Unterschiede analog ist, sondern durch viele Berührungspunkte mit der Entwicklung des Tuberkelbacillus vergleichbar ist, von dem er sich namentlich durch die raschere Entwicklung (24—48 Stunden) und durch das leichtere Angehen auch in gewöhnlichen Böden scharf unterscheidet, wenn hier auch schon die Kulturen im Vergleich zu den Kulturen auf den mit Glyzerin und Milchzucker versetzten Böden sicher nicht als sehr üppig angesehen werden können.

In den Bouillonkulturen entwickelt sich der Bacillus in zuerst feinen, dann dicken Schüppchen, die an der Oberfläche der Flüssigkeit bleiben und dann einen Belag bilden, der sich peripher an den Wänden der Röhre oder des Kölbchens emporhebt. Die Bouillon bleibt klar. Wenn dann das Häutchen nach 4—5 Tagen schmutziggelb geworden ist und auf den Boden sinkt, findet man oft an der Oberfläche der Flüssigkeit, besonders bei mit Glyzerin versetzter Bouillon, die Bildung eines neuen, dem vorhergehenden ähnlichen Häutchens, das in einigen Tagen ebenfalls auf den Boden sinkt. Die Entwicklung in einfacher Bouillon ist viel kümmerlicher, und das Häutchen, zu dessen Bildung mehrere Tage erforderlich sind, ist gewöhnlich viel feiner und bildet sich selten neu.

Das Entwicklungsoptimum liegt bei 37°. Auf flächenhaftem Agar sind die Kulturen denen des Tuberkelbacillus sehr ähnlich. In der Kondensationsflüssigkeit ist die Entwicklung ähnlich der schon bei der Bouillon beschriebenen, d. h. man bemerkt ein auf die Oberfläche der Flüssigkeit beschränktes Häutchen, das sich ringsum auf die Wände der Röhre fortsetzt. Auf dem Agar können, je nach der Art wie die Inokulation gemacht wurde, isolierte Kolonien oder auch ein Belag erhalten werden. Findet die Entwicklung in isolierten Kolonien statt, so beobachtet man ein bis monatelanges Wachstum des Materials, wenn das Austrocknen des Kulturbodens verhindert wird. Die zuerst weißlichen Kolonien nehmen nach und nach eine schmutzig-weiße und dann gelblich-weiße Farbe an, wobei die dachziegelartige charakteristische Form immer mehr hervortritt. Man erkennt so einen zentralen erhabenen Kern, entsprechend der ursprünglichen Entwicklung auf dem eingepflichten Material, und dann peripherwärts eine Reihe von sukzessiven Lagen in Form von verschiedengroßen Schüppchen in dachziegelartiger Anordnung und mit recht merklichen Erhebungen und Furchen, die an die Form einer Austernschale erinnern. Die Ränder der Kolonien sind nicht ganz regelmäßig, sondern meistens bedeutend zerklüftet. Erfolgt dagegen die Entwicklung in Form eines Belages, so bemerkt man, daß dieser nicht ganz homogen ist, sondern stärker erhabene Punkte aufweist, entsprechend den ersten Kolonien auf der Oberfläche des Agars an den Stellen, wo eine größere Menge Material eingepflicht wurde.

Der Belag bietet übrigens denselben Farbenwechsel, der für die Kolonien beschrieben wurde und auf dem Altern der Kultur beruht, und außerdem das charakteristische zerklüftete und dachziegelartige, demjenigen des Tuberkelbacillus ganz ähnliche Aussehen. Uebrigens ist zu bemerken, daß, wie weit auch das Altern gehen mag, die gelbe Farbe der Kulturbeläge nie dieselbe Intensität wie bei den Kulturen des Tuberkelbacillus erreicht. Wird aus den Agarkulturen Material entnommen, so heben sich die Schüppchen in toto empor, indem sie sich glatt von der Oberfläche des Bodens loslösen, so daß dieser vollkommen

sauber bleibt. Das entnommene Material läßt sich dann, gleich dem aus Bouillon, schwer in Wasser aufschwemmen, wenn es zur Herstellung der Präparate auf das Gläschen gebracht wird.

Eine viel üppigere und reichlichere Entwicklung erfolgt auf Glycerinagar mit Zusatz von Eigelb, wie er mir zur ersten Isolierung diente. Auf diesem Boden fließen die Kolonien von Anfang an zusammen und ergeben einen sehr erhabenen und weniger trockenen Belag von mehr nach dem Weiß hinneigender Farbe, auf dem nur einige knotenförmige, erhöhte Punkte mit ziemlich scharfen Rändern wahrgenommen werden. Das aus Agar-Eigelb stammende Material läßt sich viel leichter in Wasser aufschwemmen, wobei es sich in die es zusammensetzenden Bacillen auflöst. Die Kulturen, die zuerst mit großer Leichtigkeit auch auf den gewöhnlichen Nährböden erhalten wurden, fangen später an sich viel kümmerlicher zu entwickeln, und wenn die Passagen nicht in kurzen Abständen aufeinanderfolgen, fallen die Kulturen oft negativ aus und erlöschen schließlich, besonders wenn in den alten Kulturen die säurefeste Granula enthaltenden Bacillenformen verschwunden sind. Gleich nach der Isolierung zeigte sich der Bacillus resistent gegen die Entfärbung mit den Säuren, und diese seine Eigenschaft hat er mehr oder weniger dauernd in den verschiedenen Nährböden beibehalten. Indessen beobachtet man oft, besonders bei alten Kulturen, daß die Säurefestigkeit bedeutend abgenommen hat und in einigen Fällen bei alten Kulturen ganz verschwunden ist. Zu bemerken ist jedoch, daß die im Inneren des Bacillus enthaltenen Granula dauernd und im höchsten Grade die säurefesten Eigenschaften bewahren, sowohl in der ersten Zeit ihrer Bildung, wenn sie noch endocellulär liegen, wie auch wenn sie durch Auflösung der Bakterienzellen in den Kulturen von einer gewissen Entwicklungsperiode in Freiheit gesetzt werden. In diesem Falle sieht man in den Präparaten die Granula intensiv rot gefärbt, in einer fast amorph gewordenen Substanz steckend, die den letzten nur noch wenig gegen die Entfärbung mit Säuren resistenten Rest des Bacillenleibes vorstellt.

Der Bacillus ist zumeist zu zweien oder in Haufen geordnet. Sehr häufig sind die Kolbenformen mit ähnlicher Anordnung, wie sie der Diphtheriebacillus gibt. Diese Formen werden oft auch in den aus dem Saft der Leprome enthaltenen Präparaten von Leprabacillen beobachtet. Der Bacillus färbt sich intensiv nach der Gramschen Methode und erscheint so dargestellt etwas dicker, plumper und fast homogen. Besonders bemerkenswert sind die Struktur, die Form und die Anordnung, die der Bacillus in den Glycerin-Bouillonkulturen nach 8—10 Tagen annimmt. An dem aus solchen Kulturen entnommenen Material, das, wie bereits erwähnt, schwer zu zerlegen ist, wenn nicht durch viele Manöver die natürliche Gruppierung der Bakterien gestört wird, erhält man nach der Ziehl-Neelsenschen Methode die Färbung der kleinen an der Oberfläche der Flüssigkeit entstandenen Schüppchen in toto. Diese bestehen aus beträchtlichen Massen von Bacillen, die durch eine intercelluläre Substanz zusammengehalten sind. Das Ganze ist stets nur schwach säureresistent, peripherwärts werden viel dickere und sehr lange Bacillenelemente beobachtet, die rings herum speichenförmig angeordnet sind, und zahlreiche intensiv gefärbte und säurefeste Körnchenbildungen von einer gewissen Größe enthalten. Dieses Aussehen rückt diesen Bacillus der Gruppe der Streptotricheen sehr nahe, mit der er viele Eigenschaften

gemein hat. Uebrigens wurde zu dieser Gruppe bekanntlich von vielen Forschern, und besonders von Cohn, der Tuberkelbacillus und der Diphtheriebacillus gerechnet, die mit dem von mir isolierten Bacillus sicher verwandte morphologische und kulturelle Eigenschaften gemein haben.

Verimpfungen auf Tiere.

Gleich bei den ersten Versuchen habe ich, sofort nach Isolierung des Mikroorganismus, die eventuellen pathogenen Eigenschaften studieren wollen, die er in den Versuchstieren entfalten konnte. Da der Bacillus vom Kaninchenaug herrührte, in dem die wohlbekanntesten Manifestationen erhalten worden waren, so wurden die ersten Versuche eben in der Art angestellt, daß Aufschwemmungen von frischen Kulturen des Mikroorganismus direkt in die vordere Augenkammer frischer Kaninchen der Corneoscleralgrenze entsprechend eingepflegt wurden. Abgesehen von den keinerlei Bedeutung besitzenden gewöhnlichen entzündlichen Erscheinungen war kein positives Resultat zu konstatieren. Denn in Uebereinstimmung mit meinen früheren Untersuchungen wiederholte sich, was der Fall ist, wenn in die vordere Kammer Blut aus dem so bacillenreichen menschlichen Leprom oder auch eine feine Suspension des Leproms selbst in physiologischer Kochsalzlösung eingepflegt wird, d. h. während einer mehr oder weniger langen, aber nicht feststehenden und nicht bestimmaren Zeit wird die Anwesenheit von noch säurefesten, oft auch endocellulären Bakterien verzeichnet, auf die dann das Verschwinden des eingepflegten Materials und die Restitutio ad integrum der Teile folgt.

Nach dem Versagen der ersten Versuche versuchte ich die Impfungen auf eine andere Weise an denselben Kaninchen und an anderen Versuchstieren. Ist es doch bekannt, daß die wichtigste Eigenschaft des von Kedrowski isolierten Bacillus nach Mitteilung von ihm selber die ist, charakteristische pathologisch-anatomische Läsionen zu erzeugen, die mit einer üppigen Vermehrung des Bacillus in den neugebildeten inneren Knötchen und auch mit Bildung von Zellen einhergehen, die den Leprazellen der menschlichen Leprome sehr ähnlich sind. Und dies ist um so interessanter, wenn man bedenkt, daß der von Kedrowski isolierte Bacillus, im Unterschied zu dem von mir isolierten, der stets die säurefesten Granula behält, leicht diese färberische Eigenschaft verlor, und sie dann erst in dem tierischen Gewebe wiedergewann, wenn er darin die charakteristischen nodulären Läsionen erzeugte.

Unter den von Kedrowski geimpften Tieren gaben Mäuse und Kaninchen gute Resultate. Für meine Untersuchungen wurden weiße Mäuse subkutan und intraperitoneal geimpft. Nach den subkutanen Impfungen konnte ich an der Impfstelle die Bildung von isolierten infiltrierten Knötchen beobachten, die dann nach und nach in einer ziemlich langen Zeit (30—40 Tagen) resorbiert wurden. Die Untersuchung des direkt aus den Knötchen entnommenen Materials ließ zuerst die Anwesenheit von säurefesten Bacillen erkennen, die reich an körnigen Formen waren und oft auch in ziemlich beträchtlicher Anzahl endocellulär lagen. Späterhin aber behielt der Bacillus zwar seine Grambeständigkeit, verlor jedoch nach und nach die Säurefestigkeit und verschwand schließlich ganz.

Die Resultate der intraperitonealen Impfungen waren durchaus negativ, da weder an der Impfstelle noch in den inneren Organen der

15—20—30—50 Tagen nach der Inokulation getöteten Tiere der Reihe je Bacillen angetroffen wurden, auch wenn die Impfung mit reichlichem Material geschehen war.

Bei den Meerschweinchen war das Resultat gleichfalls ein negatives. Bei den Kaninchen wurde ein anderes Resultat nur nach Einimpfung ansehnlicher Mengen bakteriellen Materials in die Pleurahöhle erzielt (5—10 ccm einer einmonatigen in sterilem Achatmörser emulsierten Glycerin-Bouillonkultur). Bei diesen Tieren habe ich konstant die Bildung eines bedeutenden sulzeartigen Exsudates erhalten, das dem durch einige pathogene Streptotricheen erzeugten ähnlich war; in ihm werden zunächst noch die Bacillen beobachtet, die dann späterhin verschwinden, obgleich das Exsudat noch fortbesteht.

Zur weiteren Ergänzung der angeführten Untersuchungen impfte ich zwei Affen subkutan mit einer aus Glycerin-Agarkulturen entnommenen Bakterienaufschwemmung. Die verwendeten Affen waren ein *Cercopithecus* und ein *Semnopithecus* und der gewählte Teil war der Rücken. Die Impfungen wurden 3mal wiederholt, im Abstand von je 10 Tagen und die Tiere 5 Monate unter Beobachtung gehalten.

An ihnen wurde keine Läsion von Belang konstatiert; nur bei einem der Affen beobachtete man wenige Tage nach der 3. Impfung an der Stelle, an der diese vorgenommen worden war, eine erbsengroße, hart-elastische, ziemlich resistente, nicht scharf konturierte, knotenförmige Infiltration von rötlicher Farbe, die jedoch in 4—5 Wochen fast vollständig verschwand, so daß nur eine kaum merkbare Verdickung zurückblieb.

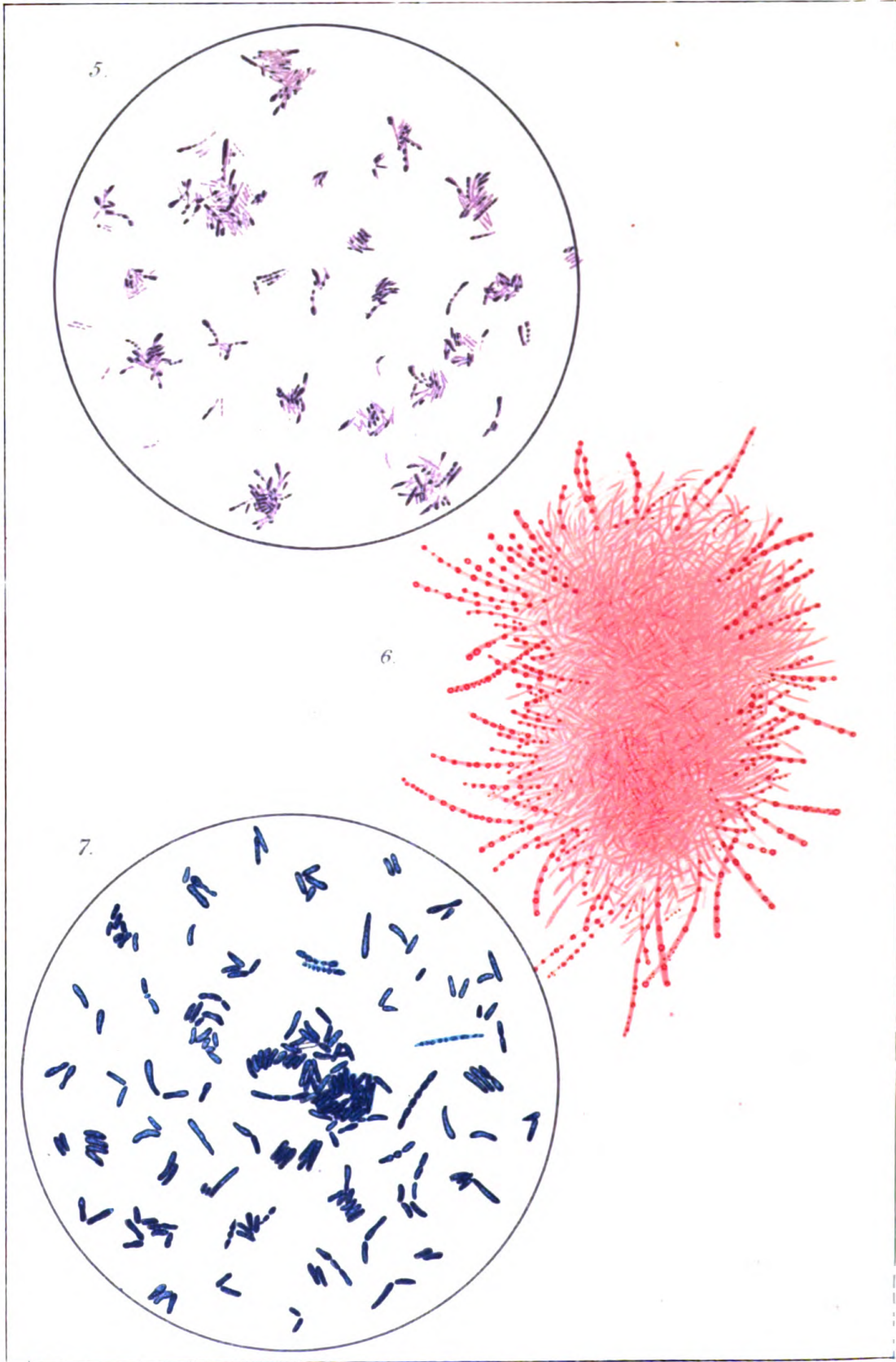
Schlusssätze.

Aus den von mir ausgeführten Untersuchungen ergibt sich:

1) daß die experimentell im Kaninchenauge erzeugten Läsionen bis zu einem gewissen Punkt serienweise reproduziert werden können, wenn man das neugebildete Material aus einem Tier direkt auf ein anderes weiter überträgt, wodurch zweifellos die Vitalität des Keimes bezeugt wird;

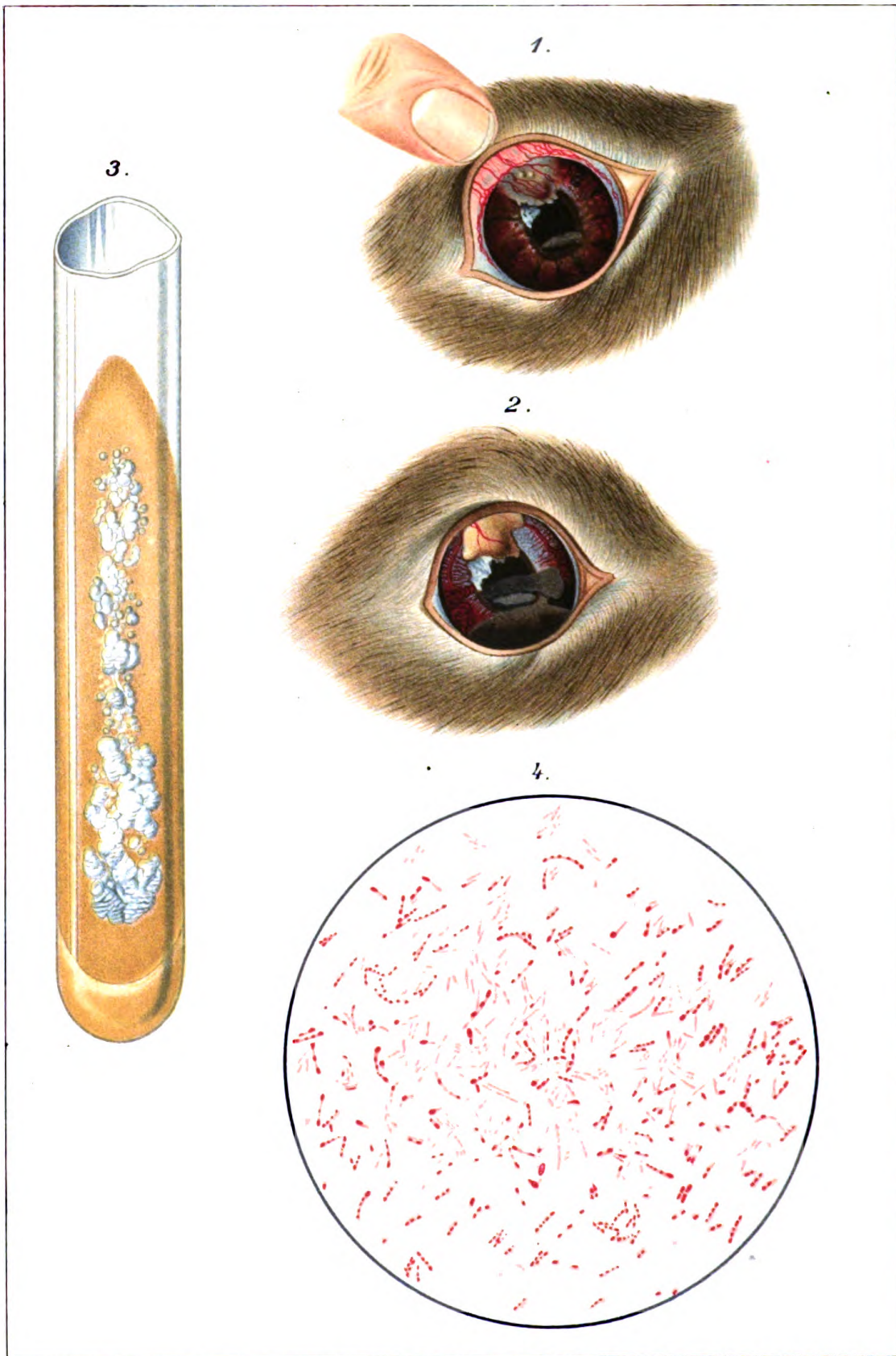
2) daß das Lepramaterial im Kaninchenkörper zwar sein pathogenes Vermögen beibehält, doch aber eine derartige Anpassung erfährt, daß es immer weiter abgeschwächt wird;

3) daß es möglich ist, aus den experimentellen Lepragranulomen des Kaninchenauges einen säurefesten Bacillus zu isolieren, der mit dem von Kedrowski aus menschlichen Lepraknoten erhaltenen vollkommen identisch ist und sich von ihm nur dadurch unterscheidet, daß er nicht dasselbe pathogene Vermögen aufweist, da er nicht wie jener die Eigenschaft besitzt, in den Versuchstieren die Bildung von den menschlichen Lepromen ähnlichen und bacillenreichen Lepraknoten hervorzurufen.



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. A. Götsch, Jena



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith Anst v A.Gütsch Jena.

Erklärung der Abbildungen.**Tafel I.**

- Fig. 1. Kaninchen mit Impfung 3. Passage (4 Monate nach der Impfung).
 Fig. 2. Dasselbe Auge 5 Monate nach der Impfung.
 Fig. 3. Kultur in Agar-Eidotter mit Zusatz von Glycerin und Milchzucker nach 20 Tagen der Entwicklung.
 Fig. 4. Zeiss-Immersion $\frac{1}{5}$, Oeffnung $\frac{1}{30}$, Komp.-Ok. 4, Tubusauszug 16, Ziehl-Neelsensche Methode. Formen: Säurefeste Formen mit sehr intensiv gefärbten Granulis.

Tafel II.

- Fig. 5. Zeiss-Immersion $\frac{1}{5}$, Oeffnung $\frac{1}{30}$, Komp.-Ok. 4, Tubusauszug 16, Färbung mit Gentianaviolett. Rosenkranz- und kolbenartige Formen.
 Fig. 6. Zeiss-Immersion $\frac{1}{5}$, Oeffnung $\frac{1}{30}$, Komp.-Ok. 4, Tubusauszug 16, Ziehl-Neelsensche Methode. Strahlenartige Formen aus 10-tägigen Glycerin-Bouillonkulturen. Außerst lange Formen mit dicken intensiv gefärbten Granulis.
 Fig. 7. Zeiss-Immersion $\frac{1}{5}$, Oeffnung $\frac{1}{30}$, Komp.-Ok. 4, Tubusauszug 16, Gram-Methode, gleichmäßig gefärbter Bacillus.

Nachdruck verboten.

Beiträge zum Studium der Konstipation.
Die Umwandlung einer normalen Flora in vitro in eine
typische konstipierte Flora.

[Inoculation Department, St. Mary's Hospital, London.]

Von **A. Distaso.**

Wir beabsichtigten, in dieser Arbeit auf experimentelle Weise die merkwürdigen Zustände, die wir im Kot konstipierter Leute vorfinden, nachzuahmen und so in die Erscheinungen, welche die Verstopfung zeigt, einzudringen. Im Laufe unserer Studien über die Konstipation haben wir ständig beobachtet, daß der Kot der konstipierten Leute ein besonderes Aussehen hat und daß die mit ihm angefertigten Präparate als charakteristische Eigenschaft eine Verminderung der Anzahl der Mikroben aufweisen¹⁾, außerdem ist in der Flora ein gleichmäßiges Prädominieren der grampositiven Stäbchen zu bemerken und eine Verminderung der gramnegativen Mikroben, die manchmal bis zum Verschwinden geht, und die auch kulturell nachzuweisen ist. Unserer Meinung nach war dies Bild dem Prozesse der Putrefaktion zuzuschreiben. Wir wurden in unserer Ueberzeugung bestärkt durch die Beobachtungen, die wir seinerzeit bei der Putrefaktion der Darmwand gemacht haben, und gerade durch diese Untersuchungen wurde es uns möglich, in diese so wichtigen Erscheinungen einzudringen.

In unserer vorhergehenden Arbeit²⁾ über die Fäulnis der Darmwand haben wir den Fäulnisprozeß in 3 Etappen eingeteilt:

1) Phase der Reduktion der Darmflora, die ein ganz besonderes Aussehen annimmt: Der *Bac. coli* ist vorherrschend. Während dieser

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911. p. 48.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911. p. 97.

Phase wird der Nährboden alkalisch, der Skatolgeruch wird ein Butter-säuregeruch.

2) Phase der strikt anaëroben Fermente: Trotz dieser Mikroben gibt es Fälle, in denen der *Bac. proteus*, wenngleich in kleinen Mengen, doch in dieser Phase vorhanden ist.

3) Phase der aëroben Fermente oder ammoniakalische Phase, in welcher die Desintegration der seinerzeit schon abgebauten albuminösen Substanz bis zur Bildung des Ammoniaks abgebaut wird.

Diese 3 Phasen sind ebenfalls in der Natur leicht zu beobachten. Man hat zu manchen Zeiten großen Wert auf die anaëroben Mikroben gelegt. Wenn man in manchen Arbeiten liest, daß die Anaëroben für sich allein fähig sind, alle Stadien der Putrefaktion durchzumachen, bekommt man aber eine falsche Vorstellung von der Sache.

Vor allem heben wir hervor, daß man nur dann von einer Fähigkeit der in den verschiedenen Perioden vorhandenen Mikroben sprechen kann, wenn man sie auf den Präparaten in vegetativem Zustande bemerkt.

Was verstehen wir nun unter Putrefaktion? Es ist wirklich schwierig diesen Begriff festzustellen. In der Tat bezeichnet man in der deutschen Sprache mit zwei verschiedenen Namen zwei Erscheinungen, die im Grunde dasselbe sind, die Fäulnis und Verwesung. Jeder wird zugeben, daß beide Erscheinungen dasselbe bezwecken, d. h. die betreffenden Substanzen bis in die einfachsten Elemente abzubauen. Ob die Albumine tierisch oder pflanzlich sind, ist für uns ganz gleich, und es darf uns in diesen Betrachtungen nicht stören, wenn die Mikroben, welche die verschiedenen Substanzen abbauen, verschieden sind. In der Tat wissen wir, daß die Putrefaktion der Milch, die tierische Albumine enthält, ganz verschieden von derjenigen des Fleisches vor sich geht, was die Mikroben anbetrifft, aber daß sie ein und demselben Endresultat zulaufen, nämlich NH_3 oder einfachere Elemente zu produzieren. Wenn wir den Kot in den Ofen legen, werden wir auch den NH_3 -Geruch wahrnehmen, also ist es klar, daß wir nach diesen Voraussetzungen mit Recht von einer Fäulnis des Kotes sprechen können, weil auch hier im Grunde ein Abbauprozess der Albuminösesubstanzen stattfindet; ob sie nur Reste der Komplexe albuminöser Moleküle sind, ist ganz gleich für unsere Betrachtung. Nach diesen Voraussetzungen scheint es mir gerechtfertigt, von der Fäulnis des Kotes zu sprechen.

Wenn auch in unserem Fall die Mikroben verschieden sind, ist doch nicht zu zweifeln, daß das Endresultat die Spaltung dieser albuminösen Körper ist. Wir dürfen uns nicht wundern, wenn wir nicht dasselbe Bild bezüglich der Mikroben finden, das bei verschiedenen Fäulnisprozessen vorkommt. Das Vorhandensein eines Mikroben hängt von zu vielen Umständen ab. Während z. B., wie wir es beschrieben haben, bei der Fäulnis der menschlichen Darmwand die *Coli*-Gruppe tätig und vorherrschend ist, spielt bei der Milch im Gegenteil der *Bac. lactici* die Hauptrolle. In dem einen existiert viel Zucker, der leicht zu spalten und kraftliefernd ist, während in der Darmwand kein Zucker vorhanden ist, dagegen eine Menge lösliche Albumine, die das Leben der *Coli*-Gruppe gestattet. Im Kote fehlt Zucker und es gibt nur Spuren von Pepton, daraus ergibt sich ganz klar, daß die Bedingungen fehlen, welche das Leben einer dieser Gruppe gestattet.

Nach diesen Voraussetzungen gehen wir zu den Hapterscheinungen, welche die Fäulnis der Faeces zeigt, über. Wie die Mikroben isoliert wurden und welche Eigenschaften sie haben, werden wir in unserer Arbeit über die Darmflora genauer erörtern, denn wir beabsichtigen, hier nur eine Vergleichung zwischen den in dieser Erscheinung existierenden Tatsachen mit denjenigen, die wir bei konstipierten Leuten finden, zu geben.

* * *

Der Stuhl wurde so steril wie möglich entnommen, d. h. der Anus wurde gründlich mit Seife gewaschen und das Glas, in dem der Stuhl aufgefangen wurde, wurde sterilisiert. Zwei sterile Röhrchen wurden mit den Partikeln des Stuhles gefüllt und mit einem sterilen Gummipfropfen geschlossen und in einem Ofen bei 37° gehalten. Ich will hier die Methode, die ich benutzte, um die Präparate zu machen, angeben: Ich nehme ein kleines Partikelchen des Stuhles auf den Objektträger, presse ihn so zwischen 2 Objektträger, daß ich eine dünne Schicht bekomme. Dies ist meiner Ansicht nach die einzige Methode, welche eine Vergleichung der Mengen der Mikroben in den verschiedenen Stühlen erlaubt.

Es war notwendig, sich besonderer Nährböden zu bedienen, um die Gegenwart und Menge gewisser Mikroben festzustellen. Wir nahmen Gelatine für Staphylokokken, *Bac. proteus*, und, um Mikroben der Gruppe des *Bac. subtilis* zu isolieren, Bouillon mit Stücken von koaguliertem Eiweiß unter anaëroben Bedingungen, um die Anwesenheit der anaëroben, sporulierenden Mikroben der Fäulnis festzustellen, 1-proz. saure Zuckerbouillon für die sogenannte acido-tolerante Stärke, für die saccharogenen Bakterien die Coli-Gruppe, für die lactis aërogenes und für die Streptokokken den Nährboden von Conrad-Drigalski; außerdem wurde auch noch Neutralrotagar (nach Houston) angewendet. Die normalen Zustände wurden mindestens 2mal hintereinander untersucht, bevor unsere Studien angingen. Wie man sieht, wurden also Arbeit und Mühe nicht gespart, um mit Genauigkeit die Erscheinungen festzustellen.

* * *

Als ersten Typus haben wir einen Mann gewählt, dessen Darmflora wir häufig untersucht und studiert haben. Der Stuhl ist sehr interessant; denn er weist bei normalem Zustande eine große Menge von gramnegativen Mikroben auf. Zuweilen finden sich Kokken in großer Menge vor, die sich auch mit Jod färben. Sporen sind verhältnismäßig selten zu sehen. Die Reaktion ist sauer. Es ist überflüssig, eine genaue Beschreibung der verschiedenen Mikroben, die wir schon in anderen Publikationen niedergelegt haben, anzuführen¹⁾.

Verfolgen wir jetzt die Fäulnis dieses Stuhles. Nach 24 Stunden wird der Geruch außerordentlich dem der Buttersäure gleich, die Reaktion ist ganz säuerlich.

Das Bild im Präparate ist folgendes: Im allgemeinen Verminderung der Menge der Mikroben; die gramnegativen Mikroben färben sich schlecht und befinden sich in der Minderheit. Das Bild scheint von Kokken beherrscht zu sein, die sich in 2 Dimensionen vorfinden.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911.

Außerdem sieht man lange und ein wenig biegsame Stäbchen, ferner beinahe steife, besonders leicht gekrümmte Stäbchen und ein Stäbchen von der Dimension unseres *Diplococcus irregularis*, der morphologisch einem *Diphtheroiden* gleicht. 2 oder 3 Individuen, die dem *Bac. perfringens* gleichen, sind in jedem Feld sichtbar. Jedoch ist zu bemerken, daß wir in diesem Stuhle niemals solche Mikroben im vegetativen Zustande isoliert haben. Den *Bac. sporogenes* konnten wir nicht bemerken und noch viel weniger solche, die eine entfernte Aehnlichkeit mit den anderen Mikroben der Fäulnis aufweisen konnten¹⁾. Hier beginnt schon eine sehr wichtige Erscheinung sich geltend zu machen: Verunreinigungen heften sich an den Objektträger. Die Mikroben, die die gramlose Reaktion [*Bac. Brunoi*²⁾] zeigen, nehmen immer mehr ab, sind indessen noch immer zu bemerken. Es wird von manchen Autoren behauptet, daß der Mikrobe ein *Buttersäurebacillus* sei, der beste Beweis ist, daß in diesem Falle, während der Buttersäuregeruch zunimmt, der Bacillus der Buttersäure an Zahl abnimmt. Es ist also der betreffende Mikrobe nicht der *Bac. butyricus*; man findet aber einige Kokken, die sich mit Jod blau färben, doch sind mehr Sporen sichtbar. Die Menge und Dauer der *Coli*-Formen und der gramnegativen Bacillen allein hängen im allgemeinen von der Reaktion ab; je saurer diese ist, desto schneller verschwinden sie; je alkalischer die Reaktion, desto länger sind diese Mikroben auf der Platte sichtbar. Wir kommen auf dieses allgemeine Gesetz später noch zurück. Verfolgen wir jetzt die Resultate auf den verschiedenen Nährböden, die als Isolierungsmittel der verschiedenen Mikroben gedient haben.

Gewöhnliche Agarplatte.

Während im normalen Zustande die Platte vom *Bac. coli* überwuchert ist, findet man schon nach 24 Stunden eine Verminderung der Anzahl der Kolonien dieses Mikroben und seiner Varietäten. Außerdem kann man in diesem Stadium schon Kolonien von Streptokokken isolieren, welche nicht mehr, wie das bei der normalen Flora der Fall ist, nur vereinzelt, sondern in großer Menge vorkommen, so daß sie manchmal die *Coliformes* an Zahl übertreffen.

Drigalski-Platten.

Im allgemeinen kommen, wenn die Zahl der *Bac. coli* vermindert ist, andere Mikroben auf der Platte zum Wachstum; ebenso beobachtet man auf diesen Platten eine Verminderung der *Bac. coli* und seiner Abarten sowie eine mäßige Entwicklung der Streptokokken, die 2 Arten von Kolonien geben, nämlich große, das Milieu stark rötende, und kleine weißliche³⁾.

Da es Mikroben von gleicher biologischer Beschaffenheit sind, so ist es sehr wohl möglich, daß ihr Vorherrschen von Bedingungen abhängt, die auf experimentelle Weise sehr schwer herzustellen sind.

Gelatine in Stichkultur gibt nach 24 Stunden nicht einmal die Liquefaktion des *Staphylococcus*, die dafür charakteristisch ist und die, wie wir schon festgestellt haben, im umgekehrten Verhältnis zu der Trockenheit des Kotes⁴⁾ steht. Wir müssen noch bemerken, daß sie

1) Ich verweise auf meine Arbeiten im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 59 1911.

2) Compt. rend. soc. biol. 1912.

3) Alle diese Mikroben sollen in einer folgenden Arbeit beschrieben werden.

4) loc. cit.

auch von der Azidität abhängt; je saurer der Stuhl ist, desto schneller sterben die Mikroben, welche die Liquefaktion verursachen, ab. Gewöhnlich ist im normalen, frischen Stuhle, der sich seit 24 Stunden in Gelatine befindet, die Liquefaktion, die von Staphylokokken herrührt, sehr verzögert. Im Durchschnitt braucht sie 3—4 Tage zu ihrer Bildung, aber auch dann ist sie noch sehr wenig fortgeschritten, und die Mikroben der Subtilis-Gruppe erscheinen an der Oberfläche der Gelatine.

Zuckerbouillon mit 1-proz. Essigsäure.

Die ersten Einimpfungen zeigen eine ziemlich intensive Wirkung nach dem ersten Tage der Putrefaktion; man isoliert den *Mereshkowskii* und einen anderen *Bacillus*, der dem von Moro sehr ähnlich ist.

Die Stärke zeigt nach 24 Stunden eine starke Amylyolyse, der Nährboden aber wird sofort sauer, was beweist, daß die Stärke in Zucker und dieser wieder in Säure umgewandelt ist. Wie entsteht nun diese Verzuckerung? Ein einfaches Experiment erläutert uns den Vorgang. Man weiß, daß es genügt, ein Stück von Fäkalien in Stärke mit Chloroform oder Toluol zu tun, um das Vorhandensein von Diastase zu beweisen. Es ist diese Diastase, die die Stärke verzuckert. Die Methode wurde von vornherein nicht zur Isolierung von Mikroben verwertet, welche die Eigenschaft besitzen, Stärke in Zucker zu verwandeln. Andererseits beobachtete man, wenn man die aus Fäkalien hergestellte Emulsion auf 60° erwärmte, sehr oft die Verzuckerung der Stärke, die von den Mikroben der *Mesentericus*-Gruppe herrührte. Die Nährböden von Omelianski zeigen auch nach mehreren Tagen keinen Abbau des Papiers.

Um die sporulierenden Mikroben der Putrefaktion festzustellen, haben wir die Nährböden von Achalme und Passini benutzt, die wir aber auf 60° erwärmen, bevor wir das Vakuum in den Röhrrchen machten. Da die Erscheinungen in diesem Milieu sehr langsam vor sich gehen, und die Mikroben der Fäulnis bis zu dem letzten Stadium immer im sporulierenden Zustande sich befinden, halten wir es für unnütz, auf eine weitere Beschreibung dieser Verhältnisse einzugehen. Bei der Isolierung des *B. proteus* konnten wir zu gleicher Zeit die des *Staphylococcus* studieren. Man weiß, daß es sehr selten gelingt, den *Proteus* direkt aus dem Stuhle zu isolieren; hierfür hat sich die Anreicherungskultur in Gelatine am besten bewährt. Nur ist die Isolierung des *Proteus*, auch wenn die typische zylindrische Liquefaktion vorhanden ist, nicht so einfach. Gewöhnlich werfe ich ein Röhrrchen nur dann weg, wenn ich alle Versuche erschöpft habe, um den *Proteus* zur Kultur zu bringen. Tatsächlich habe ich manchmal erst nach 5—6 Proben den *Proteus* erhalten, wie ich später auseinandersetzen werde.

* * *

Nach 48 Stunden zeigen die Präparate im allgemeinen noch wenige Mikroben; der gramnegativen sind noch viel weniger als zuvor; dafür sind Diplokokken von verschiedenen Dimensionen vorherrschend, während die großen acetogenes ganz verschwunden sind. Die Sporen zeigen sich in derselben Menge wie zuvor. Der Schmutz, der sich den Objektträgern anheftet, wird noch häufiger. Die Anzahl der Mikroben, die gramlose Reaktion zeigen [*B. Brunoi*¹⁾], nimmt mehr ab, bis man nur noch

1) loc. cit.

wenige Exemplare findet. Jedenfalls ist aber die auffallende Verminderung der Mikroben charakteristisch. Hier beginnt die Flora schon dasselbe Aussehen zu haben wie diejenige bei den Konstipierten.

Auf Gelatine ist nur in einigen Fällen die Liquefaktion durch den *Staphylococcus* aufgetreten; die Proteolyse erscheint außerordentlich langsam; sie tritt sehr selten vor 6—7 Tagen auf, wo sie dann zylinderförmig wird, aber nicht wie bei dem *Proteus* oder *Staphylococcus*, die ich niemals habe isolieren können. Es zeigen sich nun Bacillen der *Subtilis*-Gruppe, die ein Häutchen im Röhrchen und NH_3 bilden.

Drigalski-Nährboden.

Man kann zu gleicher Zeit alle die Abarten der *Coli*-Gruppe auf einer Platte isolieren, doch sind diese Resultate nicht beständig, wenn man nicht eine große Anzahl von Kolonien abimpft. Wir geben hier ein Beispiel, um zu zeigen, wie ungenügend die Technik der Isolierung dieser Mikroben ist.

Mit einem Stuhle wurden mehrere Röhrchen angelegt, die zu derselben Zeit auf dieselbe Weise geimpft wurden. Sehr häufig kann man von einem Röhrchen gewisse Abarten isolieren, während dies von anderen absolut nicht möglich ist. Aber wichtig ist, daß die Anzahl der Kolonien anfängt, sich zu vermindern und sich kleine Kolonien von Streptokokken bilden. Der *Streptococcus*, der sich durch seine schönen roten, dicken Kolonien abhebt, macht nun dieser zweiten Art Platz; man findet in den Platten fast gleiche Mengen von Kolonien der ersten und der zweiten Art und manchmal schon am 2. Tage eine 3. blaue Kolonie von Streptokokken.

1-proz. saure Zuckerbouillon.

In diesem Nährboden ist das Wachstum oft verzögert und daher sehr verschieden; manchmal wächst nichts, ein anderes mal dagegen isoliert man einen Mikroben aus der acidotoleranten Gruppe oder den *Bac. perfringens* oder auch Streptokokken. Nach 72 Stunden bleiben die Dinge noch auf fast demselben Standpunkte, mit Ausnahme der gramnegativen Mikroben, die bis zum totalen Verschwinden sich vermindern. Das Bild der Flora in den Präparaten bleibt jedoch fast dasselbe wie vorher. Die Verflüssigung nimmt viel mehr Zeit in Anspruch; die typische, trichterförmige oder zylindrische Verflüssigung tritt nicht mehr auf und es zeigt sich schon in kurzer Zeit ein Häutchen, wie bei der Liquefaktion der *Subtilis*-Gruppe. Der *Staphylococcus* ist augenscheinlich verschwunden, ebenso der *Proteus*.

Ein weiterer Beweis dafür, daß, wenn die Flora so stark reduziert und der *Bac. coli* verschwunden ist, es sehr einfach sein müßte, von der Gelatine diese zwei Mikroben zu isolieren, wenn sie noch vorhanden wären, aber trotz aller Bemühungen ist es uns nie gelungen, den einen oder den anderen aus der Gelatine oder von der Agarplattenkultur zu isolieren, es müssen also beide wirklich verschwunden sein.

Drigalski-Nährboden.

Oft sind die Coliformes schon am 3. Tage verschwunden. Die Platten zeigen 2 Sorten von Kolonien, nämlich: 1) rote Kolonien eines dicken *Streptococcus* und 2) blaue Kolonien eines dünnen *Streptococcus*. Manchmal isoliert man schon in dieser Periode einen

3. *Streptococcus*, der blaue Kolonien auf Drigalski-Nährboden gibt. Der *Streptococcus* ist sehr lang und bildet eine schöne Kette. Laktose wird von ihm nicht angegriffen. Die Petri-Schale mit gewöhnlichem Agar leistet in dieser Periode außerordentliche Dienste, denn man erhält die verschiedenen Vertreter der *Subtilis*- und *Mesentericus*-Gruppe in Reinkulturen.

1-proz. saure Zuckerbouillon.

Zuweilen wachsen hier Kokken, aber das Wachstum ist sehr kümmerlich. Die Stärke und der Omelianski-Nährboden zeigen die oben beschriebenen Erscheinungen. Auch von diesem letzteren Nährboden glauben wir, Abstand nehmen zu müssen, weil er sehr wenig klare Resultate gegeben hat. In dieser Periode tritt nun aber ein sehr wichtiges Phänomen auf: Der Stuhl beginnt dunkler zu werden; seine Farbe nähert sich sehr derjenigen des Stuhles der Verstopften. Er scheint schwärzlich zu werden; seine Substanz hat sich durch die Tätigkeit des Nährbodens umgewandelt.

