



This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

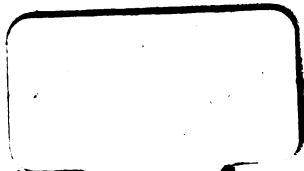
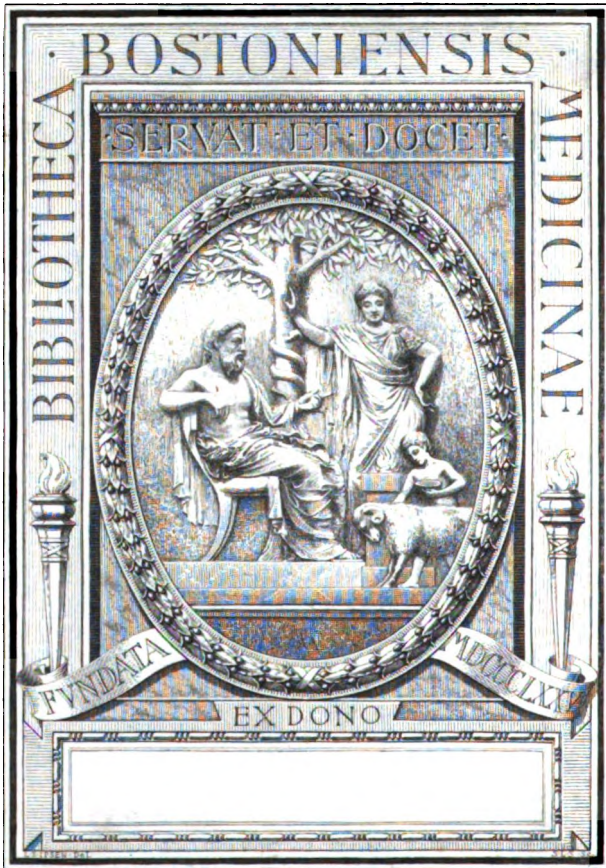
Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

- + *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
- + *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
- + *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
- + *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at <http://books.google.com/>



ZEITSCHRIFT
FÜR
HYGIENE
UND
INFEKTIONSKRANKHEITEN.

HERAUSGEGEBEN

VON

PROF. DR. ROBERT KOCH,

WIRKL. GEHEIMEN RAT,

PROF. DR. C. FLÜGGE, UND

GEH. MEDIZINALRAT UND DIREKTOR
DES HYGIENISCHEN INSTITUTES DER
UNIVERSITÄT Breslau,

DR. G. GAFFKY,

GEH. OBERMEDIZINALRAT UND DIREKTOR
DES INSTITUTES FÜR INFEKTIONSKRANKHEITEN
ZU BERLIN.

ACHTUNDFÜNFZIGSTER BAND.

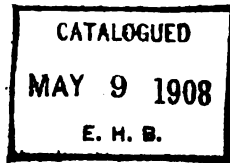
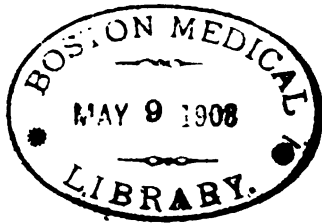
MIT ZAHLREICHEN ABBILDUNGEN IM TEXT UND NEUN TAFELN.



LEIPZIG

VERLAG VON VEIT & COMP.

1908

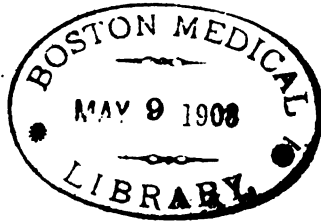


10351

Inhalt.

	Seite
E. SELIGMANN, Über die Reduktasen der Kuhmilch. II.	1
E. VON ESMARCH, Die Tageshelligkeiten in Göttingen im Jahre 1906. (Hierzu Taf. I.)	14
M. MANDELBAUM, Zur Streptokokkenfrage. (Hierzu Taf. II u. III.)	26
C. RASP, Die Einwirkung der Seifen für sich und in Verbindung mit Phenol auf die Bakterien vom chemischen Standpunkt aus betrachtet	45
KURT LAUBENHEIMER, Zur Ätiologie der Cholecystitis. (Hierzu Taf. IV.)	64
POVL HEIBERG, Über die Dauer der letalen Scharlachfieberfälle in der dänischen Stadtbevölkerung, Kopenhagen ausgenommen, in den Jahren 1885 bis 1900	79
CARL KLIENBERGER, Klinische und kritische Beiträge zur Differenzierung pathogener „Protensarten“ und Beiträge zur Wertung der „Protensagglutination“	85
ARTUR LUBSSEN, Ein Fall von Flußverunreinigung durch die Abwässer einer Zellstoffabrik	121
TAAV. LAITINEN, Über die Einwirkung der kleinsten Alkoholmengen auf die Widerstandsfähigkeit des tierischen Organismus mit besonderer Berücksichtigung der Nachkommenschaft	139
T. W. TALLQUIST, Untersuchungen über aktive und passive Immunisierung mit Vibriolysin	165
S. KITAMURA, Die Stellung der Bronchiallymphdrüsen im lymphatischen System und ihre Beziehung zum Gang der tuberkulösen Infektion	194
PETER PAUL KLEMMENS und PHILIPP MAHLER, Über die Agglutinationskraft menschlicher Blutsera für Arten der Typhusgattung und der Coligattung .	203
KARL LANDSTEINER und MATHIAS REICH, Über den Immunisierungsprozeß . .	218
CLAUDIO FERMI, Über die Immunisierung gegen Wutkrankheit	233
B. MÖLLERS, Experimentelle Studien über die Übertragung des Rückfallfiebers durch Zecken	277
JOSEF KOCH, Über das Vorkommen pathogener Staphylokokken auf der Körperoberfläche des Menschen und seiner Umgebung	287
E. J. MARZINOWSKY, Die Orientbeulen und ihre Ätiologie. (Hierzu Taf. V u. VI.)	327
FLEMING, Über die Arten und die Verbreitung der lebensfähigen Mikroorganismen in der Atmosphäre	345
ZETZKOW, Über Geißelzöpfe, Spirochaete polyspira und Planosarcina Schaudinni. (Hierzu Taf. VII—IX.)	386

	Seite
V. BAER, Über die Notwendigkeit der Abänderung des Pasteurschen Verfahrens der Wutbehandlung	401
H. SCHNEIDER und E. SELIGMANN, Studien zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel	418
W. HESSE, Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Darmbakterien, mit besonderer Berücksichtigung der Typhusbazillen	441
K. TSUKIYAMA, Über Schutzimpfung gegen Pest auf Formosa	449
UYAMA, TSUZUKI, OSHIDA und MATSUDA, Über die Schnell- und Massendesinfektionsmethode mit Formalin-Wasserdampf, das japanische Verfahren	465
FRANZ LUCKSCH, Untersuchungen zur Pellagrafrage	479
FR. CRONER, Sterilisierung von Mineralwässern und Brauselimonaden mit Magnesiumsuperoxyd	487
TIZZONI und PANICHI, Bemerkungen zur Abhandlung des Hrn. Dr. Heck . .	499



[Aus dem königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]

(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)

Chemische Abteilung.

(Vorstand: Geh. Regierungsrat Prof. Proskauer.)

Über die Reduktasen der Kuhmilch.

II.

Von

Dr. E. Seligmann,

Assistenten am Institut.

Durch die Beobachtungen Schardingers¹ wurden die reduzierenden Eigenschaften der Milch einer bequemen Untersuchung zugänglich gemacht. Schardinger benutzte als Reagentien:

1. Eine Methylenblaulösung (im folgenden M genannt): 5^{ccm} gesättigter alkoholischer Methylenblaulösung + 195^{ccm} Wasser.
2. Eine Formalin-Methylenblaulösung (im folgenden FM genannt): 5^{ccm} gesättigter alkoholischer Methylenblaulösung + 5^{ccm} Formalin + 190^{ccm} Wasser.

Über seine Beobachtungen schreibt Schardinger: „Das Verhalten der Kuhmilch gegenüber diesen Farblösungen besteht nun darin, daß

1. von zwei Proben frisch ermolkenener Milch, die mit M bzw. FM gefärbt werden, bei der oben angeführten Temperatur (45 bis 50°) die Probe mit FM innerhalb kurzer Zeit — in etwa 10 Minuten — entfärbt wird, während die Probe mit M gefärbt bleibt;

2. von zwei ähnlich behandelten Proben einer Milch, die das von Soxhlet sogen. Inkubationsstadium überschritten hat, sich also im Zustand der Säuerung befindet, die Probe mit FM immer entfärbt

¹ *Zeitschr. f. Unters. der Nahrungs- u. Genussmittel.* 1902. Bd. V. S. 1113.

wird, während die Probe mit M manchmal entfärbt wird, manchmal aber auch gefärbt bleibt, je nach dem Alter bzw. dem Säuregrade der verwendeten Milch. Je näher die Milch der Gerinnung (durch Kochen) steht, um so rascher wird gewöhnlich eine mit M gefärbte Probe entfärbt;

3. Proben von gekochter Milch keine Entfärbungserscheinungen zeigen, weder bei Färbung mit M noch mit FM.“

Über das Wesen der FM-Reaktion macht Schardinger keine Angaben, die M-Reaktion hält er auf Grund seiner Versuche für eine Reduktionstätigkeit der Milchbakterien.