Jetzt bleibt entweder der Stuhl immer sauer und ändert sich während eines Jahres nicht, oder die Reaktion wird alkalisch und der Geruch wird der von NH_3 . In diesem letzteren Falle vermehrt sich die Anzahl der Mikroben; man sieht Mikroben in vollständiger Tätigkeit wie den *Subtilis* oder einen Organismus von der Form des *Diphthericus*¹⁾, die gut wachsen und die Substanzen bis zum NH_3 abbauen. Aber man muß nicht glauben, daß die saure Reaktion die Mikroben der *Subtilis*-Gruppe verschwinden läßt; im Gegenteil sind sie in jedem Stuhle vorhanden, nur haben sie in diesem Fall nicht die Oberhand.}

Stuhl von Erwachsenen mit schwach alkalischer Reaktion.

Ich habe sehr wenig noch hinzuzufügen über den schon beschriebenen Verlauf der Putrefaktion im allgemeinen. Es sei hier nur noch erwähnt, daß der Stuhl nie sauer wird. Die Alkalinität schreitet immer fort und der Geruch nach NH_3 ist sehr bald wahrzunehmen. Ich will hier noch auf eine wichtige Tatsache hinweisen: Es ist mir nicht möglich gewesen, aus diesem Stuhle Mikroben der *Lactis aerogenes*-Gruppe nach 24 resp. 48 Stunden zu isolieren (!). Diese Beobachtung gab mir zu denken, ob ich nicht mehrere Mikroben der Darmflora isolieren könnte, indem ich dem Stuhl 1-proz. alkalisches Peptonwasser hinzufügte. In der Tat bestätigen die Resultate, die ich bei einer anderen Gelegenheit mitteilen werde, nicht nur meine Vermutung, sondern gestatten mir auch einen Einblick in den Mechanismus der Pathogenität der Diarrhöen. Die Hinzufügung dieser Lösung bringt eine Menge von Mikroben zum Vorschein, besonders die der *Lactis*- resp. *Friedländer*-Gruppe und die, die Laktose nicht angreifen. Manchmal habe ich mit dieser Methode in Drigalski-Platten dieselben Mikroben, wie von dem Stuhle von Kinderdiarrhöen oder von *Colitis muco-membranosa* erhalten.

Auffällig in diesem Stuhle war von Anfang an die Anwesenheit von Bacillen in vegetativem Zustande, die dem *Bac. sporogenes* und *B. putrificus* gleichen. Sie verschwinden aber schon nach 24 Stunden

1) Es ist schade, daß der Mikroorganismus in der Kultur abgestorben ist und daß ich äußerlicher Gründe wegen außerstande war, ihn wieder zu isolieren. Die Haupteigenschaft dieses Mikroorganismus besteht darin, daß er die Nährböden stark alkalisch macht.

der Fäulnis und es bleiben nur die Sporen übrig; sonst ist das mikroskopische Bild das des schon beschriebenen sauren Stuhles. Kein Unterschied weist darauf hin, daß die Erscheinungen in diesen 2 Fällen verschieden sind. Nun handelt es sich um die Frage der verschiedenen Reaktionen und der verschiedenen Produkte. Es war uns von vornherein klar, daß die Substanzen, die im Kote vorhanden sind und die unberührt bis zum Colon gehen, die verschiedenen Reaktionen verursacht haben. In diesem Stuhle ist in der Tat keine Spur von höheren Kohlenhydraten zu finden; sie wurden gut verdaut und absorbiert und darum fehlt den Mikroben der nötige Nährboden, um Säure zu produzieren und die Putrefaktion zu verhindern. Dagegen haben wir im ersteren Falle gesehen, daß in dem betreffenden Stuhle Stücke von Kartoffeln im Kote vorhanden sind. Es ist wohl möglich, daß die saure Reaktion von der Gegenwart der Kartoffel abhängig ist, die den Mikroben als Nährboden dient, wenn jede andere Nahrung fehlt.

Diese Reaktionsverhältnisse sind ganz und gar in dem Stuhle von Konstipierten wiederzufinden, und es ist leicht möglich, daß auch hier derselbe Zusammenhang zwischen Mangel der Verdauung, bzw. Absorption und Tätigkeit der Flora existiert, daher ist es wunderbar, wenn wir in dem Stuhl von Konstipierten eine saure Reaktion finden.

Fäulnis des Stuhles eines Kindes bei vegetarianischer Kost.

Die Sachen liegen wie beim sauren Stuhl des Erwachsenen. Indessen herrscht hier ein Mikrobe vor, das dem acetogenes (*acidophilus Moro*) gleicht, der die Zeit der Putrefaktion überdauert. Auch hier isoliert man den *Bacillus subtilis*, der aber nicht den NH_3 -Geruch dem Stuhle gibt. Wir haben in diesem Falle nie einen Mikroben beobachten können, der die morphologischen Eigenschaften des *Bac. perfringens* hatte oder ihm ähnlich sah; man beobachtet aber denselben Buttersäuregeruch und die saure Reaktion. Später wurde der Geruch gleich dem von verfaulten Früchten, aber die Flora war die frühere geblieben und keine neuen Arten sind hervorgetreten. Dies war mir rätselhaft, und ich glaubte lange Zeit fest, daß dieser besondere Geruch einem besonderen Mikroben zuzuschreiben sei. Keine Mühe und Arbeit wurde gespart, aber trotzdem ist es mir bis jetzt nicht gelungen, einen derartigen Mikroben zu isolieren. Es ist wohl möglich, daß die Mikroben im Notfalle die höheren Kohlehydrate der Vegetabilien angreifen und sie abbauen. Es ist ja bekannt, daß bei Kindern, die vegetarianische Kost genießen, viele der Substanzen unberührt hindurchgehen. Wir dachten, daß der Wechsel in der Kost bei ein und demselben Kinde uns Auskunft darüber geben könnte, weil die physiologische Toleranz für die Kohlenhydrate bei gemischter Kost nicht überschritten wird und sehr wahrscheinlich im Coecum nur sehr wenige oder gar keine Kohlenhydrate ausfallen und daher den Kot davon befreien.

Dasselbe Kind bei gemischter Kost.

Die Sachen stehen gerade so wie zuvor; es wurden dieselben Mikroben isoliert; nur die Reaktion wird sofort alkalisch, und die Mikroben, die sich mit Jod blau färben, sind ganz verschwunden. Der *Bac. perfringens* ist anwesend und der Geruch wird schon nach dem 4. Tage ammoniakalisch.

Diese letzten Beobachtungen beweisen, daß tatsächlich die Tätigkeit der Mikroben vom Nährboden, den man ihnen bietet, abhängt, und daß

in gewissen Zuständen, wie im ersteren Falle und bei dem Kinde mit der vegetativen Kost, die Mikroben Substanzen erzeugen können, die eine verhindernde Funktion der Fäulnis gegenüber ausüben können. Diese Substanzen rühren gewiß von den höheren Kohlenhydraten, die vom Darm unberührt bleiben, her, die später von den Mikroben angegriffen werden, weil sie hier die einzige Substanz sind, die ihnen zur Verfügung stehen. Bei der gemischten Kost dagegen sind die Vegetabilien vermindert und werden infolgedessen fast ganz absorbiert, und es bleibt für die Mikroben des Dickdarmes fast nichts oder eine unbedeutende Menge.

Zusammenfassung.

Wir können unsere Untersuchung folgendermaßen kurz zusammenfassen: Wir haben den Begriff der Fäulnis erklärt, zu begründen und zu erweitern versucht. Danach haben wir die Erscheinung im Stuhle, der bei 37° gehalten wurde, verfolgt. Da die beobachteten Erscheinungen wesentlich mit denjenigen der Fäulnis übereinstimmen, haben wir uns berechtigt gefühlt, auch in diesem Falle, der kurz hier wiedergegeben worden ist, von Fäulnis zu sprechen.

Die Veränderung der Flora geht nach und nach vor sich; zuerst wird die Reaktion neutral, man bemerkt Buttersäuregeruch, gemischt mit NH_3 , darauf herrscht NH_3 allein vor; die Reaktion wird dann alkalisch. Wenn die Fäulnis beendet ist, zeigt sie vorherrschend die Mikroben der Subtilis-Gruppe. Die Entwicklung von NH_3 ist stark; das Bild der Flora aber bleibt während langer Zeit dasselbe. Die Kokken verschwinden nie, sie sind nicht nur in den Präparaten zu sehen, sondern können auch zu jeder Zeit isoliert werden.

Wir sehen von den Fällen ab, in denen der Stuhl eine saure Reaktion aufweist, da hier der weitere Verlauf verhindert wird. Wir finden drei Etappen, die im Grunde dieselben sind, wie wir sie in unserer vorhergehenden Arbeit über die Fäulnis der Darmwand¹⁾ beschrieben haben. Dabei ist aber zu bemerken, daß die Mikroben sehr verschieden sind.

1) Stadium der Reduktion der Flora. Die Coliformen vermindern sich allmählich, bis sie gänzlich verschwunden und die Reste der löslichen albuminösen Substanz verbraucht sind.

2) Das Stadium, in welchem der Buttersäuregeruch vorherrscht; es sind hier nicht die Anaeroben, sondern andere Mikroben (Streptokokken, acido-tolerante), welche das Bild beherrschen.

3) Stadium der Ammoniakfermente, in welchem die Substanzen bis zu NH_3 abgebaut sind (Subtilis-Gruppe).

Diese Untersuchungen zeigen, daß die Anaeroben der Putrefaktion, obgleich sie gewöhnlich in Form von Sporen im normalen Stuhle des

1) loc. cit.

erwachsenen Menschen vorkommen, keine Rolle bei der Fäulnis des Kotes und vielleicht auch nicht einmal im pathologischen Zustande spielen.

Dem Anschein nach ist der *B. perfringens* ständig vorhanden, wahrscheinlich aber in so kleiner Menge und im vegetativen Zustande so schwer zu isolieren¹⁾ und anderen Mikroben so ähnlich, daß wirklich schwer zu sagen ist, ob er wirklich existiert oder ob er überhaupt irgendeine Rolle spielt. Ich drücke mich so vorsichtig aus, weil viele Tatsachen gegen seine Anwesenheit im vegetativen Zustande sprechen¹⁾.

Nun ein Wort über den *Proteus*! Es ist die Frage, ob dieser Mikrob ein ständiger Bewohner der Intestinalflora des Erwachsenen ist. Unsere Untersuchungen lassen uns zu letzterer Meinung neigen. Warum verschwinden die gramnegativen Mikroben zuerst, warum können nicht die Mikroben der Fäulnis, trotzdem sie vorhanden sind, wie die Züchtung zeigt, weiter wachsen? Gewiß spielen hier die Trockenheit und der Mangel an Nahrung eine gewisse Rolle. (Wir müssen als bekannt voraussetzen, daß im Coecum Spuren von Pepton vorhanden sind, dagegen im Kot fast gänzlich fehlen.)

Diesbezügliche Experimente haben ergeben, daß die Trockenheit nur eine unbedeutende Rolle spielt, denn die Ergebnisse sind dieselben, wenn man dieselbe Menge von Kot mit physiologischer Kochsalzlösung in den Brutschrank bringt. Man beobachtet alsdann das Verschwinden der Coliformes fast in demselben Zeitraume und die Flora nimmt wie gewöhnlich ab.

Mischt man aber 1-proz. steriles Peptonwasser mit Kot zusammen, so sind die Mikroben der *Coli*-Gruppe längere Zeit vorhanden. Es ist klar, daß das Verbrauchen des Nährbodens eine der wahrscheinlichsten Ursachen des schnellen Verschwindens der gramnegativen Mikroben ist. Aber auch diese Experimente allein sind nicht imstande, das totale Verschwinden dieser Gruppe zu erklären. In alten Kulturen sollten sie im Ruhezustande bleiben, doch sind sie nicht mehr nachzuweisen, sondern ganz und gar aus den Präparaten verschwunden. Diese Mikroben scheinen durch Autolyse unterzugehen und lassen infolgedessen ihren Inhalt in das Milieu heraustreten. Diese Tatsachen sind von großer Wichtigkeit für die Erklärung der Verhältnisse bei Konstipation und Intoxikation.

1) In der Tat sprechen einige Experimente, die ich machte, um den *B. perfringens* zu isolieren, dagegen. Ich gab einem Hunde saure Milch; er bekam Diarrhöe. Der *B. perfringens* war sehr häufig zu sehen und sehr einfach in tiefem Agar zu isolieren. Einem Schimpansen hatte ich eine Reinkultur des *Bac. perfringens* gegeben und konnte ihn im vegetativen Zustande wieder isolieren, aber solange man nicht eine einwandfreie Methode für den Nachweis jedes Mikroben an der Hand hat, können wir nur von Wahrscheinlichkeiten sprechen.

Vergleiche zwischen den Erscheinungen in vitro und denjenigen bei der Konstipation.

Während der Putrefaktion des Kotes verschwinden verschiedene Mikroben, wie Coli, Staphylokokken und Proteus, weil ihnen die geeigneten Nährböden fehlen oder Trockenheit eine gewisse Rolle spielt. Wenn aber die Autolysis beginnt, werden die am stärksten wirkenden Fermente frei; sie sind die Ursache des Verschwindens der gramnegativen Mikroben. Unsere Experimente beweisen dies, wenn wir Pepton dem Stuhle hinzusetzen. Mit dem Verschwinden der Coli-Gruppe bleibt eine Flora, die der Trockenheit mehr widersteht und gegen die Autolyse, sehr widerstandsfähig ist, nämlich die grampositive Flora.

Diese Flora ist eine Dauerflora, die unter den ungünstigsten Verhältnissen ihre Vitalität beibehalten kann. Während dieses Prozesses bis zur zweiten Phase haben wir beobachtet, daß die Mikroben ungemein abgenommen haben, daß Verunreinigungen an dem Objektträger anhaften und daß die gramnegativen Bakterien fast ganz verschwunden sind. Dagegen bleibt die typische Flora, die wir bei konstipierten Leuten finden. Die Reaktion hängt von dem Inhalt des Kotes ab. Diejenigen, die mit der Flora der Konstipierten arbeiten¹⁾, wissen ganz genau, daß der Charakter dieser Floren derselbe ist. Der Kot der Konstipierten zeichnet sich, wie schon gesagt, durch folgende Eigenschaften aus: Trockenheit, gemischter Geruch zwischen Buttersäure und etwas Fäulnis, braune Farbe, die gewiß mit der Tätigkeit der Mikroben in Verbindung zu bringen ist, wie während der Putrefaktion zu sehen ist. Die Reaktion bei der Fäulnis des Kotes, die manchmal sauer ist, und welche auf schlechter Ausnützung der höheren Kohlehydrate beruht, wie wir schon bewiesen haben, stimmt mit der Reaktion, die öfter bei Konstipierten zu treffen ist, überein. Es sei noch erwähnt, daß manchmal der Kot der Konstipierten einen eigentümlichen Geruch aufweist, der seine Gegenwart gewiß der Tätigkeit der Mikroben der Subtilis-Gruppe verdankt, wie die Isolierung zeigt. Die Verschiedenheit der mikroskopischen Bilder bei Konstipierten zeigt gerade, daß eine Putrefaktion sich wirklich im Darne abspielt; die Verschiedenheit kann sehr groß sein, weil der Stuhl von Konstipierten in verschiedenen Stadien der Putrefaktion ausgeleert werden kann, wie die Experimente in vitro beweisen. Von größerem Interesse sind bei diesem Prozesse die vergleichenden bakteriologischen Untersuchungen des Kotes der Konstipierten und des normalen, welcher in vitro eine Putrefaktion durchgemacht hat.

In unseren Experimenten sind während der Fäulnis des Kotes Bac. Proteus, Staphylococcus, die Mikroben der Coli-Gruppe allmählich verschwunden, wobei besonders lehrreich die Röhren mit Gelatine waren.

Dieselben Resultate erhalten wir bei der bakteriologischen Untersuchung des Kotes von Konstipierten. Wie wir an anderer Stelle auseinandergesetzt haben²⁾, zeigt der Kot solcher Leute in seltenen Fällen die eigenartige Liquefaktion der Gelatine. Außerdem sind die Mikroben der Coli-Gruppe quantitativ reduziert, so daß man wenige Kolonien³⁾

1) Man muß die Präparate so machen, wie ich oben angegeben habe.

2) loc. cit.

3) Es gibt hin und wieder Konstipierte, bei denen eine Verminderung der gramnegativen Mikroben nicht stattfindet, jedoch muß man bei ihnen in Betracht ziehen, daß sie nur gelegentlich konstipiert sind.

isolieren kann; noch eher isoliert man in derselben Platte eine große Menge von Streptokokken, die meistens vorherrschend sind. Dasselbe Bild haben wir am 2. oder 3. Tage der Putrefaktion beobachtet.

Die Uebereinstimmung der beiden Prozesse ist überraschend, und was wir in vivo konstatiert haben, können wir auch in vitro bestätigen. Darüber kann kein Zweifel bestehen, daß in dem Darne der Konstipierten sich eine Putrefaktion abspielt, welche in der Auflösung der vorhandenen Mikroben ihren Höhepunkt erreicht. Wir hoffen, im zweiten Teil dieser Arbeit die Bedeutung dieser Tatsache beleuchten zu können.

Nachdruck verboten.

Zur Differentialdiagnose der Variola und der Varicellen. Die Erscheinungen an der variolierten Hornhaut des Kaninchens und ihre frühzeitige Erkennung.

Von Regierungsrat Dr. Gustav Paul,
Direktor der Staatsimpfanstalt in Wien.

Mit 3 Figuren.

Ueber die Guarnierischen Körperchen der vaccinierten Hornhaut beim Kaninchen, ihr Zustandekommen und ihre Deutung liegt bereits eine stattliche Literatur vor. Monti (Pavia) hat im Anschlusse an Guarnieris Entdeckung das Auftreten dieser Zelleinschlüsse auch im Epithel der variolierten Kaninchenhornhaut nachgewiesen, was von vielen Nachuntersuchern, in erster Reihe von Paschen und von Prowazek, bestätigt worden ist.

Die darüber erschienenen Arbeiten befassen sich beinahe durchweg bloß mit der ätiologischen Seite dieser Frage, die insbesondere durch die klassischen Untersuchungen Hückels über „Die Vaccinekörperchen“¹⁾ erschöpfend behandelt erscheint.

Auf die praktische Wichtigkeit des Cornealversuches hat bereits Jürgens (1905) und Paschen (1911) hingewiesen, ohne daß jedoch diese Hinweise bei den Klinikern und pathologischen Anatomen entsprechende Beachtung gefunden hätten. Nur Mairinger hat in seiner Spezialarbeit über Variola, Varicellen und Vaccine im Handbuche der speziellen Pathologie und Therapie von Kraus und Brugsch (1913) mit Nachdruck betont, daß die Guarnierischen Körperchen für Variola und Vaccine spezifische Erscheinungen sind und infolge ihrer Konstanz bei diesen und ihres Fehlens bei differentialdiagnostisch in Betracht kommenden Erkrankungen große praktische Bedeutung erlangt haben. Er weist darauf hin, daß „außerhalb einer Epidemie die leichten und leichtesten Fälle die größten diagnostischen Schwierigkeiten bieten, ja, ohne Kenntnis einer Infektionsmöglichkeit, könne es ganz unmöglich werden, zu entscheiden, ob Variola oder Varicella vorliegt. In solchen Fällen sei mit aller Energie die Ausführung des Cornealexperimentes anzustreben“. Mairinger hat in den letzten Jahren wiederholt Anlaß genommen, die Resultate meiner einschlägigen

1) Hückel, Armand, Die Vaccinekörperchen. Jena (G. Fischer) 1898.

Versuche in der Wiener Impfanstalt zu verfolgen, die insbesondere in der Richtung angestellt wurden, um die Technik und Methodik der experimentellen Untersuchung praktisch auszubauen, sie der Sanitätspolizei dienstbar zu machen, und dadurch die Blatterndiagnose neben der Erhebung des in erster Linie maßgebenden klinischen Krankheitsbildes durch die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung und des Tierexperimentes zu stützen, in zweifelhaften Fällen die Entscheidung herbeizuführen, oder sie wenigstens zu erleichtern. Mairinger, der mich im Beginne meiner eigenen Arbeiten über diesen Gegenstand durch Ueberlassung von Untersuchungsmaterial aus der Blatternabteilung des Kaiser Franz Josefs-Spitals in dankenswerter Weise unterstützt hat, konnte sich persönlich von dem eminent praktischen Wert und von der Zuverlässigkeit des Cornealexperimentes überzeugen.

In den einschlägigen Arbeiten wird bei der Beurteilung der spezifischen Veränderung auf der variolierten Hornhaut das Hauptgewicht auf das Erscheinen oder Fehlen der Guarnierischen Körperchen gelegt, während hingegen die übrigen ebenso bedeutungsvollen histologischen Kriterien dieser Affektion nahezu gänzlich vernachlässigt erscheinen. Gerade in ihren Frühstadien, in denen das histologische Bild in seiner pathognomonischen Bedeutung schon scharf umrissen ist und eine sichere Diagnose gestattet, fehlen jedoch die Guarnierischen Körperchen nicht selten, bilden zum mindesten nicht das hervorstechendste Charakteristikum der variolösen Inokulationskeratitis. Schon Prowazek bemerkt in seinen ausgezeichneten, im Verein mit Beaurepaire herausgegebenen „Variolauntersuchungen“ (Rio de Janeiro 1909) p. 4, daß in der 48 Stunden post variolationem ausgeschnittenen Cornea „in der Mehrzahl der Fälle die auch für die Variola typischen Guarnierischen Körperchen nachgewiesen wurden“. Prowazek fand sie also nicht in allen Fällen. Dieselbe Erfahrung habe ich selbst wiederholt machen können. Das Durchmustern zahlloser Schnitte nach der Richtung, um die Anwesenheit der Guarnierischen Körperchen festzustellen, ist sehr mühsam und zeitraubend und in den Frühstadien nicht sehr aussichtsreich, während die Eigenart der für Variola charakteristischen Epithelveränderungen histologisch ausnahmslos klar und eindeutig hervortritt.

Bevor ich auf die Schilderung der Entwicklungsphasen der variolösen Inokulationskeratitis eingehe, möchte ich nur kurz die von mir geübte Methodik der Inokulation der Kaninchenhornhaut beschreiben: Die Hornhaut des vorher kokainisierten Auges wird in zarter Weise mit einer Präpariernadel oder mit der Ecke eines Deckgläschens gitterförmig geritzt und darauf mit Infektionsmaterial beschickt. Die Entnahme des Untersuchungsmaterials geschieht folgendermaßen: Das Bläschen wird mit einer Präpariernadel oder mit der Ecke eines Deckgläschens zart geöffnet und mit dem austretenden Inhalte werden 2—3 chemisch gereinigte Objektträger durch mehrfaches Auftupfen beschickt. Die lufttrockenen Objektträger werden in eine kleine, eigens hierfür bestimmte Blechkassette und diese wieder in ein Holzetui gebracht¹⁾.

Das eingetrocknete Material wird unmittelbar vor der Inokulation mit einem Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung erweicht und mit dem Rande eines Deckgläschens gut durcheinander gemischt. Das hierzu benützte Deckgläschen kann zweckmäßig zur Skarifikation der Cornea

1) Die nach meiner Angabe angefertigten Behälter für Variolauntersuchungsmaterial sind bei Alexander Csokor, Wien 18, Abt Karlgasse 14, erhältlich.

und zur Uebertragung des erweichten Infektionsmaterials auf diese verwendet werden.

Die Kaninchenhornhaut ist nicht nur für Vaccine-, sondern auch für Variolavirus sehr empfindlich.

24 Stunden nach der Inokulation erscheint das Auge vollständig reizlos, nur stärker feucht-glänzend als gewöhnlich; von den Ritzern sieht man keine Spur, sofern bei der Skarifikation mit der entsprechenden Zartheit vorgegangen worden ist.

Frühestens nach 36 Stunden vermag man bei variolapositiver Reaktion auf der vollkommen klaren und reizlosen, nur stark feucht-glänzenden Cornea mit der Lupe winzig kleine, kalottenförmige

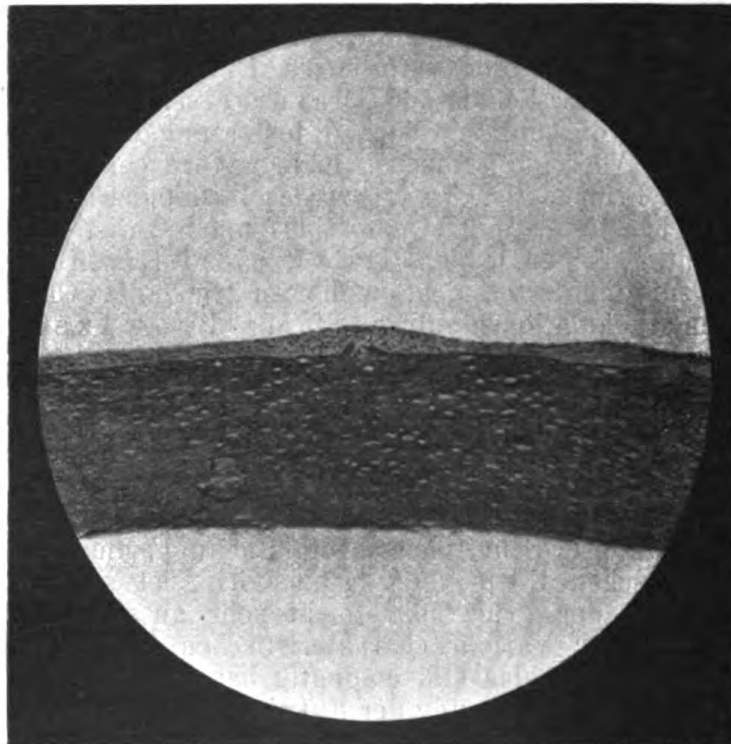


Fig. 1. Inokulationsblatter, Kaninchencornea, 60 Stunden post inoculationem, sagittaler Paraffinschnitt 4 μ , Giemsa-Färbung, Zeiss Achromat, Obj. A, Auszuglänge 510 mm, Projektionsokular 2.

Erhebungen zu entdecken, die wie Luftbläschen aussehen und sich von diesen dadurch unterscheiden, daß sie sich mit dem darüber geschobenen Augenlid nicht fortwischen lassen. Nach 48 Stunden sind diese „Inokulationsblattern“ bereits mit freiem Auge sichtbar; die Hornhaut zeigt auch in diesem Zeitpunkte keine Spur einer Trübung, auch die Conjunctiva ist völlig reizlos.

Am 3.—4. Tage, bisweilen auch früher, beginnt im Zentrum dieser Knöpfchen bereits die Epitheldesquamation, die sich allmählich zu einer oberflächlichen Ulzeration steigert. Die Cornea trübt sich im weiteren Verlaufe und der Prozeß kommt schließlich zur Vernarbung.

Die spezifischen Erscheinungen am 2.—3. Tage sind infolge der fehlenden Trübung und der Kleinheit und Durchsichtigkeit der Epithelnekrosen so wenig auffallend, daß sie in vivo leicht übersehen werden

können; auch können bisweilen, insbesondere bei grob ausgeführter Skarifikation, die traumatischen Epitheldefekte eine spezifische Reaktion vortäuschen. Bei lokaler seitlicher Beleuchtung sind die spezifischen Epithelveränderungen deutlicher zu sehen.

Eine absolut sichere Entscheidung bringt hier die Behandlung des enukleierten Bulbus mit **Sublimatalkohol**.

Der Bulbus wird am vorher durch Genickschlag getöteten Tiere luxiert, der Augensiel mit einem festen Bindfaden abgeschnürt und mit einem Scherenschlag durchtrennt, wobei sorgfältig darauf geachtet werden muß, daß bei der E nukleation die Cornea nicht mit Blut beschmutzt wird. Der enukleierte, an dem Bindfaden hängende Augapfel wird ganz kurze Zeit — $\frac{1}{2}$ —1 Minute — in Sublimatalkohol (2 Teile einer ge-

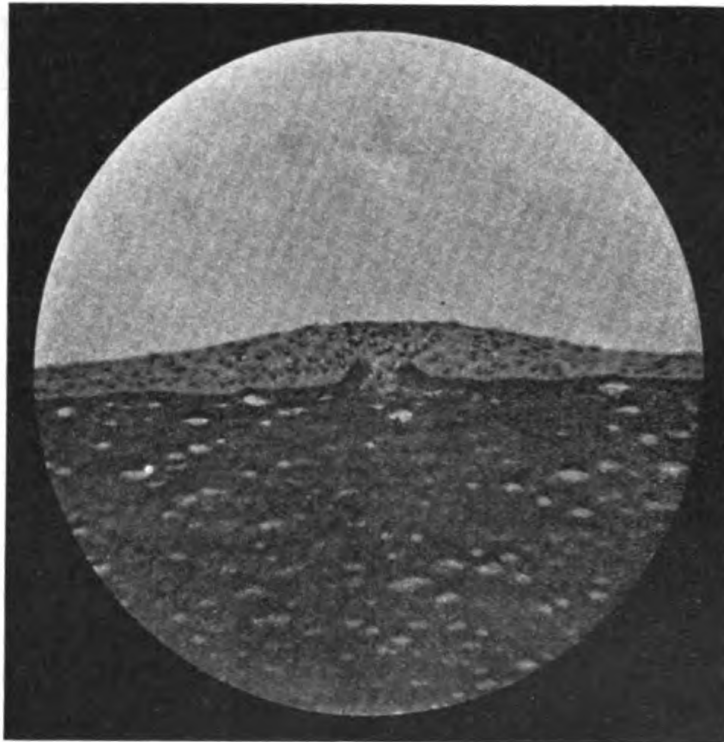


Fig. 2. Dieselbe Stelle wie Fig. 1 mit Zeiss Achromat, Obj. E.

sättigten wässrigen Lösung [2 g in 30 g Wasser kochen, nach dem Erkalten filtrieren] von Sublimat + 1 Teil absoluten Alkohol) eingetaucht und sofort mit der Lupe besichtigt. Die kleinen Herdnekrosen treten bei variolapositiver Reaktion sofort als kreideweiße Pünktchen und kreisrunde, zum Teil konfluierende Knöpfchen zutage, der Entwicklung einer photographischen Platte vergleichbar. Dieses Phänomen ist für Variola (bzw. Vaccine) so charakteristisch und pathognomonisch, daß man mit absoluter Sicherheit schon makroskopisch die Varioladiagnose stellen kann. Bei keiner anderen entzündlichen Affektion der Cornea ist die Erscheinung in dieser Form zu beobachten. Bei Inokulation von Varicellenmaterial fehlt sie vollkommen. Bei purulenten Prozessen bewirkt die Sublimatfixation nur diffuse Trübungen. Bei längerem Verweilen in Sublimatalkohol trübt sich die ganze Cornea

milchig und wird vollkommen undurchsichtig, doch auch dann heben sich die stärker entwickelten, herdförmigen Epithelnekrosen als kreideweiße, opake Knöpfchen deutlich ab; nur die punktförmigen, noch nicht über das Niveau erhabenen verschwinden wieder. Eine längere Fixation der Cornea in Sublimatalkohol ist nur für die weitere histologische Untersuchung erforderlich. Will man die am Limbus abgetragene Cornea in toto als Testobjekt konservieren, so empfiehlt sich eine kurze Behandlung der sublimatfixierten Hornhaut mit schwachem Jodalkohol, wobei die nicht betroffene Partien desselben wieder durchscheinend werden, während die Inokulationsblättchen opak bleiben.

Hückel hat in seiner früher zitierten Arbeit zuerst darauf aufmerksam gemacht, daß an der mit positivem Erfolge vaccinierten, in vivo

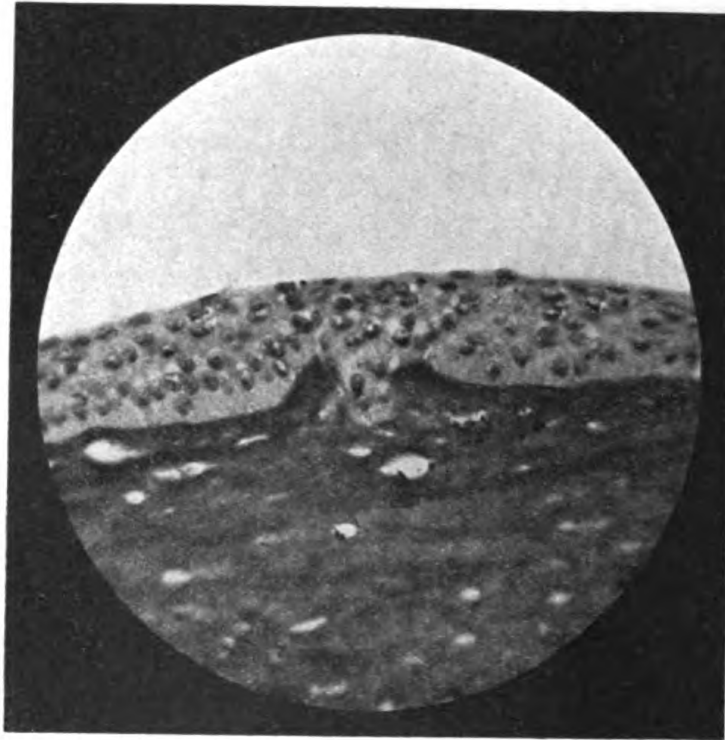


Fig. 3. Dieselbe Stelle wie Fig. 1 und 2; Zeiss Achromat, Obj. 4 mm, n. A. 0,95. Die einzelnen Zellkernen angelagerten schwarzen Pünktchen sind Guarnierische Körperchen.

noch vollkommen durchsichtigen Hornhaut des Kaninchens beim Einbringen in Fixierungsflüssigkeiten sich sofort Differenzen zwischen den Impfstellen und dem gesunden Epithel zeigen. Besonders deutlich würden sie, wenn Sublimat zur Verwendung gelange: „Die Stichstellen werden darin sofort opak weiß, während die übrige Hornhaut erst allmählich trübe, dann weißlich wird. Junge, wenige Stunden alte Impfstellen zeigen sich als weiße Punkte und Striche“.

Ich habe diese Erscheinung nunmehr auch bei variolierter Kaninchenhornhaut festgestellt und genau studiert. Ich erblicke darin ein sanitätspolizeilich überaus wertvolles Hilfsmittel, um bereits in den ersten 36—48 Stunden post inoculationem die variolöse Natur des Prozesses auf der Hornhaut in einfacher, rascher und absolut ver-

läßlicher Weise schon makroskopisch diagnostizieren zu können. Diese herdweise disseminierten toxischen Epithelnekrosen sind für Variola streng pathognomonisch. Bei Inokulation von Varicelleninhalt kommt es niemals zu solchen Erscheinungen bei der Sublimatfixation der Hornhaut, was differentialdiagnostisch von eminenter Wichtigkeit ist. Ebenso wenig zeigen alle übrigen entzündlichen und purulenten Prozesse, ganz abgesehen von ihren klinischen Erscheinungen und der starken Mitbeteiligung der Conjunctiva, dieses charakteristische Verhalten; es kommt nur zu diffusen Trübungen der affizierten Hornhautpartien im Sublimatbade.

Selbstverständlich muß die histologische Untersuchung der sorgfältig fixierten und in aufsteigendem Alkohol gehärteten Cornea zur Kontrolle des makroskopischen Befundes nachfolgen. Bezüglich der Technik und Methodik der histologischen Untersuchung verweise ich auf die ausgezeichnete Monographie Hückels.

Ich halte es jedoch nach meinen Erfahrungen, die ich in 22 Fällen zu machen Gelegenheit hatte, für erlaubt, schon auf Grund der makroskopischen Feststellung der Epithelnekrosen an der variolierten und mit Sublimatalkohol behandelten Kaninchenhornhaut die Einleitung von sanitätspolizeilichen Maßregeln zur Blatternbekämpfung veranlassen zu dürfen.

Das histologische Bild (an nach den üblichen Methoden gefärbten Paraffinschnitten) ist jenem überaus ähnlich, das Hückel mit plastischer Klarheit für die vaccinierte Hornhaut beschrieben hat. Nur wirkt das Vaccinevirus weit aggressiver als das Variolavirus und deshalb erfolgt auch der Verlauf des Prozesses auf der vaccinierten Kaninchenhornhaut viel rascher und intensiver; auch erscheint die Mitbeteiligung der Conjunctiva viel stärker ausgeprägt als bei variolierter Cornea.

Die charakteristischen, knöpfchenartigen Vorwölbungen (die „Inokulationsblättrchen“) beruhen auf Quellungserscheinungen der infizierten Epithelzellen und der Substantia propria in unmittelbarer Nachbarschaft der Impfverletzung. Durch diese Zellschwellungen erscheinen die Schichten des Epithels erheblich verbreitert, verlagert und durcheinander geschoben. Die sich an- und durcheinander drängenden, aus ihrer ursprünglichen Lage verschobenen und gequollenen Zellen füllen nicht nur die durch die Impfverletzung bedingte Zusammenhangstrennung im Epithellager aus, sondern drängen sich auch in die Furchen der verletzten Substantia propria hinein, wodurch sich die Impfstellen vollständig schließen. Es ist damit das histologische Bild einer ganz typischen, für Variola und Vaccine charakteristischen **Herdnekrose** gegeben, die auf die Toxinwirkung zurückzuführen ist. Am reinsten erscheint diese Gewebsveränderung in 36–48 Stunden ausgebildet, also in einem Zeitpunkte, in welchem die Guarnierischen Körperchen bei der variolierten Inokulationskeratitis noch in spärlicher Zahl erscheinen, ja bisweilen ganz fehlen. Diese charakteristischen Zelleinschlüsse finden sich, wie bereits erwähnt, erst in den späteren Entwicklungsstadien, wenn bereits die zentrale Epitheldesquamation eingesetzt hat. Für die Feststellung der Eigenart der variolösen Epithelnekrose in den Frühstadien — und dies ist für die Stellung einer Frühdiagnose besonders wichtig — ist also ihr Erscheinen oder Fehlen keineswegs entscheidend. Die er-

wähnten Merkmale der spezifischen Gewebsveränderungen an den Inokulationsstellen der Cornea sind pathognomonisch und nicht zu verkennen. Wo die Herdnekrosen im Sublimatbade deutlich hervortreten, findet man regelmäßig Guarnierische Körperchen in wechselnder Menge. Zu ihrer raschen Konstatierung schneide man die sorgfältig fixierte und gehärtete Cornea tangential. Zur Verfolgung der nekrobiotischen Veränderungen des Cornealepithels eignen sich hingegen Sagittalschnitte (5 μ) besser.

Vergleicht man das histologische Bild der variolierten Cornea mit jenem, das Weigert (1872) in seiner klassischen Arbeit „Anatomische Beiträge zur Lehre von den Pocken“ über die variolösen Vorgänge auf der menschlichen Haut beschrieben hat und die er als herdweise nekrotisierende Prozesse mit nachfolgender Entzündung betrachtet, so findet man eine frappierende Uebereinstimmung mit den Gewebsveränderungen auf der variolierten Kaninchenhornhaut in allen Entwicklungsphasen. Hingegen findet die Annahme von Unna und Burri, daß es sich bei den Pocken von Anfang an um entzündliche Erscheinungen handle, in dem Cornealexperimente keine Stütze. Es ist also, analog wie bei der Inokulationsblatter an der Kaninchenhornhaut, die bei der menschlichen Variola im Stratum mucosum der Epidermis einsetzende Gewebsveränderung eine Nekrobiose infolge der Lebensäußerung (Toxinwirkung) des Erregers; darauf folgt nach der Auffassung von Unna eine ballonierende Degeneration mit retikulierender Kolliquation der Zellen (Ursache des vielkammerigen Baues der Pocke). Als sekundäre Erscheinungen schließen sich daran kleinzellige Infiltration, eiterige Einschmelzung des Pockengewebes und endlich Narbenbildung an.

Es kann nach dem Ausgeführten keinem Zweifel unterliegen, daß die Inokulation der Cornea eine wichtige Ergänzung der sanitätspolizeilichen Erhebungen von Blatternfällen in den Frühstadien, insbesondere in den sogenannten „Grenzfällen“ bildet¹⁾. In einer größeren Reihe von Fällen meiner eigenen Beobachtung, deren eingehende Beschreibung an anderer Stelle ich mir vorbehalte, hat diese experimentelle Untersuchung eine sehr wichtige, ja ausschlaggebende Rolle gespielt.

1) Vgl. Paul, G., Ueber einige notwendige Ergänzungen der gegenwärtig üblichen Art der Blatternerhebung. (Der Amtsarzt. 1914. p. 194.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Anwendung des Dialysierverfahrens für die Erkennung der Trächtigkeit. Versuche zur Erkennung der Tuberkulose und anderer Infektionskrankheiten der Haustiere¹⁾.

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelm-Instituts für Landwirtschaft in Bromberg (Leiter: W. Pfeiler).]

Von

Dr. W. Pfeiler,

Dr. R. Standfuß,
wissenschaftlich-technischem
Hilfsarbeiter

und Erika Roepke,
Praktikantin.

Von dem Professor der Physiologie an der Universität Halle, Dr. Abderhalden, sind zwei Methoden in die medizinische Forschung eingeführt worden, das Dialysierverfahren und die sogenannte „optische Methode“, welche als diagnostische Methoden nach Abderhalden eine fast unbegrenzte Anwendungsmöglichkeit haben und unter anderem auch eine frühzeitige serologische Diagnose der Schwangerschaft ermöglichen sollen. In die Reihe der serologischen Untersuchungsmethoden schlechthin will sie Abderhalden jedoch nicht eingefügt wissen. Nach seiner Auffassung lassen sich die Reaktionen, die sich bei Anwendung der genannten Methoden abspielen, nur als physiologisch-chemische Vorgänge auffassen, die Abderhalden mit besonderen Anschauungen erklären zu können glaubt, und die sich in den Rahmen dessen einpassen, was er als physiologischer Chemiker lehrt.

Abderhalden hat darauf hingewiesen, daß er schon in der ersten Auflage seines Lehrbuchs der physiologischen Chemie (1906) ausgeführt habe, der tierische Organismus könnte Stoffe für seinen Stoffwechsel nur dann verwerten, wenn sie chemisch einen homologen Bau gegenüber den Organen besitzen, in denen sie zur Verarbeitung kommen sollen — eine Auffassung, die übrigens schon die alte Physiologie mit dem Begriff der Assimilation gekennzeichnet hat. Unter diesem Gesichtspunkte soll man, Abderhalden zufolge, die Stoffe nach ihrem Verhältnis zum Organismus oder zu Teilen desselben unterscheiden in körperfremde und körpereigene, in organfremde oder zellfremde und organeigene oder zelleigene usw. Eine Ganglienzelle z. B. wird nur mit denjenigen Stoffen in nähere Beziehungen treten können, welche chemisch homolog gebaut sind, während sie zellfremde Stoffe nicht für ihren Stoffwechsel verwerten kann.

Es sei daher Aufgabe des Organismus, alle aufgenommenen Stoffe so herzurichten, daß sie einen ihrer Bestimmung entsprechenden Bau erhalten. Die erste und grösste Arbeit leistet dabei der Magendarmkanal mit seinen Drüsen und Anhangsorganen; welche Bedeutung dies nach unserer Auffassung für die Abderhaldenschen Fragestellungen bzw. die Schwangerschaftsdiagnose hat, werden wir weiter unten entwickeln. Eine feinere Differenzierung erfolgt nach Abderhalden noch in der Lymphe. In das Blut sollen beim gesunden Individuum nur noch

1) Nach einem unter dem 21. Juli 1914 an den Herrn Minister für Landwirtschaft, Domänen und Forsten erstatteten Berichte.

bluteigene Stoffe übertreten. Kommen unter besonderen Umständen blutfremde Stoffe in dieses hinein, so ist der Körper bestrebt, diese gewissermaßen in einem Abwehrvorgang „abzubauen“. Der Organismus bedient sich hierzu gewisser Fermente, welche, da **Abderhalden** für die blutfremden Stoffe jeweils spezifische Beschaffenheit voraussetzt, ebenso wie diese spezifische Eigenschaften haben sollen. **Abderhalden** hat diese Fermente früher „Schutzfermente“ genannt und den Ausdruck später in „Abwehrfermente“ umgewandelt.

Daß der Organismus in dieser Weise nicht nur an die Verarbeitung der zur Nahrung bestimmten Stoffe herantritt, sondern überhaupt jedwede Stoffe, die irgendwie in ihn hineingelangen, in Angriff nimmt, ist naheliegend.

Dieser letztere Umstand ist es, welcher nach **Abderhalden** die Möglichkeit einer diagnostischen Ausbeutung der dargelegten Verhältnisse mit sich bringt.

Nach den Lehren **Abderhaldens** ist es möglich, durch Nachweis spezifischer Fermente auf das Vorhandensein entsprechender zellfremder oder blutfremder oder gar körperfremder Stoffe zu schließen und auf diese Weise die Diagnose nicht nur der Schwangerschaft und der Infektionskrankheiten, sondern sogar der Funktionsstörungen einzelner Organe zu stellen.

Die Vorstellungen, die **Abderhalden** zur Klärung dieser Verhältnisse entwickelt, befinden sich, wie man leicht übersehen wird, in Uebereinstimmung mit den uns aus der Immunitätslehre seit Jahren geläufigen. **Abderhalden** hat es als seine Aufgabe betrachtet, die Spezifität der Abwehrfermente nachzuweisen, und die medizinische Forschung hat sich in beispielloser Weise bemüht, diesen Nachweis gleichfalls zu erbringen. Der Erforschung des Gebietes ist es außerordentlich förderlich gewesen, daß das Hauptinteresse bei der Verfolgung dieser Frage der Schwangerschaftsdiagnose zufiel, also einem Gebiete, das praktisches Interesse beanspruchen dürfte. Auf diesen Umstand dürfte es auch zurückzuführen sein, daß sich an der Bearbeitung der Frage viele Männer beteiligt haben, die sonst das biologische Experiment nicht betrieben haben, und es fällt, worüber sich **Abderhalden** selbst beklagt hat, bei Durchsicht der literarischen Produktion auf, daß ein Teil der Untersuchungen unter Voraussetzungen angestellt worden ist, die denen des exakten Versuches nicht entsprochen haben. Das in Aussicht gestellte Ziel, mittels eines Dialysierversuches, der, wie **Abderhalden** anfangs angegeben hat, in einfachster Weise auszuführen ist, die Diagnose der Schwangerschaft stellen zu können, dürfte für die Mehrzahl der beteiligten Forscher die Veranlassung gewesen sein, die Lösung einer Frage, die von jeher medizinisches Interesse beansprucht hat (Serodiagnose der Schwangerschaft nach **Opitz** mittels der Präzipitation und andere Versuche), bisher aber nicht gelöst worden ist, herbeiführen zu helfen.

Die Umstände, welche, der **Abderhaldenschen** Gedankenführung entsprechend, eine Frühdiagnose der Schwangerschaft ermöglichen, sind folgende: Im Verlaufe der Gravidität gelangen bekanntlich von Zeit zu Zeit kleinste Placentateilchen in den Blutkreislauf, der Organismus antwortet, wie angenommen wird, darauf mit der Bildung spezifischer Fermente, mit deren Hilfe er die „blutfremden“ Elemente abbauen kann.

bis sie eine solche chemische Beschaffenheit haben, daß sie an irgend-einer Stelle des Körpers verarbeitet werden können¹⁾).

Diese placentar-spezifischen Elemente — gewissermaßen Antikörper — gilt es nun, im Blute der zu untersuchenden Individuen nachzuweisen. Dies geschieht in der Weise, daß man das zu untersuchende Blutserum mit Placentareiweiß zusammenbringt und prüft, ob ein Abbau desselben eintritt oder nicht. Hierzu können sowohl das Dialysierverfahren als auch die „optische Methode“ angewandt werden.

Beim Dialysierverfahren wird durch Kochen koaguliertes Placentagewebe in kleinen Dialysierschläuchen mit dem zu untersuchenden Serum zusammengebracht und während 12—16 Stunden bei Brutschranktemperatur dem Vorgange der Dialyse gegen destilliertes Wasser ausgesetzt. Stammt das Serum von einem graviden Menschen oder Tiere, so soll ein Abbau des koagulierten Placentagewebes durch die placentar-spezifischen Fermente des Serums stattfinden. Das Ergebnis dieses Abbaues sind einfacher gebaute Eiweißkörper (Peptone bzw. Polypeptide), welche wasserlöslich sind und mithin durch den Schlauch in die Außenflüssigkeit (destilliertes Wasser) übergehen, dialysieren, wo sie mittels einer Eiweißreaktion nachgewiesen werden können. Stammt das Serum von einem nicht-graviden Individuum, so findet kein Abbau statt, und das Dialysat soll keine Eiweißkörper enthalten.

Bei der optischen Methode wird als Substrat nicht koaguliertes Gewebe, sondern eine wäßrige Lösung von Placentapepton verwendet, welches eine noch möglichst komplizierte Molekularstruktur besitzen soll. Diese Peptonlösung wird mit dem zu untersuchenden Serum in Polarisationsröhrchen zusammengebracht, gleichfalls der Brutschranktemperatur ausgesetzt und während dieser Zeit in bestimmten Abständen das Drehungsvermögen des Serumpeptongemisches im Polarisationsapparat ermittelt. Ändert sich dabei das Drehungsvermögen, so spricht dies für eine chemische Umsetzung, für einen Abbau des Placentapeptons, und zeigt so die Gegenwart placentar-spezifischer Fermente in dem zu untersuchenden Serum an.

Bei der Ausführung dieser beiden Methoden ist eine Reihe von Umständen zu beachten, welche für den Ausfall der Reaktion von entscheidender Bedeutung sein können und deshalb einer eingehenderen Besprechung unterworfen werden sollen.

Wenn als Kriterium für das Vorhandensein spezifischer Fermente das Auftreten von Peptonen bzw. Polypeptiden im Dialysat gelten soll, dann muß vorerst sichergestellt sein, daß Eiweißkörper der genannten Art nicht auch auf andere Weise in das Dialysat hineingelangen können. Eine solche Möglichkeit droht zunächst von seiten des für den Versuch verwandten Placentagewebes. Dasselbe muß auf das sorgfältigste in der von Abderhalden angegebenen Weise hergerichtet werden.

Das frische Placentagewebe wird zu diesem Zweck zunächst nach Möglichkeit von bindegewebigen Bestandteilen, Blutgefäßen und dergleichen befreit, in etwa markstück- bis talergroße Stücke geschnitten und sodann entblutet. Das Entbluten erfolgt in fließendem bzw. häufig zu wechselndem Wasser unter gleichzeitigem Kneten; siebartige Gefäße oder auch Mulltücher leisten hierbei gute Dienste. Die letzten Blutreste werden in der Reibesohle durch Druck mit dem Pistill unter Besspülung

1) Die im ersten Teile dieses Satzes entwickelten Anschauungen werden heute nicht mehr allgemein anerkannt.

mit physiologischer Kochsalzlösung entfernt. Das Entblutungsverfahren muß so lange durchgeführt werden, bis das Spülwasser keine Spur Rotfärbung mehr zeigt und das Gewebe „schneeweiß“ erscheint. Sodann wird das letztere zwecks Koagulation der Eiweißkörper in die 100-fache Menge siedenden, destillierten Wassers gebracht, welchem auf das Liter 5 Tropfen Eisessig zugesetzt sind. Nach etwa zehnminutenlangem Kochen wird das Wasser gewechselt, der Zusatz von Eisessig bleibt nunmehr fort und das Kochen wird zuerst in der 100-fachen, später in der 5-fachen Menge destillierten Wassers so lange wiederholt, bis an das Wasser lösliche Eiweißkörper nicht mehr abgegeben werden. Zur Prüfung des Kochwassers wird das unter dem Namen „Ninhydrin“ im Handel befindliche Triketohydrindenhydrat in 1-proz. Lösung verwandt, welches bei einminutenlangem Kochen mit eiweißhaltigen Lösungen eine blauviolette Färbung gibt. Etwa 5 ccm des mindestens 5 Minuten mit den Organen gekochten Wassers werden mit mindestens 1 ccm der 1-proz. Ninhydrinlösung versetzt und 1 Minute lang gekocht. Nur wenn keine Spur einer Blaufärbung auftritt, ist das Organ brauchbar. Das in dieser Weise vorbereitete Gewebe wird in sterilem, destilliertem Wasser unter aseptischen Kautelen, mit Toluol überschichtet, aufbewahrt.

Eine zweite Quelle für das Auftreten von Eiweißstoffen im Dialysat bildet das Serum.

Dasselbe enthält an sich schon wasserlösliche Verbindungen, z. B. die im Verlaufe des Verdauungsprozesses in das Serum übertretenden Stoffe; diese können dialysieren. Einer derartigen Störung des Versuches begegnet man durch die Auswahl einer Serummenge, bei der diese Stoffe nur in Mengen dialysieren, die eine Reaktion nicht herbeiführen können. Abderhalden gab zuerst an, daß das Serum in Mengen von 2 ccm zu verwenden sei. Späterhin wählte er eine Menge von nur 1½ ccm. Unter diese Menge herunterzugehen, wie dies einige Autoren getan haben, ist nicht rätlich; denn bei einer weiteren Verringerung der Serummenge muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß der Fermentgehalt nicht mehr ausreicht, um eine deutliche Reaktion in Erscheinung treten zu lassen.

Als eine unerläßliche Bedingung wird von Abderhalden weiter hervorgehoben, daß das Serum völlig frei von Blutfarbstoff ist.

Ein dritter wichtiger Faktor ist die Beschaffenheit der Dialysierhülsen. Dieselben müssen darauf geprüft sein, ob sie für Eiweißverbindungen vom Charakter der Peptone durchlässig und für genuine Eiweißkörper undurchlässig sind. Diese Prüfung geschieht im Dialysierversuch mit Hilfe von Seidenpepton bzw. Hühnereiweiß.

Die Art der Behandlung und Aufbewahrung der Hülsen ist ebenfalls von größter Bedeutung. Die Hülsen müssen nach dem Gebrauch sofort gereinigt und längere Zeit in fließendem Wasser belassen werden, damit alle Reste von Eiweißstoffen herausgespült werden. Ihre Aufbewahrung erfolgt unter aseptischen Kautelen in sterilem, destilliertem Wasser, welches mit Toluol überschichtet wird.

Daß bei der Ausführung des Versuches und bei der Auswahl der Gerätschaften die peinlichste Sorgfalt und Sauberkeit obwalten muß, ist selbstverständlich. Man muß sowohl „rein“ im Sinne der Chemie als auch „steril“ bzw. „aseptisch“ im bakteriologischen Sinne arbeiten.

Die Literatur über die mit Hilfe der Abderhaldenschen Methoden ausgeführten Untersuchungen ist im Laufe der letzten 2 Jahre außer-

ordentlich angewachsen. Nach **Abderhaldens** sind mehr als 300 Arbeiten bis jetzt erschienen. Es ist unmöglich, den Inhalt der in diesen Arbeiten niedergelegten Mitteilungen zu wiederholen, bei den Widersprüchen, die in den einzelnen enthalten sind, auch nicht zweckmäßig, schon jetzt, wo die ganze Frage noch im Flusse ist, eine zusammenfassende Darstellung zu bringen. Wir werden deshalb auf die Literatur nur insoweit eingehen, als wir durch die Ergebnisse unserer eigenen Untersuchungen dazu genötigt sind. Dies soll am Schluß unserer Arbeit geschehen.

Das Material, das wir für unsere Untersuchungen verwandt haben, wurde zu einem großen Teile auf dem hiesigen städtischen Schlachthofe entnommen. Als Organsubstrate diente uns in erster Reihe Placenta von Rindern; meist wurde Placenta foetalis verwendet, in einigen Fällen die Placenta foetalis noch in Verbindung mit der materna, vereinzelt Placenta materna für sich. Außer der Placenta von Rindern gelangten solche von Pferden und Schweinen, sowie menschliche Placenta, die wir aus hiesigen gynäkologischen Kliniken frisch bezogen, zur Verwendung. Doch beschränkten wir uns nicht darauf, in jedem Versuch nur das homologe Gewebe, also z. B. für das Serum einer Kuh nur Rinderplacenta zu verwenden, sondern ließen in vielen Versuchen das zu untersuchende Serum auf mehrere Gewebe einwirken, um gleichzeitig eine Kontrolle für die Spezifität der Reaktion zu haben. Als sehr geeignet erschien uns hierzu tuberkulöses Gewebe (Serosenbeläge aus der Brusthöhle von Rindern), bot sich doch damit zugleich die Gelegenheit, über die Verwendbarkeit der Methode für die Diagnose der Perlsucht ein Urteil zu gewinnen. Außer den genannten Organsubstraten gelangte noch Leber von Rind und Schwein, Euter vom Rind, Gebärmutter vom Pferde, sowie menschliches Myom- und Carcinomgewebe zur Verarbeitung.

Die Sera erhielten wir zum Teil ebenfalls vom Schlachthofe, zu einem anderen Teil wurden sie uns durch einen Tierarzt übermittelt, der, als Mitglied des Institutes, die klinische Untersuchung der an das Tuberkulosestillungsverfahren für die Provinz Posen angeschlossenen Bestände ausführt.

Auch die Versuchstiere des Instituts wurden nach Möglichkeit zur Untersuchung herangezogen. Einzelne menschliche Sera stellten Aerzte der hiesigen städtischen Diakonissenanstalt zur Verfügung.

Beim Niederschreiben der Versuche haben wir die Stärke der Ninhydrinreaktion in dreifacher Weise ausgedrückt, durch Beschreibung, durch $+$ - oder $-$ -Zeichen und durch Zahlen. Wir glaubten, dadurch auch die feineren Nuancen der Färbung am besten veranschaulichen zu können.

Bei der Beurteilung der Reaktion haben wir zwischen 3 verschiedenen Ergebnissen unterschieden. Wenn das Serum eines tragenden Tieres mit Placenta eine positive Reaktion und das Serum allein eine negative Reaktion gab oder wenigstens ein deutlicher Unterschied in der Reaktion zwischen beiden bestand, wenn mithin die Reaktion im Sinne **Abderhaldens** ausfiel, so bezeichneten wir das Ergebnis als „rite“. Das gleiche gilt für die Fälle, in denen das Serum eines nicht tragenden Tieres mit Placenta und für sich allein keine Reaktion gab. Wenn dagegen ein tragendes Tier mit Placenta keine Reaktion gab und auch das Serum allein nicht reagierte, wenn mithin der Ausfall der Reaktion im Widerspruch zu der Lehre **Abderhaldens** stand, so bezeichneten

wir das Ergebnis als „paradox“. Ein „non liquet“ konstatierten wir in den Fällen, wo das Serum für sich allein schon eine Reaktion gab oder aus einem anderen Grunde ein Ergebnis sich nicht ablesen ließ.

Abkürzungen.

S = Serumprobe.	m = materna.	Leb = Leber.
SM = Serummenge.	Pl f + m = Placenta foetalis	Rd = Rind.
O = Organ.	im Zusammenhang	Pf = Pferd.
N = Ninhydrinlösung.	mit materna.	Schw = Schwein.
Pl = Placenta.	Tb = tuberkulöses Ge-	
f = foetalis.	webe.	

A. Versuche zur Feststellung der Schwangerschaft bzw. Tuberkulose bei Rindern.

Versuch 1.

8. April 1913.

S 1: Jungrd. CID des Instituts, nicht tragend. Blutentnahme am 8. April 1913.
 O: Plf + m Rd ca. 1 g.
 SM: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

Wert der Reaktion In Zahlen

S 1 + Pl: Schwach violetter Ton, bei künstlichem Lichte deutlicher	±	0,5
S 1: Farblos	—	—

Das Dialysat von Serum 1 und Placenta gibt eine Spur einer Ninhydrinreaktion. Dieselbe ist nicht stark genug, um als positiv bezeichnet zu werden.

Ergebnis: Rite.

Versuch 2.

15. April 1913.

S 2: Kuh, 4 Jahre alt, nicht tragend, Blutentnahme auf dem Schlachthofe am 15. April 1913 vormittags.
 S 3: Jungrd. CID des Instituts, Blutentnahme am 15. April 1913 vormittags.
 S 4: Färse, 2 Jahre alt, tragend im 3. bis 4. Monat, Blutentnahme auf dem Schlachthofe am 15. April 1913.
 O: Plf + m Rd; ca. 1 g.
 SM: Da bei Probe 2 bis zum Nachmittag sich nur wenig Serum abgesetzt hat, kann dasselbe nur in Mengen von 0,7—0,75 ccm Verwendung finden. Serum 3 und 4 wird in Mengen von 1,5 ccm verwandt.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

Wert der Reaktion In Zahlen

S 2 + Pl: Sehr schwach, violetter Ton	±	0,5
S 2: Farblos	—	—
S 3 + Pl: Schwach violett	+	2
S 3: Schwach violett	+	2
S 4 + Pl: Violett	++	4
S 4: Spur violett	±	0,5

Serum 2 + Placenta gibt im Dialysat eine Spur einer Ninhydrinreaktion, die jedoch nicht stark genug ist, um als positiv zu gelten.

Ergebnis: Rite.

Serum 3 enthält an sich dialysable Substanzen.

Ergebnis: Non liquet.

Serum 4 gibt mit Placenta im Dialysat eine deutliche Violett-färbung, Serum allein eine Spur Violett-färbung. Der deutliche Unterschied zwischen beiden berechtigt dazu, die Reaktion als positiv zu bezeichnen.

Ergebnis: Rite.

Versuch 3.
25. April 1913.

- S 5: Kuh Emma des Instituts, ca. 12 Jahre alt, hochtragend im 9. Monat, Blutentnahme am 25. April 1913.
S 6: Junggrd. CID des Instituts, Blutentnahme am 25. April 1913.
O: Plf + m Rd, ca. 1 g.
SM: 1,5 ccm.
N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 5 + Pl: Stark violett	+++	8
S 5: Schwach violett	+	1
S 6 + Pl: " "	+	3
S 6: Spur " "	±	0,5

Serum 5 der tragenden Kuh baut Placenta ab, enthält aber auch an sich schon dialysable Substanzen in geringer Menge.

Ergebnis: Rite.

Serum 6 (bereits zweimal untersucht) enthält an sich geringe Spuren dialysabler Substanzen, gibt aber in Verbindung mit Placenta diesmal eine stärkere Reaktion, die für einen Abbau spricht.

Ergebnis: Paradox.

Versuch 4.
6. Mai 1913.

- S 7: Kuh Emma; hat am 3. Mai 1915 gekalbt. Blutentnahme am 6. Mai 1913.
S 8: Färse vom Schlachthof, nicht tragend, Blutentnahme am 6. Mai 1913.
S 9: Desgleichen.
O: Plf + m, Rd, ca 1 g.
N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 7 + Plf + m: Deutlich violett	++	5
S 7 + Plf: Violett	++	5
S 7 + Plm: Spur violett	±	0,5
S 7: Farblos	—	—
S 8 + Plf + m: Spur violett	±	0,5
S 8: Farblos	—	—
S 9 + f + m: Spur violett	±	0,5
S 9: Farblos	—	—

Beim Zusammenbringen von Serum der Kuh Emma, welche vor drei Tagen gekalbt hat, mit Placenta foetalis im Zusammenhang mit Placenta materna tritt Abbau ein. Desgleichen bei Berührung mit Placenta foetalis; bei Einwirkung von Serum auf Placenta materna tritt nur eine Spur Violettfärbung ein. Das Serum der Kuh Emma ist an sich frei von dialysablen Substanzen.

Die Serumproben 8 und 9 von zwei nichttragenden Färsen geben mit Placenta (foetalis in Verbindung mit materna) die Spur einer Reaktion, die jedoch nicht stark genug ist, um als positiv zu gelten.

Ergebnis: Sowohl bei dem Serum der tragenden als auch der beiden nichttragenden Tiere rite. Der Versuch zeigt außerdem, daß für den Abbau lediglich Placenta foetalis, nicht aber Placenta materna in Betracht kommt.

Versuch 5.
10. Mai 1913.

- S 10: Kuh Emma, gekalbt am 3. Mai 1913, Blutentnahme am 10. Mai 1913.
S 11: Männliches Rd vom Schlachthof, Blutentnahme am 9. Mai 1913.
O: Pl f Rd, ca. 1 g.
SM: 1,5 ccm.
N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 10 + Pl: Stark violett	+++	10
S 10: Spur " "	±	0,5
S 11 + Pl: Schwach violett	+	1
S 11: Spur " "	±	0,5

34*

Serum von Kuh Emma baut Placenta foetalis ab; es enthält an sich nur Spuren dialysabler Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Serum 11 enthält an sich Spuren dialysabler Substanzen, gibt aber in Verbindung mit Placenta eine etwas stärkere Reaktion als allein.

Ergebnis: Non liquet.

Versuch 6.

12. Mai 1913.

S 12: Kuh Emma, gekalbt am 3. Mai 1913, Blutentnahme am 12. Mai 1913.

S 13: Serum eines nicht tragenden Rindes vom Schlachthof, Blutentnahme am 12. Mai 1913.

O: Pl f Rd, ca. 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Nynhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 12 + Pl: Schwach violett	+	2
S 12: Spur	±	0,5
S 13 + Pl: „ „	±	0,5
S 13: „ „	±	0,75

Serumprobe 12 der Kuh Emma, welche vor 9 Tagen gekalbt hat, baut Placenta foetalis noch schwach ab und enthält an sich Spuren dialysabler Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 13 enthält Spuren dialysabler Substanzen, die aber nur eine Reaktion geben, welche nicht als positiv bezeichnet werden kann.

Ergebnis: Rite.

Versuch 7.

15. Mai 1913.

Der Versuch bezweckt, das Verhalten des Serums nach mehrtägiger Aufbewahrung ohne Konservierungsmittel zu prüfen. Es werden zu diesem Zwecke die Serumproben 7, 10 und 12 nochmals angesetzt. Außerdem wird die frische Serumprobe 14, Kuh Emma, Blutentnahme am 15. Mai 1913 (12 Tage nach dem Kalben), sowie das Serum eines nicht tragenden Rindes vom Schlachthofe (Serumprobe 15) verwandt.

SM: 1,5 ccm.

O: ca. 1 g.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 7 + Pl: Violett	++	5
S 7: Farblos	—	—
S 10 + Pl: Schwach violett	+	2
S 10: Spur „	±	0,5
S 12 + Pl: Violett	++	4
S 12: Spur violett	±	0,5
S 14 + Pl: Violett	++	7
S 14: Spur violett	±	0,5
S 15 + Pl: Stark „	+++	8
S 15: Schwach violett	+	1
Pl: Farblos	—	—

Die Serumprobe 7 der Kuh Emma baut nach 9-tägiger Aufbewahrung ebenso ab wie in frischem Zustande und ist an sich frei von dialysablen Stoffen.

Die Serumprobe 10 derselben Kuh baut nach 5-tägigem Aufbewahren erheblich schwächer ab als in frischem Zustande und enthält ebenso wie in frischem Zustande an sich Spuren dialysabler Stoffe.

Die Serumprobe 12 derselben Kuh gibt nach 3-tägigem Aufbewahren mit Placenta eine etwas stärkere Reaktion als in frischem Zustande. Eine Gesetzmäßigkeit läßt sich aus diesen Beobachtungen nicht entnehmen.

Die 12 Tage nach dem Kalben entnommene frische Serumprobe 14 der Kuh Emma baut Placenta deutlich ab und enthält an sich nur Spuren dialysabler Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Die Serumprobe 15 eines nicht tragenden Rindes zeigt eine sehr starke Reaktion, welche für Abbau spricht. Das Serum enthält an sich geringe Mengen dialysabler Substanzen.

Ergebnis: Paradox.

Placentagewebe allein gibt auch nicht eine Spur dialysabler Eiweißstoffe ab.

Versuch 8.

22. Mai 1913.

S 16: Kuh Emma, gekalbt am 3. Mai 1913, Blutentnahme am 22. Mai 1913.

S 17: Kuh, tragend, vom Schlachthof, Blutentnahme am 22. Mai 1913.

S 18: Kuh, nicht tragend, vom Schlachthof, Blutentnahme am 22. Mai 1913.

S 19: Dgl.

S 20: Dgl.

S 21: Dgl.

O: Pl f Rd, Pl f Schw, 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen	
S 16 + Pl f Rd:	Schwach violett	++	3
S 16:	Farblos	—	—
S 17 + Pl f Rd:	"	—	—
S 17 + Pl f Schw:	Sehr schwach violett	+	1
S 17:	Farblos	—	—
S 18 + Pl f Rd:	"	—	—
S 18:	"	—	—
S 19 + Pl f Rd:	"	—	—
S 19 + Pl f Schw:	Sehr schwach violett	+	1
S 19:	Farblos	—	—
S 20 + Pl f Rd:	"	—	—
S 20:	"	—	—
S 21 + Pl f Rd:	Schwach violett	+	2
S 21:	Farblos	—	—
Pl f Rd:	"	—	—
Pl f Schw:	"	—	—

Serumprobe 16 der Kuh Emma, welche vor nahezu 3 Wochen gekalbt hat, baut das Placentagewebe schwach ab und ist an sich frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 17 einer tragenden Kuh gibt mit Placenta foetalis vom Rind gar keine Reaktion, dagegen mit Placenta foetalis vom Schwein eine ganz schwache Reaktion, während es an sich frei von dialysablen Substanzen ist.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 18 eines nicht tragenden Rindes gibt keine Reaktion.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 19 eines nicht tragenden Rindes gibt mit Placenta foetalis vom Rind sowie allein keine Reaktion, dagegen tritt in Verbindung mit Placenta foetalis vom Schwein eine ganz schwache Reaktion auf.

Ergebnis: Rite bzw. paradox.

Serumprobe 20 eines nicht tragenden Tieres gibt keine Reaktion.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 21 eines nicht tragenden Rindes gibt mit Placenta foetalis vom Rind eine schwache, aber deutliche Reaktion, welche für Abbau spricht. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Die beiden Kontrollen, bei denen Gewebe allein dem Vorgange der Dialyse ausgesetzt gewesen ist, geben auch nicht die Spur einer Reaktion, was die einwandfreie Beschaffenheit der verwendeten Gewebe beweist.

Versuch 9.

27. Mai 1913.

S 22: Kuh Emma, gekalbt am 3. Mai 1913, Blutentnahme am 27. Mai 1913.

S 23: Kuh, tragend im 8. Monat, Blutentnahme Dr. Breidenbach 26. Mai 1913.

S 24: Kalb vom Schlachthof, Blutentnahme am 27. Mai 1913.

O: Pl f Rd, 1 g.

SM: 1 ccm (das Gewebe wird in diesem und in den folgenden Versuchen genau abgewogen).

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 22 + Pl f Rd: Farblos	—	—
S 22 + Pl f Schw: "	—	—
S 22:	—	—
S 23 + Pl f Rd: "	—	—
S 23 + Pl f Schw: "	—	—
S 23:	—	—
S 24 + Pl f Rd: "	—	—
S 24 + Pl f Schw: "	—	—
S 24:	—	—
Pl f Rd: "	—	—
Pl f Schw: "	—	—

Nirgends ist eine Reaktion aufgetreten. Dieses Ergebnis würde bei Serumprobe 23 als paradox zu bezeichnen sein, wenn man nicht zur Erklärung den Umstand heranziehen will, daß die Serummenge von 1 ccm vielleicht zu gering gewesen ist, um den Abbau in Erscheinung treten zu lassen.

Das Ergebnis ist mithin für alle 3 Sera ein non liquet.

Versuch 10.

28. Mai 1913.

- S 25: Kuh Emma, gekalbt am 3. Mai 1913, Blutentnahme am 28. Mai 1913.
 S 26: Kuh, gedeckt am 15. Febr. 1913, Blutentnahme am 27. Mai 1913 durch Dr. Breidenbach.
 S 27: Kuh, gedeckt am 5. Jan. 1913, Blutentnahme am 27. Mai 1913 durch Dr. Breidenbach.
 S 28: Kuh, gedeckt am 27. Nov. 1912, Blutentnahme am 27. Mai 1913 durch Dr. Breidenbach.
 O: Pl f Rd, je 1 g.
 SM: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 1-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 25 + Pl: Farblos	—	—
S 25:	—	—
S 26 + Pl: "	—	—
S 26:	—	—
S 27 + Pl: "	—	—
S 27:	—	—
S 28 + Pl: "	—	—
S 28:	—	—

Keines der Sera gibt eine Reaktion. Da die Sera 26—28 von tragenden Tieren stammen, muß das Ergebnis dieses Versuches als paradox bezeichnet werden; denn es ist anzunehmen, daß die Kühe, von denen die Serumproben 26—28 stammten, mit Erfolg gedeckt worden sind.

Versuch 11.

31. Mai 1913.

- S 29: Kuh Emma, gekalbt am 3. Mai 1913, Blutentnahme am 31. Mai 1913.
 S 30: Kuh, tragend im 6.—8. Monat, Blutentnahme am 31. Mai 1913.
 S 31: Kuh, gedeckt am 5. Jan. 1913, Blutentnahme durch Dr. Breidenbach am 30. Mai 1913.
 O: Die in den früheren Versuchen verwandte Pl 8 und eine neu hergerichtete Pl f Rd II, 1 g.
 SM: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 29 + Pl I: Farblos	—	—
S 29 + Pl II: "	—	—

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 29:	Farblos	—
S 30 + Pl I:	"	—
S 30 + Pl II:	"	—
S 30:	"	—
S 31 + Pl I:	"	—
S 31 + Pl II:	"	—
S 31:	"	—
Pl I:	"	—
Pl II:	"	—

Keines der Sera gibt eine Reaktion. Das Ergebnis muß bei den Serumproben 30 und 31, welche von tragenden Tieren stammen, als paradox bezeichnet werden.

Versuch 12.
5. Juni 1913.

- S 32: Kuh, nicht tragend, mit Lungentuberkulose behaftet. Blutentnahme am 5. Juni 1913.
S 33: Dgl.
S 34: Kuh, nicht tragend, mit Serosen-, Lungentuberkulose und Tuberkulose eines unteren Halslymphknotens behaftet. Blutentnahme am 5. Juni 1913.
S 35: Kuh, nicht tragend und nicht tuberkulös. Blutentnahme am 5. Juni 1913.
O: Pl f Rd bzw. tuberkulöses Gewebe, je 1 g.
SM: 1,5 ccm.
N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 32 + Pl:	Violett	++
S 32 + tb Gewebe:	"	++
S 32:	Farblos	—
S 33 + Pl:	Stark violett	+++
S 33 + tb Gewebe: (Röhrchen zerschlagen)		8
S 33:	Farblos	—
S 34 + Pl:	"	—
S 34 + tb Gewebe:	"	—
S 34:	"	—
S 35 + Pl:	"	—
S 35 + tb Gewebe:	Stark violett	+++
S 35:	Farblos	—
Pl:	"	—
Tb Gewebe:	"	—

Die Serumprobe 32 der nicht tragenden Kuh mit Lungentuberkulose baut sowohl Placenta als auch tuberkulöses Gewebe ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen. Dies würde nach Abderhalden dafür sprechen, daß infolge des tuberkulösen Prozesses in der Lunge Fermente im Blut entstanden sind, welche nicht nur das tuberkulöse Gewebe, sondern auch Placenta und vielleicht noch anderes Gewebe abbauen.

Das Ergebnis muß hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose als paradox bezeichnet werden.

Die Serumprobe 33 einer nicht tragenden Kuh mit Lungentuberkulose baut das Placentagewebe ab. (Das mit tuberkulösem Gewebe ausgesetzte Versuchsröhrchen ist zerschlagen worden.) Das Serum an sich enthält keine dialysablen Stoffe.

Ergebnis: Wie bei 32 paradox.

Die Serumprobe 34 einer nicht tragenden Kuh mit Serosentuberkulose und Tuberkulose eines unteren Halslymphknotens (Fleischlymphknotens) gibt bei keinem Gewebe eine Reaktion.

Ergebnis: Hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose rite, hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose paradox.

Serum 35 einer nicht tragenden und nicht tuberkulösen Kuh baut tuberkulöses Gewebe stark ab.

Ergebnis: Paradox, Schwangerschaftsdiagnose rite.

Versuch 13.

6. Juni 1913.

In diesem Versuch wurden zunächst die beiden Serumproben 32 und 33 nochmals geprüft. Außerdem wurden verwendet

S 36: Nicht tragende, nicht tuberkulöse Rinder vom

S 37: Schlachthof, Blutentnahme am 5. Juni 1913.

O: Pl f Rd + tb Gewebe.

NM: 1,5 g.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	0,2	0,4	Wert der Reaktion		In Zahlen	
			0,2	0,4	0,2	0,4
N:						
S 32 + Pl:	Violett	Stark violett	+	+++	1	10
S 32 + tb Gewebe:	"	" "	++	++++	4	12
S 32:	Farblos	Violett	—	+	—	3
S 33 + Pl:	Schwach violett	Stark violett	+	+++	2	10
S 33 + tb Gewebe:	Stark violett	Sehr stark violett	+++	++++	8	16
S 33:	Schwach	Stark violett	+	+++	1	10

	0,4 ccm	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 36 + Pl:	Stark violett	+++	10
S 36 + tb Gewebe:	" "	++++	12
S 36:	Violett	+	3
S 37 + Pl:	Stark violett	+++	8
S 37 + tb Gewebe:	Sehr stark violett	++++	14
S 37:	Schwach violett	+	2
Pl:	Farblos	—	—
Tb Gewebe:	"	—	—

Bei Anwendung der doppelten Ninhydrinmengen (verstärkte Ninhydrinprobe nach Abderhalden) tritt bei der Serumprobe 32 einer nicht tragenden Kuh mit Lungentuberkulose starker Abbau der Placenta und des tuberkulösen Gewebes in Erscheinung. Das Serum enthält an sich geringe Mengen dialysabler Substanzen.

Das Ergebnis entspricht dem des vorigen Versuches.

Bei der Serumprobe 33 einer nicht tragenden Kuh mit Lungentuberkulose tritt sowohl bei Serum mit Gewebe als auch bei Serum allein eine starke Reaktion ein.

Ergebnis: Non liquet.

Serumprobe 36 und 37 nicht tragender und nicht tuberkulöser Rinder bauen Placenta und tuberkulöses Gewebe ab und enthalten an sich geringe Mengen dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Paradox.

Die Organe sind, wie die Kontrollen zeigen, an sich frei von dialysablen Stoffen.

Versuch 14.

9. Juni 1913.

S 38: Kuh, nicht tragend, Tuberkulose der Lungen und Gekröslymphknoten, Blutentnahme auf dem Schlachthof am 9. Juni 1913.

S 39: Kuh, nicht tragend, nicht tuberkulös, Blutentnahme auf dem Schlachthof am 9. Juni 1913.

S 40: Dgl.

S 41: Kuh, tragend im 3.—4. Monat, Tuberkulose der Lunge und Leber, Blutentnahme auf dem Schlachthof am 9. Juni 1913.

O: Pl f + tb Gewebe, je 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,4 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

		Wert der Reaktion	In Zahlen
S 38 + Pl:	Violett	++	6
S 38 + tb Gewebe:	"	++	6
S 38:	Farblos	—	—
S 39 + Pl:	Schwach violett	+	2
S 39 + tb Gewebe:	Violett	++	5

		Wert der Reaktion	In Zahlen
S 39:	Sehr schwach violett	+	1
S 40 + Pl:	" " "	+	1
S 40 + tb Gewebe:	Violett	++	5
S 40:	Farblos	—	—
S 41 + Pl:	Violett	+	3
S 41 + tb Gewebe:	Stark violett	+++	8
S 41:	Farblos	—	—
Pl:	"	—	—
Tb Gewebe:	"	—	—

Serumprobe 38 der nicht tragenden Kuh mit Lungen- und Gekrös-lymphknotentuberkulose baut Placenta und tuberkulöses Gewebe ab. Das Serum enthält mithin nicht spezifische Fermente.

Ergebnis: Hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose paradox. Das Serum 39 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Tieres baut tuberkulöses Gewebe ab, gibt auch mit Placenta eine schwache Reaktion und enthält an sich dialysable Substanzen in sehr geringer Menge. Der Unterschied in dem mit Serum und Placenta und Serum allein beschickten Versuchsröhren ist so gering, daß man das Ergebnis hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose als non liquet bezeichnen könnte. Hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose ist das Ergebnis paradox.

Die Serumprobe 40 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Tieres baut tuberkulöses Gewebe ab, gibt mit Placenta eine nur sehr schwache Reaktion und ist an sich frei an dialysablen Stoffen.

Das Ergebnis kann hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose als rite bezeichnet werden, hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose als paradox.

Serum 41 einer tragenden und tuberkulösen Kuh baut Placenta und in noch stärkerem Grade tuberkulöses Gewebe ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Rite.

Die Gewebe an sich enthalten keine dialysablen Stoffe, wie die Kontrollen zeigen.

Versuch 15.

18. Juni 1913.

S 42: Kuh Emma, nicht tragend, Blutentnahme am 17. Juni 1913.

S 43: Kuh, gedeckt am 16. Dez. 1912, Blutentnahme am 17. Juni 1913 durch Dr. Breidenbach.

S 44: Kuh, gedeckt am 26. Okt. 1912, Blutentnahme am 17. Juni 1913 durch Dr. Breidenbach.

S 45: Kuh, gedeckt am 6. Febr. 1913, Blutentnahme am 17. Juni 1913 durch Dr. Breidenbach.

O: Pl f Rd, 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,4 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 42 + Pl: Stark violett	+++	10
S 42: Schwach violett	+	1
S 43 + Pl: Sehr stark violett	++++	15
S 43: Schwach violett	+	2
S 44 + Pl: Stark violett	+++	10
S 44: Schwach violett	+	1
S 45 + Pl: Violett	++	7
S 45:	+	4
Pl: Farblos	—	—

Serumprobe 42 der nicht tragenden Kuh Emma baut Placenta ab und enthält an sich Spuren dialysabler Substanzen.

Ergebnis: Paradox. Die nach dem Kalben nicht mehr gedeckte Versuchskuh des Instituts täuscht mithin Schwangerschaft vor.

Die Serumproben 43 und 44 zweier tragender Kühe bauen Placenta ab und enthalten an sich Spuren dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 45 einer tragenden Kuh baut Placenta ab, enthält aber auch an sich schon dialysable Stoffe.

Ergebnis: Non liquet.

Versuch 16.

19. Juni 1913.

- S 46: Nicht tragendes Rind (auf Tuberkulose nicht untersucht).
 S 47: Dgl.
 S 48: Nicht tragendes Rind (auf Tuberkulose nicht untersucht).
 S 49: Dgl.
 S 50: Nicht tragendes und nicht tuberkulöses Rind.
 S 51: Dgl.
 S 52: Kuh, nicht tragend, mit Tuberkulose der Lunge und Gekröslymphknoten sowie einem Leberabszeß behaftet.
 S 53: Kuh, tragend (auf Tuberkulose nicht untersucht). Blutentnahme bei allen Tieren am 19. Juni 1913.
 O: Pl f Rd + tb Gewebe.
 S M: 1,5 ccm.
 N: 0,3 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

		Wert der Reaktion	In Zahlen
S 46 + Pl:	Stark violett	+++	8
S 46:	Schwach violett	+	1
S 47 + Pl:	" "	+	1
S 47:	" "	+	1
S 48 + Pl:	Stark violett	+++	8
S 48:	Violett	+	3
S 49 + Pl:	" "	++	5
S 49:	" "	+	3
S 50 + Pl:	" "	++	7
S 50 + tb Gewebe:	" "	++	5
S 50:	Schwach violett	+	1
S 51 + Pl:	Violett	++	6
S 51 + tb Gewebe:	" "	++	7
S 51:	Farblos	—	—
S 52 + Pl:	Stark violett	+++	8
S 52 + tb Gewebe:	Violett	+	3
S 52:	Farblos	—	—
S 53 + Pl:	Stark violett	+++	10
S 53 + tb Gewebe:	" "	+++	10
S 53:	Schwach violett	+	1
Pl:	Farblos	—	—
Tb Gewebe:	" "	—	—

Serumprobe 46 eines nicht tragenden Rindes baut Placenta ab und enthält an sich Spuren dialysabler Substanzen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 47 eines nicht tragenden Tieres baut nicht ab und enthält an sich Spuren von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 48 eines nicht tragenden Tieres baut Placenta ab. Zwar enthält das Serum an sich schon dialysable Stoffe, doch ist der Unterschied in der Reaktion bei Serum + Placenta und Serum allein so groß, daß die Reaktion als positiv bezeichnet werden muß.

Ergebnis: Paradox.

Für Serumprobe 49 eines nicht tragenden Tieres gilt dasselbe.

Serumprobe 50 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Tieres baut Placenta und tuberkulöses Gewebe ab und enthält an sich Spuren von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serum 51 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Rindes baut Placenta und tuberkulöses Gewebe ab und ist an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serum 52 einer nicht tragenden Kuh mit Lungen- und Gekröslymphknotentuberkulose und einem Leberabszeß baut Placenta stark und tuberkulöses Gewebe schwach ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose paradox.

Serum 53 eines tragenden Rindes baut Placenta und tuberkulöses Gewebe ab. Es enthält an sich nur Spuren dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Rite. Da das Tier auf Tuberkulose nicht untersucht war, läßt sich die Reaktion mit tuberkulösem Gewebe nicht beurteilen.

Versuch 17.

23. Juni 1913.

S 54: Kuh, nicht tragend, nicht tuberkulös.	} Blutentnahme im Schlachthof am 23. Juni 1913
S 55: Dgl.	
S 56: Kuh, nicht tragend, Lungentuberkulose.	
S 57: Dgl.	
O: Pl f + Pl m Rd, tb Gewebe, je 1 g.	
SM: 1,5 ccm.	
N: 0,2 ccm.	

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 54 + Pl f: Stark violett	+++	10
S 54 + Pl m: " "	+++	8
S 54 + tb Gewebe: Violett	+	3
S 54: Farblos	—	—
S 55 + Pl f: Stark violett	+++	10
S 55 + Pl m: " "	+++	10
S 55 + tb Gewebe: Violett	+	4
S 55: Farblos	—	—
S 56 + Pl f: Stark violett	+++	7
S 56 + Pl m: " "	+++	8
S 56 + tb Gewebe: Schwach violett	+	2
S 56: Farblos	—	—
S 57 + Pl f: Stark violett	+++	10
S 57 + Pl m: Violett	+	3
S 57 + tb Gewebe: " "	+	4
S 57: Farblos	—	—
Pl f: " "	—	—
Pl m: " "	—	—
Tb Gewebe: " "	—	—

Serumproben 54 und 55 zweier nicht tragender Kühe ohne Tuberkulose bauen Placenta foetalis und materna stark, tuberkulöses Gewebe schwach ab. Die Sera allein enthalten keine dialysablen Stoffe.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 56 eines nicht tragenden Rindes mit Lungentuberkulose baut Placenta foetalis und materna stark, tuberkulöses Gewebe schwach ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 57 eines nicht tragenden Tieres mit Lungentuberkulose baut Placenta foetalis stark, Placenta materna und tuberkulöses Gewebe schwach ab. Das Serum allein ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Versuch 18.

25. Juni 1913.

S 58: Kuh, tragend im 6. Monat.	} Blutentnahme durch Dr. Breidenbach am 23. bzw. 24. Juni 1913
S 59: " " " 3. "	
S 60: " " " 3. "	
S 61: " " " 7. "	
S 62: " " " 5. "	
S 63: " " " 9. "	} Blutentnahme auf dem Schlachthof am 25. Juni 1913
S 64: " " mit Lungentuberkulose.	
S 65: " " nicht tuberkulös.	
S 66: Rind, nicht tragend (nähere Angaben fehlen).	
S 67: Rind, nicht tragend, Lunge, Leber und unterer Halslymphknoten tuberkulös.	
S 68: Rind, nicht tragend, Lunge tuberkulös.	
S 69: " " " nicht " "	
S 70: " " " " " "	
S 71: " " " " " "	
S 72: " " " " " "	
O: Pl f Rd, am 25. Juni frisch bereitet, Pl m + tb Gewebe, je 1 g.	

S M: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Die Dauer der Dialyse bei Brutttemperatur betrug bei diesem Versuche nur 13 Stunden im Gegensatz zu den früheren Versuchen, bei denen eine Zeit von 14 bis 16 Stunden gewählt worden war.

Ninhydrinreaktion nach 13-stündiger Dialyse.