Smidt¹ trennte später die beiden Reaktionsformen; er bewies nochmals exakt den bakteriellen Charakter der M-Reaktion und erklärte die FM-Reaktion für eine fermentative. Neuerdings² unterscheidet Smidt noch weiter: die M-Reaktion ist bakteriellen, die FM-Reaktion frischer Milch fermentativen Charakters, während die FM-Reaktion älterer Milch aus einer Summation bakterieller und fermentativer Kräfte bestehen soll.

Das auslösende Ferment hat Smidt Aldehydkatalase genannt. Die Wahl dieses Namens ist meines Erachtens keine glückliche; sie kompliziert die ohnehin schon unübersichtliche Fermentnomenklatur noch weiter. Es läge näher, von einer „indirekten Reduktase“ zu sprechen, analog der „indirekten Oxydase“, die man auch nicht „Peroxydkatalase“ nennt.³

Ich selbst habe vor einiger Zeit in dieser Zeitschrift⁴ Experimente veröffentlicht, auf Grund deren ich annahm, daß sowohl M- wie FM-Reaktion bakteriellen Ursprungs sind. Einen Unterschied zwischen der FM-Reaktion in frischer und der in älterer Milch, den Smidt jetzt hervorhebt, in seiner ersten Veröffentlichung aber noch nicht ausgesprochen hat, machte ich nicht.

Gegen meine Anschauungen von dem generell bakteriellen Charakter der beiden Reaktionen hat sich Smidt² in seiner zweiten Arbeit gewandt. Auch Jensen⁵, der sich mit Versuchen über den Ursprung der Oxydasen und Reduktasen beschäftigte, kam zu dem Schluß, daß die Aldehydkatalase der Kuhmilch ausschließlich den Fettkügelchen entstamme. Und schließlich hat Brand⁶ auf Veranlassung von M. Neisser eine Reihe von Versuchen veröffentlicht, die mich veranlaßten, die Frage nach dem Ursprung der Reduktasen wieder aufzunehmen.

¹ *Hygienische Rundschau*. 1904. Nr. 23.

² *Archiv für Hygiene*. Bd. LVIII.

³ Jensen (*Revue générale du Lait*, 1906, T. VI, Nr. 2 u. 3) verbessert die Smidtsche Bezeichnung in „Aldehyd-Reduktase“.

⁴ *Diese Zeitschrift*. Bd. LII.

⁵ *Münchener med. Wochenschrift*. 1907. Nr. 17.

Ich möchte betonen, daß es sich hierbei nur noch um Dinge von theoretischer Bedeutung handelt; denn nachdem ich nachgewiesen hatte, daß auch eine gekochte Milch sowohl FM- wie M-Reaktion ausüben kann, falls sie infiziert wird, hat die Methode praktisch ihre Bedeutung für den Nachweis stattgehabter Erhitzung verloren. Ob das Agens, das in Milch FM reduziert, ein Ferment oder Bakterien sind, ist deshalb praktisch ganz gleichgültig.

Smidt und auch Jensen legen besonderen Wert auf eine Beobachtung, die ich mitteilte: daß nämlich das Reduktionsvermögen einer Milch gegenüber FM mit dem Stehen zwar zunimmt, mitunter aber am 3. oder 4. Tage plötzlich wieder abnehmen kann. Smidt sieht eine Erklärung für diese Erscheinung darin, daß mit dem Altern der Milch das Ferment an Wirksamkeit einbüßt, „andererseits jetzt der hemmende Einfluß des Formalins gegenüber der Bakterienwirkung zutage zu treten beginnt.“ Ähnlich äußert sich Jensen.

Dem entgegne ich folgendes: ich verfüge über eine ganze Reihe von Beobachtungen, die dasselbe Verhalten der Milch wie gegen FM auch gegen M feststellen. Ein Beispiel:

Reduktionszeit für 10^{ccm} Milch + 10 Tropfen Reagens M bei 50°:

am ersten Tage (30. IV.)	innerhalb einer Stunde nicht,
„ zweiten „ (1. V.)	13 Minuten,
„ dritten „ (2. V.)	3 „
„ vierten „ (3. V.)	11 ¹ / ₂ „

Hier ist also weder Ferment noch Formalin im Spiele, trotzdem findet sich das gleiche Verhalten. Wahrscheinlich sind es in allen dergleichen Fällen die Veränderungen der Bakterienflora und der Eiweißstoffe in alternder Milch, die zu den beobachteten Erscheinungen geführt haben.

Ein zweiter Einwurf Smidts ist der folgende: entfernt man aus einer rohen Milch das auf FM einwirkende Prinzip und infiziert sie dann frisch oder hält sie 24 Stunden bei 37°, so tritt die „M-Reduktion mindestens ebenso schnell, meist aber schneller als die FM-Reaktion auf; niemals ist, wie es bei Vollmilch die Regel, das Gegenteil der Fall.“ Die Richtigkeit dieser Angaben muß ich bestreiten; es ist durchaus nicht regelmäßig, daß die M-Reduktion bei solcher Milch immer schneller und energischer auftritt als die FM-Reduktion. Vielmehr sind nach 24 Stunden während der Bebrütung die Verhältnisse ganz unregelmäßig; mitunter ist die M-Reaktion energischer, mitunter die FM-Reaktion. Die Unterschiede sind im allgemeinen aber nur sehr gering. Zufällig habe ich schon in meiner ersten Arbeit¹ auf Seite 171 und 172 ein Protokoll veröffentlicht, in dem

¹ Diese Zeitschrift. Bd. LII.

das Verhalten vorkommt, das nach Smidt „niemals“ der Fall sein soll. Es handelt sich um eine Milch, die eine Stunde lang bei 100° erhitzt und nach dem Erkalten mit zwei Ösen saurer Milch geimpft worden war. Nach 24 Stunden wurde M in 3 Minuten, FM in 1 Minute reduziert. Derartige Beispiele könnte ich noch mehr anführen; ebenso häufig aber, wie dies Verhalten zur Beobachtung kam, war auch der umgekehrte Fall: die M-Reduktion energischer als die FM-Reaktion oder beide gleichwertig. Von einem regelmäßigen Verhalten kann also keine Rede sein.

Smidt schlägt nun vor, aus einer Milch „das schon anfänglich vorhandene, auf FM einwirkende Prinzip ohne Schädigung ihrer anderen Bestandteile“ zu entfernen und dann unter geeigneten Bedingungen zu prüfen, wie eine solche Milch sich später gegen FM und M verhält. Zu diesem Zweck zentrifugiert er die Milch und reichert die Reduktase im Rahm an. Die Magermilch hält er 24 Stunden bei 37° und prüft dann mit FM und M.

Der Umstand, daß das Ferment am Rahm haftet, spricht seines Erachtens an sich schon dagegen, daß es sich um Bakterienwirkung handeln könne.

Es ist mir niemals gelungen, frische Milch durch Zentrifugieren völlig reduktasefrei zu bekommen; die FM-Reaktion trat stets in der Magermilch, wenn auch verzögert, auf. Dasselbe gibt übrigens auch Brand an. Ein Umstand, der sehr für Bakterienwirkung spricht; denn es gelingt bekanntlich auch, einen großen Teil der Bakterien durch Zentrifugieren aus der Milch zu entfernen, keineswegs aber alle. Die Prüfung mit FM und M erst nach 24 Stunden vorzunehmen, ist nicht zweckmäßig, da bei der großen Menge der entwickelten Bakterien die Unterschiede sich verwischen. Ich habe deshalb schon beträchtlich früher mit der Prüfung auf Reduktase begonnen.

Nimmt man eine energisch zentrifugierte Magermilch zum Ausgang des Versuches, so zeigt sich folgendes Verhalten:

500^{ccm} Milch werden 2 Stunden in einer großen elektrischen Zentrifuge ausgeschleudert (5000 Umdrehungen in der Minute.)

Reduktionszeiten bei 50°.