		Wert der Reaktion	In Zahlen
S 58 + Pl f:	Violett	+	3
S 58:	Farblos	—	—
S 59 + Pl f:	"	—	—
S 59:	"	—	—
S 60 + Pl f:	"	—	—
S 60:	Schwach violett	+	1
S 61 + Pl f:	Farblos	—	—
S 61:	"	—	—
S 62 + Pl f:	Violett	++	5
S 62:	Farblos	—	—
S 63 + Pl f:	Violett	+	3
S 63:	Farblos	—	—
S 64 + Pl f:	Schwach violett	+	1
S 64 + tb Gewebe:	Violett	+	3
S 64:	Schwach violett	+	1
S 65 + Pl f:	Farblos	—	—
S 65 + Pl m:	Violett	+	3
S 65 + tb Gewebe:	"	+	2
S 65:	Schwach violett	+	1
S 66 + Pl f:	Farblos	—	—
S 66 + tb Gewebe:	Schwach violett	+	1
S 66:	Farblos	—	—
S 67 + Pl f:	Schwach violett	+	1
S 67 + tb Gewebe:	Stark violett	+++	9
S 67:	Schwach violett	+	1
S 68 + tb Gewebe:	Violett	++	5
S 68:	Schwach violett	+	1
S 69 + Pl f:	Farblos	—	—
S 69:	"	—	—
S 70 + Pl f:	Violett	++	5
S 70:	Farblos	—	—
S 71 + Pl f:	Violett	++	4
S 71:	Farblos	—	—
S 72 + Pl f:	Violett	+	3
S 72:	Farblos	—	—

Serumprobe 58 eines im 6. Monat tragenden Rindes baut Placenta schwach ab. Das Serum ist an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 59 einer im 3. Monat tragenden Kuh gibt keine Reaktion.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 60 einer im 3. Monat tragenden Kuh gibt mit Placenta keine, dagegen allein eine schwache Reaktion.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 61 einer im 7. Monat tragenden Kuh gibt keine Reaktion.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 62 einer im 5. Monat tragenden Kuh baut Placenta-gewebe ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 63 einer im 9. Monat tragenden Kuh baut Placenta-gewebe schwach ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 64 eines tragenden Rindes mit Lungentuberkulose baut tuberkulöses Gewebe schwach ab, Placenta dagegen nicht. Das Serum an sich enthält Spuren dialysabler Substanzen.

Ergebnis: Hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose paradox, hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose rite.

Serumprobe 65 eines tragenden, nicht tuberkulösen Rindes baut Placenta foetalis nicht ab, dagegen schwach Placenta materna und tuberkulöses Gewebe. Das Serum an sich enthält Spuren dialysabler Substanzen.

Ergebnis: Mit Placenta foetalis paradox.

Serumprobe 66 eines nicht tragenden Rindes baut tuberkulöses Gewebe ganz schwach ab, Placenta dagegen nicht. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 67 eines nicht tragenden Rindes mit Lungen-, Leber- und Halslymphknotentuberkulose baut tuberkulöses Gewebe stark ab, Placenta dagegen nicht. Das Serum enthält an sich Spuren dialysabler Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 68 eines nicht tragenden Rindes mit Lungentuberkulose baut tuberkulöses Gewebe ab. Das Serum enthält an sich Spuren dialysabler Substanzen.

Ergebnis: Rite.

(Mit Placentagewebe wurde das Serum wegen Materialmangels nicht angesetzt.)

Serumprobe 69 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Rindes gibt keine Reaktion.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 70 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Rindes baut Placenta ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 71 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Tieres baut Placenta ab. Das Serum allein ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 72 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Tieres baut Placenta schwach ab. Das Serum ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Versuch 19.

27. Juni 1913.

In diesem Versuch werden die Serumproben 66, 67, 68, 70 und 71 des vorigen Versuches nochmals angesetzt. Außerdem gelangen zur Untersuchung:

S 73: Kuh, gedeckt am 13. Dezember 1912, Blutentnahme am 26. Juni 1913 durch Dr. Breidenbach.

S 74: Kuh, gedeckt am 14. Februar 1913, Blutentnahme am 26. Juni 1913 durch Dr. Breidenbach.

O: Pl f Rd, Pl f Schw, tb Gewebe, je 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 66 + Pl f Rd: Schwach violett	+	2
S 66 + Pl f Schw: Farblos	—	—
S 66 + tb Gewebe: Violett	++	5
S 66: Farblos	—	—
S 67 + Pl f Rd: Schwach violett	+	2
S 67 + Pl f Schw: " "	+	2
S 67 + tb Gewebe: Violett	++	6
S 67: Farblos	—	—
S 68 + Pl f Rd: Schwach violett	+	1
S 68 + Pl f Schw: " "	+	2
S 68 + tb Gewebe: Violett	+	3
S 68: Farblos	—	—
S 70 + Pl f Rd: Schwach violett	+	1
S 70 + Pl f Schw: Farblos	—	—
S 70 + tb Gewebe: Violett	+	3
S 70: Farblos	—	—
S 71 + Pl f Rd: Violett	+	4
S 71 + Pl f Schw: " "	+	3
S 71 + tb Gewebe: Farblos	—	—
S 71: " "	—	—
S 73 + Pl f Rd: " "	—	—

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 73:	—	—
S 74 + Pl f Rd:	Schwach violett	2
S 74:	Farblos	—
Pl f Rd:	—	—
Pl f Schw:	—	—
Tb Gewebe:	—	—

Serumprobe 66 eines nicht tragenden Rindes, vor 2 Tagen entnommen, baut im Gegensatz zum vorigen Versuch tuberkulöses Gewebe deutlicher ab. Placenta foetalis vom Rind nur ganz schwach, Placenta foetalis vom Schwein gar nicht. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Wenn man die ganz schwache Reaktion mit Placenta foetalis Rind unberücksichtigt läßt, rite.

Serumprobe 67 eines nicht tragenden Rindes mit Lungen-, Leber- und Lymphknotentuberkulose, vor 2 Tagen entnommen, baut tuberkulöses Gewebe deutlich, Placenta foetalis vom Rind und Schwein nur ganz schwach ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Tuberkulose rite, Schwangerschaft paradox.

Serumprobe 68 eines nicht tragenden Rindes mit Lungentuberkulose, vor 2 Tagen entnommen, baut tuberkulöses Gewebe schwach ab. Ein geringer Abbau tritt auch bei Placenta foetalis vom Schwein und Spuren einer Reaktion bei Placenta foetalis vom Rind in Erscheinung. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Hinsichtlich der Tuberkulose rite, der Schwangerschaft paradox, wenn man den geringen Unterschied in der Stärke des Abbaues des tuberkulösen Gewebes und der anderen Gewebe unberücksichtigt lassen will.

Serumprobe 70 eines nicht tragenden, nicht tuberkulösen Rindes, vor 2 Tagen entnommen, gibt mit tuberkulösem Gewebe eine schwache, und mit Placenta foetalis eine sehr schwache Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 71 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Rindes, vor 2 Tagen entnommen, baut Placenta foetalis vom Rind und vom Schwein ab, tuberkulöses Gewebe dagegen nicht, auch ist das Serum an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox in bezug auf die Schwangerschaftsdiagnose.

Serumprobe 73 eines im 7. Monat tragenden Rindes, am Tage vorher entnommen, gibt mit Placenta foetalis vom Rind, ebenso wie allein, keine Reaktion.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 74 eines im 5. Monat tragenden Rindes, am Tage vorher entnommen, baut Placenta foetalis ganz schwach ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Wenn man die schwache Reaktion als positiv gelten lassen will, rite

Versuch 20.

1. Juli 1913.

S 75:	Rind, tragend, nicht tuberkulös.	} Blutentnahme Schlachthof am 30. Juni 1913.
S 76:	Rind tragend, nicht tuberkulös	
S 77:	" " mit Lungentuberkulose	
S 78:	" " nicht tragend mit Lungentuberkulose	
S 79:	" " " " " "	
S 80:	" " " nicht tuberkulös	
S 81:	" " " " " "	
S 82:	" " " " " "	
S 83:	" " " " " "	
O:	Pl f Rd + tb Gewebe, je 1 g	
SM:	1,5 ccm	
N:	0,2 ccm	

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

		Wert der Reaktion	In Zahlen
S 75 + Pl:	Sehr schwach violett	+	1
S 75 + tb Gewebe:	Stark violett	+++	9
S 75:	Farblos	—	—
S 76 + Pl:	Sehr schwach violett	+	1
S 76 + tb Gewebe:	Stark violett	+++	9
S 76:	Farblos	—	—
S 77 + Pl:	Stark violett	+++	8
S 77 + tb Gewebe:	" "	+++	8
S 77:	Farblos	—	—
S 78 + Pl:	" "	—	—
S 78 + tb Gewebe:	Stark violett	+++	9
S 78:	Farblos	—	—
S 79 + Pl:	" "	—	—
S 79 + tb Gewebe:	Violett	++	6
S 79:	Spur violett	+	1
S 80 + Pl:	Farblos	—	—
S 80 + tb Gewebe:	Stark violett	+++	9
S 80:	Farblos	—	—
S 81 Pl	" "	—	—
S 81 + tb Gewebe:	Violett	+	3
S 81:	Farblos	—	—
S 82 + Pl:	Sehr schwach violett	+	1
S 82 + tb Gewebe:	Stark violett	+++	10
S 82:	Farblos	—	—
S 83 + Pl:	Violett	+	4
S 83 + tb Gewebe:	Stark violett	+++	10
S 83:	Spur violett	+	1
Pl f:	Farblos	—	—
Tb Gewebe:	" "	—	—

Serumprobe 75 eines tragenden, nicht tuberkulösen Rindes gibt mit Placenta eine äußerst schwache, mit tuberkulösem Gewebe eine sehr starke Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox, zum mindesten für die Tuberkulose.

Serumprobe 76 eines tragenden, nicht tuberkulösen Rindes verhält sich ebenso.

Ergebnis: Paradox, mit derselben Einschränkung wie oben.

Serumprobe 77 eines tragenden Rindes mit Lungentuberkulose baut Placenta und tuberkulöses Gewebe stark ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 78 eines nicht tragenden Rindes mit Lungentuberkulose baut Placenta nicht ab, dagegen tuberkulöses Gewebe stark. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 79 eines nicht tragenden Rindes mit Lungentuberkulose baut Placenta nicht ab, tuberkulöses Gewebe dagegen deutlich. Das Serum enthält an sich Spuren dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 80 eines nicht tragenden, nicht tuberkulösen Tieres gibt mit tuberkulösem Gewebe eine starke Reaktion, mit Placenta nicht, auch ist das Serum an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose paradox.

Serumprobe 81 eines tragenden, nicht tuberkulösen Rindes gibt mit tuberkulösem Gewebe eine schwache Reaktion.

Ergebnis: Tuberkulose paradox, Schwangerschaft rite.

Serumprobe 82 eines nicht tragenden, nicht tuberkulösen Rindes gibt mit tuberkulösem Gewebe eine sehr starke, mit Placenta nur Spuren einer Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose paradox.

Serumprobe 83 eines nicht tragenden, nicht tuberkulösen Rindes gibt mit tuberkulösem Gewebe eine sehr starke, mit Placentagewebe eine erheblich schwächere, aber doch deutliche Reaktion und enthält an sich Spuren dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Paradox.

Versuch 21.

4. Juli 1913.

S 84:	Rind, nicht tragend, mit Lungen- und Brustfelltuberkulose.	} Blutentnahme auf dem Schlachthofe am 3. Juli 1913.
S 85:	" " " " " " Darmlymphknotentuberkulose.	
S 86:	" " " nicht tuberkulös.	
S 87:	" " " " "	
S 88:	" " " " "	
S 89:	" " " " "	
S 90:	" " " " "	
S 91:	" " " " "	

O: Die in früheren Versuchen verwendete Pl f (Pl II) und eine frisch bereitete Pl f (Pl III), sowie tuberkulöses Gewebe und Lebergewebe vom Rd, frisch bereitet, je 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

		Wert der Reaktion	In Zahlen
S 84 + Pl II:	Sehr schwach violett	+	1
S 84 + Pl III:	" " "	+	1
S 84 + tb Gew:	Violett	+	4
S 84 + Leb Gew:	Sehr schwach violett	+	1
S 84:	" " "	+	1
S 85 + Pl II:	Farblos	—	—
S 85 + Pl III:	Sehr schwach violett	+	1
S 85 + tb Gew:	Deutlich violett	++	7
S 85 + Leb Gew:	Sehr schwach violett	+	1
S 85:	" " "	+	1
S 86 + Pl II:	Farblos	—	—
S 86 + Pl III:	Violett	+	3
S 86:	Farblos	—	—
S 87 + Pl II:	Sehr schwach violett	+	1
S 87 + Pl III:	" " "	+	1
S 87 + tb Gew:	Stark violett	+++	10
S 87 + Leb Gew:	Violett	+	4
S 87:	Sehr schwach violett	+	1
S 88 + Pl II:	Violett	+	4
S 88 + Pl III:	Farblos	—	—
S 88 + tb Gew:	Violett	++	5
S 88 + Leb Gew:	Sehr schwach violett	+	1
S 88:	Farblos	—	—
S 89 + Pl II:	Violett	++	6
S 89 + Pl III:	Farblos	—	—
S 89 + tb Gew:	Violett	++	7
S 89 + Leb Gew:	Sehr schwach violett	+	1
S 89:	" " "	+	1
S 90 + Pl II:	Farblos	—	—
S 90 + Pl III:	" " "	—	—
S 90 + tb Gew:	Violett	+	3
S 90 + Leb Gew:	Farblos	—	—
S 90:	" " "	—	—
S 91 + Pl II:	Stark violett	+++	8
S 91 + Pl III:	Sehr schwach violett	+	1
S 91 + tb Gew:	Violett	+	4
S 91 + Leb Gew:	Sehr schwach violett	+	1
S 91:	Farblos	—	—

Serumprobe 84 eines nicht tragenden Tieres mit Lungen- und Brustfelltuberkulose baut Placentagewebe nicht ab, tuberkulöses Gewebe mittelgradig. Das Serum enthält an sich Spuren dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 85 eines nicht tragenden Rindes mit Lungen- und Darmlymphknotentuberkulose baut tuberkulöses Gewebe ab, andere Gewebe nicht. Das Serum enthält an sich Spuren dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 86 eines nicht tragenden, nicht tuberkulösen Rindes baut die frisch bereitete Placenta (III) schwach ab, die bereits längere Zeit aufbewahrte Placenta (II) nicht. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 87 eines nicht tragenden, nicht tuberkulösen Rindes baut tuberkulöses Gewebe stark, Lebergewebe etwas schwächer, aber immerhin deutlich ab und enthält an sich Spuren dialysabler Substanzen.

Ergebnis: Hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose rite, hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose paradox.

Serumprobe 88 eines nicht tragenden, nicht tuberkulösen Rindes baut die bereits längere Zeit aufbewahrte Placenta sowie das tuberkulöse Gewebe deutlich ab. Mit Lebergewebe gibt sie die Spur einer Reaktion, mit der frisch zubereiteten Placenta und allein dagegen keine Reaktion.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 89 eines nicht tragenden, nicht tuberkulösen Rindes baut die längere Zeit aufbewahrte Placenta sowie tuberkulöses Gewebe deutlich ab, die frische Placenta dagegen nicht. Das Serum enthält an sich Spuren dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 90 eines nicht tragenden, nicht tuberkulösen Rindes gibt lediglich mit tuberkulösem Gewebe eine schwache Reaktion.

Ergebnis: Hinsichtlich der Diagnose der Schwangerschaft rite, hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose paradox.

Serumprobe 91 eines nicht tragenden, nicht tuberkulösen Rindes baut die längere Zeit aufbewahrte Placenta stark, das tuberkulöse Gewebe schwach, aber doch deutlich ab. Mit der frischen Placenta und Lebergewebe gibt es nur die Spur einer Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Kontrollen mit Organ allein sind bei dieser Versuchsreihe nicht angesetzt worden, doch geht aus den Versuchen S 85 + Pl II, S 90 + Pl III und S 90 + LebGew hervor, daß diese Gewebe einwandfrei waren. Auch das tuberkulöse Gewebe gab nicht mit allen Seris eine gleich starke Reaktion, sondern z. B. mit den Serumproben 84, 90 und 91 nur schwache Reaktionen.

Versuch 22.

8. Juli 1913.

- | | |
|--|--|
| S 92: Kuh, tragend, nicht tuberkulös. | } Blutentnahme am
7. Juli 1913 auf
dem Schlachthofe. |
| S 93: " " " " | |
| S 94: " nicht tragend, Lungentuberkulose. | |
| S 95: " " " Lunge, Leber, Tuberkulose. | |
| S 96: " " " nicht tuberkulös. | |
| S 97: " " " " " | |
| S 98: " " " " " | |
| O: Pl f Rd, Pl f Mensch, Leb Gew Rd, Leb Gew Schw, je 1 g. | |
| SM: 1,5 ccm. | |
| N: 0,2 ccm. | |

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 92 + Pl f Rd: Violett	+	3
S 92 + Pl Mensch: "	+	4
S 92 + Leb Rd: Stark violett	+++	9
S 92 + Leb Schw: " "	+++	10
S 92: Farblos	—	—
S 93 + Pl f Rd: Stark violett	+++	9
S 93 + Pl Mensch: " "	+++	9
S 93 + Leb Rd: " "	+++	10
S 93 + Leb Schw: " "	+++	10
S 93: Farblos	—	—
S 94 + Pl f Rd: Violett	+	3
S 94 + Pl Mensch: Stark violett	++++	11
S 94 + Leb Rd: Violett	++	7
S 94 + Leb Schw: " "	++	7
S 94: Farblos	—	—

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 95 + Pl f Rd: Violett	++	5
S 95 + Pl Mensch: Schwach violett	+	2
S 95 + Leb Rd: Stark violett	+++	8
S 95 + Leb Schw: " "	+++	10
S 95: Farblos	—	—
S 96 + Pl f Rd: Stark violett	+++	10
S 96 + Pl Mensch: Violett	++	6
S 96 + Leb Rd: Stark violett	++++	12
S 96 + Leb Schw: " "	+++	10
S 96: Farblos	—	—
S 97 + Pl f Rd: Stark violett	+++	10
S 97 + Pl Mensch: " "	+++	9
S 97 + Leb Rd: Violett	+	4
S 97 + Leb Schw: Stark violett	+++	10
S 97: Farblos	—	—
S 98 + Pl f Rd: " "	—	—
S 98 + Pl Mensch: Stark violett	+++	10
S 98 + Leb Rd: " "	+++	10
S 98 + Leb Schw: " "	+++	8
S 98: Farblos	—	—
Pl Mensch: "	—	—
Pl Rd: "	—	—
Pl Schw: "	—	—

Serumprobe 92 einer tragenden, nicht tuberkulösen Kuh baut Placenta vom Rinde schwach, ebenso Placenta vom Menschen, Lebergewebe vom Rinde und vom Schwein sehr stark ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Wenn man auf die Spezifität der Reaktion keine Rücksicht nimmt, rite.

Serumprobe 93 einer tragenden, nicht tuberkulösen Kuh baut sowohl Placenta vom Rinde als auch die vom Menschen, ebenso Lebergewebe vom Rind und Schwein stark ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Wenn man von dem Anspruch der Reaktion auf Spezifität absieht, rite.

Serumprobe 94 eines nicht tragenden Rindes mit Lungentuberkulose baut Placenta vom Rind schwach, Placenta vom Menschen sehr stark und Lebergewebe vom Schwein und Rind ziemlich stark ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 95 eines nicht tragenden Rindes mit Lungen- und Lebertuberkulose baut Placenta vom Menschen ganz schwach ab, Placenta vom Rinde stärker und Lebergewebe vom Rinde und Schweine sehr stark ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose paradox.

Serumprobe 96 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Rindes baut Placenta vom Rinde und Menschen sowie Lebergewebe vom Rinde und Schweine mehr oder weniger stark ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 97 eines nicht tragenden, nicht tuberkulösen Rindes baut Placenta vom Menschen und Rind sowie Leber vom Schwein stark, Leber vom Rinde mittelgradig ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 98 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Rindes baut Placenta des Rindes nicht ab, dagegen Placenta des Menschen und Lebergewebe vom Rind und Schwein stark. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis. Hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose rite.

Versuch 23.

11. Juli 1913.

S 99: Kuh, tragend.	} Blutentnahme durch Dr. Breidenbach am 9. Juli 1913
S 100: " "	
S 101: " "	

S 102: „ nicht tragend, mit Lungen- und Lebertuberkulose. }
 S 103: „ „ „ „ „ „ } Blutentnahme auf
 S 104: „ „ „ „ „ „ } dem Schlachthofe
 S 105: „ „ „ „ „ „ } am 10. Juli 1913
 S 106: „ „ „ „ „ „ }
 S 107: „ „ nicht tuberkulös. }
 O: Pl f Rd, tb Gewebe, frisch bereitet am 10. Juli 1913, je 1 g.
 S M: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 99 + Pl f Rd: Sehr schwach violett	+	1
S 99 + tb Gewebe: Farblos	—	—
S 99:	—	—
S 100 + Pl f Rd: Sehr schwach violett	+	1
S 100 + tb Gewebe: Farblos	—	—
S 100:	—	—
S 101 + Pl f Rd: Sehr schwach violett	+	1
S 101 + tb Gewebe: Farblos	—	—
S 101:	—	—
S 102 + Pl f Rd: „	—	—
S 102 + tb Gewebe: „	—	—
S 102:	—	—
S 103 + Pl f Rd: Sehr schwach violett	+	1
S 103 + tb Gewebe: Farblos	—	—
S 103:	—	—
S 104 + Pl f Rd: „	—	—
S 104 + tb Gewebe: „	—	—
S 104:	—	—
S 105 + Pl f Rd: „	—	—
S 105 + tb Gewebe: „	—	—
S 105:	—	—
S 106 + Pl f Rd: Schwach violett	+	2
S 106 + tb Gewebe: Farblos	—	—
S 106:	—	—
S 107 + tb Gewebe: „	—	—
S 107:	—	—
Pl f Rd: „	—	—
Tb Gewebe: „	—	—

Serumprobe 99 einer tragenden Kuh baut Placenta äußerst schwach ab, tuberkulöses Gewebe nicht. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Wenn man die äußerst schwache Reaktion als positiv ansehen will, ite.

Serumproben 100 und 101 zweier tragender Kühe verhalten sich ebenso.

Serumprobe 102 einer tragenden Kuh mit Lungen- und Lebertuberkulose zeigt gar keine Reaktion.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 103 eines nicht tragenden Rindes mit Lungentuberkulose gibt mit Placenta eine sehr schwache Reaktion, mit tuberkulösem Gewebe nicht. Das Serum allein ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Die Reaktion ist für die Schwangerschaft rite, für die Tuberkulose paradox.

Serumprobe 104 eines nicht tragenden Rindes mit Lungentuberkulose gibt gar keine Reaktion.

Ergebnis: Hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose rite, hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose paradox.

Für die Serumprobe 105 eines nicht tragenden Rindes mit Lungen- und Lebertuberkulose gilt das gleiche.

Serumprobe 106 eines nicht tragenden Rindes mit Lungen- und Lebertuberkulose baut Placenta schwach ab, tuberkulöses Gewebe nicht. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 107 eines nicht tragenden und nicht tuberkulösen Tieres ergibt mit tuberkulösem Gewebe keine Reaktion, mit Placentagewebe ist dieses Serum wegen Materialmangels nicht angesetzt worden.

Ergebnis: Rite.

Versuch 24.

15. Juli 1913.

S 108: Kuh, tragend, tuberkulös.
 S 109: „ nicht tragend, tuberkulös.
 S 110: „ „ „ nicht tuberkulös.
 S 111: „ „ „ „ „
 S 112: „ „ „ „ „

} Blutentnahme
 } Schlachthof am
 } 15. Juli 1913

O: Placenta der vorhergehenden Versuche (Pl III), Pl f Rd, frisch vom 15. Juli (Pl IV), tb Gewebe, Uterusgewebe vom Rd und Eutergewebe vom Rd, frisch vom 15. Juli, je 1 g.
 S M: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen	
S 108 + Pl III:	Sehr schwach violett	+	1
S 108 + Pl IV:	„ „ „	+	1
S 108 + tb Gewebe:	Violett	+	4
S 108 + Uterusgew:	Farblos	—	—
S 108 + Eutergew:	„	—	—
S 108:	„	—	—
S 109 + Pl III:	Sehr schwach violett	+	1
S 109 + Pl IV:	„ „ „	+	1
S 109 + tb Gewebe:	„ „ „	+	1
S 109 + Uterusgew:	Violett	+	4
S 109 + Eutergew:	Farblos	—	—
S 109:	„	—	—
S 110 + Pl III:	Sehr schwach violett	+	1
S 110 + Pl IV:	„ „ „	+	1
S 110 + tb Gewebe:	Farblos	—	—
S 110 + Uterusgew:	„	—	—
S 110 + Eutergew:	„	—	—
S 110:	„	—	—
S 111 + Pl III:	Ziemlich stark violett	++	7
S 111 + Pl IV:	Violett	++	6
S 111 + tb Gewebe:	Ziemlich stark violett	++	7
S 111 + Uterusgew:	Violett	++	6
S 111 + Eutergew:	Schwach violett	+	3
S 111:	Farblos	—	—
S 112 + Pl III:	Sehr schwach violett	+	1
S 112 + Pl IV:	Farblos	—	—
S 112 + tb Gewebe:	Sehr schwach violett	+	1
S 112 + Uterusgew:	Farblos	—	—
S 112:	„	—	—

Serumprobe 108 einer tragenden und tuberkulösen Kuh baut Placentagewebe nur sehr schwach, tuberkulöses Gewebe deutlich, Uterus- und Eutergewebe gar nicht ab und ist an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 109 einer nicht tragenden, tuberkulösen Kuh baut Uterusgewebe ab und gibt mit Placenta- und tuberkulösem Gewebe eine äußerst schwache, mit Eutergewebe gar keine Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox für die Schwangerschaft, für die Tuberkulose, wenn man will, rite.

Serumprobe 110 einer nicht tragenden, nicht tuberkulösen Kuh gibt mit Placenta eine äußerst schwache, im übrigen keine Reaktion.

Ergebnis: Wenn man die äußerst schwache Reaktion nicht berücksichtigt, rite.

Serumprobe 111 einer nicht tragenden und nicht tuberkulösen Kuh gibt mit beiden Placenten eine starke Reaktion, ebenso mit tuberkulösem und Uterusgewebe. Mit Eutergewebe gibt sie eine schwache Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 112 einer nicht tragenden, nicht tuberkulösen Kuh gibt mit einem Placentagewebe und tuberkulösem Gewebe eine äußerst schwache, im übrigen keine Reaktion.

Ergebnis: Wenn man will, rite.

Die Kontrollen der einzelnen Organe sind nicht angesetzt worden, doch zeigt der Versuch an sich, daß die Organe einwandfrei sind.

Versuch 25.

7. August 1913.

S 113: Kuh, tragend im 2.—3. Monat. } Blutentnahme auf
 S 114: „ nicht tragend, tuberkulös. } dem Schlachthof
 S 115: „ „ nicht tuberkulös. } am 7. August
 O: Pl f Rd, Pl m Rd, Pl f im Zusammenhang mit m, tb Gewebe, Uterus-
 gewebe. Die Gewebe sind alle in den letzten Tagen frisch bereitet. Je 1 g.
 S M: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

		Wert der Reaktion	In Zahlen
S 113 + Pl f:	Schwach violett	+	2
S 113 + Pl m:	Violett	+	4
S 113 + Pl f + m:	Ziemlich stark violett	++	7
S 113 + tb Gewebe:	Violett	+	4
S 113 + Uterusgew:	„	+	5
S 113:	Sehr schwach violett	+	1
S 114 + Pl f:	„ „ „	+	1
S 114 + Pl m:	„ „ „	+	1
S 114 + Pl f + m:	„ „ „	+	1
S 114 + tb Gewebe:	„ „ „	+	1
S 114 + Uterusgew:	„ „ „	+	1
S 114:	Spur violett	±	0,5
S 115 + Pl f:	Sehr schwach violett	+	1
S 115 + Pl m:	Violett	+	3
S 115 + Pl f + m:	„	+	4
S 115 + tb Gewebe:	„	+	3
S 115 + Uterusgew:	„	+	3
S 115:	„	+	3
Pl f:	Farblos	—	—
Pl m:	„	—	—
Pl f + m:	„	—	—
Tb Gewebe:	„	—	—
Uterusgewebe:	„	—	—

Serumprobe 113 einer tragenden, nicht tuberkulösen Kuh baut am stärksten die Placenta foetalis im Zusammenhang mit der materna ab. In geringerem Grade, aber noch sehr deutlich, wird Placenta materna, tuberkulöse und Uterusgewebe abgebaut. Eine sehr schwache Reaktion gibt das Serum mit Placenta foetalis. Das Serum an sich enthält Spuren dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose rite, hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose paradox.

Serumprobe 114 einer nicht tragenden, tuberkulösen Kuh enthält an sich Spuren dialysabler Stoffe und gibt daher überall eine ganz schwache Reaktion.

Ergebnis: Non liquet.

Serumprobe 115 einer nicht tragenden, nicht tuberkulösen Kuh enthält an sich dialysable Stoffe und gibt daher überall eine mehr oder weniger deutliche Reaktion.

Ergebnis: Non liquet.

Versuch 26.

30. November 1913.

S 116: Kuh Emma, nicht tragend. Blutentnahme am 30. Nov.

S 117: Kalb, Schlachthof. Blutentnahme am 30. Nov.

S 118: „ „ „ „ „ 30. „

O: Pl f Rd, tb Gewebe, je 1 g.

S M: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 116 + Pl f Rd: Sehr schwach violett	+	1
S 116 + tb Gewebe: Farblos	—	—
S 116:	—	—
S 117 + Pl f Rd: "	—	—
S 117 + tb Gewebe: "	—	—
S 117:	—	—
S 118 + Pl f Rd: "	—	—
S 118 + tb Gewebe: "	—	—
S 118:	—	—

Alle 3 Sera geben gar keine bzw. in einem Falle eine außerordentlich schwache Reaktion.

Ergebnis: Rite. Die Kuh Emma erweist sich im Gegensatz zum Ausfall des letzten Versuches als nicht trächtig. Gedeckt worden ist sie nicht.

Versuch 27.

20. Dezember 1913.

S 119: Kuh, tragend.	} Blutentnahme auf dem Schlachthof am 20. Dezember
S 120: " nicht tragend.	
S 121: " " "	
O: 1 g Pl f Rd.	
SM: 1,5 ccm.	
N: 0,2 ccm.	

Zu den bereits gekochten Röhrchen wurden nochmals 0,2 ccm hinzugesetzt und wieder 1 Minute gekocht.

	Abermaliges Kochen mit					
	0,2 N	0,2 N	0,2 N	0,2 N	0,2 N	0,2 N
S 119 + Pl f Rd: Sehr schw. violett	Sehr schw. violett	+	+	1	1	
S 119: Farblos	Farblos	—	—	—	—	
S 120 + Pl f Rd: "	Sehrschw. violett	—	+	—	1	
S 120: "	Farblos	—	—	—	—	
S 121 + Pl f Rd: "	"	—	—	—	—	
S 121: "	"	—	—	—	—	
Pl: "	"	—	—	—	—	

Serumprobe 119 einer tragenden Kuh gibt mit Placenta eine sehr schwache Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 120 einer nicht tragenden Kuh gibt beim zweiten Kochen eine sehr schwache Reaktion mit Placenta.

Ergebnis: Beim ersten Kochen rite.

Serumprobe 121 einer nicht tragenden Kuh gibt keine Reaktion.

Ergebnis: Rite.

Versuch 28.

8. Januar 1914.

S 122: Institutskuh Probstei, hochtragend, Blutentnahme am 7. Januar.	} Blutentnahme auf dem Schlachthof am 8. Januar
S 123: Kuh, tragend, nicht tuberkulös.	
S 124: " nicht tragend, nicht tuberkulös.	
S 125: " " " " " " " " " " " "	
O: Pl f Rd, tb Gewebe Rd, je 1 g.	
SM: 1,5 ccm.	
N: 0,2 ccm.	

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 122 + Pl f Rd: Sehr schwach violett	+	1
S 122 + tb Gewebe: Farblos	—	—
S 122:	—	—
S 123 + Pl f Rd: Sehr schwach violett	+	1
S 123 + tb Gewebe: Schwach violett	+	2
S 123:	—	—
S 124 + Pl f Rd: Sehr schwach violett	+	1
S 124 + tb Gewebe: Farblos	—	—
S 124:	—	—
S 125 + Pl f Rd: "	—	—
S 125 + tb Gewebe: "	—	—
S 125:	—	—

Serumprobe 122 der tragenden Kuh Emma baut Placenta sehr schwach ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 123 einer tragenden Kuh ohne Tuberkulose gibt mit Placenta eine sehr schwache, mit tuberkulösem Gewebe eine etwas stärkere Reaktion.

Ergebnis: Hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose rite, hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose paradox.

Serumprobe 124 einer nicht tragenden, nicht tuberkulösen Färse gibt mit Placenta eine sehr schwache, mit tuberkulösem Gewebe gar keine Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Die Reaktion könnte, da sie sehr schwach ist, als negativ bezeichnet werden, doch haben wir in diesem Versuch die gleiche schwache Reaktion bei Serum 122 als positiv gelten lassen und müssen daher denselben Maßstab auch hier anwenden und das Ergebnis als paradox bezeichnen.

Serumprobe 125 einer nicht tragenden, nicht tuberkulösen Färse gibt keine Reaktion.

Ergebnis: Rite.

Eine Kontrolle mit Organen allein wurde nicht angesetzt, doch beweist der Ausfall der Reaktion bei Serum 125, daß die Gewebe frei von dialysablen Stoffen sind.

Versuch 29.

14. Januar 1914.

S 126: Kuh, nicht tragend, mit Lungentuberkulose.	} Blutentnahme auf dem Schlachthof am 8. Januar
S 127: " " " nicht tuberkulös.	
S 128: " " " " "	} Blutentnahme auf dem Schlachthof am 12. Januar
S 129: " " " tuberkulös.	
S 130: " " " nicht tuberkulös.	
S 131: " " " " "	
O: 1 g Pl f Rd	
SM: 1,5 ccm	
N: 0,2 ccm	

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 126 + Pl f Rd: Farblos	—	—
S 126:	—	—
S 127 + Pl f Rd: "	—	—
S 127:	—	—
S 128 + Pl f Rd: "	—	—
S 128:	—	—
S 129 + Pl f Rd: "	—	—
S 129:	—	—
S 130 + Pl f Rd: "	—	—
S 130:	—	—
S 131 + Pl f Rd: "	—	—
S 131:	—	—

Bei keinem der Sera, welche zur Hälfte 6. zur Hälfte 2 Tage alt waren, trat eine Reaktion auf.

Ergebnis: Hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose rite.

Versuch 30.

17. Januar 1914.

S 132: Kuh Probstei, hochtragend, Blutentnahme am 17. Januar.

S 133: Kalb vom Schlachthof, Serum dunkelgelb, schwach hämolytisch, Blutentnahme am 17. Januar.

S 134: Kalb vom Schlachthof, Serum rot infolge starker Hämolyse, Blutentnahme am 17. Januar.

O: Pl f Rd, tb Gewebe Rd, je 1 g

SM: 1,5 ccm

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

		Wert der Reaktion	In Zahlen
S 132 + Pl f Rd:	Schwach violett	+	1,5
S 132 + tb Gewebe:	Farblos	—	—
S 132:	"	—	—
S 133 + Pl f Rd:	Sehr schwach violett	+	1
S 133 + tb Gewebe:	" " "	+	1
S 133:	Farblos	—	—
S 134 + Pl f Rd:	Schwach violett	+	2
S 134 + tb Gewebe:	" " "	+	2
S 134:	" " "	+	2

Serumprobe 132 der hochtragenden Kuh Probstei baut Placenta geringgradig ab, tuberkulöses Gewebe nicht und ist an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 133 eines Kalbes gibt mit Placenta und tuberkulösem Gewebe eine sehr schwache Reaktion. Das Serum an sich gibt keine Blaufärbung.

Ergebnis: Mit Rücksicht darauf, daß das Serum stark hämolytisch ist, non liquet.

Die stark hämolytische Serumprobe 134 eines Kalbes gab in allen 3 Röhren eine gleich schwache Reaktion.

Ergebnis: Non liquet.

Versuch 31.

19. Februar 1914.

S 135: Kuh, tragend, nicht tuberkulös.

S 136: „ nicht tragend, nicht tuberkulös.

S 137: „ „ mit Lungentuberkulose. Blutentnahme am 19. Januar auf dem Schlachthofe.

Die Serumproben 136 und 137 sind schwach hämolytisch, von goldgelber Farbe, mit einem schwach rötlichen Schimmer.

O: Pl f Rd, tb Gewebe Rd, je 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

		Wert der Reaktion	In Zahlen
S 135 + Pl f Rd:	Sehr schwach violett	+	1
S 135 + tb Gewebe:	Farblos	—	—
S 135:	"	—	—
S 136 + Pl f Rd:	"	—	—
S 136 + tb Gewebe:	"	—	—
S 136:	Schwach violett	+	2
S 137 + Pl f Rd:	Sehr schwach violett	+	1
S 137 + tb Gewebe:	Schwach violett	+	2
S 137:	" "	+	2

Das Serum 135 einer tragenden Kuh ohne Tuberkulose gibt mit Placenta eine sehr schwache, mit tuberkulösem Gewebe keine Reaktion und ist an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Rite.

Die Serumprobe 136 einer nicht tragenden, nicht tuberkulösen Kuh gibt mit Placenta und tuberkulösem Gewebe keine, dagegen für sich allein eine schwache Reaktion, die möglicherweise auf die leichte hämolytische Beschaffenheit zurückzuführen ist.

Ergebnis: Non liquet.

Die Serumprobe 137 einer nicht tragenden Kuh mit Lungentuberkulose gibt in allen drei Röhren eine schwache Reaktion, als deren Ursache die schwache hämolytische Beschaffenheit gelten kann.

Ergebnis: Non liquet.

Versuch 32.

22. Januar 1914.

S 138: Kuh, etwa im dritten Monat tragend, nicht tuberkulös, Blutentnahme auf dem Schlachthofe am 22. Januar.

- S 139: Kuh, nicht tragend, mit Lungentuberkulose, Blutentnahme auf dem Schlachthofe am 22. Januar.
 O: Pl f Rd, tb Gewebe, je 1 g
 SM: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 138 + Pl f Rd: Sehr schwach violett	+	1
S 138 + tb Gewebe: Spur violett	±	0,5
S 138: Farblos	—	—
S 139 + Pl f Rd: Sehr schwach violett	+	1
S 139 + tb Gewebe: Farblos	—	—
S 139: "	—	—

Die Serumprobe 138 einer tragenden, tuberkulösen Kuh gibt mit Placenta eine sehr schwache, mit tuberkulösem Gewebe nur eine Spur Reaktion und ist an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Rite.

Die Serumprobe 139 einer nicht tragenden Kuh mit Lungentuberkulose gibt mit Placenta eine sehr schwache, mit tuberkulösem Gewebe keine Reaktion und ist an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Versuch 33.

26. Januar 1914.

- S 140: Kuh, nicht tragend, mit Echinokokken in der Lunge, Blutentnahme auf dem Schlachthofe am 26. Januar.
 S 141: Kuh, nicht tragend, mit Darmtuberkulose, Blutentnahme auf dem Schlachthofe am 26. Januar.
 S 142: Kuh, nicht tragend, tuberkulös, Blutentnahme auf dem Schlachthofe am 26. Januar.
 S 143: Dgl.
 O: Tb Gewebe, 1 g.
 SM: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 140 + tb Gewebe: Violett	++	5
S 140: "	++	5
S 141 + tb Gewebe: Spur violett	±	0,5
S 141: Farblos	—	—
S 142 + tb Gewebe: Violett	++	6
S 142: +	+	3
S 143 + tb Gewebe: "	+	3
S 143: Sehr schwach violett	+	1
Tb Gewebe: Farblos	—	—

Serum 140 einer nicht tragenden Kuh enthält an sich dialysable Stoffe
 Ergebnis: Non liquet. Erwähnt sei, daß diese Probe ebenso wie Probe 142 nicht hämolytisch war.

Serumprobe 141 einer Kuh mit Lungen- und Darmtuberkulose gibt mit tuberkulösem Gewebe nur die Spur einer Reaktion.

Ergebnis: Mit Rücksicht auf die Schwäche der Reaktion paradox.

Serumprobe 142 einer Kuh mit Lungentuberkulose gibt mit tuberkulösem Gewebe eine etwa doppelt so starke Reaktion als für sich allein. Das Serum enthält mithin an sich dialysable Stoffe, baut aber zugleich deutlich ab.

Ergebnis: Rite.

Die Serumprobe 143 einer Kuh mit Lungentuberkulose baut das tuberkulöse Gewebe ab, enthält aber auch an sich Spuren dialysabler Substanzen. Die Kontrolle (Organ allein) gibt nicht die Spur einer Reaktion.

Ergebnis: Rite.

Versuch 34.

5. Februar 1914.

S 144: Kuh, nicht tragend, nicht tuberkulös } Blutentnahme auf
 S 145: " " " " " } dem Schlachthofe
 S 146: " " " " " } am 5. Februar
 O: Pl f Rd, tb Gewebe Rd, je 1 g
 SM: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 144 + Pl f Rd:	Farblos	—
S 144 + tb Gewebe:	"	—
S 144:	"	—
S 145 + Pl f Rd:	"	—
S 145 + tb Gewebe:	"	—
S 145:	"	—
S 146 + Pl f Rd:	"	—
S 146 + tb Gewebe:	"	—
S 146:	"	—

Keines der Versuchsröhrchen gibt eine Reaktion.

Ergebnis: Rite. Das gleichmäßige Ausbleiben jedweder Reaktion veranlaßte uns, die Ninhydrinlösung auf ihre Laktionsfähigkeit zu prüfen. Dabei zeigte sich, daß die Ninhydrinlösung einwandfrei war.

Versuch 35.

16. und 17. Februar 1914.

S 144: Kuh Probstei, hochtragend, Blutentnahme am 16. Februar.

O: Pl f Rd, Pl f Pf, tb Gewebe Rd, je 1/2 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Dasselbe Serum wird am folgenden Tage nochmals angesetzt (147a). Es ist nicht hämolytisch. An demselben Tage wird Serum von derselben Blutentnahme, welches durch Schütteln des Blutes schwach hämolytisch gemacht worden ist, angesetzt (147b). Bei diesen beiden Serumproben werden 0,4 ccm Ninhydrinlösung verwandt.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 147 + Pl f Rd:	Sehr schwach violett	+
S 147 + Pl f Pf:	" " "	+
S 147 + tb Gewebe:	Spur violett	±
S 147:	Farblos	—
S 147a + Pl f Rd:	Violett	++
S 147a + Pl f Pf:	"	++
S 147a + tb Gewebe:	"	++
S 147a:	Schwach violett	+
S 147b + Pl f Rd:	Violett	++
S 147b + Pl f Pf:	"	++
S 147b + tb Gewebe:	"	++
S 147b:	Spur violett	±

Die frische Serumprobe 147 der hochtragenden Kuh Probstei baut Placenta vom Rind und Pferd schwach ab, gibt mit tuberkulösem Gewebe die Spur einer Reaktion und ist an sich frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Rite.

Die einen Tag alte Serumprobe 147a und 147b gab bei allen drei Organen eine Reaktion und enthält an sich geringe Mengen dialysabler Stoffe. Die Reaktion ist auffallenderweise bei dem künstlich schwach hämolytisch gemachten Serum etwas schwächer als bei dem nicht hämolytischen.

Der Ausfall dieses Versuches spricht dafür, daß gelegentlich bei längerem Aufheben der Sera dialysable Stoffe im Serum auftreten können.

Versuch 36.