	FM	M
Vollmilch	11 Minuten	in einer Stunde nicht
Magermilch	22 „	„ „
Dieselbe Milch, nach ½ stünd. Aufenthalt bei 37°	13 „	„ „
„ 1½ „	5 „	„ „
„ 2½ „	5 „	5 Minuten
„ 3½ „	4 „	4 „
„ 4½ „	2½ „	2

Die FM Reaktion der Magermilch ist im Anfang sehr schwach (Reduktionszeit 22 Minuten); allmählich nimmt ihre Reaktionsgeschwindigkeit im Laufe der Bebrütung zu, ohne daß schon eine M-Reduktion zustande käme, und erst mit länger dauernder Bebrütung tritt auch die M-Reaktion auf. Zum Schluß ist die M-Reaktion sogar energischer als die FM-Reaktion.

Ein zweiter Versuch zeigt ähnliches Verhalten.

Reduktionszeiten bei 50°.

	FM	M
Vollmilch	8 Minuten	56 Minuten
Magermilch	13 "	in einer Stunde nicht
Dieselbe Milch, 1 Stunde bei 37° gehalten . .	7 "	" "
" 2 Stunden	7 "	" 5 Minuten "
" 3 "	4 "	3 "
" 4 "	3 "	2 "
" 24 "	2 "	

Auch in diesem Versuche tritt eine Beschleunigung der FM-Reaktion ein, lange bevor die M-Reaktion sichtbar wird. Der Versuch zeigt ferner, daß auch die sicher bakterielle M-Reduktase durch Zentrifugieren aus der Milch entfernt werden kann, genau wie die FM-Reduktase. Gerade dies Verhalten der FM-Reduktase halten aber Smidt wie Jensen für besonders beweisend für den Fermentcharakter der FM-Reaktion.

Auch diese Versuchsanordnung spricht also dafür, daß es sich bei der FM-Reaktion im wesentlichen um Bakterienwirkung handelt.

Ich konnte früher¹ zeigen, daß die FM-Reduktase sich aus dem Rahm mit Wasser nicht extrahieren läßt, infolgedessen, so nimmt Jensen an, „elle doit faire partie de la substance même des globules graisseux.“ Das ist durchaus nicht nötig, denn ich konnte gleichfalls damals zeigen, daß es ebenso wie im Rahm gelingt, die FM-Reduktase auch im abgeschiedenen Kaseinbodensatz anzureichern; auch aus dem Kaseinniederschlag ist sie nicht durch Auswaschen zu entfernen. Sie ist demnach kein integrierender Bestandteil der Fettkügelchen, sondern folgt diesen wie den Kaseinpartikelchen nur nach physikalischen Gesetzen.

M. Neisser, der schon Smidt die Anregung zu seinen Untersuchungen gegeben hatte, veranlaßte Brand, meine Versuche einer kritischen Prüfung zu unterziehen. Die Beobachtungen, die Brand dabei machte, waren teilweise neu und schienen geeignet, meine Anschauungen von dem bakteriellen Ursprung der Reduktasen zu erschüttern.

¹ Diese Zeitschrift. Bd. LII.

Brands Untersuchungen ergaben im wesentlichen das Folgende:

1. Das Optimum der FM-Reduktion liegt nicht, wie bisher angenommen, bei 50°, sondern bei 70°.

2. Die 70°-Reaktion tritt bei erhitzt gewesener und wieder beimpfte Milch nicht mehr auf.

3. Blausäure und organische Säuren hemmen die originale FM-Reduktion der frischen Milch weit stärker als die der wiederbeimpften.

4. Die FM-Reduktase hat folgende Eigenschaften: sie wird bei Erhitzen bis zu 80° zerstört; sie ist von ihrer Konzentration abhängig; sie wird in ihrer Wirksamkeit durch längeres Stehen beeinträchtigt; sie ist in irgend einer Weise an den Rahm gebunden.

Es galt, diese Angaben nachzuprüfen. Vorerst kann ich bestätigen, daß das Reduktionsoptimum der FM-Reduktion in frischer Milch bei 70° liegt. Damit war für mich die Notwendigkeit einer Wiederholung meiner älteren Versuche gegeben. Es mußte festgestellt werden, ob diese Versuche auch für die 70°-Reaktion ihre Geltung behalten. Geprüft wurde daher das Verhalten dieser Reaktion unter normalen und künstlichen Bedingungen.

Dabei ergab sich folgendes: die Geschwindigkeit der FM-Reaktion frischer Milch bei 70° wurde beobachtet zu 1 $\frac{1}{4}$ bis 5 $\frac{1}{2}$ Minuten (im einzelnen: 1 $\frac{1}{4}$, 1 $\frac{1}{2}$, 1 $\frac{3}{4}$, 2, 2 $\frac{1}{2}$, 2 $\frac{3}{4}$, 3, 3 $\frac{3}{4}$, 5, 5 $\frac{1}{2}$ Minuten; viele dieser Zeitzahlen wurden mehrfach beobachtet). Die Reaktionsgeschwindigkeit zeigt eine deutliche Abhängigkeit von den Witterungsverhältnissen; an sehr heißen Tagen erreichte sie die niedrigsten Zeitwerte (1 $\frac{1}{4}$ bis 2 $\frac{1}{2}$); an kühleren Tagen die höheren (2 $\frac{1}{2}$ bis 5 $\frac{1}{2}$).

Das Verhalten der Reaktion beim Stehen der Milch.

(Aufbewahrung im Eisschrank.)

I.		II.	
1. Tag (26. IV.)	5 $\frac{1}{2}$ Minuten	1. Tag (29. IV.)	5 Minuten
2. „ (27. IV.)	1 Minute	2. „ (30. IV.)	2 „
4. „ (29. IV.)	7 Minuten	3. „ (1. V.)	2 „
	(Gerinnung)	4. „ (2. V.)	1 $\frac{3}{4}$ „
III.		IV.	
1. Tag (1. V.)	3 Minuten	1. Tag (3. V.)	1 $\frac{1}{2}$ Minuten
2. „ (2. V.)	1 Minute	2. „ (4. V.)	1 Minute
3. „ (3. V.)	3 Minuten	4. „ (6. V.)	1 „
V.		VI.	
1. Tag (7. V.)	1 $\frac{1}{4}$ Minuten	1. Tag (8. V.)	2 Minuten
2. „ (8. V.)	1 $\frac{1}{4}$ „	3. „ (10. V.)	2 „

VII.

- 1. Tag (11. V.) $1\frac{1}{2}$ Minuten
 - 3. „ (13. V.) $1\frac{3}{4}$ „
 - 4. „ (14. V.) $1\frac{3}{4}$ „
 - 5. „ (15. V.) 4 „
- (Gerinnung)

VIII.

- 1. Tag (17. V.) $3\frac{3}{4}$ Minuten
- 2. „ (18. V.) 2 „

IX.

- 1. Tag (21. V.) $2\frac{3}{4}$ Minuten
- 2. „ (22. V.) $1\frac{3}{4}$ „

X.

- 1. Tag (22. V.) 3 Minuten
- 2. „ (23. V.) $1\frac{3}{4}$ „

Aus diesen Zahlen ergibt sich: eine Milch, die bei der Ankunft noch nicht allzustark reduziert (2 Minuten und länger), nimmt beim Stehen an Reduktionsgeschwindigkeit zu; mitunter tritt auch hier gegen Ende des Versuches, am 3. bis 5. Tage, eine Abnahme des Reduktionsvermögens ein, die meistens mit einer Gerinnung der Probe im 70°-Wasserbade verbunden ist.¹ Milch dagegen, die schon einen sehr hohen Grad des Reduktionsvermögens bei der Ankunft besitzt, nimmt an Reaktionsenergie nicht immer zu; sie bleibt meist gleich; in seltenen Fällen nimmt sie ein wenig an Reduktionskraft ab. Solche Milch erwies sich dann stets als sehr bakterienreich.

Bringt man frische Milch auf einige Stunden in den Brutschrank, so verändert sich das Reduktionsvermögen wie folgt:

- 14. V. Frische Milch $1\frac{1}{4}$ Minuten,
dieselbe Milch, 2 Stunden bebrütet $1\frac{1}{4}$ „ .
- 17. V. Frische Milch $3\frac{3}{4}$ Minuten,
dieselbe Milch, 2 Stunden bebrütet $2\frac{3}{4}$ „ .
- 21. V. Frische Milch $2\frac{3}{4}$ Minuten,
dieselbe Milch, 2 Stunden bebrütet $1\frac{1}{2}$ „
- 2. VII. Frische Milch 2 Minuten,
dieselbe Milch, 2 Stunden bebrütet 1 Minute.

Daraus ergibt sich: Das Reduktionsvermögen einer frischen Milch wird durch zweistündigen Aufenthalt bei 37° gesteigert; nur wenn es schon von Anfang an sehr hoch war, bleibt es unverändert. Eine Abnahme wurde in keinem Falle beobachtet.