19. Februar 1914.

- S 148: Kuh Probstei, hochtragend, Blutentnahme am 19. Febr.
 S 149: „ nicht tragend, Blutentnahme auf dem Schlachthofe am 19. Febr.
 S 150: Kalb, Blutentnahme auf dem Schlachthofe am 19. Febr.
 O: Pl f Rd, Pl f Pf, tb Gewebe Rd, je 1 g.
 SM: 1,5 ccm.
 N: 0,4 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 148 + Pl f Rd: Violett	++	5
S 148 + Pl f Pf: „	++	5
S 148 + tb Gewebe: „	++	5
S 148: Schwach violett	+	3
S 149 + Pl f Rd: Violett	+	4
S 149 + Pl f Pf: „	+	4
S 149 + tb Gewebe: „	+	4
S 149: Schwach violett	+	2
S 150 + Pl f Rd: Violett	++	5
S 150 + Pl f Pf: „	++	5
S 150 + tb Gewebe: „	++	5
S 150: Schwach violett	+	2

Alle drei Sera bauen die Gewebe ab, enthalten aber an sich schon dialysable Stoffe in geringer Menge.

Ergebnis: Bei Serumprobe 148 hinsichtlich der Schwangerschaftsdiagnose rite, bei den anderen beiden paradox.

Versuch 37.

28. Februar 1914.

- S 151: Kuh Probstei, gekalbt am 23. Febr., Blutentnahme am 27. Febr.
 S 152: „ „ „ 23. „ „ 28. „
 O: Pl f Rd, Pl f Pf, tb Gewebe Rd, je 1 g., „ „ „
 SM: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 151 + Pl f Rd: Violett	+	3
S 151 + Pl f Pf: Sehr schwach violett	+	1
S 151 + tb Gewebe: „ „ „	+	1
S 151: Farblos	—	—
S 152 + Pl f Rd: „	—	—
S 152 + Pl f Pf: Sehr schwach violett	+	1
S 152 + tb Gewebe: Schwach violett	+	2
S 152: Farblos	—	—

Die Serumprobe 151 der Kuh Probstei baut Placenta foetalis Rind deutlich ab, Placenta foetalis Pferd und tuberkulöses Gewebe vom Rinde dagegen nur in Spuren. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Rite:

Die Serumprobe 152, die von demselben Tiere stammt wie die einen Tag vorher entnommene Probe 151, gibt mit Placenta foetalis Rind keine Reaktion, dagegen eine schwache mit Placenta foetalis Pferd und tuberkulösem Gewebe Rind. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Versuch 38.

3. März 1914.

- S 153: Kuh Probstei, gekalbt am 23. Febr., Blutentnahme am 2. März abends 7 Uhr.
 Der Versuch konnte erst am 3. März abends 9 Uhr angesetzt werden, da sich von 100 ccm Blut vorher noch nicht genügend Serum spontan abgesetzt hatte und von einer künstlichen Beschleunigung der Serumabscheidung zur Vermeidung der Hämolyse Abstand genommen wurde.

- O: Pl f Rd,
 Pl f Pf,
 tb Gewebe Rd,
 je 1 g.
 SM: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm. Da mit dieser Dosis gar keine Reaktion auftrat, wurde die verschärfte Ninhydrinreaktion mit 0,4 ccm auf 5 ccm Dialysat vorgenommen.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

Ninhydrinlösung	0,2 ccm	0,4 ccm	Wert der Reaktion		In Zahlen	
			0,2	0,4	0,2	0,4
S 153 + Pl f Rd:	Farblos	Schwach violett	—	+	—	2
S 153 + Pl f Pf:	„	Violett	—	+	—	3
S 153 + tb Gewe:	„	„	—	+	—	3
S 153:	„	Schwach violett	—	+	—	2

Mit 0,2 ccm Ninhydrinlösung ist keine Reaktion nachweisbar. Bei der verschärften Ninhydrinprobe tritt mit allen Organen eine mehr oder weniger deutliche Reaktion auf.
 Ergebnis: Paradox.

Versuch 39.

4. März 1914.

- S 154: Kuh Probstei, gekalbt am 23. Febr., Blutentnahme am 4. März, morgens 9 Uhr. Serum mittags zentrifugiert, stark hämolytisch.
 O: Pl f Rd,
 Pl f Pf,
 tb Gewebe,
 je 1 g.
 SM: 1,5 ccm.

Verschärfte Ninhydrinprobe wie im vorigen Versuch.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

Ninhydrinlösung	0,2 ccm	0,4 ccm	Wert der Reaktion		In Zahlen	
			0,2 ccm	0,4 ccm	0,2 ccm	0,4 ccm
S 154 + Pl f Rd:	Farblos	Violett	—	+	—	4
S 154 + Pl f Pf:	„	„	—	+	—	4
S 154 + tb Gewebe:	„	Schwach violett	—	+	—	2
S 154:	„	Sehr schw. violett	—	±	—	1

Nur bei der verschärften Ninhydrinprobe sind noch Abwehrfermente nachweisbar, jedoch in geringer Menge. Das Serum enthält an sich dialysable Stoffe. Die den Abbau verursachenden Stoffe greifen im übrigen Rinder- sowie Pferdeplacenta in gleich starker Weise, tuberkulöses Gewebe in geringerem Maße an.

Ergebnis: Ohne Kontrollen angesetzt, würde sich für die Schwangerschaftsdiagnose allein ein rite ergeben haben.

Versuch 40.

5. März 1914.

- S 155: Kuh Probstei, gekalbt am 23. Febr., Blutentnahme am 5. März.
 O: Pl f Rd,
 Pl f Pf,
 Pl f Mensch,
 tb Gewebe Rd,
 je 1 g.
 SM: 1,5 ccm.
 N: 0,2 acm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

S 155 + Pl f Rd:	Schwach violett	Wert der Reaktion		In Zahlen	
		+	—	2	2
S 155 + Pl f Pf:	„	+	—	2	2
S 155 + Pl f Mensch:	Sehr schwach violett	+	—	1	1
S 155 + tb Gewebe:	Violett	+	—	3	3
S 155:	Schwach violett	+	—	2	2

Das Serum enthält an sich dialysable Substanzen.

Ergebnis: Non liquet.

Versuch 41.

10. März 1914.

S 156: Kuh Probstei, gekalbt am 23. Febr., Blutentnahme am 9. März.

O: Pl f Rd,
Pl f Pf,
Pf f Mensch,
tb Gewebe Rd,
je 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 156 + Pl f Rd:	Violett +	4
S 156 + Pl f Pf:	” +	4
S 156 + Pl f Mensch:	” +	4
S 156 + tb Gewebe:	” +	3
S 156:	Schwach violett +	2

Das Serum gibt mit allen vier Geweben eine schwache Reaktion und enthält an sich schon geringe Mengen dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Non liquet.

Zusammenfassend läßt sich über die Untersuchungen des Serums dieser Kuh sagen, daß während der letzten Zeit der Schwangerschaft nur geringste Mengen von abbauenden Fermenten nachweisbar waren, die im übrigen spezifische Eigenschaften, wie aus den angesetzten Kontrollen hervorgeht, nicht hatten. Nach dem Kalben sind bei den verschiedenen Untersuchungen jedesmal verschiedene Ergebnisse erzielt worden.

Zusammenfassung.

Es wurden 150 Serumproben von Rindern untersucht; davon waren 54 tragend, 96 nicht tragend.

Von den 54 Serumproben tragender Rinder gaben 32 eine positive Reaktion; 17 Serumproben gaben eine negative Reaktion; bei 5 Proben ergab sich ein „non liquet“, weil das Serum an sich dialysable Stoffe enthielt.

Von den 96 Serumproben nichttragender Rinder gaben 44 eine negative Reaktion; bei 41 zeigte sich dagegen eine positive Reaktion; bei 11 war das Ergebnis ein „non liquet“.

Es stammte also unter 73 Fällen, in denen Placentagewebe abgebaut wurde, das Serum in 32 Fällen von tragenden und in 41 Fällen von nichttragenden Tieren.

Die Methode lieferte mithin in 59,3 Proz. der Fälle bei tragenden Kühen und in 45,8 Proz. der Fälle bei nichttragenden Rindern ein richtiges Ergebnis.

Mit tuberkulösem Gewebe wurden 81 Serumproben geprüft; davon stammten 54 von nicht-tuberkulösen, 27 von tuberkulösen Tieren.

Die 54 Serumproben nicht-tuberkulöser Tiere ergaben 16mal ein richtiges, 27mal ein paradoxes Ergebnis und 11mal ein non liquet.

Bei den 27 Fällen von Tuberkulose war das Ergebnis 19mal ein richtiges, nur 7mal paradox; einmal ergab sich ein non liquet.

Mithin lag unter 46 Fällen, in denen das Serum mit tuberkulösem Gewebe eine Reaktion gab, in 19 Fällen Tuberkulose vor, in 27 Fällen nicht.

Die Methode lieferte also hinsichtlich der Diagnose der Tuberkulose bei nichttuberkulösen Tieren in 29,6 Proz., bei tuberkulösen Tieren in 70,4 Proz. der Fälle ein richtiges Ergebnis.

Die für die Untersuchung verwandten Sera gaben im übrigen im bunten Wechsel mit Organen verschiedener Herkunft (Placenta vom Menschen, Pferd, Schwein, Leber, Uterus und Eutergewebe) deutlich ausgesprochene Reaktionen.

Nach dem Ausfall der mit Rinderseren ausgeführten Untersuchungen ist die Spezifität der Reaktion wiederlegt.

B. Versuche zur Feststellung der Schwangerschaft bei Pferden und Eseln.

Da die Gelegenheit zur Beschaffung frischen Serums tragender Stuten eine sehr beschränkte war, sahen wir uns genötigt, die uns zur Verfügung stehenden Stuten des Instituts (Rappstute, Liese, Lotte) decken zu lassen. Wie sich jedoch später herausstellte, hat keines der Tiere trotz mehrfachen Deckens aufgenommen. Zwei derselben befinden sich noch im Besitze des Institutes, das eine ist am 30. März 1914 verkauft worden. Eine Eselstute des Instituts ist von einem unserer Eselhengste besprungen worden und hat am 7. Mai 1914 ein Fohlen geboren.

Versuch 1.

2. Mai 1913.

S 157: Stute, hat am 24. April geboren, Blutentnahme am 30. April.

S 158: Rappstute des Instituts, nicht tragend, Blutentnahme am 2. Mai.

O: Pl f Pf, 1 g.

S M: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 157 + Pl: Stark violett	+++	10
S 157: Sehr schwach violett	+	1
S 158 + Pl: Farblos	—	—
S 158: Schwach violett	+	4
Pl: Farblos	—	—

Serumprobe 157 einer Stute, welche vor 6 Tagen abgefohlt hat, baut Placentagewebe stark ab. Das Serum an sich enthält Spuren dialysabler Substanzen, doch ist der Unterschied so augenfällig, daß die Reaktion als positiv angesehen werden muß.

Ergebnis: Da die placentar-spezifischen Fermente eine Zeit lang nach der Schwangerschaftsdiagnose noch im Blute vorhanden sein sollen, rite.

Serumprobe 158 einer nicht tragenden Stute baut Placentagewebe nicht ab, das Serum allein gibt eine starke Reaktion.

Dieses Ergebnis legt die Annahme nahe, daß die letzterwähnte starke Reaktion durch einen Fehler des verwendeten Dialysierschlauchs bedingt ist. Der ganze Versuch wird deshalb wiederholt.

Das Placentagewebe ist, wie die Kontrolle zeigt, frei von dialysablen Stoffen.

Versuch 2.

3. Mai 1913.

S 157: Wie Versuch 1.

S 158: Wie Versuch 1.

O: Pl f Pf.

S M: 1,5 ccm.

N: 2,0 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 157 + Pl: Stark violett	+++	9
S 157: Spur violett	±	0,5
S 158 + Pl: " "	±	0,8
S 158: Farblos	—	—
Pl: "	—	—

Der Versuch bringt die Bestätigung des Versuches 1 bzw. der daselbst ausgesprochenen Vermutung, daß die Reaktion bei Serumprobe 158 allein auf einen Fehler der Dialysierhülse zurückzuführen ist.
Ergebnis für beide Proben: Rite.

Versuch 3.

15. Mai 1913.

S 159: Rappstute des Instituts, Blutentnahme am 14. Mai.
S 160: Stute Liese " " " " 14. "
S 161: Stute Lotte " " " " 14. "
O: Pl f Pf, 1 g.
SM: 1,5 ccm.
N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 159 + Pl: Stark violett	+++	10
S 159: Sehr schwach violett	+	1
S 160 + Pl: Stark violett	+++	10
S 160: Sehr schwach violett	+	1
S 161 + Pl: Stark violett	+++	10
S 161: Farblos	—	—

Alle 3 Serumproben von nicht tragenden Stuten bauen Placentagewebe ab, während die Sera allein gar keine oder nur Spuren dialysabler Stoffe enthalten.

Ergebnis: Paradox. Die Rappstute, die in dem ersten Versuch nicht trüchtig erschien, hat eine positive Reaktion ergeben. Da das Tier dem Hengst zugeführt worden ist, spricht dieser Umstand für Trächtigkeit. Das gleiche würde für die beiden anderen Stuten des Instituts zu gelten haben. Wie bereits erwähnt worden ist, hat keines der Tiere konzipiert.

Versuch 4.

17. Mai 1913.

Der Versuch stellt eine Wiederholung des vorigen Versuches dar unter Hinzunahme noch einer anderen Serumprobe.

S 159: Rappstute des Instituts, Blutentnahme am 14. Mai.
S 160: Stute Liese " " " " 14. "
S 161: Stute Lotte " " " " 14. "
S 162: Pferd Lyssa, nicht tragend, intravenös mit Tollwutmaterial behandelt.
O: Pl f Pf, 1 g.
SM: 1,5 ccm.
N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 159 + Pl: Stark violett	+++	8
S 159: Farblos	—	—
S 160 + Pl: Schwach violett	+	2
S 160: Spur violett	±	0,5
S 161 + Pl: Stark violett	+++	9
S 161: Sehr schwach violett	+	1,5
S 162 + Pl: Stark violett	+++	10
S 162: Schwach violett	+	2
Pl: Farblos	—	—

Der Versuch hat im wesentlichen dasselbe Ergebnis wie der vorige nur Serumprobe 160 gibt mit Placenta eine bedeutend schwächere Reaktion als im vorigen Versuch. Bei Serumprobe 161 sind im Serum an sich dialysable Substanzen in geringer Menge vorhanden, während solche im vorigen Versuch nicht nachzuweisen waren.

Serumprobe 162 eines nicht tragenden Tieres gibt mit Placenta eine starke Reaktion und enthält an sich dialysable Stoffe in geringer Menge.

Dieses Ergebnis muß als paradox bezeichnet werden. Es findet vielleicht seine Erklärung in der Vorbehandlung des Tieres, bei der große Mengen artfremden Eiweißes in die Blutbahn gebracht wurden, die die Veranlassung zur Bildung von Abwehrfermenten in großen Mengen abgegeben haben dürften; zugleich dürften auch dialysable Stoffe erzeugt worden sein.

Versuch 5.

21. Mai 1913.

S 163: Rappstute des Instituts, nicht tragend.	} Blutentnahme am 21. Mai 1913
S 164: Stute Liese „ „ „ „	
S 165: „ Lotte „ „ „	
S 166: „ Lyssa „ „ „	
O: 1 g Pl f Pf.	
S M: 1,5 ccm.	
N: 0,2 ccm.	

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 163 + Pl: Schwach violett	+	2
S 163: Spur „	±	0,3
S 164 + Pl: Violett	+	3
S 164: Farblos	—	—
S 165 + Pl: „	—	—
S 165: „	—	—
S 166 + Pl: Stark violett	+++	8
S 166: Farblos	—	—
Pl: „	—	—

Serumprobe 163 der nicht tragenden Rappstute des Instituts baut wiederum Placenta ab, wengleich die Reaktion diesmal schwächer ist als in den früheren Versuchen. Das Serum an sich enthält nur Spuren dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 164 der nicht tragenden Stute Liese baut ebenfalls Placentagewebe ab wie in den früheren Versuchen, doch ist auch hier die Reaktion schwächer. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 165 der nicht tragenden Stute Lotte gibt in diesem Versuch im Gegensatz zu früher keine Reaktion.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 166 der nicht tragenden, intravenös mit Tollwutmaterial behandelten Stute Lyssa des Instituts baut Placentagewebe stark ab. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Das Ergebnis ist insofern bemerkenswert, als es zunächst, wie die früheren Versuche, zeigt, daß in dem Serum dieses Tieres Abbaufemente vorhanden sind, welche Placenta angreifen.

Im Serum an sich sind diesmal dialysable Stoffe nicht nachzuweisen. Dies könnte im Sinne Abderhaldens so gedeutet werden, daß der Abbauvorgang im Blute des Tieres nunmehr beendet ist und nur noch die spezifischen Fermente im Blute kreisen.

Versuch 6.

26. Mai 1913.

S 167: Stute Lyssa, nicht tragend.	} Blutentnahme am 26. Mai 1913
S 168: „ Liese, „ „	
S 169: „ Lotte, „ „	
S 170: Rappstute, „ „	
S 171: Wallach Max.	
S 172: Rappstute, nicht tragend.	
O: 0,7 g Pl f Pf.	
S M: 1 ccm.	
N: 0,2 ccm.	

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 167 + Pl: Schwach violett	+	2
S 167: Farblos	—	—
S 168 + Pl: „	—	—
S 168: „	—	—
S 169 + Pl: Sehr schwach violett	+	1
S 169: Farblos	—	—
S 170 + Pl: Sehr schwach violett	+	1,5
S 170: Farblos	—	—
S 171 + Pl: „	—	—
S 171: „	—	—
S 172 + Pl: Violett	+	3
S 172: Farblos	—	—
Pl: „	—	—

Serumprobe 167 der nicht tragenden Stute Lyssa baut Placentagewebe nur noch schwach ab. Das Serum ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 168 der nicht tragenden Stute Liese gibt im Gegensatz zu früher keine Reaktion.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 169 der nicht tragenden Stute Lotte gibt eine sehr schwache Reaktion.

Ergebnis: Mit Rücksicht auf die Schwäche der Reaktion rite.

Serumprobe 170 der nicht tragenden Rappstute gibt eine sehr schwache Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 171 eines Wallachs gibt keine Reaktion.

Ergebnis: Rite.

Serumprobe 172 einer nicht tragenden Stute gibt mit Placentagewebe eine deutliche Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Das Placentagewebe ist, wie die Kontrolle zeigt, einwandfrei.

Es fällt auf, daß die Reaktion in diesem Versuch im allgemeinen schwächer ausgefallen ist als bei den Seris der gleichen Pferde in den früheren Versuchen. Diese Erscheinung ist offenbar darauf zurückzuführen, daß im vorliegenden Versuche nur 1 ccm Serum zur Verwendung gelangte.

Versuch 7.

23. Juni 1913.

S 173: Nichttragende Stute Lotte, Blutentnahme am 23. Juni.

S 174: Wallach Kurfürst, Blutentnahme am 22. Juni.

O: Pl f Pf, Pl m Pf, je 1 g.

SM: 1,5 ccm.

O: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 173 + Pl f: Violett	++	5
S 173 + Pl m: „	+	4
S 173: „	+	3
S 174 + Pl f: „	+	3
S 174 + Pl m: „	++	6
S 174: Farblos	—	—

Serumprobe 173 gibt mit beiden Geweben, aber auch für sich allein, eine mittelstarke Reaktion.

Ergebnis: Non liquet.

Serumprobe 174 des Wallachs gibt mit Placenta foetalis eine schwache und mit Placenta materna eine ziemlich starke Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Versuch 8 und 9.

7. und 10. Juli 1913.

Die Versuche hatten den Zweck, die Einwirkung der Sera der bereits in den früheren Versuchen verwandten Institutspferde nicht nur auf Placenta foetalis des Pferdes, sondern auf verschiedene andere Gewebe, nämlich Placenta materna des Pferdes, Placenta foetalis vom Menschen, Placenta foetalis vom Rind, Lebergewebe vom Rind und Lebergewebe vom Schwein zu prüfen. Zweitens sollten die Gewebe nach verschieden langem Kochen zur Reaktion verwandt werden, um festzustellen, welchen Einfluß der Grad der Einkochung auf den Ausfall der Reaktion ausübt.

In Versuch 8 wurde die Placenta foetalis vom Menschen und Rind, sowie Lebergewebe vom Rind und Schwein verwendet, nachdem sie bereits zahlreiche Male ausgekocht waren, trotzdem aber immer noch Stoffe an das Kochwasser abgaben, welche eine Biuretreaktion zeigten.

In Versuch 9 wurden außer den so beschaffenen Organsubstraten dieselben Gewebe verwendet, nachdem sie noch etwa 30–50mal ausgekocht waren und nunmehr keine Biuretreaktion mehr gaben.

Versuch 8.

S 175: Nicht tragende Stute Lotte, Blutentnahme am 7. Juli.

S 176: " " " Liese, " " 7. "

S 177: " " Rappstute, " " 7. "

S 178: " " Stute Lyssa, " " 7. "

S 179: " " " Vira, " " 7. "

O: Pl f Pf,

Pl m Pf,

Pl f Mensch, zahlreiche Male ausgekocht, doch gibt das Kochwasser noch die Biuretreaktion.

Pl f Rd

Leb Rd

" Schw

je 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Die Organe sind zahlreiche Male ausgekocht, doch gibt das Kochwasser noch die Biuretreaktion.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen	
S 175 + Pl f Pf:	Violett	+	4
S 175 + Pl m Pf:	Schwach violett	+	2
S 175 + Pl f Mensch:	Violett	+	3
S 175 + Pl f Rd:	"	+	4
S 175 + Leb Rd:	Stark violett	+++	0
S 175 + Leb Schw:	" "	++++	2
S 175:	Farblos	—	—
S 176 + Pl f Pf:	"	—	—
S 176 + Pl f Mensch:	Stark violett	++	7
S 176 + Pl f Rd:	Violett	+	2
S 176:	Farblos	—	—
S 177 + Pl f Pf:	Violett	++	5
S 177 + Pl m Pf:	"	+	3
S 177 + Pl f Mensch:	"	++	6
S 177 + Pl f Rd:	"	++	6
S 177 + Leb Rd:	"	++	6
S 177 + Leb Schw:	Stark violett	+++	10
S 177:	Farblos	—	—
S 178 + Pl f Pf:	Stark violett	++	7
S 178 + Pl m Pf:	Sehr schwach viol.	+	1
S 178 + Pl f Mensch:	Stark violett	++	7
S 178 + Pl f Rd:	" "	++	7
S 178 + Leb Rd:	" "	+++	8
S 178 + Leb Schw:	" "	+++	8
S 178:	Farblos	—	—
S 179 + Pl f Pf:	"	—	—
S 179 + Pl m Pf:	Sehr schwach viol.	+	1
S 179 + Pl f Mensch:	Stark violett	+++	8

		Wert der Reaktion	In Zahlen
S 179 + Pl f Rd:	Violett	++	6
S 179 + Leb Rd:	"	+	4
S 179 + Leb Schw:	Stark violett	+++	8
S 179:	Farblos	—	—
Pl f Rd:	"	—	—
Pl f Mensch:	"	—	—
Leb Schwein:	"	—	—

Serumprobe 175 gibt mit Placenta foetalis des Pferdes eine mittelgradige, mit Placenta materna des Pferdes eine schwache Reaktion. Mit den mangelhaft ausgekochten Geweben Placenta foetalis Mensch, Placenta foetalis Rind und Lebergewebe vom Rind und Schwein gibt es eine mehr oder weniger starke Reaktion.

Das Ergebnis muß, da auch die vollständig ausgekochten Gewebe Placenta oetalis und materna Pferd eine Reaktion gaben, als paradox bezeichnet werden.

Serumprobe 176 der nicht tragenden Stute Liese gibt mit Placenta foetalis des Pferdes keine, mit Placenta foetalis des Rindes eine schwache Reaktion und ist an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Da man die Reaktion der nicht vollständig ausgekochten Gewebe unberücksichtigt lassen muß, rite.

Serumprobe 177 der nicht tragenden Rappstute gibt mit allen Geweben, besonders aber mit den unvollständig ausgekochten, eine starke Reaktion. Das Serum ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 178 der nicht tragenden Stute Lyssa gibt mit allen Geweben außer Placenta materna des Pferdes eine sehr starke Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox. Eine Erklärung für die paradoxe Reaktion dürfte, wie in den früheren Versuchen, in der eigenartigen Behandlung des Tieres zu erblicken sein.

Serumprobe 179 der nicht trächtigen Stute Vira baut die vollständig ausgekochten Gewebe Placenta foetalis und materna des Pferdes garnicht oder nur ganz schwach ab, mehr oder weniger stark dagegen die nicht vollständig ausgekochten Gewebe. Das Serum allein ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Rite, da wiederum die Reaktion der nicht völlig ausgekochten Gewebe unberücksichtigt bleiben muß.

Bemerkenswert ist, daß von den Organen, obwohl sie nicht völlig ausgekocht sind, bei 16-stündiger Dialyse keine dialysablen Stoffe abgegeben werden.

Versuch 9.

S 180: Nicht tragende Stute Lotte.

S 181: " schwarzbraune Stute.

S 182: Wallach Max.

O: Pl f Pf.

Pl m Pf.

Pl f Mensch

Pl f Rd

Leb Rd

Leb Schw

je 1 g

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Doppelt angesetzt, das eine Mal in nicht völlig ausgekochtem Zustand, das andere Mal nach weiterem 30—50maligem, bis zum Verschwinden der Reaktion wiederholtem Auskochen.

Ninhydrinlösung nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion				In Zahlen	
	Organe		Organe		Organe	
	unvollständig ausgekocht	vollständig ausgekocht	unvollständig ausgek.	vollständig ausgek.	unvollständig ausgek.	vollständig ausgek.
S 180 + Pl f Pf:	Violett			+		4
S 180 + Pl m Pf:	"			+		5
S 180 + Pl f Mensch:	Sehr schwach violett	Sehr schwach violett	+	+	1	1
S 180 + Pl f Rd:	dgl.	dgl.	+	+	1	1
S 180 + Leb Rd:	Schwach viol.	"	+	+	2	1
S 180 + Leb Schw:	Violett	Violett	++	++	7	6

36*

	Wert der Reaktion				In Zahlen	
	Organe		Organe		Organe	
	unvollständig ausgekocht	vollständig ausgekocht	unvoll- ständig ausgek.	voll- ständig ausgek.	unvoll- ständig ausgek.	voll- ständig ausgek.
S 180:		Sehr schwach violett		+		1
S 181 + Pl f Pf:		vgl.		+		1
S 181 + Pl m Pf:		Violett		+		3
S 181 + Pl f Mensch:	Violett	Schwach viol.	+	+	3	2
S 181 + Pl f Rd:	"	Farblos	++	—		
S 181 + Leb Rd:	"	Violett	++	++	6	7
S 181 + Leb Schw:	"	Schwach viol.	++	+	7	2
S 181:		Farblos		—		—
S 182 + Pl f Pf:		"		—		—
S 182 + Pl m Pf:		Schwach viol.		+		2
S 182 + Pl f Mensch:	Farblos	Sehr schwach violett	—	+	—	1
S 182 + Pl f Rd:	"	Violett	—	+	—	4
S 182 + Leb Rd:	Sehr schwach violett	"	+	+	1	4
S 182 + Leb Schw:	Violett	Sehr schwach violett	+	+	4	1
S 182:		Farblos		—		—

Serumprobe 180 der nicht tragenden Stute Lotte baut das völlig ausgekochte Gewebe Placenta foetalis und materna des Pferdes mittelgradig ab. Die Placenta foetalis des Menschen und des Rindes wird weder in nicht völlig ausgekochtem, noch in völlig ausgekochtem Zustande angegriffen. Die in den entsprechenden Versuchsrohrchen aufgetretene schwache Reaktion ist vielmehr auf dialysable Stoffe des Serums zu beziehen, wie die Kontrolle mit Serum allein zeigt. Das Lebergewebe vom Rind wird schwach, das Lebergewebe vom Schwein ziemlich stark angegriffen, dabei ist bei diesen beiden Geweben ein geringer Unterschied zwischen der Stärke der Reaktion des mangelhaft ausgekochten und der des vollständig ausgekochten Gewebes zu konstatieren.

Ergebnis: Da die völlig ausgekochte Placenta foetalis und materna eine im Verhältnis zu der Reaktion des Serums allein ziemlich starke Violettfärbung geben, paradox.

Serumprobe 181 der nicht tragenden schwarzbraunen Stute gibt mit Placenta foetalis des Pferdes eine sehr schwache, mit Placenta materna des Pferdes eine etwas stärkere Reaktion. Mit Placenta foetalis des Menschen gibt das Serum eine schwache Reaktion, und zwar ist wiederum ein geringer Unterschied zwischen nicht völlig ausgekochtem und völlig ausgekochtem Gewebe ersichtlich. Die Placenta foetalis des Rindes wird in nicht völlig ausgekochtem Zustande ziemlich stark, in völlig ausgekochtem Zustande gar nicht angegriffen. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Mit Rücksicht auf die Reaktion mit Placenta des Pferdes allein paradox.

Serumprobe 182 des Wallachs Max gibt mit Placenta foetalis des Pferdes gar keine, mit Placenta materna des Pferdes eine sehr schwache Reaktion. Die Placenta foetalis des Menschen wird gar nicht oder nur äußerst schwach angegriffen. Die Placenta foetalis des Rindes gibt in nicht völlig ausgekochtem Zustande eine, wenn auch nicht starke, so doch deutliche Reaktion. Das Lebergewebe des Rindes wird schwach abgebaut, und zwar ebenfalls in völlig ausgekochtem Zustande stärker als bei unvollständiger Auskochung. Das Lebergewebe des Schweines gibt unvollständig ausgekocht nur noch eine äußerst schwache Reaktion. Das Serum an sich ist frei von dialysablen Substanzen.

Ergebnis: Paradox mit Rücksicht auf die, wenn auch schwache, so doch vorhandene Reaktion mit Placenta materna des Pferdes.

Aus diesen beiden Versuchen lassen sich einige bemerkenswerte Schlüsse ziehen.

Erstens zeigt das Fehlen einer Reaktion bei den Organen allein in Versuch 8, daß die Organe, wenn sie auch bei längerem Kochen an das Kochwasser noch mit Ninhydrin reagierende Stoffe abgeben, doch absolut frei von dialysablen, mit Ninhydrin

reagierenden Stoffen sein können, so daß sie eine Störung der Reaktion nur aus sich selbst heraus nicht bedingen. Im Einklang damit steht die Beobachtung des Versuches 9, daß der Unterschied zwischen der Reaktion des nicht völlig ausgekochten und des völlig ausgekochten Gewebes nur ein geringer war. Es ist allerdings dabei zu berücksichtigen, daß auch das von uns als nicht völlig ausgekocht bezeichnete Gewebe auch schon viele Male ausgekocht worden war. Wenn mithin beim Kochen der Organsubstrate trotz oftmaligen Auskochens noch Spuren von mit Ninhydrin reagierenden Stoffen an das Kochwasser abgegeben wurden, so scheint dies nicht von so ausschlaggebender Bedeutung zu sein, wie immer betont wird.

Dessenungeachtet haben wir, wie ausdrücklich hervorgehoben sei, in allen anderen Versuchen nur Gewebe verwendet, welches, wie durch jedesmalige Prüfung festgestellt wurde, keine durch die Biuret- bzw. Ninhydrinprobe nachweisbaren Stoffe an das Kochwasser mehr abgab.

Versuch 10.

29. Jan. 1914.

S 183: Stute Lotte, nicht tragend, Blutentnahme 29. Jan.

S 184: " Liese, " " 29. "

S 185: Eselstute Käthe, tragend, " 29. "

S 186: Eselhengstfohlen, " 29. "

O: $\frac{1}{2}$ g Pl f Pf

1 g tb Gewebe Rd

SM: 2 ccm.

Einfache (0,2 Ninhydrinlösung auf 10 ccm Dialysat) und verschärfte Ninhydrinprobe (0,4 Ninhydrinlösung auf 7 ccm Dialysat).

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

Ninhydrinprobe	Wert der Reaktion		In Zahlen			
	Einfach	Verschärft	Einfach	Verschärft		
S 183 + Pl:	Stark violett	Sehr stark violett	++	++++	7	15
S 183 + tb Gew:	"	dgl.	+++	++++	8	15
S 183:	Schwach viol.	"	+	++++	2	12
S 184 + Pl:	Violett	"	++	++++	6	12
S 184 + tb Gew:	"	"	++	++++	7	13
S 184:	Schwach viol.	Schwach violett	+	+	2	2
S 185 + Pl:	Violett	Stark violett	+	+++	4	10
S 185 + tb Gew:	"	"	+	+	5	12
S 185:	Sehr schwach violett	Schwach violett	+	+	1	2
S 186 + Pl:	Violett	Stark violett	+	+++	4	10
S 186 + tb Gew:	"	Sehr stark violett	+	++++	5	12
S 186:	Farblos	Schwach violett	—	+	—	2

Serumprobe 183 der nicht tragenden Stute Lotte baut Placenta und tuberkulöses Gewebe stark ab und enthält an sich dialysable Stoffe, was besonders deutlich bei der verschärften Ninhydrinprobe in Erscheinung tritt. Immerhin ist der Unterschied zwischen Serum und Gewebe und Serum allein, besonders bei der einfachen Ninhydrinprobe, so groß, daß man von einer positiven Reaktion sprechen muß.
Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 184 der nicht tragenden Stute Liese baut gleichfalls Placenta und tuberkulöses Gewebe stark ab und enthält an sich dialysable Stoffe in geringer Menge.
Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 185 der tragenden Eselstute Käthe gibt mit Placenta und tuberkulösem Gewebe eine mittelstarke Reaktion und enthält an sich Spuren dialysabler Stoffe.
Ergebnis: Rite.

Serumprobe 186 des Eselhengstfohlens gibt gleichfalls mit Placenta und tuberkulösem Gewebe eine mittelstarke Reaktion. Im Serum an sich sind dialysable Stoffe nur mittels der verschärften Ninhydrinprobe in geringer Menge nachzuweisen.

Ergebnis: Paradox. Im übrigen sei darauf aufmerksam gemacht, daß das Serum der tragenden Eselstute und des Eselhengstes sich ungefähr gleich gegenüber Placenta des Pferdes verhalten haben.

Der Versuch zeigt unter anderem deutlich, daß die Auswahl der Serummenge von Einfluß auf die Reaktion bei Serum allein ist. Während in den früheren Versuchen mit 1,5 ccm Serummenge nur selten das Serum allein eine Reaktion gab, ist in diesem Versuch bei fast allen Seris eine, wenn auch schwache, so doch mehr oder weniger deutliche Reaktion vorhanden.

Versuch 11.

20. Februar 1914.

S 187: Stute Mine, am 16. Febr. gedeckt
 S 188: „ Line, nicht tragend
 S 189: „ Bertha, am 7. Febr. gedeckt } Blutentnahme am 20. Febr. mittags.
 O: je 1 g Pl f Pf und Rd

SM: 1,5 ccm.

Einfache und verschärfte Ninhydrinprobe.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

Ninhydrinprobe	Wert der Reaktion				In Zahlen	
	Einfache	Verschärfte	Einfache	Verschärfte	Einfache	Verschärfte
S 187 + Pl f Pf:	Violett	Stark violett	++	+++	5	8
S 187 + Pl f Rd:	„	„	++	„	5	„
S 187:	Schwach viol.	Violett	+	+	2	3
S 188 + Pl f Pf:	Violett	Stark violett	++	+++	5	8
S 188 + Pl f Rd:	„	„	++	„	5	„
S 188:	„	Violett	+	++	3	5
S 189 + Pl f Pf:	„	„	++	„	5	„
S 189 + Pl f Rd:	„	„	++	„	5	„
S 189:	Schwach viol.	„	+	„	2	„

Alle 3 Serumproben geben mit Placenta foetalis vom Pferd und vom Rind eine mittelstarke Reaktion und enthalten an sich dialysable Stoffe.

Ergebnis: Mit Rücksicht auf das Vorhandensein dialysabler Stoffe im Serum selbst ein non liquet.

Zusammenfassung.

Es wurden im ganzen 33 Serumproben untersucht, von denen 29 von nicht tragenden und 4 von tragenden Pferden bzw. Eseln herührten.

Von den ersten 29 gaben 8 ein richtiges, 19 ein paradoxes Resultat, bei zweien ergab sich ein non liquet.

Bei den 4 von tragenden Tieren stammenden Seris ergab sich 2mal ein „rite“, 2mal ein „non liquet“.

Es stammten also von 21 Serumproben, welche eine positive Reaktion gaben, 2 von tragenden und 19 von nicht tragenden Tieren.

Die Methode lieferte mithin bei tragenden Tieren in 30 Proz., bei nicht tragenden Tieren in 27,5 Proz. der Fälle ein richtiges Ergebnis.

C. Versuche zur Feststellung der Schwangerschaft bzw. Schweinepest bei Schweinen.

Versuch 1.

17. Mai 1913.

S 189: Sau des Instituts, nicht tragend, Blutentnahme am 16. Mai.

S 190: Jungsau des Instituts, nicht tragend.

O: Pl f Schw, 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 189 + Pl: Violett	+	2,5
S 189:	+	2,5
S 190 + Pl: Stark violett	+++	8
S 190:	+++	9
Pl: Farblos "	—	—

Serumprobe 189 einer nicht tragenden Sau gibt sowohl mit Placenta, als auch allein eine mäßige Reaktion, welche auf dialysable Stoffe im Serum zurückzuführen ist.

Ergebnis: Non liquet.

Serumprobe 190 einer nicht tragenden Jungsau gibt mit Gewebe und allein eine starke Reaktion, die gleichfalls auf dialysable Stoffe im Serum bezogen werden muß.

Ergebnis: Non liquet.

Weitere Versuche nach dieser Richtung hin vorzunehmen, war uns keine Gelegenheit geboten. Die übrigen Untersuchungen bei Schweinen erstrecken sich auf den Versuch einer Diagnose der Schweinepest mittels des Dialysierverfahrens.

Versuch 2.

24. Mai 1913.

S 191: Schweinepestimmunserum vom Kaiserl. Gesundheitsamt (karbolisiert).

S 192: Gesundes Ferkel des Instituts, Blutentnahme am 24. Mai.

S 193: " " " " " " 24. "

O: Eines an Schweinepest verendeten Schweines, 1 g.

S M: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 191 + Schweinepestorgan: Stark violett	+++	10
S 191:	+++	9
S 192 + Schweinepestorgan: " "	+++	8
S 192: Violett "	++	6
S 193 + Schweinepestorgan: Stark violett	++	7
S 193: Farblos	—	—

(0,25 ccm Serum, da mehr nicht vorhanden.)

Alle 3 Sera geben mit Schweinepestorgan eine ziemlich starke Reaktion. Die Serumproben 191 und 192 enthalten an sich schon große Mengen dialysabler Stoffe. Bei Serumprobe 193 läßt sich ein Urteil über die Beschaffenheit des Serums allein nicht fällen, da nicht genügend Serum zur Verfügung stand.

Ergebnis: Für alle 3 Sera ein non liquet.

Versuch 3.

30. Mai 1913.

S 194: Ferkel, an Schweinepest erkrankt, getötet, Blutentnahme am 30. Mai.

S 195: Schwein vom Schlachthof, Blutentnahme am 30. Mai.

O: Schweinepestorgan,
Normalorgan vom Schwein,

je 1 g.

S M: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 194 + Schweinepestorgan: Sehr stark violett	+++	12
S 194 + Normalorgan: Stark violett	+++	10
S 194: Violett	++	5
S 195 + Schweinepestorgan: "	+	3
S 195 + Normalorgan: "	++	5
S 195: Farblos	—	—
Schweinepestorgan: "	—	—
Normalorgan: "	—	—

Serumprobe 194 eines schweinepestkranken Ferkels baut sowohl Schweinepestorgan als auch Normalorgan stark ab, die Reaktion mit Schweinepestorgan ist ein wenig stärker als die mit Normalorgan. Das Serum an sich enthält dialysable Stoffe. Immerhin ist der Unterschied in der Reaktion des Serums mit Organ und des Serums allein groß genug, um die Reaktion als positiv erscheinen zu lassen.

Das Ergebnis muß, da die Reaktion auch mit Normalorgan eintritt, als paradox bezeichnet werden.

Serumprobe 195 gibt mit Schweinepestorgan eine schwache, mit Normalorgan eine etwas stärkere Reaktion. Es ist an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Paradox.

Die Organe allein geben keine dialysablen Stoffe ab.

Versuch 4.

3. Juni 1913.

S 196: Aus der Leiche des am 2. Juni an Schweinepest verendeten Ferkels 167 entnommen.

S 197: Gesundes Tier vom Schlachthofe, Blutentnahme am 3. Juni.

O: Schweinepestorgan,
Normalorgan vom Schwein,
je 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 196 + Schweinepestorgan: Stark violett	+++	10
S 196: Farblos	—	—
S 197 + Schweinepestorgan: „	—	—
S 197 + Normalorgan; Stark violett	+++	9
S 197: Farblos	—	—
Schweinepestorgan: „	—	—
Normalorgan: „	—	—

Serumprobe 196 eines schweinepestkranken Ferkels baut Schweinepestorgan ab und ist an sich frei von dialysablen Stoffen.

Ergebnis: Rite.

Wegen Mangels an Serum konnte das Verhalten desselben gegenüber Normalorgan nicht geprüft werden.

Serumprobe 197 eines gesunden Tieres gibt mit Normalorgan eine starke Reaktion, mit Schweinepestorgan und für sich allein dagegen nicht.

Ergebnis: Paradox.

Versuch 5.

23. Juni 1913.

S 198: Des gesunden Ferkels 160.

O: Pl f Schw,
Schweinepestorgan,
Normalorgan,
je 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 198 + Pl f: Violett	++	5
S 198 + Schweinepestorgan: Stark violett	++	7
S 198 + Normalorgan: „	+++	8
S 198: Violett	++	5
Pl f Schw: Farblos	—	—
Schweinepestorgan: „	—	—
Normalorgan: „	—	—

Das Serum gibt sowohl mit Organen als auch allein eine ziemlich starke Reaktion. Mit Schweinepest- und Normalorgan ist die Reaktion etwas stärker

als mit Placenta und bei Serum allein. Das Serum enthält mithin dialysable Stoffe und greift zugleich Schweinepest- und Normalorgan ein wenig an.

Ergebnis: Non liquet.

Die Sera je eines trächtigen und nicht trächtigen Schweines wurden auf placentar-spezifische Stoffe geprüft; beide Male ergab sich ein „non liquet“.

Bei den Seren zweier mit Schweinepest behafteter Tiere bzw. einem Immunserum ergab sich einmal ein „rite“, einmal ein „non liquet“ und einmal ein paradoxes Ergebnis.

Bei 5 Normalserumproben resultierte dreimal ein „non liquet“, zweimal ein paradoxes Ergebnis.

Von 3 Serumproben, welche mit Schweinepestorgan eine positive Reaktion gaben, stammte eines von einem mit Schweinepest behafteten Tiere und 2 von Normaltieren.

Die Methode lieferte mithin bei mit Schweinepest behafteten Tieren in 33,3 Proz., bei Normaltieren in keinem Falle ein richtiges Ergebnis.

D. Versuche zur Feststellung von Schutzfermenten im Rotlaufimmunserum.

Wie erwähnt, hat Abderhalden die Abwehrfermente anfangs Schutzfermente genannt. Sollte es derartige Fermente wirklich geben, so war die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß in Seris, die nachgewiesenermaßen einen hohen Schutzwert haben, solche Fermente vorhanden sein konnten. Besonders geeignet für diesen Zweck mußte das Rotlaufschutz- und Heilserum wegen seiner bekannten Eigenschaften erscheinen.

Für den Versuch dienten 4 Rotlaufsera von bekanntem Titer, die der Leiter des Bakteriologischen und Serum-Instituts zu Landsberg a. W., Dr. Schreiber, für unsere Zwecke frisch entnommen hatte. Weiterhin wurde Serum eines mit Rotlaufserum und Kultur geschützten Schweines sowie Normal-Schweine- und Pferdeserum verwandt.

Versuch vom 18. August 1913.