¹ Alle unsere Beobachtungen weisen darauf hin, daß der Gerinnungsvorgang geeignet ist, die Reduktion zu verzögern. Niemals aber ist er imstande, einer sonst nicht reagierenden Milch Reduktionsvermögen zu verleihen, wie Brand das anzunehmen scheint. Es ist deshalb auch nicht richtig, alle während des Versuches gerinnenden Proben von vornherein auszuschalten; qualitativ sind diese sehr wohl brauchbar; nur für quantitative Vergleiche haben sie einen beschränkten Wert.

Die bisher geschilderten Eigenschaften der 70°-Reaktion machen es sehr wahrscheinlich, daß auch diese Reduktion nicht unabhängig von bakteriellen Einflüssen ist.

Daß überhaupt Bakterien noch bei 70° reduzierend wirken können, beweist das Verhalten der M-Reaktion. Bei älterer Milch hatten wir mehrfach Gelegenheit zu beobachten, wie auch die M-Reaktion noch bei 70° positiv ausfiel.

Aber auch für die FM-Reaktion läßt sich der direkte Beweis führen:

4. V. 250^{ccm} Milch werden zum Sieden erhitzt und nach dem Erkalten mit einer Öse der früher¹ aus Milch isolierten Reduktasekultur beimpft. Aufbewahrung im Eisschrank.

Reduktionszeiten	
bei 50°	bei 70°
M 11 Minuten	6. V. M 23 Minuten
FM 9 ¹ / ₂ „	FM 10 „
M 6 Minuten	7. V. M 3 „
FM 5 „	FM 3 „
M 2 ¹ / ₄ Minuten	8. V. M 1 ³ / ₄ Minuten
FM 1 ³ / ₄ „	FM 1 ³ / ₄ „
M 1 Minute	10. V. M ³ / ₄ Minuten
FM 1 ¹ / ₄ Minuten	FM ³ / ₄ „

Dieser Versuch beweist: Die 70°-Reaktion tritt auch in erhitzt gewesener und frisch beimpfter Milch nach einiger Zeit wieder auf; sowohl die M-Reaktion wie die FM-Reaktion.

Es ist daher auch die 70° Reaktion kein „untrügliches Merkmal für eine stattgehabte Erhitzung“ (Brand).

Das Verhalten der 70°-Reaktion in erhitzt gewesener Milch ist von dem in frischer Milch etwas verschieden. Zuerst tritt nämlich in erhitzt gewesener und wieder beimpfter Milch gewöhnlich die 50°-Reaktion wieder auf; erst später die 70°-Reaktion. Die Temperatur von 70° ist auch kein ausgesprochenes Optimum für die FM-Reduktion in solcher Milch; sehr häufig ist sie zwar intensiver und schneller wirksam als bei 50°; nicht selten zeigt sich aber auch das umgekehrte Verhalten. Jedenfalls kann von einer gesetzmäßigen Beschleunigung der Reduktionsgeschwindigkeit durch die erhöhte Temperatur wie bei roher Milch nicht die Rede sein.

¹ Diese Zeitschrift. Bd. LII.

Es ist möglich, daß die Veränderungen, die die Milch als Nährboden durch das Erhitzen erlitten hat, diese geringen Modifikationen im Reduktionsvorgange bedingen. Bewiesen ist jedenfalls, daß auch in erhitzt gewesener Milch die 70°-Reduktion von FM positiv ausfallen kann. Damit ist der bakterielle Ursprung auch dieser Reaktion mindestens sehr wahrscheinlich gemacht.

Dem entspricht das Verhalten der Reaktion gegenüber Desinfektionsmitteln:

21. IV. 1 Liter Milch wird in zwei gleiche Portionen geteilt. Die erste (A) bleibt unbehandelt; die zweite (B) erhält einen Zusatz 0.2^{cem} Formalin.

Reduktionszeiten in Minuten:

Datum	bei 50°		bei 70°	
	A	B	A	B
26. IV.	15	9	5 1/2	3
27. IV.	4	14	1	6
29. IV.	8	32	7 (Gerinnung)	in 1 Std. nicht
30. IV.	— ¹	in 1 Std. nicht	— ¹	in 1 Std. nicht
1. V.		4		9 1/2
2. V.		4		8 1/2

¹ Milch A geronnen, Versuche daher nicht ausführbar.

Dieser Versuch zeigt: unter dem Einfluß des Formalins nimmt die FM-Reduktion sowohl bei 50° wie bei 70° an Energie ab, bis sie ganz verschwindet (für die 70°-Reaktion am 4. Tage; für die 50°-Reaktion am 5. Tage). Allmählich aber erlischt das Desinfektionsvermögen des Formalins (der Formaldehyd wird von den Eiweißkörpern der Milch langsam gebunden); Hand in Hand damit geht ein Wiedererscheinen der reduzierenden Kräfte, die allmählich wieder zu bedeutender Energie anwachsen. Die einzige Erklärung für diesen Vorgang ist die Annahme von Bakterien als reduzierende Körper; denn nur die Bakterien werden durch die Desinfektionskraft des Formalins anfangs niedergehalten und kommen mit dem Nachlassen dieser Kraft zu erneuter Entwicklung.

Das eben geschilderte Verhalten der Reduktasen ist in Formalinmilch regelmäßig zu beobachten. Zum Beweise gebe ich noch ein zweites Beispiel.

4. V. 250^{cem} Milch + 0.1^{cem} Formalin. Aufbewahrung im Eisschrank.

Reduktionszeiten

	bei 50°	bei 70°
4. V.	3 Minuten	1 Minute
6. V.	16 1/2 „	8 Minuten
7. V.	34 „	in einer Stunde nicht
8. V.	16 „	9 1/2 Minuten
10. V.	3 „	2 1/4 „

Etwas anders ist das Verhalten der Reduktasen in Milch, die mit Jodoform versetzt ist. Nach Vandeveldel¹ bewährt sich für die Untersuchung von Enzymen, besonders in Milch, eine Auflösung von Jodoform in Azeton. Die Enzyme sollen hierdurch kaum geschädigt, die Bakterien gut unterdrückt werden. Für 25^{cem} Milch empfiehlt Vandevelde 0.1^{gramm} Jodoform.

4. 5. 250^{cem} Milch erhalten Zusatz von 1.0^{gramm} Jodoform, gelöst in 8^{cem} Azeton. Die Oxydasenreaktionen bleiben während der Dauer des Versuches unbeeinflusst und gleich stark wie bei frischer Milch. Die Reduktasen zeigen folgendes Verhalten:

		Reduktionszeiten	
		bei 50°	bei 70°
	M	28 Minuten	4. V. M in einer Stunde nicht
	FM	5 „	FM 2 Minuten
●	M } FM }	in einer Stunde nicht	M } FM } in einer Stunde nicht
	M } FM }	in einer Stunde nicht	M } FM } in einer Stunde nicht
	M } FM }	in einer Stunde nicht	M } FM } in einer Stunde nicht
	M } FM }	in einer Stunde nicht	M } FM } in einer Stunde nicht
	M } FM }	in einer Stunde nicht	M } FM } in einer Stunde nicht

Das Jodoform läßt nach Vandevelde in der angewandten Konzentration die Enzyme ungeschädigt; dem entsprechend bleiben auch die Oxydasenreaktionen unverändert; das Jodoform unterdrückt nach Vandevelde in der angewandten Konzentration die Wirkung der Bakterien; dementsprechend werden die Reduktasen völlig unterdrückt, sowohl die M-Reduktase wie die FM-Reduktase, sowohl die 50°-Reaktion wie die 70°-Reaktion.

Daß nicht etwa die Gegenwart des Jodoform-Azetons die Farbenreaktion behindert, zeigt das Verhalten am ersten Tage, unmittelbar nach dem Zusatz des Antiseptikums. Im Gegenteil, es tritt eine gewisse Beschleunigung ein.

¹ *Biochem. Zeitschrift.* 1907. Bd. III. S. 315.

Reduktionszeiten

	bei 50°	bei 70°
Frische Milch	{ M in 1 Std. nicht FM 5 Minuten	M in einer Stunde nicht FM 1½ Minuten
Dieselbe Milch mit Jodoform- Azeton versetzt	{ M 28 Minuten FM 5 „	M in einer Stunde nicht FM 1 Minute

Die Versuche mit Antiseptics haben somit unsere Anschauung von dem bakteriellen Charakter der 70°-Reaktion bestätigt.