- | | |
|--|---|
| S 199: Rotlaufserum I,
Titer am 3. Juni 0,015 | } Nicht karbolisiert, aus
dem Seruminstitut
Dr. Schreiber |
| S 200: Rotlaufserum II,
Titer am 5. Juni 0,015 | |
| S 201: Rotlaufserum III,
Titer am 1. Juni 0,01 | |
| S 202: Rotlaufserum IV,
Titer am 7. Mai 0,01 | |
| S 203: Normalserum Pf. | |
| S 204: Serum des gegen Rotlauf durch Serum und Kultur geschützten Schweines. | |
| S 205: Normalschweineserum. | |
| O: Rotlauf-O von Mäusen. | |
| Normal-O " " | |
| Pl f Rd, | |
| Leb Rd, | |
| je 1 g. | |
| S M: 1,5 ccm. | |
| N: 0,2 ccm. | |

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 199 + Rotlauf-O: Violett	++	5
S 199 + Normal-O: "	++	6
S 199 + Pl f Rd: Sehr stark violett	++++	11
S 199 + Leb Rd: " " "	++++	11
S 199: Violett	+	4
S 200 + Rotlauf-O: Sehr stark violett	++++	11
S 200 + Normal-O: " " "	++++	11
S 200 + Pl f Rd: " " "	++++	11
S 200 + Leb Rd: " " "	++++	12
S 200: Violett	+	3
S 201 + Rotlauf-O: Sehr stark violett	++++	12
S 201 + Normal-O: " " "	++++	12
S 201 + Pl f Rd: Violett	++	6
S 201 + Leb Rd: Sehr stark violett	++++	12
S 201: Violett	++	6
S 202 + Rotlauf-O: " "	+	4
S 202 + Normal-O: Stark violett	+++	10
S 202 + Pl f Rd: Violett	+	4
S 202: " "	+	3
S 203 + Rotlauf-O: Stark violett	+++	10
S 203 + Normal-O: " "	+++	10
S 203 + Pl f Rd: " "	+++	10
S 203 + Leb Rd: " "	+++	10
S 203: Violett	+	3
S 204 + Rotlauf-O: Stark violett	+++	10
S 204 + Normal-O: Violett	++	6
S 204: Sehr schwach violett	+	1
S 205 + Rotlauf-O: Stark violett	+++	10
S 205 + Normal-O: " "	+++	10
S 205: Violett	+	4
Rotlauf-O: Farblos	—	—
Normal-O: "	—	—
Pl f Rd: "	—	—

Die Versuche bei allen 7 Seris stimmen darin überein, daß sowohl Rotlauforgan als auch Normalorgan, ebenso wie Placenta und Lebergewebe vom Rind angegriffen werden, und zwar meist sehr stark, und daß ferner die Sera an sich dialysable Stoffe in Mengen enthalten, wie wir sie bei den anderen Versuchen im allgemeinen nicht gefunden haben.

Die Feststellung, daß in den beiden Schweineseris dialysable Stoffe vorhanden waren, steht mit den Ermittlungen bei Gelegenheit früherer mit Schweineserum ausgeführter Versuche im Einklang; hier sind, wie erinnerlich sein dürfte, ebenfalls häufig deutlich nachweisbare Mengen dialysabler Substanzen im Serum vorhanden gewesen. Das Schweineserum scheint sich mithin für Dialysierversuche nicht zu eignen. Wenn in den Immunseris gleichfalls dialysable Stoffe in größerer Menge enthalten waren, so scheint uns dies in Uebereinstimmung mit den bei dem Tollwutimmunpferde Lyssa gemachten Erhebungen zu stehen. Auch das Serum dieses Tieres war durch einen reichen Gehalt sowohl von abbauenden Fermenten als an sich dialysablen Stoffen ausgezeichnet.

E. Versuch zur Feststellung der Rotzkrankheit bei Pforden.

Weiterhin sind einige Versuche gemacht worden, die Diagnose der Rotzkrankheit durch Untersuchung von Serum mit Hilfe der Dialysiermethode zu stellen. Abderhalden hat bekanntlich angegeben, daß auch nach dieser Seite hin (Tuberkulose, Krebs) die Verwendbarkeit

seiner Methoden außer Zweifel stehe. Für die optische Methode ist dies nach den Untersuchungen von Miessner und Immisch¹⁾ sowie den von mir angestellten nicht zutreffend.

Versuch vom 14. August 1913.

- S 206: Pf Laskowski, rotzkrank, } Blutentnahme am
 S 207: Pf Klossowski, " } 13. August
 S 208: Normalserum Pf " }
 S 209: " der Stute Lotte, Blutentnahme am 14. August.
 O: R M I, O. eines mit Rotzkultur infizierten, nach 8 Tagen getöteten Meerschweinchens.
 R M II, O. eines mit Rotzkultur infizierten, nach 14 Tagen getöteten Meerschweinchens.
 M Lg, Lungengewebe eines gesunden Meerschweinchens.
 M O, Leber, Milz, Nieren eines gesunden Meerschweinchens.
 Je 1 g.
 S M: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen	
S 206 + R M I:	Stark violett	++	7
S 206 + R M II:	" "	++	7
S 206 + M O:	" "	+++	9
S 206 + M Lg:	" "	+++	9
S 206:	Violett	+	4
S 207 + R M I:	Stark violett	++	7
S 207 + R M II:	" "	+++	8
S 207 + M O:	" "	+++	10
S 207 + M Lg:	" "	++	7
S 207:	Violett	+	3
S 208 + R M I:	" "	++	6
S 208 + R M II:	Stark violett	+++	10
S 208 + M Lg:	Violett	++	5
S 208 + M O:	Sehr stark violett	++++	11
S 208:	Schwach violett	+	2
S 209 + R M I:	Violett	++	5
S 209 + R M II:	Sehr schwach violett	+	1
S 209 + M Lg:	Violett	++	5
S 209 + M O:	" "	+	4
S 209:	Sehr schwach violett	+	1
R M I:	Farblos	—	—
R M II:	" "	—	—
M Lg:	" "	—	—
M O:	" "	—	—

Die Serumproben 206 und 207 (rotzkrankte Pferde) bauen sowohl die Organe rotzkranker als auch gesunder Meerschweinchens stark ab und enthalten an sich nicht unerhebliche Mengen dialysabler Stoffe.

Normalserumprobe 208, 1 Tag alt, gibt ebenfalls mit allen Organen eine mehr oder weniger starke Reaktion und enthält auch an sich dialysable Stoffe in etwas geringerer Menge als die beiden vorgenannten Sera.

Serumprobe 209 zeigt mit den Organen eines rotzigen und den Organen zweier gesunder Meerschweinchens eine mittelstarke Reaktion, mit den Organen eines rotzigen Meerschweinchens nur eine sehr schwache Reaktion, welche auf dialysable Stoffe des Serums zurückgeführt werden muß, wie die Kontrolle, Serum allein, zeigt.

Das Ergebnis muß bei allen 4 Seris als paradox bezeichnet werden.

1) Miessner, H. u. Immisch, K. B., Die optische Methode und ihre Anwendung in der Serodiagnostik. (Mitteil. d. Kaiser Wilhelm-Instituts f. Landwirtsch. in Bromberg. Bd. 4. 1912. p. 160.)

F. Versuche zur Feststellung der Schwangerschaft bzw. des Krebses bei Menschen ¹⁾.

Versuch 1.

12. Februar 1914.

- S 210: Serum eines krebserkrankten Menschen.
 S 211: Normalserum vom Menschen aus dem städtischen Diakonissenhause, Blut-
 S 212: } entnahme am 12. Februar 1914.
 O: Mammacarcinom vom Menschen,
 tb Gewebe vom Rd,
 je 1 g.
 SM: 1 $\frac{1}{2}$, ccm.

Einfache und verschärfte Ninhydrinprobe.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

Ninhydrinprobe	Wert der Reaktion				In Zahlen	
	Einfach	Verschärft	Einfach	Ver- schärft	Einfach	Ver- schärft
S 210 + Carcinom:	Spur violett	Stark violett	±	+++	0,5	8
S 210:	Farblos	Farblos	—	—	—	—
S 211 + tb Gew:	Sehr schwach violett	Stark violett	+	+++	1	8
Serum allein konnte nicht angesetzt werden, da die Serummenge nicht ausreichte.						
S 212 + tb Gew:	Sehr schwach violett	Stark violett	+	+++	1	8
S 212:	Violett	Violett	+	++	1	5

Serumprobe 210 eines krebserkrankten Menschen gibt mit Carcinomgewebe des Menschen eine allerdings erst bei verschärfter Ninhydrinprobe deutlich in Erscheinung tretende Reaktion, während das Serum an sich völlig frei von dialysablen Stoffen ist.

Ergebnis: Rite.

Leider stand nicht genügend Carcinomgewebe zur Verfügung, um zur Kontrolle Normalserum auf das Gewebe einwirken zu lassen.

Die Prüfung der beiden Normalsera 211 und 212 mit tuberkulösem Gewebe ergab ein non liquet, da bei dem einen Serum keine Kontrolle mit Serum allein angesetzt werden konnte und bei dem anderen das Serum an sich dialysable Substanzen enthielt.

Versuch 2.

18. März 1914.;

Die Versuche zur Feststellung der Schwangerschaft bei der Frau sind ebenso wie die anderen nicht auf die Schwangerschaftsdiagnose bei Tieren bezüglichen in der Absicht angestellt worden, Vergleichsversuche durchzuführen. Nach den vielen in der Literatur vorliegenden Mitteilungen konnte es nicht von der Hand gewiesen werden, daß z. B. die Verhältnisse für die Erkennung der Schwangerschaft bei der Frau anders lägen als bei den Haustieren. So wenig plausibel diese Annahme auch erschien, so nötigten die Verhältnisse doch dazu, durch Versuche auch eigene Feststellungen nach dieser Seite hin zu machen.

S 213: Gravide Frau im 2.—3. Monat der Schwangerschaft, Serum schwach hämolytisch.

S 214: Von einer im 4.—5. Monat graviden Frau.

S 215: Frau mit Lungentuberkulose.

S 216: 60-jähriger Mann mit Verdacht auf Magencarcinom.

S 217: Normalserum eines 20-jährigen Mannes.

1) Die in den folgenden Versuchen verwandten Sera und Tumoren sowie eine Placenta stellten uns in liebenswürdiger Bereitwilligkeit der Chefarzt der inneren Abteilung der städtischen Diakonissenanstalt zu Bromberg, Herr Dr. Lipowski und sein Assistent Herr Dr. Bohl zur Verfügung. Frische Placenten bezogen wir ferner aus der Frauenklinik des Herrn Dr. Queisner zu Bromberg. Diesen Herren sei an dieser Stelle für ihr freundliches Entgegenkommen unser verbindlichster Dank ausgesprochen.

O: Pl f Mensch,
 Pl f Rd,
 tb Gewebe Rd,
 Uterus myom vom Menschen, und zwar
 M I in völlig entblutetem Zustande und
 M II in nicht völlig entblutetem Zustande. Das Gewebe ist nicht schneeweiß, sondern hat einen gelbgrauen Farbenton.

Je $\frac{1}{2}$ g.

S M: $1\frac{1}{2}$ ccm.

N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

	Wert der Reaktion	In Zahlen
S 213 + Pl f Mensch: Sehr stark viol.	+++	10
S 213 + Pl f Rd: Stark violett	++	7
S 213 + tb Gewebe: " "	++	7
S 213 + M I: Violett	+	4
S 213 + M II: " "	++	6
S 213: Schwach violett	+	2
S 214 + Pl f Mensch: Violett	++	5
S 214 + Pl f Rd: " "	++	5
S 214 + tb Gewebe: " "	++	5
S 214 + M I: " "	++	5
S 214 + M II: Stark violett	+++	8
S 214: Violett	+	3
S 215 + Pl f Mensch: Stark violett	+++	8
S 215 + Pl f Rd: " "	++	7
S 215 + tb Gewebe: Violett	+	4
S 215 + M I: Stark violett	++	7
S 215 + M II: " "	+++	8
S 215: Schwach violett	+	2
S 216 + Pl f Mensch: Violett	++	5
S 216 + Pl f Rd: Stark violett	+++	10
S 216 + tb Gewebe: Violett	+	4
S 216 + M I: " "	+	3
S 216 + M II: " "	++	5
S 216: " "	++	6
S 217 + Pl f Mensch: " "	++	5
S 217 + Pl f Rd: " "	+	4
S 217 + tb Gewebe: Schwach violett	+	2
S 217 + M I: Stark violett	++	7
S 217 + M II: " "	++	7
S 217: Violett	+	4

Serumprobe 213 einer graviden Frau baut Placenta vom Menschen stark, Placenta des Rindes, tuberkulöses Gewebe des Rindes und menschliches Myomgewebe etwas schwächer ab und enthält an sich Spuren dialysabler Stoffe.

Ergebnis: Hinsichtlich der Schwangerschaft, wenn man von der Spezifität der Reaktion absieht, rite.

Serumprobe 214 einer graviden Frau baut ebenfalls alle Gewebe ziemlich stark ab und enthält an sich dialysable Stoffe in geringer Menge.

Ergebnis: Non liquet.

Serumprobe 215 einer Frau mit Lungentuberkulose baut alle Gewebe stark ab, am schwächsten das tuberkulöse Gewebe. Das Serum enthält an sich dialysable Stoffe in geringer Menge.

Ergebnis: Paradox.

Serumprobe 216 eines 60-jährigen Mannes gibt überall eine mittelstarke Reaktion, die nur bei Placenta Rind erheblich stärker in Erscheinung tritt. Das Serum enthält also nicht unerhebliche Mengen dialysabler Stoffe, greift aber zugleich Placenta vom Rind an.

Ergebnis: Non liquet.

Serumprobe 217 (Normalserum) gibt ebenfalls in allen Röhrchen eine ziemlich starke Reaktion.

Ergebnis: Da dialysable Stoffe im Serum an sich vorhanden sind, non liquet.

Es wurden 4 Serumproben untersucht, in denen spezifische Fermente vermutet wurden und 4 weitere Proben, hinsichtlich deren dies nicht der Fall war. Bei den 4 nicht spezifischen Proben ergab sich ein „non liquet“, bei den 4 spezifischen Seris resultierte nur einmal ein „non liquet“, in 2 Fällen war das Ergebnis „rite“, in 1 Falle „paradox“.

Die Methode lieferte mithin in 50 Proz. der Fälle ein richtiges Ergebnis.

G. Die Prüfung des Einflusses der Verdauung auf den Fermentgehalt des Blutes.

Als eine der Fehlerquellen bei den Methoden, die für den Nachweis von Abwehrfermenten angewandt werden, wird angegeben, daß Serum von Menschen bzw. Tieren, die eine Mahlzeit eingenommen haben, nicht spezifische Reaktionen ergebe. Es ist daher empfohlen worden, nur das Serum nüchterner Individuen für die Prüfung zu verwenden.

Um zu prüfen, ob und in welcher Weise die Abbaureaktion durch die Verdauungsvorgänge beeinflusst werden, wurden 2 Versuche angestellt, in denen den betreffenden Tieren während 24 Stunden kein Futter verabreicht und in bestimmten Abständen vor und nach der letzten Futteraufnahme Blutproben entnommen und diese untersucht wurden.

Versuch 1.

3., 4. und 5. September 1913.

S 218: Blutentnahme am	3. Sept.,	9 Uhr	vormittags	} Kuh Emma, nicht tragend
S 219: „ „	3. „	1 „	nachmittags	
S 220: „ „	3. „	7 „	„	
S 221: „ „	4. „	8 „	vormittags	
S 222: „ „	4. „	1 „	nachmittags	
S 223: „ „	4. „	6 „	„	

Die Kuh erhält nach der Entnahme der Serumprobe 219 kein Futter mehr bis nach der Entnahme der Serumprobe 221. Die Serumproben 218, 219, 222 und 223 sind mithin während der Verdauung, die Serumprobe 220 ist 7 Stunden und die Serumprobe 221 20 Stunden nach der letzten Futteraufnahme entnommen.

O: Pl f Rd,
 tb Gewebe Rd,
 Leb Gewebe Rd,
 je 1 g.
 SM: 1,5 ccm.
 N: 0,2 ccm.

Ninhydrinreaktion nach 16-stündiger Dialyse.

		Wert der Reaktion	In Zahlen	
3. Sept. 1913	S 218 + Pl:	Violett	++	5
	S 218 + tb Gewebe:	Farblos	—	—
	S 218 + Leb:	Sehr schw. viol.	+	1
	S 218:	Farblos	—	—
	S 219 + Pl:	Schwach violett	+	2
	S 219 + Leb:	Farblos	—	—
	S 219:	Schwach violett	+	2
	Pl:	Farblos	—	—
	Tb Gewebe:	„	—	—
	Leb:	„	—	—
	S 220 + Pl:	Violett	+	3
	S 220 + tb Gewebe:	Schwach violett	+	1
	S 220 + Leb:	„	+	2
	S 220:	Violett	+	4
4. Sept. 1913	S 221 + Pl:	Schwach violett	+	2
	S 221 + tb Gewebe:	„	+	2

		Wert der Reaktion	In Zahlen	
5. Sept. 1913	S 221 + Leb:	Sehr schw. viol.	+	1
	S 221:	Farblos	—	—
	Pl:	"	—	—
	Tb Gewebe:	"	—	—
	Leb:	"	—	—
	S 222 + Pl:	Violett	+	3
	S 222 + tb Gewebe:	"	+	4
	S 222 + Leb:	"	+	4
	S 222:	Sehr schw. viol.	+	1
	S 223 + Pl:	Violett	+	3
	S 223 + tb Gewebe:	"	+	3
	S 223 + Leb:	"	++	6
	S 223:	Sehr schw. viol.	+	1
	Tb Gewebe:	Farblos	—	—
Leb:	"	—	—	

In der Stärke des Abbaues der Placenta zu verschiedenen Zeiten des Verdauungs- bzw. Hungerzustandes ist ein wesentlicher Unterschied nicht festzustellen. Bei dem tuberkulösen und bei Lebergewebe ist ebenfalls durch den Hungerzustand eine Beeinflussung in der Reaktion nicht zu konstatieren, doch ist die Reaktion bei den letzten beiden Serumproben, welche nach der auf den Hungerzustand folgenden ersten Fütterung entnommen sind, ein wenig stärker. Man könnte dies, wenn man dieser geringen Verstärkung der Reaktion überhaupt eine Bedeutung beimessen will, damit erklären, daß infolge des vorangegangenen Hungers die Verdauung bei der nach dem Hungern folgenden Futteraufnahme eine besonders intensive ist. Das Serum an sich enthält in einigen Fällen dialysable Stoffe.

Ergebnis: Eine Gesetzmäßigkeit im Sinne einer Beeinflussung der Reaktion durch Hungern der Tiere läßt sich aus diesem Versuch nicht ableiten.

Versuch 2.

4. und 5. Oktober 1913.

Der Versuch wurde am 4. bzw. 5. Okt. an der Kuh Emma und der Stute Lotte des Instituts, beide nicht tragend, wiederholt.

Beide Tiere erhalten am 3. Okt. mittags 12 Uhr die letzte Mahlzeit und das nächste Futter erst am 4. Okt. mittags 12 Uhr.

Die Blutentnahme erfolgt am 3. Okt. 1 Uhr nachmittags (224 und 231), also 1 Stunde nach der letzten Mahlzeit,

am 3. Oktober	4 Uhr nachmittags	(225 und 232),
" 3. "	7 " "	(226 " 233),
" 4. "	6 " vormittags	(227 " 234),
" 4. "	12 " mittags	(228 " 235),
" 4. "	4 " nachmittags	(229 " 236),
" 4. "	7 " "	(230).

O: Pl f Mensch,
Pl f Rd,
Pl f Pf,
Leb Rd,
tb Gewebe Rd,
je 1 g.

SM: 1,5 ccm.

N: 0,2 ccm.

		224 3. Okt., 1 Uhr nachm.	225 3. Okt., 4 Uhr nachm.
S	Kuh Emma + Pl f Mensch:	Sehr schw. viol. + 1	Violett + 5
S	" " + Pl f Pf:	Farblos — —	Sehr schw. viol. + 1
S	" " + Pl f Rd:	Schwach violett + 2	Violett + 3
S	" " + Leb Rd:	" " + 3	" " + 4
S	" " + tb Gewebe:	" " + 2	Schwach violett + 2
S	" " :	Farblos — —	Farblos — —

		231		232			
		3. Okt., 1 Uhr nachm.		3. Okt., 4 Uhr nachm.			
S	Stute Lotte + Pl f Mensch:	Violett	+	5	Stark violett	+++	8
S	" " + Pl f Pf:	"	+	4	Violett	+	3
S	" " + Pl f Rd:	"	+	4	Stark violett	+++	8
S	" " + Leb Rd:	"			Violett	++	6
S	" " + tb Gewebe:	"	++	6	"	++	6
S	" " :	Stark violett	+++	8	Sehr schw. viol.	+	1

Von den Serumproben der Kuh Emma zeigen die beiden am 3. und 4. Okt. abends 7 Uhr, also jedesmal etwa 7 Stunden nach der Mittagsmahlzeit entnommen, gar keine oder fast gar keine Reaktion.

Hunger.

		226	227	228	229	230						
		3. Oktober, 7 Uhr nachm.	4. Oktober, 8 Uhr vorm.	4. Oktober, 12 Uhr mittags	4. Oktober, 4 Uhr nachm.	4. Oktober, 7 Uhr nachm.						
Farblos	— —	Violett	+	4	Schw. viol.	+	2	Farblos	— —			
"	— —	"	+	4	Farblos	— —	+	2	"	— —		
"	— —	"	+	4	Violett	+	3	"	— —			
Violett	+	3	"	+	4	"	+	3	Violett	+	5	
Sehr schw. violett	+	1	"	+	3	Schw. viol.	+	2	Schw. viol.	+	2	
Farblos	— —	Farblos	— —	Farblos	— —	Farblos	— —	Sehr schw. violett	+	1	"	— —

Hunger.

		233	234	235	236						
		3. Oktober, 7 Uhr nachm.	4. Oktober, 8 Uhr vorm.	4. Oktober, 12 Uhr vorm.	4. Oktober, 4 Uhr nachm.						
Violett	+	4	Violett	++	6	Stark viol.	+++	8	Stark viol.	+++	8
Farblos	— —	"	++	6	Violett	++	6	Violett	++	6	
Violett	+	4	"	+	3	Stark viol.	+++	8	"	+	5
"	— —	"	++	6	Violett	+	3	"	— —	+	4
Schw. viol.	+	2	"	++	6	Farblos	— —	"	— —	— —	
Farblos	— —	Farblos	— —	"	— —	Farblos	— —	Farblos	— —	— —	

Die zu den anderen Zeiten entnommenen Serumproben bauen die Gewebe ziemlich gleichmäßig ab. Der Versuch scheint dafür zu sprechen, daß der Fermentgehalt des Blutes vor der Abendmahlzeit am geringsten ist. Das längere Hungern ruft jedenfalls nicht einen Zustand des Serums hervor, in dem Abbaufemente in ihm nicht vorhanden sind.

Bei der Stute Lotte sind die Reaktionen ebenfalls bei der 7 Stunden nach der Mittagsmahlzeit entnommenen Serumprobe erheblich geringer als vorher. Auch hier treten aber bei den späteren während des Hungerns entnommenen Serumproben wieder starke Reaktionen auf.

Zusammenfassung.

Faßt man das Ergebnis der vorn beschriebenen auf die Dialysiermethode bezüglichen Versuche zusammen, so ergeben sich die nachstehenden Schlußfolgerungen:

Sowohl in dem Serum tragender als auch tuberkulöser Tiere sind Fermente nachweisbar, welche Placentagewebe bzw. tuberkulöses Gewebe abbauen. Diese Fermente sind jedoch nicht streng spezifisch, sondern das Serum gravider Tiere baut auch häufig tuberkulöses Gewebe und, umgekehrt, das Serum tuberkulöser Tiere Placentagewebe ab. Auch andere Gewebe, wie Leber oder die Placenten anderer Tierarten, werden angegriffen.

Auch das Serum nicht tragender und nicht tuberkulöser Tiere zeigt häufig eine Reaktion mit Placentagewebe, tuberkulösen und anderen Gewebsarten.

Das Serum enthält an sich gelegentlich dialysable Substanzen, doch ist ihre Menge meist so gering, daß eine Störung des Versuches nicht dadurch bedingt wird.

Es gibt Gewebe, welche besonders leicht von dem Serum tragender, kranker und auch normaler Tiere beeinflusst werden.

Da wir eingangs eine Schilderung der bisher erschienenen Arbeiten aus dem Gebiete der Veterinärmedizin nicht gegeben haben, halten wir es am Platze, an dieser Stelle eine kurze vergleichende Uebersicht zu geben.

Die ersten Angaben sind die von Abderhalden und Weil¹⁾. Die Verfasser stellten bei der Untersuchung der Sera von 11 tragenden Tieren mittels der optischen Methode eine Drehungsänderung fest; bei den Seris von 18 nicht tragenden Tieren trat keine Aenderung der optischen Aktivität ein. Auch das Dialysierverfahren ermöglicht nach ihren Angaben eine Diagnose der Trächtigkeit bei Tieren. Versuchsreihen werden nicht mitgeteilt.

Ueber bedingungslose Erfolge bei der Anwendung des Dialysierverfahrens zur Erkennung der Trächtigkeit bei 108 Kühen berichtet Schattke²⁾, der in jedem Falle zutreffende, durch die Schlachtung bestätigte Resultate erhielt.

Falk³⁾ glaubt auf Grund der Untersuchung des Blutes zweier Rinder während der ersten 4 Wochen nach dem Kalben das Dialysierverfahren zum forensischen Nachweise des Frischmilchendseins empfehlen zu können. Er fand, daß etwa bis zum 21. Tage nach dem Kalben Abwehrfermente im Serum nachweisbar sind.

In einer jüest erschienenen Arbeit teilt Rehbock⁴⁾ seine an den Seris von 19 nachweislich nicht tragenden und 24 nachweislich tragenden Tieren (Kühen, Stuten, Ziegen), sowie an 9 Fällen aus der Praxis ausgeführten Untersuchungen mit. Er will „bei Anwendung aller Vorsichtsmaßregeln und Vermeidung aller Fehlerquellen immer ein richtiges Ergebnis erzielt“ haben. Doch sind die Versuche an trächtigen Tieren ohne die von Abderhalden als unerläßlich bezeichneten Normalserumkontrollen angesetzt worden. Es läßt sich mithin aus seinen Unter-

1) Abderhalden, E., u. Weil, A., Ueber die Diagnose der Schwangerschaft bei Tieren mittels der optischen Methode und des Dialysierverfahrens. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. p. 665.)

2) Schattke, Die Anwendung des Abderhaldenschen Dialysierverfahrens zur Diagnose der Trächtigkeit bei Tieren. (Zeitschr. f. Veterinärk. 1913. p. 425.)

3) Falk, H., Das Dialysierverfahren nach Abderhalden, eine Methode zur Diagnose des Frischmilchendseins der Kühe. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1913. p. 129.)

4) Rehbock, F., Diagnose der Trächtigkeit bei Pferden, Kühen und Ziegen vermittels des Dialysierverfahrens. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 40. 1914. p. 324.)

suchungen kein Urteil darüber gewinnen, ob nicht die von ihm ausschließlich verwendete Placenta foetalis auch von dem Serum nicht-trächtiger Tiere abgebaut worden wäre. Daß Rehbock vor Beginn seiner Versuche mit den Seren tragender Tiere eine Anzahl Sera nachweislich nicht-trächtiger Tiere untersucht hat, reicht nicht aus, um seine Versuchsanordnung einwandfrei erscheinen zu lassen, zumal er auch in diesen Versuchen oft — allerdings auch bei Serum allein — eine positive Reaktion erhalten hat. In einem Falle von Mumifikation des Foetus bei einer Stute fiel die Abderhaldensche Reaktion negativ aus.

Mießner¹⁾ verwandte die Reaktion mit günstigem Erfolge sowohl zur Erkennung der Schwangerschaft als auch der Druse und der Rotzkrankheit. Nur für die letztere sind einige Versuche angeführt; dieselben erstreckten sich auf ein rotzkrankes und zwei malleinisierte Pferde, welche vom 7.—8. Tage nach der Infektion bzw. Malleinisation an in ihrem Serum Stoffe enthielten, welche Organe eines rotzkranken Meer-schweinchens abzubauen imstande waren. Das Serum eines mit Druse behafteten Pferdes ließ Rotzorgane und das Serum eines rotzkranken Pferdes Druseorgane unbeeinflusst.

Zu nicht ganz uneingeschränkten Erfolgen führten die Untersuchungen von Naumann²⁾, welcher hervorhebt, daß fehlerhafte positive Reaktionen öfter vorkommen als fehlerhafte negative. Nach seiner Vermutung beruhen die Fehler wahrscheinlich (!) auf Hämolyse im Serum.

Untersuchungen größeren Umfanges über die Verwendbarkeit der Methode zur Erkennung der Trächtigkeit bei Rindern sind weiter von Roos³⁾ angestellt worden. Derselbe hat 94 Sera untersucht, von denen 8 von trächtigen Tieren stammten. Als Organsubstrat wurde sowohl Placenta foetalis als auch Placenta materna verwendet. Von den 8 Seren tragender Tiere gaben 6 eine positive, 2 eine negative Reaktion. Von 86 Seren nicht-trächtiger Tiere reagierten 65 völlig negativ, eines reagierte mit Placenta foetalis und mit Placenta materna, 8 mit Placenta foetalis und 12 nur mit Placenta materna.

Es stammte also unter 27 Fällen, in denen Placenta foetalis und Placenta materna oder eine von beiden abgebaut wurden, das Serum in 6 Fällen von trächtigen und in 21 Fällen von nicht-trächtigen Tieren.

Einen völlig ablehnenden Standpunkt nimmt Behne⁴⁾ ein. Er fand außerordentlich häufig eine negative Reaktion bei sicher trächtigen Kühen, obwohl die verwandte Serummenge den verschiedensten Variationen unterworfen wurde, und kommt zu dem Schlusse, daß mit dem Dialysierverfahren eine frühzeitige und sichere Trächtigkeitsdiagnose nicht gestellt werden kann.

1) Mießner, H., Die Anwendung des Dialysierverfahrens nach Abderhalden zur Diagnose der Trächtigkeit und von Infektionskrankheiten. (Dtsche tierärzt. Wochenschr. 1913. p. 417.)

2) Naumann, Experimentelle Beiträge zum Schwangerschaftsnachweis mittels des Dialysierverfahrens nach Abderhalden. (Dtsche med. Wochenschr. 1913. p. 2086.)

3) Roos, De reaktie van Abderhalden, toegepast bij Runderen. (Tijdschr. v. Veeartsenijk. 40. 1913. H. 24; ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Teil II. Ref. Bd. 8 1913. p. 968.)

4) Behne, Läßt sich mit Abderhaldens Dialysierverfahren bei Kühen die Trächtigkeit frühzeitig erkennen? (Centralbl. f. Gynäkol. 1914. No. 2.)

Unter Berücksichtigung dieser in der Veterinärliteratur enthaltenen Angaben und auf Grund unserer Untersuchungen kommen wir zu dem Schlusse, daß der von Abderhalden angegebenen Methode ein praktischer Wert für die Erkennung der Trächtigkeit bei Haustieren nicht zukommt, da bei der Methode ein sehr beträchtlicher Prozentsatz von Fehldiagnosen zu verzeichnen ist, die ihre Ursache nicht in einer fehlerhaften Technik haben, sondern durch das gleichzeitige Mitwirken nicht-spezifischer Abbauvorgänge bedingt sind.

Epikritische Bemerkungen.

Abderhalden hatte bei der Einführung des Dialysierverfahrens erklärt, daß die Methode die Diagnose der Schwangerschaft und vermutlich auch der Infektionskrankheiten in höchst einfacher Weise ermögliche. Dieser Satz ist seither immer mehr eingeengt worden. In der Regel hat Abderhalden, wenn über Fehlergebnisse mittels der Dialysiermethode berichtet wurde, den Nachweis zu führen gesucht, daß Fehler in der Technik diese Ergebnisse erklärten. Die fehlerhafte Beschaffenheit der Dialysierhülsen namentlich, sowie die Verwendung nicht hämoglobinfreien Blutserums sind als Ursache für falsche Ergebnisse bezeichnet worden. Auch der Umstand, daß Kontrollversuche nicht in genügender Anzahl bzw. überhaupt nicht angesetzt wurden, ist für die Erklärung unrichtiger Ergebnisse herangezogen worden. So kritiklos — das wird heute allgemein zugestanden¹⁾ — im Anfang von einzelnen Stellen gearbeitet worden ist, so sorgfältig ist, besonders unter dem Einfluß kritischer Äußerungen Abderhaldens über einzelne Versuchsansteller, später die von Abderhalden angegebene Methodik befolgt worden. In nicht wenigen Veröffentlichungen wird dies ausdrücklich betont; es heißt dort: „Unter strengster Innehaltung der Abderhaldenschen Vorschriften; die Anweisungen Abderhaldens sind buchstäblich befolgt worden etc.“. Ein wahres Kontrollsystem ist eingeführt worden, um Ergebnisse zu erhalten, die wenigstens annähernd den von Abderhalden erzielten gleichen. Hatte dieser doch anfangs²⁾ angegeben, daß die Diagnose der Schwangerschaft mittels der optischen Methode und des Dialysierverfahrens in beispielsweise 75 Fällen ohne Fehlresultat möglich gewesen sei. Dabei ist von Abderhalden mehrfach betont worden, daß auch die Ergebnisse, die mit der optischen Methode erzielt wurden, mit denen des Dialysierverfahrens übereinstimmten. In seiner Polemik gegen Leonor Michaelis führt er dies unter anderem aus³⁾.

Abderhalden hat nun neuerdings sein Urteil über den absoluten Wert der Dialysiermethode eingeschränkt: Auf Grund einer Umfrage an den Universitäts-Frauen-Kliniken Deutschlands und der Schweiz hat er erklärt, daß etwa 1000 Fälle mit gutem Erfolg untersucht worden seien. Der Prozentsatz an Fehldiagnosen habe in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle zwischen 10 und 0 Proz. geschwankt. Prof. v. Harff in

1) Pincussohn hat beispielsweise erklärt: „Es sei mit der Abderhaldenschen Methode dasselbe eingetreten, was in ähnlichen Fällen schon öfter geschehen ist, es sei recht kritiklos darauf los gearbeitet worden“.

2) Abderhalden, München. med. Wochenschr. 1912. p. 1305.

3) Abderhalden, Bemerkungen zu der Arbeit von L. Michaelis und L. v. Lagermarck über die Abderhaldensche Schwangerschaftsdiagnose. (Dtsche med. Wochenschr. 1914. p. 428.)

Basel hat bei dieser Gelegenheit ausdrücklich erklärt, er könne von fast 100 Proz. richtigen Ergebnissen reden.

Auf Grund wie weitgehender Untersuchungen diese Befunde erzielt worden sind, ist vorläufig noch nicht zu übersehen. Jedenfalls werden solche Mitteilungen, so wie sie auch für uns der Antrieb zu immer subtilerem Arbeiten gewesen sind, auch für andere der Anlaß gewesen sein, daß Möglichste anzubieten, um annähernd gleiche Resultate zu erhalten. Das Maß der Kontrollen ist dabei ins Ungemessene gestiegen. Oeller und Stephan¹⁾ fordern nach ihren Erfahrungen mit der Dialysiermethode, wenn späterhin vielleicht (!) klinisch verwertbare Ergebnisse erzielt werden sollen, unbedingt wesentliche Erweiterungen in der Versuchsanlage. Sie gebrauchen schon heute zahlreiche Kontrollen, für die Untersuchung von 5 Seren beispielsweise etwa 80 und mehr Diffusionshülsen, d. h. für die Untersuchung eines Serums etwa 16 Kontrollen. Für umfangreichere Untersuchungen (Diagnose von Infektionskrankheiten) wird die Anwendung des Verfahrens damit illusorisch. Wenn anfangs geglaubt worden ist, daß der Dialysierversuch das non plus ultra an Einfachheit, namentlich gegenüber den serologischen Methoden sei, so werden heute viele, die mit dem Verfahren Untersuchungen angestellt haben, anderer Ansicht seien. Pincussohn²⁾, der als einer der besten Beurteiler der ganzen Frage gelten darf, weil er zusammen mit Abderhalden die Tatsache gefunden hat, daß das Plasma bzw. das Serum eines Tieres, wenn man ihm parenteral artfremdes Eiweiß injiziert, spaltende Eigenschaften gewinnt, die ihm früher nicht zukamen, hat anlässlich eines Vortrages in der Berliner Medizinischen Gesellschaft sich dahin geäußert, daß für die Feststellung der Abwehrfermente immer die „schwierigere“ (gegenüber der optischen) Dialysiermethode gewählt worden ist.

Nach all diesem ist man heute wohl berechtigt, zu sagen, daß es kaum eine zweite biologische Methode gibt, deren Ergebnisse so durch Kontrollen überprüft werden müssen wie das Dialysierverfahren. Dies ist ein Beweis dafür, daß die Methodik als solche Fehlerquellen in sich birgt, von denen es die Frage ist, ob sie vermieden werden können.

Zunächst sollte man dies annehmen; denn die „Abderhalden-Literatur“ hat eine ganze Reihe von Arbeiten gezeitigt, in denen von Fehlergebnissen überhaupt nicht die Rede ist. Nicht wenige Autoren, anfangs die meisten, haben von 100 Proz. richtigen Ergebnissen gesprochen. So dürfte es erklärlich sein, daß alle Forscher mit den hochgespanntesten Erwartungen an diese so weitgehende Aussichten bietende Untersuchungsmethode herangetreten sind. Hatte schon Abderhalden eröffnet, daß sich die Diagnose der Infektionskrankheiten, des Krebses und anderer Leiden mit Hilfe seiner Methoden werde stellen lassen, so wurde diese Annahme Abderhaldens bzw. seine auf Grund weniger Experimente aufgestellte Behauptung durch die Arbeiten anderer Autoren bald aufs nachdrücklichste gestützt. Abderhalden brachte in Gemeinschaft mit Andryewsky³⁾, um nur einige Arbeiten hier zu nennen,

1) Oeller, H. u. Stephan, R., Technische Neuerungen zur Dialysiermethode. (Dtsche med. Wochenschr. 1913. p. 2505.)

2) Pincussohn, L., Blutfermente des gesunden und kranken Organismus und ihre Bedeutung für die Physiologie und Pathologie. (Dtsche med. Wochenschr. 1913. p. 425.)

3) Abderhalden, E. u. Andryewsky, München. med. Wochenschr. 1913. p. 1641.)

den Beweis, daß die Diagnose der Rotzkrankheit möglich sei. Analoge Ergebnisse wurden mit Tuberkelbacilleneiweiß erzielt. Bei Rindern trat ein Abbau der humanen Tuberkelbacillen in keinem Falle (auch nicht, wenn Tuberkulose vorlag), ein solcher der bovinen nur in einzelnen Fällen von Tuberkulose ein. Dagegen wurde Eiweiß bzw. Pepton aus Lungenstücken mit käsiger Pneumonie vom Serum der Rinder mit Lungentuberkulose stets abgebaut. Das gleiche trat aber auch 10mal bei 50 normalen Kontrollen ein.

Abderhalden und Andryewsky haben nicht angestanden, aus diesen Befunden weiterhin Schlüsse für die Therapie zu ziehen bzw. diese anzudeuten. Sie glauben nämlich, daß wenn festgestellt würde, daß die Abwehrfermente eine für den Organismus nützliche Tätigkeit entfalten — der Name Schutzfermente ließ dies zunächst erwarten — auch eine Beeinflussung der Tuberkulose möglich sei.

Auch glauben sie, mit Hilfe der Abderhaldenschen Methode die betrügerische Anwendung des Tuberkulins bei Rindern nachweisen zu können.

Wir sehen, daß hier weite Aussichten eröffnet worden sind! Was die Diagnose der Rotzkrankheit mittels der optischen Methode anlangt, so ist sie, wie erwähnt, Mießner und Immisch¹⁾ — letzterer hat monatelang bei Abderhalden gearbeitet — ebensowenig wie Pfeiler geglückt. Mießner²⁾ (siehe vorn) hat allerdings letzthin angegeben, daß sich die Dialysiermethode für die Feststellung der Rotzkrankheit und der Druse eigne³⁾.

Die übrigen Feststellungen stehen an Wichtigkeit diesen nicht nach. Rubinstein und Julien⁴⁾ haben die Diagnose der Askarideninfektion beim Pferde versucht und in den meisten Fällen richtige Ergebnisse erhalten. Der phantasiebegabte Fauser⁵⁾ hat die Diagnose der Dementia praecox mit Hilfe der Abwehrfermente inauguriert, man hat Fausers Ideen begeistert aufgenommen, und die Literatur verfügt schon über nicht wenige Arbeiten, die sich mit dieser und anderen Fragen aus dem Gebiete der Geisteskrankheiten beschäftigen (Wegener, Fischer, Neue, Kafka, Beyer, Meyer, Theobald). Die Lehre von der Dysfunktion einzelner Organe ist wieder aufgestellt worden, und die spezifische Einstellung der Abwehrfermente auf bestimmte Organe hat den Weg zu einer serologischen Diagnostik der Organfunktionen überhaupt angebahnt (Morbus Basedowii usw.).

Man ist aber noch weiter gegangen. Nur einige Fälle seien hier angeführt, die zeigen, wie weit wir auf diesem interessanten Gebiet in Verfolgung der Ideen Abderhaldens diagnostisch schon gekommen

1) Mießner, H. u. Immisch, K. B., Die optische Methode und ihre Anwendung in der Serodiagnostik. (Mitteil. d. Kaiser Wilh. Inst. f. Landw. Bromberg. 4. 1912. p. 160.)

2) Mießner, H., Die Anwendung des Dialysierverfahrens nach Abderhalden zur Diagnose der Trächtigkeit und von Infektionskrankheiten. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1913. p. 417.)

3) Die Voraussetzungen, unter denen diese Versuchsergebnisse erzielt worden sind, sollen weiter unten noch näher erörtert werden.

4) Rubinstein, W. u. Julien, A., Examen des sérums de chevaux atteints d'arcaridose par la méthode d'Abderhalden. (Compt rend. Soc. Biol. T. 75. 1913. No. 28.)

5) Fauser, Die Serologie in der Psychiatrie. Rückblicke und Ausblicke. (München. med. Wochenschr. 1913. p. 1984.)

sind. v. Hippel¹⁾ hat Studien über die Aetiologie des Keratoconus mit Hilfe der Dialysiermethode getrieben und dabei eine Störung im Stoffwechsel der Drüsen mit innerer Sekretion nachgewiesen. Stets abgebaut wurde die Thymus, entweder ausschließlich oder am stärksten; auch die Nebenniere gab zweimal ein positives Resultat! Obregia und Pitulesco²⁾ sehen auf Grund von Untersuchungen mittels der Dialysiermethode bei Pellagrakranken im Sympathicus dasjenige Organgebiet, das zuerst befallen wird und das wahrscheinlich erst die Dysfunktion der anderen Organe bedingt (Schilddrüse usw.)! Kabanow³⁾ hat die Differentialdiagnose zwischen Ulcus duodeni und Ulcus ventriculi durchgeführt! Derselbe Autor stellt die Diagnose des Asthma bronchiale mittels des Dialysierverfahrens! Wir haben es nach Kabanow mit spezifischen, ablenkenden Fermenten zu tun, nicht mit proteolytischen überhaupt. Nach Lampé⁴⁾, einem Schüler Abderhaldens, ist die Hoffnung erlaubt, durch das Abderhaldensche Verfahren nicht nur eine generelle, sondern auch eine typische Diagnose bei der Tuberkulose, speziell der Lungentuberkulose, zu stellen! Auch prognostisch sollen sich möglicherweise Schlüsse aus den Ergebnissen des Verfahrens ziehen lassen. Nach Lampé scheint sogar eine Unterscheidung Schwertuberkulöser von Leichttuberkulösen durch die Untersuchung des Serums möglich! Denn das Serum Leichttuberkulöser und auch solcher, die klinisch frei von Tuberkulose scheinen, griff im allgemeinen nur Tuberkelbacillen an, während das Serum von Schwertuberkulösen nur normales und tuberkulöses Lungengewebe abbaute. Nach Lampé ist dies so zu erklären, daß im Beginn der Tuberkulose nur die Tuberkelbacillen das Material für den Abbau darstellen, im weiteren Verlauf jedoch bei fortschreitendem Gewebszerfall auch zugrunde gehende Organpartien den Organismus zur Bildung von Abwehrstoffen anregen!