Brand hat ferner eine Reihe von Eigenschaften der FM-Reduktase (70°) angegeben, die ich nachgeprüft habe. So gibt er vom Einflusse organischer Säuren an, daß sie die FM-Reduktase frischer Milch viel stärker hemmen als die FM-Reduktase gekochter und wieder beimpfter Milch. Er führt zum Beweise dafür ein Protokoll an, aus dem man einen Beweis für seine Behauptung noch nicht ableiten kann; denn er begeht den Fehler, die Reaktionen der frischen Milch bei 70°, diejenigen der wiederbeimpften Milch bei 50° auszuführen. Reaktionen biologischer Natur, bei verschiedenen Temperaturen ausgeführt, sind aber nicht ohne weiteres vergleichbar. Entweder müssen sie beide bei 50° oder beide bei 70° ausgeführt werden.

Nach meinen Versuchen haben nun weder die mineralischen noch die organischen Säuren einen sehr hohen Einfluß auf den Reduktionsvorgang. Es gehören schon erhebliche Konzentrationen dazu, um hemmend zu wirken; ausgesprochene Unterschiede zugunsten der frischen oder der erhitzt gewesenen Milch konnte ich auch dann nicht feststellen. Mitunter schien es so, als ob die frische Milch stärker gehemmt würde, nicht selten war aber auch das Gegenteil der Fall. Natürlich wurden immer Reaktionen bei gleichen Temperaturen zum Vergleich herangezogen. Beispiele aus meinen Protokollen:

5^{ccm} frische Milch, versetzt mit $n/10$ H₂SO₄.

	bei 50°	bei 70°
0 Tropfen	5½ Minuten	2 Minuten
1 „	5½ „	2½ „
2 „	5½ „	2½ „
3 „	6 „	2½ „
4 „	6 „	2½ „
5 „	7 „	3 „

5^{ccm} gekochte und wieder beimpfte Milch, versetzt mit $n/10$ H₂SO₄.

	bei 50°		bei 70°
0 Tropfen	3 Minuten		3 Minuten
1 "	4 "		3 "
2 "	4 "		3 ¹ / ₂ "
3 "	4 "		3 ¹ / ₂ "
4 "	4 "		3 ¹ / ₂ "
5 "	4 ¹ / ₄ "		3 ¹ / ₂ "

5^{ccm} frische Milch, versetzt mit n -Milchsäure.

	bei 50°		bei 70°
0 Tropfen	5 ¹ / ₂ Minuten		2 Minuten
1 "	7 ¹ / ₄ "		2 ¹ / ₄ "
2 "	11 "		4 ¹ / ₂ "

5^{ccm} gekochte und wieder beimpfte Milch, versetzt mit n -Milchsäure.

	bei 50°		bei 70°
0 Tropfen	3 Minuten		3 Minuten
1 "	3 ¹ / ₂ "		3 "
2 "	4 ¹ / ₄ "		16 " (Gerinnung).

Ferner gibt Brand an, daß das Fermentgift Blausäure schon in 0.1 prozentiger Lösung die Fähigkeit der Milch zu reduzieren, fast momentan aufhebt. Dagegen soll gekochte und wieder beimpfte Milch durch die gleiche Lösung von Blausäure gar nicht in ihrer Reduktionsfähigkeit beeinflußt werden.

Die Blausäure ist nicht nur ein Fermentgift, sondern auch ein Bakteriengift. Wenn sie in wieder beimpfter Milch schwächer wirkt als in frischer, so ist damit der fermentative Charakter der Reduktion in frischer Milch noch nicht bewiesen. Man könnte auch schließen, daß die gewaltige Bakterienmenge, die sich in wieder beimpfter Milch findet, weniger stark durch das Gift beeinflußt wird, als die relativ geringe Menge in der frischen Milch. Im übrigen ergaben meine Versuche, daß die Wirksamkeit der Blausäure auf den Reduktionsprozeß sowohl in frischer wie in wieder beimpfter Milch viel geringer ist, als bisher angenommen wurde.

5^{ccm} frische Milch.

	bei 50°		bei 70°
Ohne Zusatz	5 ¹ / ₂ Minuten		2 Minuten
+ 3 Tropfen HCN (0.1 Proz.)	6 "		2 ³ / ₄ "
+ 3 " HCN (0.2 ")	6 ¹ / ₂ "		2 ³ / ₄ "
+ 3 " HCN (0.5 ")	8 "		4 "
+ 3 " HCN (1.0 ")	15 "		in 1 Stunde nicht.
+ 3 " HCN (2.0 ")	in 1 Stunde nicht		in 1 Stunde nicht.

5^{ccm} Gekochte und wieder beimpfte Milch.

	bei 50°	bei 70°
Ohne Zusatz	4 Minuten	3 Minuten
+ 3 Tropfen HCN (0.1 Proz.)	5 „	9 „
+ 3 „ HCN (0.2 „)	7 „	9 ¹ / ₂ „
+ 3 „ HCN (0.5 „)	7 „	13 „
+ 3 „ HCN (1.0 „)	17 „	28 „
+ 3 „ HCN (2.0 „)	in 1 Stunde nicht	56 „

Die Unterschiede sind nicht sehr beträchtlich, in frischer Milch scheint die 70°-Reaktion etwas empfindlicher zu sein, in wieder beimpfter die 50°-Reaktion.

Schließlich gibt Brand noch an: „Das Ferment ist von seiner Konzentration abhängig.“ Er meint damit, daß Wasserzusatz den Reduktionsvorgang hemmt (was übrigens schon Schardinger beobachtet hatte). Daß diese Eigenschaft nichts für ein Ferment Charakteristisches hat, geht daraus hervor, daß die M-Reaktion in gleicher Weise durch Verdünnung verlangsamt wird.

Reduktionszeiten.

10 ^{ccm} Milch	FM 5 ¹ / ₂ Minuten	M 10 Minuten
9 „ „ + 1 ^{ccm} Wasser	6 „	20 „
8 „ „ + 2 „ „	7 „	58 „
7 „ „ + 3 „ „	9 „	
6 „ „ + 4 „ „	} in 1 Stunde nicht	} in 1 Stunde nicht.
5 „ „ + 5 „ „		
4 „ „ + 6 „ „		

Die mitgeteilten Versuche haben demnach ergeben, daß auch die 70°-Reduktion in Milch eine Reaktion bakteriellen Charakters ist, daß infolgedessen unsere Anschauung von dem bakteriellen Charakter der Reduktasen unerschüttert geblieben ist.

Damit will ich nicht behaupten, daß das Vorhandensein von echten, reduzierenden Fermenten in der Milch ausgeschlossen ist; nur, was bisher als Fermentwirkung angegeben wurde, hat sich nicht als solche erwiesen. Die bisher bekannten Reduktionsvorgänge in frischer wie in älterer Milch sind nach dem Ergebnisse unserer Untersuchungen bakterieller Natur.

Die Tageshelligkeiten in Göttingen im Jahre 1906.

Von

Prof. E. von Esmarch
in Göttingen.

(Hierzu Taf. I.)

In der „Hygienischen Rundschau“ habe ich vor Jahresfrist (16. Jahrgang, Nr. 6) ein kleines Instrument beschrieben, das ursprünglich von mir nur zum Registrieren des Sonnenscheins bestimmt war, es zeigte sich aber bald, daß es auch noch zu weiteren Beobachtungen brauchbar ist, die hygienischer Beachtung wert sind, und über die im folgenden kurz berichtet werden soll.

Daß der Sonnenschein ein mächtiger Gesundheitsfaktor in unserem Leben, sowie in dem der Tiere und Pflanzen, wenn nicht der wichtigste ist, ist wohl bekannt und anerkannt und braucht nicht besonders belegt zu werden.

Es gelten daher auch Orte mit reichlichem Sonnenschein in unserem Klima vielfach als besonders gesund. Aus demselben Grunde heben oft Kurorte in ihren Veröffentlichungen nicht mit Unrecht, z. B. Davos, den reichlichen Sonnenschein, der bei ihnen zu erwarten ist, als einen Vorzug ihres Klimas hervor.

Genugsam bekannt ist auch, daß in bezug auf die Sonnenscheinzeiten gewaltige lokale Unterschiede bestehen; denn wenn auch nicht sehr viele derartige Beobachtungen gemacht und noch weniger publiziert sind, läßt sich das doch ohne weiteres mit Sicherheit aus der täglichen Erfahrung sagen.

Wo solche Registrierungen angestellt werden, ergibt sich dann meist, daß nur zu einem verhältnismäßig kleinen Teil des Jahres die Sonne wirklich an den Stunden scheint, wo im günstigen Fall auf Sonnenschein zu rechnen wäre, und wenn man z. B. diese Angaben für Deutschland

berücksichtigt, könnte man fast verzagen an dem Klima unseres Landes, das uns so spärlich den Sonnenschein zukommen läßt. In der Tat kommen oft Wochen und Monate vor, wo die Summe des Sonnenscheins nur nach wenigen Stunden zählt, wie das Beispiel weiter hinten zeigt, und wenn nicht der Sommer mit seinen langen Tagen und relativ auch reichlicherem Sonnenschein das im Winter Versäumte bei uns teilweise nachholen würde, könnte man in der Tat wohl behaupten, daß das Gebiet des sagenhaften Nivelheims sich bis weit nach Deutschland hinein erstreckte.

Im allgemeinen können wir jedenfalls behaupten, daß die Gesamtzahl der wirklichen Sonnenscheinstunden zu den möglichen im Jahre bei uns eine relativ geringe ist; sie betrug z. B. für Göttingen 1906 nach meinen Aufzeichnungen nur 1080 Stunden bei 4468 Gesamttageslichtstunden.¹ In London scheint die Sonne durchschnittlich im Jahre sogar nur 1026 Stunden, in dem benachbarten Kew dagegen schon 1400 Stunden² und Davos gibt als durchschnittliche Sonnenscheindauer in den Jahren 1885 bis 1900 1793.6 Stunden an, bei 3353 Tageslichtstunden.

Schon aus diesen wenigen Zahlen ergeben sich die großen Unterschiede verschiedener, oft nur wenig voneinander gelegener Orte, was übrigens auch jedem ohne weiteres aus der täglichen Erfahrung bekannt sein wird.

Wir sprechen von trüben und heiteren Tagen, ohne bei letzteren immer gerade an volle Sonnentage zu denken und photometrische Beobachtungen zeigen noch deutlicher, daß da die allergrößten Schwankungen und oft in allerschnellstem Wechsel auftreten.

Diese wechselnde Tageshelligkeit kann aber für uns ebenfalls nicht gleichgültig sein; die Botaniker sprechen, und gewiß mit Recht der Ortshelligkeit, auch abgesehen von der Sonnenzeit eine mächtige Bedeutung für die Schnelligkeit des Pflanzenwachstums zu und es ist im hohen Grade wahrscheinlich, daß auch auf Tier und Mensch die wechselnde Tageshelligkeit einen recht bedeutenden Einfluß haben wird; exakt nachweisen können wir denselben zwar zurzeit noch nicht, da uns zunächst dafür die nötigen Unterlagen, nämlich die Aufzeichnungen der verschiedenen Tageshelligkeiten fehlen. Daß aber in der Tat dieser Faktor gewaltig für uns mitspricht, ergibt sich schon aus dem ganz subjektiven psychischen Wohlbefinden, das unter sonst gleichen Verhältnissen der nor-

¹ Da ganz genaue Angaben über die Tageslängen in Göttingen nicht zu erhalten waren, habe ich meinen diesbezüglichen Berechnungen das monatliche Tagesmittel für das mittlere Deutschland zugrunde gelegt. Diese Berechnung ist erfolgt für die Helligkeitskurve Nr. 6, siehe weiter hinten.

² Rubner, *Blätter für Volksgesundheitspflege*. VII. Jahrg. S. 55.

male Mensch an hellen Tagen z. B. gegenüber einem dunklen Wintertage empfindet, selbst wenn im ersteren Fall nicht klarer Sonnenschein vorhanden ist.

Besonders deutlich aber wird das Unbehagen, das viele an dunklen Tagen in ihrem Befinden und in der Stimmung empfinden, wenn eine längere Reihe solcher Tage aufeinander folgt, wie ich wohl ohne Widerspruch behaupten darf.

Schon aus diesem einen Grunde wären also gewiß registrierende Aufzeichnungen über die verschiedenen Ortshelligkeiten an möglichst zahlreichen Orten von hygienischem Interesse, dazu kommen aber noch andere Momente, so z. B. der Umstand, daß wir eine ganze Anzahl von Arbeiten nur bei einer gewissen Minimalhelligkeit verrichten können. Diese Helligkeit wird in den Tagesstunden im Freien wohl meist selbst an dunklen Tagen vorhanden sein, zumal es dort auch in der Regel nicht so auf genaues Sehen ankommt. Anders in unseren Wohnungen. Die Tage, wo in unseren Stuben auch zur Mittagszeit zum Lesen und Schreiben, ja oft auch zum Essen usw. im Winter die Lampe angesteckt werden muß, sind ja leider nicht so selten und in Schulen und ähnlichen Anstalten spielt daher auch im Winter die Frage der künstlichen Beleuchtung eine nicht unwichtige Rolle und manche Schule wird mangels einer solchen gezwungen, ihren Lehr- und Stundenplan in den dunklen Wintermonaten erheblich zu verändern.

Ferner wissen wir, daß die momentane oder wechselnde Ortshelligkeit vielfach von ganz lokalen Ursachen, so vom Wasser-, Rauch- oder Rußgehalt der Atmosphäre abhängt, Momente, die ihrerseits wiederum von eminentem hygienischen Interesse sind. So erklären sich auch zweifellos die Unterschiede in den Sonnenscheinstunden zweier dicht benachbarter Orte, wie sie eben für London und Kew angeführt worden sind. Diesen wechselnden Zustand der Atmosphäre in einfacher und einwandfreier Weise zu registrieren, ist bisher noch nicht gelungen, wie Rubner noch kürzlich in einer bemerkenswerten Arbeit über „trübe Wintertage und die sogenannte Rauchplage der Großstädte“¹ ausgeführt hat.

Durch eine Registrierung der Ortshelligkeit könnten wir aber gewiß auch über die Reinheit der Atmosphäre Aufschluß erhalten, da beide, wie gesagt, in engem Zusammenhang miteinander stehen, und so indirekt aus ersteren Beobachtungen noch weiter Nutzen ziehen.

Aus all dem Angeführten geht wohl zur Genüge hervor, daß abgesehen von Meteorologie und Landwirtschaft auch die Hygiene ein wohlbegründetes Interesse an Registrierungen der Ortshelligkeiten haben muß;

¹ *Archiv für Hygiene.* Bd. LIX.

soviel mir aber bekannt, fehlen dieselben noch vorläufig vollständig, vor allem wohl deshalb, weil, wie gesagt, Instrumente dafür nicht bekannt und vorhanden sind.

Ich glaube nun, daß mein kleiner Apparat, von dem ich eingangs gesprochen, für diesen Zweck wohl brauchbar ist, da er nicht allein die Sonnenscheinzeiten, sondern auch verschiedene Tageshelligkeiten mit genügender Genauigkeit aufzeichnet, was ich wohl am besten durch die mit dem Apparat gewonnenen Resultate des letzten Jahres demonstrieren kann.

Zunächst möge jedoch noch einmal eine kurze Beschreibung des Instrumentes (Fig. 1) erfolgen, da kaum alle Leser dieses Aufsatzes auch die „Hygienische Rundschau“ zur bequemen Verfügung haben werden.

Das Wesentliche des Instrumentes ist ein oben geschlossener Messingzylinder *c*, der sich, getrieben durch ein einfaches Uhrwerk, einmal täglich um seine Achse dreht. In der Mitte der Zylinderwand befindet sich ein kleiner Spalt *Sp*, der beim Anstellen des Instrumentes der Sonne gerade gegenüber gerichtet wird und durch das Uhrwerk gedreht dem Sonnenstande jeweilig folgt, so daß also stets das Sonnenlicht, bzw. bei bedecktem Himmel Licht von der Stelle, wo die Sonne am Himmel gerade steht, senkrecht durch den Spalt in das Innere des Zylinders gelangt. Hier trifft das Licht auf einen zweiten nur wenig engeren Zylinder *T*, der im Inneren des ersteren aber feststehend angebracht ist und mit lichtempfindlichem, gewöhnlichem photographischem Chlorsilberpapier überzogen wird. Es ist ohne weiteres klar, daß wenn Licht durch den eben erwähnten Spalt hindurchfällt, dieses je nach seiner Intensität eine mehr oder weniger starke Schwärzung des Papiers bewirken wird und daß durch die Rotation des Zylinders die Schwärzung bei länger dauerndem Lichteinfall als Streifen auf dem lichtempfindlichen Papiere sich abzeichnen muß, wie es die Abbildung deutlicher noch als eine Beschreibung zeigt. Daraus ist zugleich zu ersehen, daß der Apparat für eine ganze Woche

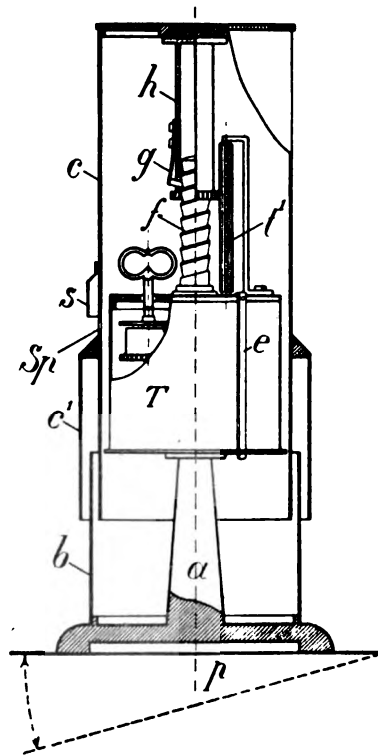


Fig. 1.