Es ist, wie man leicht erkennen wird, nun nur noch ein Schritt zur tatsächlichen Anwendung der Abwehrfermente für therapeutische Zwecke. Wolff⁵⁾ ist der Ansicht, daß das Serum von Wöchnerinnen Fermente enthält, die imstande sind, schädigende Eiweißstoffe abzubauen. Denn er sah bei einem Fall von Schwangerschaftspruritus, der zuerst intravenös mit dem eigenen Serum, später intraglutäal mit Serum einer gesunden Frau nach 14-tägigem Puerperium behandelt war, einen guten therapeutischen Erfolg. Mit der von Wolff für die Erklärung herangezogenen Annahme stimme überein, daß das Abderhaldensche Dialysierverfahren noch bis zum 14. bis 21. Tage post partum ein positives Resultat gibt!

Wir stellen solchen und ähnlichen Ausführungen [z. B. Rollmann, Erklärung der Verhältnisse bei der Niereneiterung bzw. sympathischen

1) v. Hippel, Zur Aetiologie des Keratoconus. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 16. 1913. p. 273.)

2) Obregia, A. u. Pitulesco, La séro-réaction d'Abderhalden dans la pellagre. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 75. 1913. No. 36.)

3) Kabanow, P. Th., Die Abderhaldensche Reaktion, ihre Beziehung zu den Fragen der inneren Medizin und die Technik ihrer Ausführung. (Russky Wratsch. 1914. p. 101; ref. Zeitschr. f. Immunitätsf. Teil II. Ref. Bd. 8. 1914. p. 8.)

4) Lampé, A. E., Untersuchungen mit Hilfe des Abderhaldenschen Dialysierverfahrens bei Lungentuberkulose. (Dtsche med. Wochenschr. 1913. p. 1774.)

5) Wolff, F., Serumtherapie bei Schwangerschaftstoxikosen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1913. p. 1661.)

Ophthalmie¹⁾], die sich in der Literatur finden, die abwehrenden Bemerkungen Pincussohns²⁾ gegenüber: „Dem sehr großen theoretischen Interesse, das die Abderhaldensche Reaktion für sich beanspruchen darf, steht wahrscheinlich auch ein diagnostischer Wert zur Seite. Um die Resultate aber richtig verwerten zu können, muß man sich klar machen, daß die Reaktion in ihrer reinen Form nur einen gesteigerten Stoffwechsel einer gewissen Zellart anzeigt, daß sie aber durch mancherlei unspezifische Dinge kompliziert werden kann. Selbstverständlich muß man zunächst verlangen, daß die Reaktion richtig ausgeführt wird. Geht man in jedem Sinne kritisch vor, so wird die Reaktion schon heute mancherlei wertvolle Anhaltspunkte geben können. Ihren vollen Wert wird sie aber erst dann offenbaren können, wenn der jetzigen überstürzten Ueberproduktion und der Sucht, möglichst auch einen Brocken von der reichen Beute zu erhaschen, ein Stadium der ruhigen, kritischen Arbeit folgen wird.“

Nun ist hervorgehoben worden, daß nicht einmal für die Schwangerschaftsdiagnose die Verhältnisse so liegen, daß man bereits in der Lage wäre, ein Urteil über den Wert der Methode abzugeben. Kein geringerer als Veit³⁾, der sich in einer „temperamentvollen und stark persönlich gefärbten“ Mitteilung⁴⁾ zugunsten der Abderhaldenschen Feststellungen geäußert hat, hat erklärt: „Die Klinik bestätigt den Wert der Methode. Wir besitzen jetzt in Abderhaldens Methode ein neues Mittel der Erkenntnis selbst früher Schwangerschaft, und für unsere theoretische Arbeit haben wir eine neue Grundlage, auf der wir weiter die normale und pathologische Physiologie der Schwangerschaft studieren werden.“ Aus Ausführungen Aschners⁵⁾, eines Schülers Veits, geht hervor, daß ein definitives Urteil über die Methode von ihm noch nicht gegeben werden kann, obwohl er, in direkter Arbeitsgemeinschaft mit Abderhalden, Gelegenheit hatte, das Verfahren von Grund auf kennen zu lernen. „Es ist für den wissenschaftlichen Arbeiter sehr schwer, zuzugeben, daß man eine Methode noch nicht beherrscht. Ich glaube, daß ich in dem Fall der Abderhaldenschen Reaktion sagen muß, daß ich mir redlich Mühe gegeben habe, mich in die Methode einzuarbeiten und daß ich dem genialen Erfinder für seine Belehrung und Einführung sehr dankbar bin. Wenn ich im ganzen, statistisch berechnet, sagen muß, daß ich 5 Proz. Fehldiagnosen gemacht habe, so will ich zugeben, daß der eine oder der andere Fall davon vielleicht doch noch auf technischen Fehlern beruht, die mir entgangen sind. Bei einigen Fällen habe ich aber doch den Eindruck gewinnen müssen, als ob durch Adnexerkrankungen oder durch Carcinom Stoffe in den Körper hineinkommen, welche eine sehr schwache Reaktion auszulösen imstande zu sein scheinen. Die weitere Verfeinerung der Methode wird voraussichtlich dazu führen, daß die Zahl der Fehldiagnosen sich noch verringern wird.“

1) Rollmann, Beitrag zur Abwehrfermenttheorie. (Dtsche med. Wochenschr. 1913. No. 46.)

2) Pincussohn, Blutfermente des gesunden und kranken Organismus und ihre Bedeutung für die Physiologie und Pathologie. (Dtsche med. Wochenschr. 1914. No. 9. p. 425.)

3) Veit, J., Die Serodiagnostik der Gravidität. (Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 27.)

4) Seligmann, Ref. Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Ref. Bd. 7. 1913. p. 397.

5) Aschner, B., Untersuchungen über die Serumfermentreaktion nach Abderhalden. (Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 27.)

Auf der letzten Tagung der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie in Halle a. S. stand einer überwiegenden Mehrzahl guter Resultate eine Minderheit von nur bedingt zustimmenden oder ungünstigen Resultaten gegenüber. Lichtenstein in Leipzig, A. Mayer in Tübingen, Schlimpert in Freiburg, Schiff in München, Rüksamen in Dresden, zum Teil frühere Assistenten Abderhaldens, berichteten über fast ausnahmslos günstige Resultate. Heimann in Breslau, Schäfer in Berlin, Ebeler in Cöln, Gottschalk in Berlin äußerten sich zustimmend, Freund und Brahm — beide an der ersten Entwicklung der Abderhaldenschen Methoden als Mitarbeiter bzw. Freund nach eigenen Mitteilungen ideell beteiligt —, Werner in Wien und Rosenthal in Budapest hatten dagegen eine große Anzahl von „Versagern“ zu verzeichnen. Am schärfsten drückt sich der Widerspruch, den die Abderhaldenschen Feststellungen gefunden haben, wohl in den Mitteilungen von L. Michaelis und L. v. Lagermarck¹⁾ aus, die erklärt haben, daß sie trotz peinlichster Befolgung der Abderhaldenschen Vorschriften nicht bestätigen könnten, daß „das Serum von Schwangeren sich in irgendeiner erkennbaren, regelmäßigen, praktisch verwertbaren Weise anders verhält als das Serum nicht Schwangerer oder das Serum von Männern“. Michaelis und v. Lagermarck sprechen der Reaktion die Spezifität ab. Nach ihren Untersuchungen sind sie „zu der Ueberzeugung gekommen, daß es nicht an einer Schwierigkeit der Methode liegt, wenn die Abderhaldensche Reaktion bisher im Einzelfall praktisch nicht verwertbar ist, sondern ihre eigenen Untersuchungen haben sie überhaupt nicht überzeugt, daß in dem Serum Schwangerer ein spezifisches Ferment für Placenta von den von Abderhalden beschriebenen Eigenschaften vorhanden ist, das in dem Serum von nicht Schwangeren oder von Männern immer fehlt“.

Es dürfte in der Geschichte der experimentellen Medizin kaum ein zweites Beispiel geben, daß die Ergebnisse der Arbeiten eines Autors bei einer Nachprüfung eine so vielseitige und so widersprechende Beurteilung gefunden haben! Letzten Endes müssen wir uns dem von Michaelis und v. Lagermarck ausgesprochenen Urteil anschließen, obwohl wir uns auf jede erdenkliche Weise, wovon noch weiter unten gehandelt werden soll, bemüht haben, zu diagnostisch einwandfreien Ergebnissen zu gelangen. Es ist nicht möglich gewesen.

Als Erklärung für diesen Umstand können drei Gründe in Frage kommen. Entweder sind die von Abderhalden immer und immer wieder beschuldigten Mängel in der Technik auch uns unterlaufen oder die Technik der Reaktion ist eine so schwierige, daß ihr überhaupt nicht Genüge getan werden kann. Als dritter Grund käme noch der in Frage, ob die Abwehrfermente Abderhaldens überhaupt spezifische Eigenschaften besitzen, d. h. ob überhaupt die Grundlage für die ganze Frage, so wie sie Abderhalden aufgeworfen hat, gegeben ist.

Was die Fehler der Technik anlangt, die wir begangen haben könnten, so glauben wir folgendes sagen zu dürfen:

Eine fehlerhafte Zubereitung der Gewebe kann nicht die Ursache für unsere Fehlergebnisse sein; das beweisen diejenigen Versuche, in denen eine Reaktion mit dem betreffenden Gewebe nicht eingetreten ist.

1) Michaelis, L., u. v. Lagermarck, L., Die Abderhaldensche Schwangerschaftsdiagnose. (Dtsche med. Wochenschr. 1914. p. 316.)

Die Ursache für eine besondere, leichte Beeinflussbarkeit gewisser Gewebe, z. B. der tuberkulösen, dürfte vielmehr, wie dies auch von anderer Seite betont worden ist, in der Konsistenz bzw. Struktur desselben liegen. So scheint uns krankhaft verändertes Gewebe (z. B. tuberkulöses, wie wir es in Form perlsüchtiger Beläge auf Brust- und Bauchfell vom Rind verwandt haben) leichter von den Abbauf fermenten angegriffen zu werden als normales.

Das Lebergewebe an sich besitzt gleichfalls keine besonders kompakte Beschaffenheit und wird durch das intensive Kochen in eine mürbe, leicht zerbröckelnde Masse umgewandelt, die den an sie herantretenden Fermenten ebenfalls nur einen geringen Widerstand leisten dürfte. Für das Lebergewebe wird nun allerdings noch eine andere Ursache angegeben, warum es in so und so vielen Fällen Abbau ergebe. Das blutreiche Lebergewebe soll schwer ganz blutfrei darzustellen sein. Nach Abderhalden und Schiff¹⁾ gaben die Sera von 100 gesunden Pferden, Rindern und Schweinen bei Durchprüfung aller Organe Abbau in 3 Proz. nur mit Leber. Dies soll auf den oben angegebenen Umstand zurückzuführen gewesen sein. In dieser Arbeit geben die beiden Autoren übrigens an — Abderhalden²⁾ hatte früher von 1 Proz. Fehldiagnosen gesprochen —, daß nur in ganz wenigen Prozenten neben Placenta auch das als Kontrolle angesetzte andersartige Organ abgebaut würde. Bei Patienten mit Hämatomen fiel die Reaktion im Gegensatz zu den Untersuchungen von Heilner und Petri³⁾ bei Verwendung blutfreier Organe stets negativ aus. Auch das Serum tragender Kaninchen baute außer Placenta nur bluthaltiges Organgewebe ab. Kurz vorher hatte Abderhalden zusammen mit Weil⁴⁾ angegeben, daß zwar auf Grund der sich mehrenden Angaben von einer Spezifität der Abwehrfermente gesprochen werden müsse, doch sei es denkbar, daß unter Umständen auch eine Vielheit von Abwehrfermenten gebildet werde, wenn im Organismus verschiedene plasmafremde Stoffe ins Blut übertreten, insbesondere sei auch nach künstlicher Zufuhr solcher Stoffe eine strenge Spezifität der Fermente nicht feststellbar.

Was nun den Blutreichtum der von uns benutzten Organe anlangt, so sei darauf hingewiesen, daß der hier zu erhebende Einwand auf unsere Gewebe nicht zutreffen kann. Zweifellos haben wir oft mit Lebergewebe einen Abbau erhalten, der stärker war als der anderer Gewebe. Wir würden uns aber nicht damit einverstanden erklären können, sollte hier der Versuch einer Kritik etwa in dem Sinne einsetzen, daß dadurch unsere Versuchsergebnisse beeinträchtigt worden wären. Denn wir haben sehr oft unter Benutzung des gleichen Leber-

1) Abderhalden u. Schiff, Weiterer Beitrag zur Kenntnis der Spezifität der Abwehrfermente. Das Verhalten des Bluteserums schwangerer Kaninchen gegenüber verschiedenen Organen. (München. med. Wochenschr. 1913. p. 1923.)

2) Abderhalden, E., Weiterer Beitrag zur Frage nach dem Einfluß des Blutgehaltes der Substrate auf das Ergebnis der Prüfung auf spezifisch eingestellte Abwehrfermente mittels des Dialysierverfahrens. (München. med. Wochenschr. 1913. p. 2774.)

3) Heilner u. Petri, Ueber künstlich herbeigeführte und natürlich vorkommende Bedingungen zur Erzeugung der Abderhaldenschen Reaktion und ihre Bedeutung. (München. med. Wochenschr. 1913. p. 1530.)

4) Abderhalden u. Weil, Beitrag zur Kenntnis der Fehlerquellen des Dialysierverfahrens bei serologischen Untersuchungen. Ueber den Einfluß des Blutgehaltes der Organe. (München. med. Wochenschr. 1913. p. 1703.)

bzw. tuberkulösen Gewebes bei Serum, das offenbar die Fähigkeit zum Abbau anderer Gewebe hatte, keine Reaktion erhalten. Das kann für das betreffende Gewebe nur in dem Sinne gedeutet werden, daß es einwandfrei war, auf der anderen Seite aber eine Beschaffenheit hatte, derzufolge es von einzelnen Seren abgebaut werden mußte.

Im übrigen haben wir in besonderen Versuchen gezeigt, daß die Gegenwart geringster Blutreste in den Organen nicht etwa an sich eine Störung der Versuchsergebnisse bedingt, ebensowenig wie es ein absolutes Erfordernis ist, daß das zu untersuchende Serum frei von Blutfarbstoff sein muß. In dieser Beziehung sind unsere Feststellungen bereits durch die anderer Autoren bekräftigt worden [Perkel¹⁾, Roos²⁾]. Wir erklären aber ausdrücklich, daß wir für unsere Versuche hämoglobinfreies Serum gebraucht haben. Einer großen Anzahl von Versuchen anderer Autoren ist die Beweiskraft unter diesem Gesichtspunkte bekanntlich abgesprochen worden. Nicht wenige Untersucher haben, wenn ihnen solche Mängel in der Technik als Versuchsfehler vorgehalten wurden, die gefübte Kritik ohne weiteres hingenommen und nun von einer neuen Fehlerquelle gesprochen.

Als eine weitere wichtige Fehlerquelle ist von jeher die Verwendung nicht geeigneter Hülfsen bezeichnet worden. Es könnte überflüssig erscheinen, hierüber auch nur noch ein Wort zu verlieren. Denn die Verwendung geeigneter Hülfsen ist ein selbstverständliches Postulat. Wer die Praxis der Frage aber kennt, lernt doch über sie anders denken, als daß er nachher geneigt wäre, ein Fehlergebnis mit dem leichthin gesprochenen Wort „fehlerhafte Hülse“ in jedem Falle abzutun. Wir haben ebenso wie andere auch solche Hülfsen angetroffen und sie ausgeschaltet. Aber auch nach der sorgfältigsten Auswahl kamen immer wieder Fehlergebnisse vor. Wir bezogen geeichte Hülfsen von Schoeps, die sich nicht geeigneter erwiesen als unsere alten. Wir haben unsere Schläuche schließlich numeriert und über ihre Brauchbarkeit sehr sorgfältig Buch geführt. Dabei stellte sich, um aus der Reihe unserer Erfahrungen eine anzuführen, heraus, daß plötzlich ein Schlauch bei Verwendung richtig eingestellter Placenta und von Wallachserum in das Dialysat mit Ninhydrin reagierende Stoffe übertreten ließ. Mit einem anderen Schlauch war dies aber auch der Fall, mit einem dritten nicht. Hier wäre nun der Schluß zulässig gewesen, daß die beiden ersten Schläuche nicht geeignet waren, nur der dritte hatte die richtigen Eigenschaften. Weit gefehlt, in späteren Versuchen gaben die gleichen (d. h. die beiden ersten Schläuche) bei Verwendung von Placenta und Serum eines trächtigen Tieres eine positive, Normalserum eine negative Reaktion. Der Schlauch war nunmehr wieder richtig eingestellt, im nächsten Versuche aber nicht mehr. Der dritte Schlauch gab im zweiten Versuch, trotzdem er vorher gerade seine Eignung erwiesen hatte, paradoxe Ergebnisse, in späteren Versuchen wieder richtige usw. Nicht wenige Untersucher werden sich dadurch, daß ihnen der zu diagnostizierende Zustand bekannt war, für die Beurteilung der Geeignetheit der Hülfsen haben beeinflussen lassen. Was blieb schließlich, wenn sonst alles korrekt angesetzt wurde, übrig, als die Hülse zu beschuldigen? Gab

1) Perkel, O. A., Die Serodiagnostik der Schwangerschaft. (Wratsch. Gazeta. 1913. p. 419.)

2) Roos, De reaktie van Abderhalden, toegepast bij Bunderen. (Tijdschr. v. Veeartsenijk. Bd. 40. 1913. Heft 24; ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Teil II. Ref. Bd. 8. 1913. p. 968.)

der nächste Versuch das Ergebnis, das der klinischen Diagnose oder der Anamnese entsprach, so war eben der erste Schlauch ungeeignet, der zweite nicht.

Die Erfahrungen Muchs¹⁾ decken sich hier genau mit den unseren. „Kommt doch sogar bei Schläuchen, die nach Abderhalden als unbrauchbar verworfen werden, wenn man sie versuchshalber prüft, zuweilen eine negative Probe von Schwangerenserum + Placenta vor!“ Wie sehr Abderhaldens lenkende und zugleich warnende Stimme in dieser Beziehung die Meinungen beeinflusst hat, geht vortrefflich aus einigen Worten Miessners²⁾ hervor. Dieser gibt in seiner Mitteilung über die Verwendbarkeit der Dialysiermethode für die Erkennung der Rotzkrankheit an, es seien in seinen Tabellen nur die Resultate angeführt, die sich bei vorschriftsmäßiger Beschaffenheit der Dialysierhülsen ergaben. Danach hat es den überzeugenden Anschein, als ob wirklich mittels des Dialysierverfahrens die Diagnose der Infektionskrankheiten möglich wäre. Was hat nun aber für die Beurteilung der vorschriftsmäßigen Beschaffenheit der Dialysierhülsen entschieden? Offenbar doch nur der Umstand, daß man wußte, die und die Reaktion muß aller Vermutung nach in dem und dem Röhrchen auftreten. Diejenigen Hülsen, in deren Dialysat mit Ninhydrin reagierende Stoffe jetzt vorhanden sind, sind die richtigen, die anderen sind nicht geeignet! Wie soll man, wenn man das Serum eines oder mehrerer Pferde untersucht, entscheiden, ob die Tiere nun rotzkrank sind oder nicht, wenn man bei Benutzung, sagen wir von 2 Hülsen, für jedes Serum + Rotzorgan einmal Blaufärbung im Dialysat erhält, das andere Mal nicht; welche Hülse zeigt nun das richtige Ergebnis an? Wir würden imstande sein, eine Statistik mit 100 Proz. richtigen Ergebnissen aufzustellen, wenn wir alle die Fälle, wo das Ergebnis des Dialysierversuchs mit dem der Anamnese bzw. der klinischen Diagnose übereinstimmte, allein zusammenstellen würden. Die vorhin erörterten Umstände haben uns davon abgehalten!

Es würde ein leichtes sein, auch für die übrigen Fehlerquellen die nötigen Entgegnungen zu finden. Wir haben hier nur die hauptsächlichsten, die schwerer wiegen, gestreift. Die übrigen aber sind vermeidbar (z. B. unrichtiges Kochen). Spielen sie aber doch trotz aller Sorgfalt eine solche Rolle, daß nur wenige die Methodik beherrschen lernen, nicht einmal die, die unter Abderhaldens Augen selbst arbeiten, so können wir die Methodik heute nicht unter die allgemeinen Laboratoriumsmethoden aufnehmen. Damit findet der zweite von uns für die Erklärung der sich widersprechenden Ergebnisse aufgeführte Punkt seine Erledigung. Eine Technik, die derartige Schwierigkeiten bereitet, darf bis auf weiteres als nicht anwendbar bezeichnet werden. Als diagnostisches Verfahren kann nur ein solches praktische Anwendung finden, das in der Hand eines langjährigen Experimentators bei mehrmonatlicher Übung befriedigende Ergebnisse liefert.

Bleibt als dritter und wichtigster Punkt der: Sind die Abwehrfermente spezifisch? Diese Frage, die uns während der Zeit unserer Untersuchungen am lebhaftesten beschäftigt hat, ist inzwischen von vielen Seiten entweder bejaht oder verneint worden!

1) Much, H., Die Immunitätswissenschaft. 2. Aufl. Würzburg (C. Kabitzsch) 1914.

2) Miessner, H., Die Anwendung des Dialysierverfahrens nach Abderhalden zur Diagnose der Trächtigkeit und von Infektionskrankheiten. (Dtsche tierärztl. Wochenschrift. 1913. p. 417.)

Für die Erscheinung, daß die Wirkung der Fermente nicht spezifisch ist, können zwei Erklärungen herangezogen werden.

Erstens könnte man annehmen, daß die Fermente an sich überhaupt nicht spezifisch seien. Zweitens wäre es denkbar, daß neben spezifischen Fermenten häufig noch andere im Blute kreisen, welche die Spezifität der Reaktion stören bzw. verdecken. Der häufig beobachtete nicht-spezifische Ausfall unserer Reaktionen berechtigt uns noch nicht zu dem Schluß, daß es placentar-spezifische Fermente nicht gibt. Wir führen vielmehr die Fehlresultate auf das gleichzeitige Miteingreifen anderer Fermente zurück.

Man muß sich gegenwärtig halten, daß der Körper nur sehr selten in allen seinen Teilen völlig intakt, in allen seinen Funktionsphasen völlig gesund sein wird. Es wird mithin im Organismus immer an irgendeiner Stelle etwas auszubessern sein, wodurch das Auftreten von Fermenten bedingt wird. Gerade bei Rindern sind Abszesse, Echinokokken und dergleichen ein außerordentlich häufiger Befund. Weiterhin ist die große Verbreitung der Tuberkulose in Betracht zu ziehen. Bei unseren Versuchen sind diese Verhältnisse, soweit es sich um Schlacht-tiere handelte, nach Möglichkeit berücksichtigt und das gleichzeitige Vorhandensein derartiger Veränderungen in den Versuchsniederschriften verzeichnet worden. Trotzdem ist es unvermeidlich, daß dem Untersucher kleine Veränderungen auch einmal entgehen können, und nach der früheren Lehre Abderhaldens reichen ja schon so feine Vorgänge wie das Abstoßen von Chorionzottenteilchen (Schmorl, Veit) während der Gravidität aus, um die Bildung von Fermenten auszulösen.

Einen nicht unerheblichen Anteil an der nicht-spezifischen Beeinflussung der Reaktion sprechen wir ferner den Verdauungsvorgängen zu. Der hervorragendste fermentative Prozeß im menschlichen und tierischen Körper ist jedenfalls, soweit sich heute übersehen läßt, der der Verdauung. Die hierbei gebildeten Fermente beeinflussen nach unserer Auffassung nicht unerheblich das Reaktionsbild bei der Dialyse, und zwar so, daß sie bei dem einen oder anderen Individuum mehr oder weniger stark einwirken. Daß es dabei zu absoluten „Fermentphasen“ und fermentfreien Zuständen im Blute kommt, glauben wir nicht. Abderhalden muß die auf die Verdauung zu beziehenden fermentativen Vorgänge gleichfalls als störend ansehen. Denn nach seiner Vorschrift darf nur in nüchternem Zustande Blut entnommen werden. Wir haben durch unsere Hungerversuche an einigen Institutstieren gezeigt, daß eine absolute Gesetzmäßigkeit sich auch hier nicht herauslesen läßt und daß sich die Schwierigkeiten nicht beseitigen lassen, wenn man die Blutentnahme am nüchternen Tier vornimmt.

Als Ursache für die Ungesetzmäßigkeit der Reaktion muß vielmehr die Verschiedenheit der Fermente und ihre verschiedene Affinität zu den für den Dialyserversuch verwandten Substraten angesehen werden. Die Verdauungsfermente z. B. werden je nach der Art und Menge des aufgenommenen Futters qualitativ und quantitativ verschieden sein und werden deshalb das eine Mal ein bestimmtes Organ angreifen, das andere Mal nicht. Möglich, daß sich beim Menschen derartige Einflüsse nicht in so hohem Grade geltend machen, daß sich deshalb die Verhältnisse besser übersehen lassen und daß mithin die Ergebnisse für die Diagnose der Schwangerschaft und gewisser Krankheiten beim Menschen günstiger sind. Uns ist dies aber nicht sehr wahrscheinlich.

Eines aber halten auch wir nach unseren Untersuchungen für sicher: Daß nämlich die Menge der „Abwehrfermente“ im Serum trächtiger Tiere wie Menschen in der Regel eine größere ist als bei nicht-trächtigen Individuen. Dies ließe sich aber, ohne die Notwendigkeit der Aufstellung von Spezifitätsgesetzen — Abderhalden hat jüngst auf Grund seiner Anschauungen schon ein „biologisches“ Gesetz aufgebaut —, zwanglos auf den gesteigerten Stoffwechsel zurückführen, den schwangere Individuen haben. Parssamow¹⁾ erklärt, offenbar in denselben Gedankengängen wie wir, daß die Dialysiermethode bei Graviden fast immer eine positive Reaktion gibt; die Reaktion fällt aber auch bei Nicht-Schwangeren positiv aus; aus diesem Grunde ist sie nicht spezifisch und hat keine praktische Bedeutung in der Geburtshilfe. Im Blute der Schwangeren ist Ferment vorhanden; es übt aber augenscheinlich überhaupt eine proteolytische Wirkung aus.

Heilner und Petri²⁾ haben dies noch präziser formuliert. Nach künstlicher Erzeugung eines Hämatoms treten bei Kaninchen infolge Resorption der in demselben befindlichen Eiweißkörper ebenso wie nach Injektion von arteigenem und individuumeigenem Serum Fermente im Blute auf, die imstande sind, verschiedenartiges arteigenes Gewebe abzubauen, so daß das Serum bei der Dialysierprüfung die Ninhydrinreaktion gibt. Die gemeinsame Grundlage dieser Vorgänge ist die Aufnahme von körper- bzw. arteigenem Eiweiß, das seine chemische Individualität noch gewahrt hat, ins Blut. Die Fermentbildung in der Schwangerschaft stellt nur eine physiologische Variation dieser unter den verschiedensten pathologischen Voraussetzungen möglichen Vorgänge dar (Quetschung, Hunger, Fieber, Infektionskrankheiten, Carcinom, Kachexie, Verbrennung usw.). Die Abderhaldensche Reaktion wird demnach in der Schwangerschaft zwar stets positiv ausfallen, ist aber gleichwohl nicht für diese beweisend. Sie wird vielmehr auch bei Nicht-Schwangeren beim Eintritt obiger Voraussetzungen auftreten. Die gebildeten Fermente vermögen neben anderen Geweben auch Placenta abzubauen. Die bisherige Anschauung von der Organspezifität der auftretenden Fermente, insbesondere der Schwangerschaftsfermente gegenüber Placenta muß aufgegeben werden. Bei dem in der kürzesten Zeit nach der Injektion arteigenen und artfremden Eiweißmaterials erfolgenden Auftreten entsprechender Fermente kann es sich nicht um die Neubildung, sondern nur um Aktivierung bzw. „Arteinstellung“ einer schon vorhandenen Fermentvorstufe handeln.

Nicht anders spricht sich Kjaergaard³⁾ aus: „Der Unterschied, der durch die Abderhaldensche Reaktion zwischen Graviden und Nicht-Graviden nachgewiesen werden kann, ist von quantitativer Natur: Durch Modifikationen in der Versuchsaufstellung kann man nachweisen, daß jedes Serum Placentagewebe gegenüber proteolytische Fähigkeit besitzt. Man muß deswegen bei den Versuchen großes Gewicht auf die quantitativen Verhältnisse legen: a) Auf die Reaktionszeit, b) auf die

1) Parssamow, O. S., Die biologische Diagnostik der Gravidität. (Wratsch. Gazeta. 1913. No. 20 u. 21; ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Teil II. Ref. Bd. 7. 1913. p. 535.)

2) Heilner u. Petri, Ueber künstlich herbeigeführte und natürlich vorkommende Bedingungen zur Erzeugung der Abderhaldenschen Reaktion und ihre Deutung. (München. med. Wochenschr. 1913. p. 1530.)

3) Kjaergaard, S., Ueber Abderhaldens Graviditätsreaktion, ihre Methodik und Spezifität, Untersuchungen von gesunden Frauen post- und prämenstruell. (Zeitschrift f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 22. 1914. p. 31.)

Menge von Placenta, c) auf die Menge und die Konzentration des Serums. Bei Dialyseversuchen erhält man eine genauere Beurteilung der proteolytischen Fähigkeit durch Aufstellung einer Reihe von Versuchen mit steigender Dialysezeit. Während der Gravidität findet eine bemerkbare Erhöhung der proteolytischen Fähigkeit statt, indem Serum von graviden Frauen durchgehends bedeutend stärker reagiert als das von normalen Individuen (Männer und Frauen). Indessen gibt es eine Reihe von Leiden (z. B. Cancer, febrile Salpingiten, Achylie, Metrorrhagie etc.), bei denen die proteolytische Fähigkeit erhöht werden kann, so daß Serum von solchen Patienten kräftiger reagieren kann, als die am schwächsten abbauenden Sera von Graviden. Der diagnostische Wert der Methode muß von diesen Erfahrungen ausgehend beurteilt werden. Von größter Bedeutung ist der Nachweis geringer proteolytischer Fähigkeiten; gibt ein Serum bei 16-stündiger Dialyse keine Reaktion, so spricht dies stark gegen progressive Gravidität. Ein positiver Ausfall dieser Probe kann dahingegen durch andere Zustände als Gravidität verursacht sein und ist deswegen von weit geringerem diagnostischem Wert. Die normal erscheinende proteolytische Fähigkeit ist bei Frauen zyklischen Schwingungen von Menstruation zu Menstruation unterworfen mit Steigerungen im prämenstruellen Stadium. Die prämenstruelle Steigerung gibt Anlaß zu Reaktionen wie bei Gravidität und spielt daher eine praktische Rolle neben der theoretischen Bedeutung, die sie möglicherweise für die Erklärung der erhöhten proteolytischen Fähigkeit während der Gravidität hat.“

Kjaergaard hat im übrigen auch festgestellt, daß die proteolytische Kraft des Serums im prämenstruellen Stadium, also außerhalb der Schwangerschaft, außerordentlich gesteigert ist, so daß sie denselben Grad wie in ihr erreichen kann. Es braucht daher die Erhöhung der proteolytischen Kraft in der Gravidität nicht die Folge eines Ueberganges von fötalen Stoffen auf die Mutter zu sein. Auch nach Bijleveld¹⁾ tritt die Fermentwirkung bei Gravidität wie unter anderen Umständen, nur schneller und intensiver hervor, alle Sera, auch die von Nicht-Schwangeren, sind, bei fortgesetzter Dialyse, imstande, Placenta-eiweiß abzubauen.

Eine Persönlichkeit wie Much²⁾, die in allen Dingen einen philosophisch weitsichtigen Standpunkt einzunehmen sich bestrebt, ist den Autoren, die mit der Feststellung der Unspezifität der Reaktion die ganze Lehre Abderhaldens haben in sich zusammenstürzen sehen, kürzlich entgegengetreten, mit Ausführungen, die bei dem heutigen Stande der Frage eine Beachtung verdienen. Much negiert auch den praktisch-diagnostischen Wert der Dialysiermethode. Nach seinen in Gemeinschaft mit M. Fraenkel angestellten Untersuchungen wurden bei Schwangeren in den meisten Fällen placentarspezifische Stoffe gefunden. Außer Placenta wurden aber, genau wie in unseren Versuchen, in vielen Fällen noch andere Organe abgebaut. Nach Much spräche das noch nicht gegen die Brauchbarkeit des Verfahrens; es könnte ja eine Störung besonderer Organverrichtungen vorliegen und gleichzeitig Schwangerschaft bestehen. Aber auch Much hat beobachtet, daß das Serum von Männern positive Ausschläge mit Placenta gab. Das Serum Krebskranker

1) Bijleveld, J. W., De zwangerschapsreaction von Abderhalden. [Dissert.] Leiden 1913.

2) Much, H., Die Immunitätswissenschaft. 2. Aufl. Würzburg (C. Kabitzsch) 1914.

baut häufig Krebszellen, häufig aber auch Sarkomzellen und Organe ab. Hirn wird fast immer abgebaut, Schilddrüsenabbau findet man bei Basedowscher Krankheit und Myxödem, aber auch bei vielen anderen Krankheiten (Dementia praecox, Paranoia). Thymusabbau findet sich bei Rhachitis, beim Status thymolymphaticus, aber, wie kürzlich übrigens auch Helene Deutsch¹⁾ publiziert hat, auch beim Gesunden Läßt man jedes Serum auf eine große Reihe verschiedener Zellen wirken, so findet man immer gegen die eine oder die andere Art einen Abbau Also ein Wirrwarr, der sich durch unzureichende Technik nicht erklärt. Much ist, trotzdem sich die diagnostische Verwertung des Verfahrens in einzelnen Krankheitsfällen nicht aufrecht erhalten läßt, der Ansicht, daß die bisher gemachten Erfahrungen dennoch, und zwar unter einem anderen und höheren Gesichtspunkte, zu Recht bestehen könnten. „Vielleicht weisen die Verfahren Abderhaldens nicht nur abgestimmte, sondern auch unabgestimmte Stoffe nach.“ Gewiß ist dies ein höherer Gesichtspunkt, er negiert aber die Möglichkeit jeder diagnostischen Feststellung. Es bleibt nichts übrig, als mit Much anzuerkennen, daß die „großen Grundlinien, unter denen Abderhalden seine Lehre aufgestellt hat, richtig sind und daß die Lehre von dem eigenen Stoffwechsel jeder einzelnen Zelle und von der Störung blutfremder Zellerzeugnisse uns glücklich gefördert hat“.

Much spricht bei seinen Betrachtungen die Vermutung aus, daß durch das Abderhaldensche Verfahren kaum Fermente, wohl aber physikalisch-chemische Kräfte nachgewiesen werden. Henri de Waele²⁾ ist auf Grund experimenteller Arbeiten der Lösung dieser Frage nachgegangen. Nach ihm liegt die Spezifität der Reaktion „nicht in der Multiplizität der Fermente, sondern in der physikalischen Wirkung auf den Lösungszustand der Serumglobuline; dieselbe wird veranlaßt entweder auf nicht-spezifische Weise durch anorganische Substanzen oder auf spezifische Weise durch korrespondierende Antigene. Die Reaktion ist mit dem Präzipitations- bzw. Agglutinationsphänomen zu vergleichen und hat in ihrer Spezifität dieselbe Ausdehnung und Grenzen. Das Hauptphänomen bei der Reaktion ist eine spezifische partielle Fällung. Hierauf folgt immer eine Globulinolyse, bedingt durch das anwesende Antithrombin, und gerade durch die Globulinolyse wird das Hauptphänomen mit Hilfe der Abderhaldenschen Technik offenbar.“ Nach Friedemann und Schönfeld³⁾ ist eine Verknüpfung der Hypothese des Eiweißabbaues mit der Absorptionshypothese auf Grund ihrer Untersuchungen angebahnt.

Wir sehen, daß damit neue Gedankengänge über die Abderhalden-Reaktion gegeben sind, die einer weiteren Ueberprüfung ebenso bedürfen, wie die von Steising⁴⁾ auf Grund der Reaktivierbarkeit der Sera aufgestellte Behauptung, daß die Annahme einer Ambozeptornatur des Abderhalden-Ferments den Tatsachen aufs genaueste entspricht und daß somit die Zugehörigkeit dieses Ferments in die Klasse der Bakterio-

1) Deutsch, H., Erfahrungen mit dem Abderhaldenschen Dialysierverfahren. Abbau von Thymusgeweben durch Normalserum. (Wien. klin. Wochenschr. 1913. p. 1492.)

2) de Waele, H., La réaction d'Abderhalden est une globulinolyse. (Zeitschr. f. Immunitätsf. Teil I. Orig. Bd. 22. 1914. p. 170.)

3) Friedemann, U., u. Schönfeld, A., Zur Theorie der Abderhaldenschen Reaktion. (Berlin. klin. Wochenschr. 1914. p. 348.)

4) Steising, Ueber die Natur des bei der Abderhaldenschen Reaktion wirksamen Ferments. (München. med. Wochenschr. 1913. p. 1535.)

Cyto- und Proteolysine keinem Zweifel unterliegt. Wir haben eingangs dieser Arbeit erwähnt, wie groß die Analogien seien zwischen gewissen Immunitätsvorgängen und den Anschauungen, die Abderhalden für die Wirkung seiner Fermente entwickelt hat [vgl. auch W. L. Goss¹⁾, Die Infektion und Immunität als fermentative Prozesse (Fermenttheorie der Immunität): Alle Immunitätsreaktionen sind verschiedene Erscheinungsformen ein und desselben Grundprinzips. Dasselbe läßt sich zurückführen auf gegenseitige Adsorption der Antigenfermente und der Fermente des tierischen Organismus unter Mitbeteiligung oder auch ohne Mitbeteiligung der Antifermente (Immunine)]. Im Gegensatz zu der von Steising vertretenen Ansicht haben Frank und Rosenthal²⁾, was der Vollständigkeit wegen hier erwähnt werden soll, ebenso wie andere Autoren, die Unabhängigkeit der proteolytischen Schutzfermente von den spezifischen Immunkörpern aus ihrem verschiedenen zeitlichen Auftreten und Verschwinden im Organismus, aus ihrer Wirksamkeit in verschiedenen Verdünnungsgraden des Serums usw. abgeleitet. Wir halten einen solchen Streit noch für müßig, da nach unserer Ansicht die Gegenwart wirklicher, spezifisch eingestellter Abwehrfermente noch nicht einwandfrei erwiesen ist.

Wir müssen uns daher mit Abderhaldens Mitarbeiter und Schüler Pincussohn auf den Standpunkt stellen, daß es vorläufig noch nicht möglich ist, bezüglich der Diagnostik der verschiedenen Krankheiten mittels des Dialysierverfahrens und der optischen Methode irgenwie festen Fuß zu fassen.

1) Goss, W. L., Monographie. St. Petersburg 1911.

2) Frank u. Rosenthal, Experimentelle Untersuchungen über die Spezifität der proteolytischen Schutzfermente (Abderhalden). (München. med. Wochenschr. 1913. p. 1425.)

Inhalt.

Distaso, A., Beiträge zum Studium der Konstipation. Die Umwandlung einer normalen Flora in vitro in eine typische konstipierte Flora, p. 507.
Paul, Gustav, Zur Differentialdiagnose der Variola und der Varicellen. Die Erscheinungen an der variolierten Hornhaut des Kaninchens und ihre frühzeitige Erkennung, p. 519.
Petruschky, J., Bakteriologische Befunde bei Flecktyber, p. 497.

Pfeiler, W., Standfuß, E. u. Boepke, Erika, Ueber die Anwendung des Dialysierverfahrens für die Erkennung der Trächtigkeit. Versuche zur Erkennung der Tuberkulose und anderer Infektionskrankheiten der Haustiere, p. 525.
Stanziale, Rodolfo, Neue Untersuchungen über die experimentellen leprösen Läsionen des Kaninchenauges, p. 498.

Am 9. April d. J. entschlief nach längeren Leiden der
Mitherausgeber des Centralblattes für Bakteriologie etc.

Herr Geh. Obermedizinalrat

Prof. Dr. Friedrich Loeffler

**Direktor des Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“
in Berlin, Mitglied des Reichsgesundheitsrates.**

Wir verlieren in dem Dahingeschiedenen eine um unsere
Zeitschrift hochverdiente Kraft und einen wirklich edlen
Freund, dem wir ein bleibendes dankbares Andenken be-
wahren werden. Eine eingehende Würdigung der Verdienste
des unvergeßlichen Forschers behalten wir uns vor.

Berlin u. Jena, den 12. April 1915

Redaktion und Verlag

des

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

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 75 enthaltenen Arbeiten.