Apparat zur Lichtmessung.

empfindlichem, gewöhnlichem photographischem Chlorsilberpapier überzogen wird. Es ist ohne weiteres klar, daß wenn Licht durch den eben erwähnten Spalt hindurchfällt, dieses je nach seiner Intensität eine mehr oder weniger starke Schwärzung des Papiers bewirken wird und daß durch die Rotation des Zylinders die Schwärzung bei länger dauerndem Lichteinfall als Streifen auf dem lichtempfindlichen Papiere sich abzeichnen muß, wie es die Abbildung deutlicher noch als eine Beschreibung zeigt. Daraus ist zugleich zu ersehen, daß der Apparat für eine ganze Woche

registriert. Das wird dadurch ermöglicht, daß der rotierende Zylinder zugleich mit seiner Achsendrehung langsam senkrecht absinkt. Es wird also täglich eine etwas tiefere Stelle des Papierstreifens vom Spaltenlicht getroffen werden und am Schlusse einer Woche werden entsprechend den 7 Tagen der Exposition ebenso sieben dunkle untereinander liegende Streifen auf dem Chlorsilberpapier sichtbar sein, die leicht in gewöhnlicher Weise fixiert und aufbewahrt werden können. Der Apparat hat also das Angenehme, daß er nur einmal in der Woche bedient zu werden braucht, er wird dann wieder aufgezogen und mit neuem Papier versehen, was in wenigen Augenblicken geschehen kann, und kann dann wieder sich selbst überlassen werden, da das Uhrwerk genau genug geht, um den Spalt mit Sicherheit stets dem Stande der Sonne folgen zu lassen.

Auch die Solidität des Instrumentes ist trotz des Uhrwerks und der sonst beweglichen Teile eine so große, daß man dasselbe ohne Gefahr den Einflüssen der Witterung aussetzen kann. Bei mir steht nunmehr das Instrument seit fast 2 Jahren ununterbrochen auf dem sehr dem Winde und Regen exponierten Dache des hygienischen Instituts und hat erst einmal einer kurzen Reparatur vor 2 Monaten bedurft, da sich anscheinend Staub in das Räderwerk allmählich gesetzt hatte. Sonst ist selbst bei starkem Sturm und intensiver Kälte ein Versagen nicht zu bemerken gewesen, abgesehen von 2 maliger Störung durch den Schornsteinfeger und den Dachdecker, die sich unbefugterweise mit dem Instrument zu schaffen gemacht hatten. Zu größerer Sicherung gegen Witterungseinflüsse würde es übrigens meiner Ansicht nach auch möglich sein, den ganzen Apparat mit einem Glasschutz, z. B. einer großen Mikroskopglocke zu versehen, es geht natürlich etwas Licht bei dem Durchgange durch das Glas für das Instrument verloren, doch dürfte dieser Verlust nicht irgendwie ins Gewicht fallen.

Die Registrierung der Lichtintensität wird, wie aus dem Gesagten hervorgeht, durch Einwirkung auf Chlorsilberpapier bewirkt; die Verwendung dieser Papiere zu Helligkeitsbestimmungen ist durchaus nicht neu, vielmehr schon öfter empfohlen und versucht worden, zuerst wohl von Bunsen und Roscoe¹, die einen eigentümlichen Pendelapparat benutzten und die Schwärzung des Papiers mit Normalpapier verglichen. Neuerdings hat Wingen² lichtempfindliche Papiere in Schulzimmern zur vergleichenden Registrierung der Helligkeit daselbst angewendet; die Methode hat sich auch bis zu einem gewissen Grade als brauchbar erwiesen, leidet aber an dem Übelstand, daß es nicht gelingt, absolut gleich-

¹ Poggendorfs *Annalen*. Bd. CVIII.

² *Deutsche med. Wochenschrift*. 1902. Nr. 5 u. 6.

empfindliche Papiere zu bekommen, so daß die Untersuchungen, wenn sie mit Papier verschiedener Herkunft angestellt werden, nicht direkt vergleichbare Resultate geben.

Derselbe Fehler ist natürlich auch bei meinem Instrument zu monieren, aber hier handelt es sich um ganz andere Helligkeitsdifferenzen; während dieselben im Schulzimmer zwischen den einzelnen Plätzen wohl kaum je 100 Normkerzen betragen werden, haben wir es bei der Himmels-helligkeit mit Schwankungen von 0 bis vielen tausenden von Kerzen zu tun und auf einige 100 NK. mehr oder weniger kommt es da, zu-nächst wenigstens, nicht an. Wenn man nur möglichst gleichwertiges Papier, also aus derselben Fabrik benutzt und es später bei der Fixation der Streifen gleichmäßig behandelt, wenn man ferner die Zerlegung der erhaltenen Kurven nach ihrer verschiedenen Schwärzung in nicht zu viele Unterabteilungen fordert, wird, glaube ich, der Fehler, den eventuell die verschiedene Empfindlichkeit der Papiere bedingen könnte, so gering, daß er wohl vernachlässigt werden kann.

Ich habe aus diesem Grunde bei meinen Registrierungen auch nur vier verschiedene Helligkeitsunterschiede angenommen, die sich leicht auseinanderhalten lassen, nämlich schwarz, dunkelbraun, hellbraun und lichtgrau, deren Bedeutung gleich noch erläutert werden soll. Zunächst ist noch ein anderer Einwand zu berücksichtigen, den der Hygieniker gegen den Gebrauch des Chlorsilberpapiers machen kann. Es ist be-kannt, daß diese Papiere meist ein Empfindlichkeitsmaximum für violettes Licht haben, ihre Schwärzung wird daher wohl einen richtigen Maßstab für die aktinische, nicht aber für die den Hygieniker zumeist inter-essierende optische Helligkeit geben. Man hat auch diesen Nachteil schon zu beseitigen versucht und namentlich ist vor einiger Zeit von Ruzicka¹ ein Auraminpapier empfohlen worden, das neben dem Empfindlichkeits-maximum im Violett auch ein zweites im Gelb besitzt. Versuche mit diesem oder ähnlichem Papier sind aber von mir bisher nicht angestellt worden, ich habe sie nicht für nötig gehalten, da ich, wie gesagt, nur grobe Ausschläge der Beleuchtungsintensität berücksichtigt habe und vor allem, weil ich mich durch Kontrollversuche überzeugte, daß die ver-schiedene Schwärzung meiner Streifen tatsächlich stets den entsprechenden Helligkeitseinwirkungen entsprach in den weiten Grenzen, wie ich sie eben angegeben habe. Diese Kontrollversuche stellte ich so an, daß ich eine längere Zeit hindurch, meist in den Mittagsstunden an den ver-schiedensten Tagen und bei möglichst verschiedener Himmels-helligkeit, bei freier und verdeckter Sonne, bei Nebel, Schneedecke, Regen usw. die

¹ *Archiv für Hygiene*. 1902. Bd. XLIII.

Helligkeit der Sonne oder bei verdeckter Sonne des dem momentanen Sonnenstande entsprechenden Stückes Himmel mit dem Weberschen Photometer in rot maß und mit den Angaben meines Instrumentes verglich.