- Andriewsky, P.**, L'ultrafiltration et les microbes invisibles. 90
- Ball, Oskar**, Veränderungen der Bakterien im Tierkörper. IX. Ueber die Korrelation zwischen Kapselbildung, Sporenbildung und Infektiosität des Milzbrandbacillus. 159
- Berlin, H.**, Die Serodiagnose der Pest mit Hilfe der Präzipitationsmethode nach Ascoli. 467
- Bruynoghe, R.**, Le bacille de la pasteurellose des lièvres. 36
- Ciurea, Joan**, Un Echinostome dans l'intestin du porc. 392
- Clarke, J. Jackson**, Chromidia and Cancer. 200
- Davis, Lewis**, A Study of the "Tellurite Reaction" with the Colon-Typhoid Group and other Organisms. 180
- Distaso, A.**, Beiträge zum Studium der Konstipation. Die Umwandlung einer normalen Flora in vitro in eine typische konstipierte Flora. 507
- Donges**, Ueber die agglutinatorische Kraft des Serums nach überstandener Typhusinfektion. 174
- Dudtschenko, J. S.**, Ueber die Bedingungen, welche Polfärbung, Polymorphismus und eine eigentümliche Art von Involutionformen bei den pestähnlichen Bacillen hervorrufen. 264
- v. Eisler, M. und Löwenstein, E.**, Immunisierung mit Tetanustoxin-Antitoxingemischen. 348
- Gaechtgens, W.**, Beitrag zur Bakteriologie der Meningitis. 41
- Galli-Valerio, B.**, Notes de parasitologie et de technique parasitologique. 46
- , Zur Verwendung des Ozons für Luftdesinfektion. 93
- Goebel**, Ueber einen atypischen Typhusstamm. 376
- Gózony, L.**, Remarks upon the paper by P. H. Hadley, R. Bryant and M. Elkins on capsuleformation in bacteria of the septicaemia-haemorrhagica group. 21
- Günther, K.**, Ueber das von Conradi angegebene Verfahren der elektiven Züchtung von Diphtheriebacillen durch Ausschütteln mit Kohlenwasserstoffen. 485
- Hall, J. Walker and Nicholls, F.**, Earlier indications of gas formation by coliform organisms, with description of a modified fermentation tube. 140
- Hewlett, R. Tanner and Revis, Cecil**, On the presence of so-called "complement" in milk. 337
- Hoesen, H. W. a. Swellengrebel, N. H.**
- Hull, Thomas G. and Rettger, Leo F.**, The influence of milk and carbohydrate feeding on the intestinal flora of white rats. 219
- Jimbo, Kotaro**, Ueber die Verbreitung einer Art von *Trichostrongylus orientalis* n. sp., als Darmparasiten des Menschen in Japan. 53
- Kobayashi, Harujiro**, On the Life-History and Morphology of *Clonorchis sinensis*. 299
- Löwenstein, E. s. v. Eisler, M.**
- Löwy, Otto**, Bilden Choleravibrionen Hämotoxine? 319
- Marras, Francesco**, Ueber die Einzigartigkeit und Polyvalenz des Trypsins, studiert mit der Präzipitations- und Komplementablenkungsmethode. 194
- Matsuda**, Ueber Trockenerhitzung von Immunserum. 83
- Matsui, Jiushiro**, Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. X. Versuche über die Widerstandsfähigkeit kapselhaltiger und kapselloser Milzbrandbacillen. 394
- Messerli, Fr.**, Contribution à l'étude de l'étiologie du goître endémique. Goîtres expérimentaux produits chez des rats blancs par alimentation avec de l'eau d'une zone à goître. 211
- Mittel, Hans**, Untersuchungen über latente Infektion der Leber und Milz tuberkulöser Schlachtrinder; ein Beitrag zur fleischbeschaulichen Beurteilung tuberkulöser Tiere. 113
- Miyaji, S. s. v. Prowazek, S.**
- Nicholls, F. s. Hall, J. Walker.**
- Obno, K.**, Paratyphusbacillen ohne Gasbildungsvermögen. 288
- Paul, Gustav**, Zur Differentialdiagnose der Variola und der Varicellen. Die Erscheinungen an der variolierten Hornhaut des Kaninchens und ihre frühzeitige Erkennung. 518
- Petruschky, J.**, Bakteriologische Befunde bei Fleckfieber. 497
- Pfeiler, W., Standfuß, R., und Roepke, Erika**, Ueber die Anwendung des Dialysierverfahrens für die Erkennung der Trächtigkeit. Versuche zur Erkennung der Tuberkulose und anderer Infektionskrankheiten der Haustiere. 525

- v. Prowazek, S., und Miyaji, S., Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus. 144
- Prilbram, Karl, Bemerkung zu S. v. Prowazeks Arbeit: „Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus“. 158
- Renaux, E., Le microbe de Bordet et Gengou, agent étiologique de la coqueluche. 197
- Rettger, Leo F. s. Hull, Thomas G.
- Revis, Cecil s. Hewlett, R. Tanner.
- van Riemsdijk, M., Ueber die bakteriologische Diphtheriediagnose und die große Rolle, welche Bacillus Hofmanni dabei spielt. 229
- Roepke, Erika s. Pfeller, W.
- Salzmann, M., Ein Beitrag zur Bakterienmutation. 105
- Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. Helminthen und Protozoen. XVIII. Mitteilung. 205
- Schiemann, Ueber die Wirkung des Salvarsans auf Rotlaufbacillen in vivo und in vitro. 365
- Serkowski, St., Bacillus s. Granulobacillus putrificus nov. sp. 1
- Simonini, A., Einwirkung der seltenen Erden auf Bakterien. Zweite Mitteilung. 398
- Skrjabin, K. J., Beitrag zur Kenntnis einiger Vogelcestoden. 59
- Sonne, Carl, Ueber die Bakteriologie der giftarmen Dysenteriebacillen (Paradysenteriebacillen). 408
- Spagnollo, Giuseppe, Die Leishmaniose bei Menschen und Hunden. Studium des Krankheitsgebietes. 294
- Spiegelberg, Rudolf, Diphtheriebacillen beim Geflügel. 273
- Standfuß, R. s. Pfeller, W.
- Stanziale, Rodolfo, Neue Untersuchungen über die experimentellen leprösen Läsionen des Kaninchenauges. 498
- Swellengrebel, N. H., und Hoesen, H. W., Ueber bei der Diagnose der Rattenpest Schwierigkeiten bereitende Bakterien. 456
- Szász, Alfred, Ein billiger Nährboden (Bouillon) aus Blutkuchen. 489
- Toennlessen, E[rich], Ueber die Agglutination der Kapselbacillen. Untersuchungen über die Bedeutung der einzelnen Bestandteile der Bakterienzelle für die Agglutininzeugung und für den Vorgang der Agglutination. 329
- , Erich, Ueber Vererbung und Variabilität bei Bakterien. Weitere Untersuchungen über die Fluktuation, insbesondere über ihre Entstehungsweise, ihre Erbllichkeit und ihre Bedeutung für die Artbildung. 97
- Uémura, H., Untersuchungen über milzbrandähnliche Bacillen. 21
- Weinfurter, Franz, Experimentelle Typhusbacillenträger bei Kaninchen. 379
- Zettnow, E., Ein in Normal-Schwefelsäure wachsender Fadenpilz. 369
- , Eine Gallertbildung in javanischem Zuckersaft. 374

II. Sachverzeichnis.

- | | | | |
|---|----------|--|--------|
| Aberhaldens Dialysierverfahren und Krebsdiagnose. | 572 | Agglutination des Bac. pseudodiphtheriae. | 259 |
| — — und Rotzdiagnose. | 571 | — — typhi nach überstandener Typhusinfektion. | 174 |
| — — zur Schwangerschaftsdiagnose bei Haustieren. | 525 | — der Kapselbakterien. | 329 |
| — — — beim Menschen. | 572 | — des Pneumococcus. | 176 |
| — — zur Schweinepestdiagnose. | 567 | — des Staphylococcus pyog. aureus. | 176 |
| — — zur Tuberkulosediagnose bei Rindern. | 530 | — des Vibrio cholerae | 176 |
| Abottina psegma, Wirt von Clonorchis sinensis. | 300 | Anas, Wirt von Davainea cyrtus. | 67 |
| Abwehrfermente s. a. Dialysierverfahren Aberhaldens. | 569 | Ankylostomum duodenale, Vorkommen. | 54 |
| — im Rotlaufimmenserum. | 569 | Anomotaenia socialis, Beschreibung. | 76 |
| Acheilognathus cyanostigma, Wirt von Clonorchis sinensis. | 300 | Anoplocephalidae, Beschreibung. | 59 |
| — lanceolatum, Wirt von Clonorchis sinensis. | 300 | Aporina alba, Beschreibung. | 62 |
| — limbatum, Wirt von Clonorchis sinensis. | 300 | — fuhrmanni n. sp., Beschreibung. | 59 |
| Acoleidae. | 79 | Argas persicus, Verbreitung, geograph. | 46 |
| Agglutination des Bac. diphtheriae. | 256. 275 | — — var. miniatus, Verbreitung, geograph. | 47 |
| — — dysenteriae. | 176 | Arthropoden, Widerstandsfähigkeit. | 52 |
| — — —, giftarmen. | 411 | Ascaris lumbricoides-Eier, Widerstandsfähigkeit. | 51 |
| — — paratyphi. | 291 | — —, Vorkommen. | 54 |
| | | Auge, Bindehautentzündung, durch Granulobacillus putrific. verura. | 12. 18 |
| | | — Hornhaut, Variola-Infektion beim Kaninchen. | 518 |

- Auge, Lepra-Infektion beim Kaninchen. 498
 Azur, Reduktion durch Vaccinevirus. 146
 Azurblau zur Protozoenfärbung. 53
 Bacillus acidi lactici, Tellurreaktion. 186
 — — —, Wirkung von Tellurkalium. 181
 — acidophilus und Kohlehydrat-Nahrung bei weißen Ratten. 222
 — — und Milch-Nahrung bei weißen Ratten. 221
 — anthracis ähnliche Bakterien, Eigenschaften. 21
 — — — —, Hämolyse 31
 — — — —, Kapselbildung 27
 — — — —, Eigenschaften. 24
 — — — —, Kapselbildung. 27
 — — — —, Sporenbildung und Infektiosität. 159
 — — — —, Widerstandsfähigkeit kapselhaltiger und kapselloser. 394
 — anthracoides, Eigenschaften. 23
 — — — —, Hämolyse. 31
 — — — —, Kapselbildung. 27
 — bifidus und Kohlehydrat-Nahrung bei weißen Ratten. 222
 — — und Milch-Nahrung bei weißen Ratten. 221
 — Bordet-Gengou, Keuchhusten, Rolle bei demselben. 197
 — — — —, Komplementbindung. 197
 — bulgaricus, Wirkung auf die Darmbakterienflora bei weißen Ratten. 224
 — cholerae suis, Tellurreaktion. 186
 — — — —, Wirkung von Tellurkalium. 182
 — cloacae, Tellurreaktion. 185
 — — — —, Wirkung von Tellurkalium. 183
 — coli, Gasbildung. 140
 — — — —, Tellurreaktion. 184
 — — — —, Wirkung von Ozon. 95
 — — — —, Wirkung von Tellurkalium. 181
 — — — —, Wirkung von Thor. 404
 — diphtheriae s. a. Diphtherie. 256. 275
 — — — —, Agglutination. 256. 275
 — — — — u. Bac. pseudodiphtheriae, Vergleich. 232
 — — — —, Differentialdiagnose von Granulobac. putrificus. 14
 — — — — beim gesunden und kranken Geflügel. 273
 — — — —, Kulturelles. 235. 485
 — — — —, Morphol. 232
 — — — —, Nachweis mittels Ausschütteln mit Kohlenwasserstoffen. 485
 — — — —, Pathogenität für Geflügel. 286
 — — — —, Säurebildung. 237
 — — — —, Pfeiffersche Serumreaktion. 252
 — — — —, Virulenz und Toxizität. 239
 — — — —, elekt. Züchtung durch Ausschütteln mit Kohlenwasserstoffen. 485
 — dysenteriae, Agglutination. 176
 — — — —, giftarmer, Agglutination. 411
 — — — —, —, Bakteriol. 408
 — — — —, —, Gärung 411
 — — — —, —, Kulturelles 423
 — — — —, —, Tellurreaktion 187
 — — — —, —, Wirkung von Tellurkalium 183
 Bacillus dysenteriae, Wirkung von Thor. 399
 — — — — enteritidis, Tellurreaktion. 185
 — — — — —, Wirkung von Tellurkalium 181
 — — — — hofmanni, Rolle bei d. bakteriol. Diphtheriediagnose. 229
 — — — — icteroides, Tellurreaktion. 187
 — — — — —, Wirkung von Tellurkalium. 182
 — — — — influenzae ähnliche Bakterien bei Meningitis. 42
 — — — — — bei Meningitis. 42
 — — — — lactis aerogenes, Tellurreaktion. 185
 — — — — —, Wirkung von Tellurkalium 181
 — — — — mesentericus, Hämolyse. 31
 — — — — —, Kulturelles. 23
 — — — — mucosus capsulatus, Tellurreaktion 184
 — — — — —, Wirkung von Tellurkalium. 181
 — — — — paracoli, Tellurreaktion. 186
 — — — — —, Wirkung von Tellurkalium. 181
 — — — — —, Paratyphenterie-, Agglutination. 411
 — — — — —, —, Bakteriol. 408
 — — — — —, —, Gärung. 411
 — — — — —, —, Kulturelles. 423
 — — — — — paratyphi, Agglutination. 291
 — — — — — ohne Gasbildungsvermögen. 288
 — — — — —, Tellurreaktion. 185
 — — — — —, Wirkung von Tellurkalium. 182
 — — — — —, Wirkung von Thor. 406
 — — — — — der Pasteurellose der Hasen. 36
 — — — — —, pestähnlicher, Involutionsformen. 264
 — — — — —, Polfärbung. 264
 — — — — —, —, Polymorphismus. 264
 — — — — — pneumoniae, Fluktuation. 99
 — — — — —, Gasbildung 144
 — — — — —, —, Modifikation. 98
 — — — — —, —, Mutation. 98
 — — — — —, —, Tellurreaktion. 186
 — — — — —, —, Variation. 97
 — — — — —, —, Wirkung von Tellurkalium. 181
 — — — — — proteus s. Proteus.
 — — — — — pseudodiphtheriae s. a. Bacillus hofmanni.
 — — — — —, Agglutination. 259
 — — — — —, Differentialdiagnose von Granulobac. putrificus. 14
 — — — — —, Kulturelles. 235
 — — — — —, —, Morphol. 232
 — — — — —, —, Rolle bei d. bakteriol. Diphtheriediagnose. 229
 — — — — —, —, Säurebildung. 237
 — — — — —, —, Pfeiffersche Serumreaktion. 252
 — — — — —, —, Virulenz und Toxizität. 239
 — — — — —, Pseudodysenterie-, Agglutination. 411
 — — — — —, —, Bakteriol. 408
 — — — — —, —, Gärung 411
 — — — — —, —, Kulturelles 423
 — — — — — putrificus s. Granulobacillus putrificus.
 — — — — — pyocyaneus bei Meningitis. 42
 — — — — — rhinoscleromatis, Tellurreaktion 186.
 — — — — —, Wirkung von Tellurkalium. 181
 — — — — —, Rotlauf-, Wirkung von Salvarsan. 365
 — — — — —, Schweinepest-, Tellurreaktion. 185
 — — — — —, —, Wirkung von Tellurkalium. 182
 — — — — — smegmatis var. muris n. sp., Beschreibung. 49
 — — — — — tetani s. a. Tetanus.
 — — — — —, Toxin, Bindung durch Kaolin 359

Bacillus tetani, Toxin, Bindung durch Leberzellen.	358	Buceros seratogynina, Wirt von Davainea emperus.	69
— tuberculosis s. a. Tuberkulose.		Bucorax cafer, Wirt von Chapmania unilateralis.	72
— — bei Meningitis.	41	Calliphora erythrocephala, Wirt von Herpetomonas calliphorae.	50
— typhi s. a. Typhus abdominalis.		Carassius auratus, Wirt von Clonorchis sinensis.	300
— —, Agglutination nach überstandener Typhusinfektion.	174.	Cephalosporium acremonium, Kulturelles. Morpholog.	369
— —, Atypie.	376	— — in Normal-Schwefelsäure wachsend.	372
— —, Tellurreaktion.	185	Ceratophyllus fasciatus, Verbreitung, geographische.	47
— — -Träger, exper., bei Kaninchen	379	Cestoden, Vogel-	59
— —, Wirkung von Tellurkalium.	182	Chapmania unilateralis n. sp., Beschreibung.	72
— —, Wirkung von Thor.	402	Charadrius cantianus, Wirt von Gyrocoelia brevis.	81
— vulgatus, Wirkung von Ozon.	95	— minor, Wirt von Progynotaenia fuhrmanni	79
— zoppii, Tellurreaktion.	187	Cholera s. a. Vibrio cholerae.	
— —, Wirkung von Tellurkalium.	182	— -Immunserum, Trockenerhitzung.	84
Bacterium mobile mutans n. sp. im Harne bei Cystitis.	105	Chromidien und Krebs.	200
— — — n. sp., Kulturelles.	110	Cittotaenia columbae n. sp., Beschreibung.	64
— — — n. sp., Morphol.	105	— kuvaria, Differentialdiagnose von C. columbae.	66
— — — n. sp., Mutation.	105	Clonorchis sinensis, Differentialdiagnose.	315
Bakterien, Agglutination.	329	— —, Entwicklung.	299
— Artbildung.	97	— —, Morphologie.	308
— -Flora des Darmes bei Konstipation.	507	— —, Vorkommen.	300
— — — des Darmes weißer Ratten, Einfluß von Bac. bulgaricus.	224	Coccidien, Geschwülste, Rolle bei denselben	207
— — —, Einfluß von Kohlehydrat-Nahrung.	222	Coccidiose der Leber.	208
— — —, Einfluß von Milch-Nahrung.	221	Columba, Wirt von Cittotaenia columbae.	64
— — — der Faeces bei Konstipation.	507	Conjunctivitis s. Auge, Bindehautentzündung.	
—, Fluktuation.	97	Ctenophthalmus agyrtus, Verbreitung, geographische.	47
—, Gasbildung.	140	Cypselus apus, Pseudotuberkulose.	47
—, Kapsel-, Agglutination.	329	Cysticercus, Magengeschwulst, Ursache derselben.	208
—, Kapsel-, Variabilität und Agglutination.	330	— fasciolaris, Geschwülste, Rolle bei denselben.	209
—, Kapselbildung.	159	Darm-Bakterienflora, Einfluß von Bacillus bulgaricus bei weißen Ratten.	224
—, Modifikation.	97	— —, Einfluß von Kohlehydrat-Nahrung bei weißen Ratten.	222
—, Mutation.	97. 105	— —, Einfluß von Milch-Nahrung bei weißen Ratten.	221
—, Pseudomilzbrand s. Bacillus anthracoides.		— — bei Konstipation.	507
— der hämorrhag. Septikämie, Kapselbildung.	21	Darm, Echinochasmus perfoliatus in demselben beim Schweine.	392
—, Tellurreaktion.	180	—, Trichostrongylus orientalis in demselben.	53
—, Variabilität.	97	Davainea cyrtus n. sp., Beschreibung.	67
—, Veränderungen im Tierkörper.	159. 394	— emperus n. sp., Beschreibung.	69
—, Vererbung.	97	— galeritae n. sp., Beschreibung.	70
—, Vorkommen im Harne.	105	— laticanalis n. sp., Beschreibung.	66
—, Wirkung seltener Erden.	398	— paradisea, Beschreibung.	71
—, Wirkung von Ozon.	94	Desinfektion, Luft-, mit Ozon.	93
—, Wirkung von Tellurkalium.	180	Dialysierverfahren Abderhaldens	zur Krebsdiagnose.
—, Wirkung von Thor.	398	— — zur Rotzdiagnose.	572
Bakteriolyse des Bac. diphtheriae u. B. pseudodiphtheriae.	252		571
Biwia zezera, Wirt von Clonorchis sinensis.	300		
Blut, Fermentgehalt und Verdauung.	574		
Blutkörperchen, rote, des Frosches, Eindringen von Lankesterella in dieselben.	210		
Blutkuchen zu Nährböden.	489		
Bodo ovatus bei Lagopus mutus, Beschreibung.	50		
Bothriocephalus latus, Eier, Widerstandsfähigkeit.	51		
Bouillon aus Blutkuchen.	489		

- Dialysierverfahren Abderhaldens zur Schwangerschaftsdiagnose bei Haustieren. 525
 — — zur Schwangerschaftsdiagnose beim Menschen. 572
 — — zur Schweinepestdiagnose. 567
 — — zur Tuberkulosediagnose bei Rindern. 530
- Dilepinidae. 74
- Diphtherie s. a. *Bacillus diphtheriae*.
 —, Diagnose, bakteriol. 485
 —, Diagnose, bakteriol., und die Rolle des *Bac. Hofmanni*. 229
 — Geflügel-, s. Geflügel-Diphtherie.
 — und Geflügel-Diphtherie, Beziehungen. 273
 — -Immunserum, Trockenerhitzung. 85
- Diplococcus intracellularis*, Weichselbaum, Meningitis, Ursache derselben. 41
- Distomum spathulatum*, Vorkommen. 55
- Echinochasmus perfoliatus* im Darne des Schweines. 392
- Eier von Eingeweidewürmern, Rolle in der Geschwulstetiologie. 206
 — — —, Widerstandsfähigkeit. 51
- Eiterung, durch *Granulobacillus putrificus* verursacht. 11
- Enzyme. Abwehr- s. Abwehrfermente.
 — des Blutes und Verdauung. 574
- Erden, seltene, Wirkung auf Bakterien. 398
- Erhitzung, Trocken-, von Immunserum. 83
- Esel, Schwangerschaftsdiagnose mittels Abderhaldens Dialysierverfahrens. 558
- Fadenpilz in Normal-Schwefelsäure wachsend. 369
- Faeces, Fäulnis, Bakteriol. 508
 — bei Konstipation, bakteriologische Untersuchung. 507
- Färbung pestähnlicher Bakterien. 264
 — von Protozoen mit Azurblau (Bram). 53
- Fäulnis der Faeces, Bakteriol. 508
- Falconidae, Wirte von *Uncinaria trichocirrosa*. 74
- Fermente s. Enzyme.
 —, Abwehr- s. Abwehrfermente.
 —, Schutz- s. Abwehrfermente.
- Filtration, Ultra-, des Hühnerpestvirus. 90
- Filtration, Ultra-, unsichtbarer Mikroben. 90
- Fische, Wirte von *Clonorchis sinensis*. 300
- Fleckfieber s. Typhus exanthematicus.
- Fleisch-Beschau. 113
- Fluktuation bei Bakterien. 97
- Gärung durch giftarme Dysenteriebacillen. 411
- Gärungsröhrchen. 141
- Galerita macrorhyncha*, Wirt von *Davainea galeritae*. 70
- Galle, Wirkung auf das Vaccinevirus. 151
- Gallenblase, Typhusbacillen in derselben beim Kaninchen. 379
- Gallertbildung im javanischen Zuckersaft durch *Microc. djokjakartensis*. 374
- Gallwespen und Geschwülste. 207
- Gas, *Bac. paratyphi* ohne Gasbildungsvermögen. 288
- Gas, Bildung durch coliähnliche Bakterien. 140
 —, — durch *Pneumobacillus*. 144
- Geflügel, *Bac. diphtheriae* bei demselben. 273
- Geflügeldiphtherie und menschliche, Beziehungen. 273
- Geschwülste, Aetiologie und Biologie. 205
 —, Coccidien, Rolle bei denselben. 207
 —, durch Glugea-Parasiten verursacht. 210
 —, Magen-, *Cysticercus* als Ursache derselben. 208
 — bei Pflanzen. 207
 —, Protozoen, Rolle derselben. 207
 —, Würmer, Rolle derselben. 205
- Glugea, Geschwülste, Ursache derselben. 210
- Granulobacillus putrificus* n. sp., Bindehautentzündung, Ursache ders. 12. 18
 — — —, Differentialdiagnose. 14
 — — —, Eitererreger. 11
 — — —, Färbung. 2
 — — —, Kulturelles. 2
 — — —, Morphol. 1
 — — —, Pathogenität. 11
 — — —, Physiol. 4
 — — —, Symbiose. 5
 — — —, Vorkommen. 1
- Guarnierische Körperchen in der Hornhaut des Kaninchens. 518
- Gyrocoelia brevis*, Beschreibung. 81
- Haematopinus eurysternus*, Verbreitung, geographische. 47
 — suis, Verbreitung, geographische. 47
 — tuberculatus, Verbreitung, geographische. 47
- Haematopota pluvialis*, Wirt von Ziliaten. 50
- Hämolyse durch *Bac. anthracoides*. 31
 — durch *Bac. mesentericus*. 31
 — durch Milch. 337
- Hämotoxine, Bildung durch *Vibrio cholerae*. 319
- Harn, *Bact. mobile mutans* in demselben. 105
- Harnblase und *Trichodes crassicauda* specifica bei Ratten. 206
- Hasen-Pasteurellose, Erreger, Eigenschaften. 36
 —, Pseudotuberkulose. 47
- Haustiere, Trächtigkeitserkennung mittels Abderhaldens Dialysierverfahrens. 525
- Herpetomonas calliphorae*, Beschreibung, Vorkommen. 50
 — *pyrrhocoris* n. sp.. Beschreibung, Vorkommen. 50
- Hoden, Vaccine-Infektion beim Kaninchen. 150
- Hühnerpest-Virus, Ultrafiltration. 90
- Hunde, Leishmaniose. 294
- Hymenolepis flamingo* n. sp., Beschreibung. 77
- Japan, Leberdistomatose, durch *Clonorchis sinensis* verursacht. 299
 —, *Trichostrongylus orientalis* im menschlichen Darne. 53

Immunisierung mit Tetanustoxin-Antitoxin-		Leukocyten und Vaccinevirus.	147
gemischen.	348	Lophius piscatorius, Gangliongeschwulst,	
— mit Vaccinevirus.	151	durch Glugea-Parasiten verursacht.	210
Immunsrum, Trockenerhitzung.	83	Luft-Desinfektion mit Ozon.	93
Infektionskrankheiten, Diagnose mittels		Magengeschwulst, Cysticercus als Ursache	
Abderhaldens Dialysierverfahrens bei		derselben.	208
Haustieren.	525	Melophagus ovinus, Verbreitung, geograph.	
Isospora bigemina, Beschreibung, Vor-		kommen.	47
kommen.	51	Meningitis, Bakteriologie.	41
Ixodes ricinus und Mus silvaticus.	53	Meningococcus, Meningitis, Ursache der-	
Kala-azar s. Leishmaniose.		selben.	41
Kaninchen, Lepra-Infektion am Auge.	498	Menschen, Leishmaniose.	294
—, experim. Typhusbacillenträger.	379	—, Schweinerotlauf.	48
—, Vaccine-Infektion des Hodens.	150	Methylenblau, Reduktion durch Vaccine-	
—, Variola-Infektion der Hornhaut.	518	virus.	146
Kaolin, Tetanustoxinbindung.	359	Micrococcus djokjakartensis n. sp., Gallert-	
Kapsel-Bakterien, Agglutination.	329	bildung in javanischem Zuckersaft.	374
—, Variabilität und Agglutination.	330	— — —, Kulturelles, Morphol.	375
Kapsel, Bildung bei Bac. anthracis ähn-		— smegmatis var. muris n. sp., Beschrei-	
lichen Bakterien.	27	bung.	49
—, Bildung bei Bakterien der hämorrhag.		Milch, Hämolyse.	337
Septikämie.	21	—, Komplement in derselben.	337
Keuchhusten, Bac. Bordet-Gengou, Rolle		Milchnahrung, Wirkung auf die Darm-	
desselben.	197	bakterienflora weißer Ratten.	221
Knospen und Gallwespen.	207	Milz, Tuberkulose.	113
Körper, Veränderungen der Bakterien in		Milzbrand s. Bacillus anthracis.	
demselben.	394	Mus silvaticus, Vernichtung von Zecken.	
Körperchen, Guarnierische, in der Hornhaut			52
des Kaninchens.	518	Mutation bei Bakterien.	97. 105
Kohlehydrat-Nahrung, Wirkung auf die		Nährboden aus Blutkuchen.	489
Darmbakterienflora weißer Ratten.	222	Necator americanus, Eier, Widerstands-	
Kohlenwasserstoffe zur elektiven Züchtung		fähigkeit.	51
von Diphtheriebacillen.	485	— —, Vorkommen.	54
Komplementbindung mit Bacillus Bordet-		Neutralrot, Wirkung auf die Vaccine-	
Gengou.	197	infektion beim Kaninchen.	150
— zur Trypsinuntersuchung.	193	Normal - Schwefelsäure, Cephalosporium	
— zur Typhusbacillenträgerschaftsdiagnose		acremonium in derselben wachsend.	372
beim Kaninchen.	386	Oxyuris vermicularis, Vorkommen.	55
Komplement in Milch.	337	Ozon zur Luftdesinfektion.	93
Konstipation, bakteriolog. Untersuchungen.		—, Wirkung auf Bakterien.	94
	507	Paracheilognathus rhombeum, Wirt von	
Krebs und Chromidien.	200	Clonorchis sinensis.	300
—, Diagnose mittels Abderhaldens Dialy-		Paradysenterie-Bacillus s. Bacillus, Para-	
sierverfahrens.	572	dysenterie.	
Kropf, endemischer, und Wasser.	211	Parasitologie, Bemerkungen, Technik.	46
Kupfervitriol-Lösung, Penicillium glaucum		Pasteurella der Hasen, Eigenschaften.	36
in derselben.	373	Pasteurellose der Hasen, Erreger, Eigen-	
Lagopus mutus, Wirt von Bodo ovatus		schaften.	36
	50	Pediculus pubis, Widerstandsfähigkeit.	52
Lankesterella, Eindringen in Froschblut-		Penicillium glaucum, in Kupfervitriol-	
körperchen.	210	lösung.	373
Leber, Coccidiose.	208	Pentan zur elekt. Züchtung von Diphtherie-	
—, Distomatose in Japan, durch Clonorchis		bacillen.	487
sinensis verusacht.	299	Pepsin, Wirkung auf Vaccinevirus.	145
—, Tetanustoxinbindung.	358	Perdix, Wirt von Davainea laticanal. 66	
—, Tuberkulose.	113	Pertussis s. Keuchhusten.	
Laelaps agilis, Verbreitung, geographische.		Pest, Diagnose mittels Präzipitation.	467
	46	—, Diagnose mittels Serums.	467
Leishmaniose bei Hunden.	294	—, Hühner- s. Hühnerpest.	
— bei Menschen.	294	—, Ratten-, Diagnose, bakteriolog., bei der-	
Lepra, Augeninfektion beim Kaninchen.		selben Schwierigkeiten bereitende Bak-	
	498	terien.	456
Leucogobio güntheri, Wirt von Clonorchis		Petroläther zur elekt. Züchtung von Diph-	
sinensis.	300	theriebacillen.	487
— mayedae, Wirt von Clonorchis sinensis.		Pferde, Rotz, Diagnose mittels Abderhaldens	
	300	Dialysierverfahrens.	571

- Pferde, Schwangerschaftsdiagnose mittels Abderhaldens Dialysierverfahrens. 558
- Pflanzen, Geschwülste. 207
- Phoenicopterus antiquorum, Wirt von *Hymenolepis flammigera*. 77
- Phthirus s. Pediculus.
- Pilz, Faden- s. Fadenpilz.
- Pipetten-Gestell. 53
- Plasmodiophora brassicae, Geschwülste, Ursache derselben. 209
- Pneumococcus, Agglutination. 176
- , Meningitis, Ursache derselben. 41
- Präzipitation zur Pestdiagnose. 467
- zur Trypsinuntersuchung. 193
- Progynotaenia fuhrmanni n. sp., Beschreibung. 79
- Proteus vulgaris, Tellurreaktion. 185
- , Wirkung von Tellurkalium. 183
- Protozoen, Färbung mit Azurblau (Bram). 53
- , Geschwülste, Rolle bei denselben. 207
- , parasitäre. 49
- Pseudodysenterie-Bacillus s. Bacillus, Pseudodysenterie.
- Pseudomilzbrandbakterien s. Bacillus anthracoides.
- Pseudoperilampus typus, Wirt von Clonorchis sinensis. 300
- Pseudorasbora parva, Wirt von Clonorchis sinensis. 300
- Pseudotuberkulose bei Cypselus apus. 47
- bei Hasen. 47
- Pyrrhocoris apterus, Wirt von Herpetomonas pyrrhocoris. 50
- Ratten, Bac. smegmatis var. muris bei denselben. 49
- Ratten-Pest, bakteriolog. Diagnose, bei denselben. Schwierigkeiten bereitende Bakterien. 456
- Ratten, Trichodes crassicauda specifica in der Harnblasenschleimhaut, Geschwulstbildung. 206
- , weiße, Bac. bulgaricus, Wirkung auf die Darmbakterienflora. 224
- , weiße, Kohlehydratnahrung und Darmbakterienflora. 222
- , weiße, Kropf, experiment. 211
- , weiße, Milch-Nahrung und Darmbakterienflora. 221
- Rhipicephalus sanguineus, Verbreitung, geograph. 47
- Rinder, Schwangerschaftsdiagnose mittels Abderhaldens Dialysierverfahrens. 530
- , Tuberkulose. 113
- , —, Diagnose mittels Abderhaldens Dialysierverfahrens. 530
- Rotlauf-Bacillen, Wirkung von Salvarsan. 365
- Rotlauf-Immunserum, Schutz(Abwehr-)fermente in demselben. 569
- Rotz, Diagnose mittels Abderhaldens Dialysierverfahrens. 571
- Saccharomyces guttulatus, Verbreitung, geographische. 46
- Säure, Bildung durch Bacillus diphtheriae. 237
- Säure, Bildung durch Bac. pseudodiphtheriae. 237
- Salvarsan, Wirkung auf Rotlaufbacillen. 365
- Sarcocheilichthys variegatus, Wirt von Clonorchis sinensis. 300
- Schistosomum japonicum, Vorkommen. 55
- Schlachtrinder, Tuberkulose. 113
- Schwangerschaft, Diagnose mittels Abderhaldens Dialysierverfahrens bei Haustieren. 525
- , Diagnose mittels Abderhaldens Dialysierverfahrens beim Menschen. 572
- Schwefelsäure, Normal-, Cephalosporium acremonium Corda in derselben wachsend. 372
- Schweine, Echinochasmus perfoliatus im Darms derselben. 392
- , Schwangerschaftsdiagnose mittels Abderhaldens Dialysierverfahrens. 567
- Schweinepest-Bacillus, Tellurreaktion. 185
- , Wirkung von Tellurkalium. 182
- , Diagnose mittels Abderhaldens Dialysierverfahrens. 567
- Schweinerotlauf, Uebertragung auf den Menschen. 48
- Serum, Cholera-Immun-, Trockenerhitzung. 84
- , Diphtherie-Immun-, Trockenerhitzung. 85
- , hämolyt., Trockenerhitzung. 86
- , Immun-, Trockenerhitzung. 83
- , Rotlauf-Immun-, Abwehrfermente in demselben. 569
- Serumbehandlung des Tetanus. 348
- Serumdiagnose der Pest. 467
- Staphylococcus pyogenes albus, Wirkung von Ozon. 95
- aureus, Agglutination. 176
- Staphylokokken bei Meningitis. 42
- Streptococcus lanceolatus s. Pneumococcus.
- Streptokokken bei Meningitis. 41
- Stryx flammea, Wirt von Isospora bigemina. 51
- Tabanus spodopterus, Widerstandsfähigkeit. 52
- Taube, Wirt von Cittotaenia columbae. 64
- Tellurkalium, Wirkung auf Bac. acidi lactici. 181
- , Wirkung auf Bac. cholerae suis. 182
- , Wirkung auf Bac. cloacae. 183
- , Wirkung auf Bac. coli. 181
- , Wirkung auf Bac. dysenteriae. 183
- , Wirkung auf Bac. enteritidis. 181
- , Wirkung auf Bac. icteroides. 182
- , Wirkung auf Bac. lactis aerogenes. 181
- , Wirkung auf Bac. mucosus capsulatus. 181
- , Wirkung auf Bac. paracoli. 181
- , Wirkung auf Bac. paratyphi. 182
- , Wirkung auf Bac. pneumoniae. 181
- , Wirkung auf Bac. rhinoscleromatis. 181
- , Wirkung auf Bac. typhi. 182
- , Wirkung auf Bac. zopfii. 182
- , Wirkung auf Proteus vulgaris. 183
- Tellurreaktion des Bac. acidi lactici. 186

Tellurreaktion des <i>Bac. cholerae suis</i> .	186	Tuberkulose, Milzinfektion.	113
— des <i>Bac. cloacae</i> .	185	—, Pseudo- s. Pseudotuberkulose.	
— des <i>Bac. coli</i> .	184	— der Rinder.	113
— des <i>Bac. dysenteriae</i> .	187	—, Rinder-, Diagnose mittels Abderhaldens	
— des <i>Bac. enteritidis</i> .	185	Dialysierverfahrens.	530
— des <i>Bac. icteroides</i> .	187	Tumoren s. Geschwülste.	
— des <i>Bac. lactis aerogenes</i> .	185	Tussis s. Keuchhusten.	
— des <i>Bac. mucosus capsulatus</i> .	184	Typhus abdominalis s. a. <i>Bacillus typhi</i> .	
— des <i>Bac. paracoli</i> .	186	— —, Agglutinationskraft des Serums nach	
— des <i>Bac. paratyphi</i> .	185	überstandener Infektion.	174
— des <i>Bac. pneumoniae</i> .	186	— —, experim. Typhusbacillenträger.	379
— des <i>Bac. rhinoscleromatis</i> .	186	— exanthematicus, Aetiologie, Bakteriologie.	49. 497
— des <i>Bacillus</i> der Schweinepest.	185	Ultrafiltration des Hühnerpestvirus.	90
— des <i>Bac. typhi</i> .	185	— unsichtbarer Mikroben.	90
— des <i>Bac. zopfii</i> .	187	Uncinia trichocirrosa n. g. n. sp., Beschrei-	
— des <i>Proteus vulgaris</i> .	185	bung.	74
Tetanus s. a. <i>Bacillus tetani</i> .		Uria troile, Wirt von <i>Anomotaenia socialis</i> .	76
—, Immunisierung mit Tetanustoxin-Anti-		Vaccine-Körperchen.	144. 158
toxingemischen.	348	Vaccine-Virus.	144. 158
Tetanus-Toxin, Bindung durch Kaolin.	359	—, Guarnierisches Phänomen.	150
—, Bindung durch Leberzellen.	358	—, Hodeninfektion beim Kaninchen.	150
Thor zur Immunserumgewinnung.	399	—, Immunisierung.	151
—, Wirkung auf <i>Bac. coli</i> .	404	— und Leukocyten.	147
—, Wirkung auf <i>Bac. diphtheriae</i> .	400	—, Morphologie.	144. 158
—, Wirkung auf <i>Bac. dysenteriae</i> .	399	—, Reduktion von Methylenblau und Azur.	146
—, Wirkung auf <i>Bac. paratyphi</i> .	406	—, Wirkung von Galle.	151
—, Wirkung auf <i>Bac. typhi</i> .	402	—, Wirkung von Neutralrot.	150
—, Wirkung auf Bakterien.	398	—, Wirkung von Pepsin.	145
Toxine, Häm-, Bildung durch <i>Vibrio</i>		—, Wirkung von Trypsin.	145
<i>cholerae</i> .	319	Variation bei Bakterien.	97
Toxin, Tetanus-, Bindung durch Kaolin.	359	Variola, Differentialdiagnose.	518
—, —, Bindung durch Leberzellen.	358	—, Hornhautinfektion beim Kaninchen.	518
Trächtigkeit s. Schwangerschaft.		Varizellen, Differentialdiagnose.	518
<i>Trichocephalus trichiurus</i> , Eier, Wider-		Verdauung und Fermentgehalt des Blutes.	574
standsfähigkeit.	51	Vererbung bei Bakterien.	97
—, Vorkommen.	54	Verstopfung s. Konstipation.	
<i>Trichodes crassicauda specifica</i> in der Harn-		<i>Vibrio cholerae</i> s. a. Cholera.	
blasenschleimhaut bei Ratten.	206	— —, Agglutination.	176
<i>Trichostrongylus instabilis</i> , Vorkommen.	54	— —, Hämotoxinbildung.	319
— <i>orientalis</i> n. sp., Beschreibung, mensch-		Vogel-Cestoden.	59
licher Darmparasit in Japan.	53	Wasser und Kropf.	211
— <i>probolurus</i> , Vorkommen.	54	Wespen, Gall- s. Gallwespen.	
— <i>retortaeformis</i> , Vorkommen.	54	Würmer, Eier, Widerstandsfähigkeit.	51
— <i>vitrinus</i> , Vorkommen.	54	—, Geschwülste, Rolle bei denselben.	205
Trockenerhitzung von Immuneserum.	83	Zecken, Vernichtung durch <i>Mus silvaticus</i> .	52
Trypsin, Einzigartigkeit und Polyvalenz.	193		
—, Wirkung auf Vaccinevirus.	145		
Tuberkulose s. a. <i>Bacillus tuberculosis</i> .			
—, Leberinfektion.	113		

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Agglutination der Kapselbakterien.	331	Auge, Lepra-Infektion beim Kaninchen	
<i>Ankylostomum duodenale</i> , Eier.	55	(Taf.)	502. 507
<i>Anomotaenia socialis</i> , Anatomie.	77	—, Variola-Infektion der Hornhaut.	520—
<i>Aporina fuhrmanni</i> n. sp., Anatomie.	60. 61.		522
Auge, <i>Granulobacillus</i> -Impfung der vord.		<i>Bacillus coli</i> , Telluritreaktion. (Taf.)	185
Kammer beim Kaninchen.	15	— <i>diphtheriae</i> , intrakutane Impfung.	
—, Hornhaut, Vaccine-Infektion. (Taf.)	157	(Taf. II.)	254

- Bacillus diphtheriae*, Morphol. (Taf. I.) 232
 — enteritidis, Telluritreaktion. (Taf.) 185
 — paratyphi, Telluritreaktion. (Taf.) 185
 — pestähnlicher, Involutionsformen. 270
 —, —, Polymorphismus. 270
 — pseudodiphtheriae, intrakutane Impfung (Taf. II.) 254
 —, —, Morphol. (Taf. I.) 232
 — putrificus s. *Granulobacillus putrificus*.
 — smegmatis var. muris, Morphol. 49
 — typhi, Telluritreaktion. (Taf.) 185
 Bakterien, Kapsel-, Agglutination. 331
 —, die bei d. Rattenpestdiagnose Schwierigkeiten bereiten. 458. 459
 Blutkuchen als Nährbodenmaterial. 493
Bodo ovatus, Morphol. 50
Cephalosporium acremonium, Morphol. (Taf., Fig. 1—8.) 376
Chapmania unilateralis n. sp., Anatomie. 73.
 Choriokarzinom, Histol. 202. 203.
 —, chromidiales Protozoon aus demselb. 201
 Chromidien von *Coccidium schubergi*. 201
 — von *Mastigella vitrea*. 201
Cittotaenia columbae n. sp., Anatomie. 65
Clonorchis sinensis, Anatomie u. Entwicklung. (Taf.) 318.
 Coccidiose der Kaninchenleber. (Taf. I, II.) 208
Coccidium schubergi, Chromidien. 201
Cysticercus fasciolaris, Geschwulstbildung. (Taf. II, III.) 208
Davainea cyrtus n. sp., Anatomie. 68
 — *emperus* n. sp., Anatomie. 69
 — *galeritae* n. sp., Anatomie. 71
 — *laticanalisis* n. sp., Anatomie. 67
 — *paradisea*, Anatomie. 72
 Diphtherie, intrakutane Impfung mit Diphtherie- und Pseudodiphtherie-Kulturen. (Taf. II.) 254
Echinochasmus perfoliatus, Anatomie. 393
 Eier von *Ankylostomum duodenale*. 55
 — von *Trichostrongylus orientalis*. 55
 Faeces mit Eiern von *Trichostrongylus orient.* u. *Ankylost. duoden.* 55
 Gärungsröhrchen. 141
 Gallwespe, Geschwulstbildung. (Taf. I, Fig. 4—6.) 208
 Geschwülste, Pflanzen-. (Taf. I, Fig. 4—6.) 208
 — und Protozoen. (Taf.) 208
 — und Würmer. (Taf.) 208
Granulobacillus putrificus n. sp., Impfung d. vord. Augenkammer d. Kaninchens. 15
 — *putrificus* n. sp., Kulturen. 11—14. 16. 17.
 — — n. sp., Morphol. 16. 17.
 Guarnierische Körperchen (Taf.) 157
 Guarnierische Körperchen der Kaninchenhornhaut. 522
Gyrocœlia brevis Fuhrm., Scolex. 82
Herpetomonas pyrrocoris n. sp., Morphol. 50
Hymenolepis flaminginis n. sp., Anatomie. 78
 Initialkörper in der Kaninchenhornhaut (Taf.) 157
 Kaninchen, *Granulobacillus*-Impfung der vorderen Augenkammer. 15
 — -Leber, Coccidiose (Taf. I, II). 208
 —, Lepra-Infektion des Auges. (Taf.) 502. 507
 —, Variola-Infektion der Hornhaut. 520—522
 Kapselbacillen, Agglutination. 331
 Karzinom, Chorio-, Histol. 202. 203
 Kropf, experiment. 214. 215. 217. 218
 Leber, Coccidiose (bei Kaninchen). Taf. I, II). 208
 Lepra, Infektion des Kaninchenauges. (Taf.) 502. 507
Mastigella vitrea, Chromidien. 201
Micrococcus djokjakartensis n. sp., Morphol. (Taf., Fig. 9—13). 376
 — *smegmatis* var. muris n. sp., Morphol. 49
 Nährböden aus Blutkuchen. 493
 Pest, Ratten-, bei der Diagnose Schwierigkeiten bereitende Bakterien. 458. 459.
 Pflanzen-Geschwülste. (Taf. I, Fig. 4—6.) 208
 Pipetten-Ständer. 53
Progynotaenia fuhrmanni n. sp., Anatomie. 80
 Protozoon, chromidiales, aus einem Choriocarcinom. 201
 Protozoen und Geschwülste. (Taf.) 208
 Rattenpest, bei der Diagnose Schwierigkeiten bereitende Bakterien. 458. 459
 Schilddrüse, Kropf, exper. 214. 215. 217. 218
 Telluritreaktion bei *Bac. coli*. (Taf.) 185
 — bei *Bac. enteritidis*. (Taf.) 185
 — bei *Bac. paratyphi*. (Taf.) 185
 — bei *Bac. typhi*. (Taf.) 185
Trichodes crassicauda specifica und Geschwülste. (Taf. I, Fig. 1—3.) 208
Trichostrongylus orientalis n. sp., Anatomie. 56. 57
 — — n. sp., Eier. 55
Uncinaria trichocirrosa n. g. n. sp., Anatomie. 75
 Vaccine-Virus, Hornhautinfektion, Guarnierische Körperchen. (Taf.) 157
 Variola, Hornhautinfektion beim Kaninchen. 520—522
 Würmer und Geschwülste. (Taf.) 208
 Ziliare aus dem Darne von *Haematopota pluvialis*, Morphol. 51



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4479

158011

511



51.