Aus diesen Versuchen ergab sich mit bemerkenswerter Konstanz, daß bei einer Himmelshelligkeit von unter 100 NK., wie sie regelmäßig meist in der Dämmerung, an trüben Wintertagen aber auch zu jeder anderen Tageszeit längere oder kürzere Zeit bei uns vorkommt, ein Eindruck auf dem Registrierpapier nicht erfolgte, solche Perioden wurden also im Laufe des Tages als Lücken, am Morgen und Abend als Verkürzung der Kurve vermerkt; war das Papier lichtgrau verfärbt, so entsprach das der Helligkeit von 100 bis 500 NK., stieg die Helligkeit weiter bis etwa 1500 NK. wurde das Papier bereits deutlich hellbraun, dabei war die Sonne stets noch vollkommen und so dicht durch Wolken verdeckt, daß ihr Stand nicht ganz genau zu erkennen war, so daß es oft schwierig wurde, das Photometer genau auf den jeweiligen Sonnenstand einzustellen; es machte das allerdings nichts, da die Wolken in der Nähe meist dieselbe Helligkeit reflektierten, der Fehler daher in keinem Falle groß war. Wurde die Wolkendecke dünner, so daß die Sonne begann durchzuleuchten, stieg die Helligkeit meist rapide, es wurden dann stets über 1500 NK. gemessen und dementsprechend wurde auch der Papierstreifen sofort dunkelbraun. Bei klarer oder nur wenig verschleierter Sonne betrug die Helligkeit immer über 3000 NK., das Papier wurde dabei sofort ganz schwarzbraun, wie es die hinten angefügte Probe ja zur Genüge zeigt. Bei Durchmusterung der Kurven dort wird es jedem leicht sein, die fünf Helligkeitsdifferenzen, wie sie eben angegeben worden sind, herauszufinden, ebenso war es natürlich leicht, mit einem Millimetermaßstab die einzelnen Zeiten der Helligkeit auszuzählen, da 1^{mm} immer genau 5 Minuten entspricht.¹

Nun ist allerdings noch etwas weiteres zu beachten. Es wird mit dem Instrument nicht die Gesamttageshelligkeit gemessen, sondern im wesentlichen nur die direkte Helligkeit der Sonne und bei bedecktem Himmel, die des dem Sonnenstande jeweilig entsprechenden Stückchen Himmels. Zur Zeit direkten Sonnenscheins wird letzterer wohl zweifellos den überwiegenden Teil der Gesamttageshelligkeit ausmachen, bei bedecktem Himmel aber werden Reflexe von Wolken, Nebel, Schneedecke und ähnliches unter Umständen nicht unbeträchtlich zur Gesamthelligkeit beitragen und es erscheint mir zweifelhaft, ob der Apparat da ganz richtige Angaben machen wird; groß wird zwar der Fehler keinesfalls sein, wenn man nur Helligkeitsintervalle von solcher Größe, wie ich es

¹ Im Original sind die Farben nicht schwarz, sondern braun und dadurch die Unterschiede der Tönung sehr viel deutlicher.

Stunden. Tageshelligkeiten in Göttingen 1906. Summe der Monatsstunden.

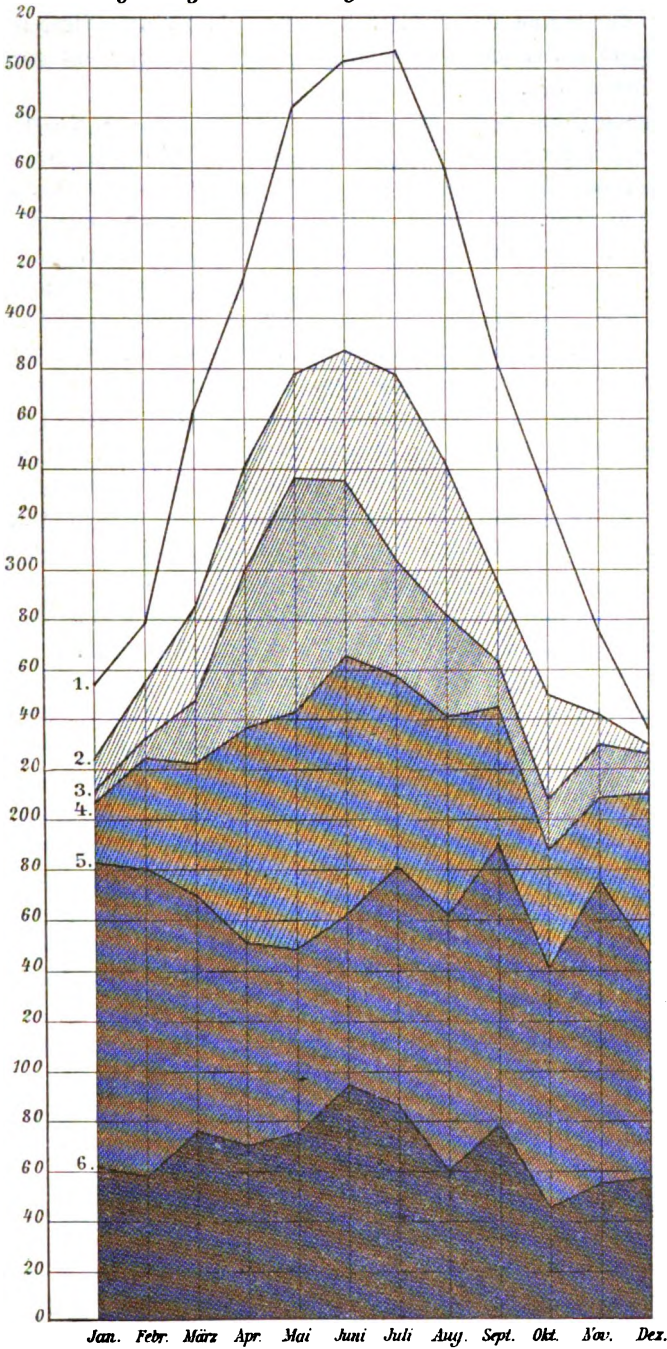


Fig. 2.

getan habe, berücksichtigt. Besondere Instrumente, mit denen man mit Ausschluß der Sonne die sonstige Tageshelligkeit einwandfrei registrieren kann, gibt es soviel ich weiß nicht, sie werden auch nicht ganz einfach zu konstruieren sein.

Ich gehe jetzt noch mit einigen Worten auf die Resultate ein, wie ich sie mit meinem Instrument im Verlauf des Jahres 1906, wo dasselbe permanent auf dem Dache des hygienischen Instituts aufgestellt war, erhalten habe. Da dieser Dachfirst in der ganzen Umgebung weitaus der höchste Punkt war, konnte von dort der ganze Horizont frei überblickt werden und waren das Gesichtsfeld einengende Objekte nicht vorhanden. Wie schon angegeben, sind zweimal durch Dachdecker kurze Unterbrechungen in der Registrierung vorgekommen, in beiden Fällen wurde der Apparat am nächsten Tage wieder in Ordnung gebracht und die fehlende Registrierung durch Vergleich mit einem gewöhnlichen Sonnenscheinrekorder ergänzt; ebenso wurde verfahren, als einmal im November der Papierstreifen aus Versehen mit der lichtempfindlichen Seite nach innen gewendet um den Zylinder gelegt worden war. Es war zwar auch dabei der direkte Sonnenschein wie auch das hellere Tageslicht durch das Papier durchkopiert und genügend deutlich zu erkennen, die fehlenden dunkleren Tageszeiten mußten dagegen aus den übrigen Novemberwochen im Mittel berechnet und ergänzt werden.

Sonst funktionierte der Apparat tadellos und gab stets brauchbare Angaben, die dann leicht im einzelnen ausgezählt werden konnten, wobei ich die Zeiten stets nach Viertelstunden abgerundet habe, da eine noch geringere Zeiteinteilung wohl möglich gewesen wäre, aber auch bedeutend mehr Zeit für die Auszählung erfordert hätte.

Außer den schon erwähnten vier Helligkeitsabstufungen fand ich dann eine besondere Rubrik einzurichten nötig für die Zeiten, wo Sonnenschein und Wolken fortwährend in schneller Folge wechseln. Wie jeder weiß, kommt das gar nicht selten vor und in den beigegeführten Abbildungen finden wir beispielsweise am 28. II. 1907 nachmittags eine solche Periode, die ich dann gesondert rubrizierte, so daß ich nun noch einmal zusammenfassend folgende sechs Unterschiede erheben konnte.

1. Dunkelste Schwärzung des Streifens = heller Sonnenschein = über 3000 NK. Helligkeit.

2. Schnell wechselnde schwarze und hellere Streifen = Wechsel von Sonne und Wolken in kurzen Intervallen.

3. Dunkelbraune Verfärbung des Streifens = Sonne eben durch die Wolken durchscheinend = 1500 bis 3000 NK.

4. Hellbraune Verfärbung des Streifens = Sonnenstand wegen Wolken nicht deutlich erkennbar = 500 bis 1500 NK.

5. Leicht graue Verfärbung des Streifens = dichter Wolkenschleier = 100 bis 500 NK.

6. Kein Eindruck auf dem Papier = Dämmerung oder dämmerungsähnliche Dunkelheit am Tage = unter 100 NK.

Die Resultate nach dieser Einteilung für die einzelnen Monate von 1906 zusammengezählt, zeigt die beifolgende Tabelle, die der leichteren Übersicht wegen auch noch einmal in Kurvenform konstruiert worden ist, die wohl ohne weiteres verständlich erscheint. Es läßt sich aus den Kurven besonders bequem ersehen, welchen Anteil die verschiedenen Helligkeitsphasen in den einzelnen Monaten an der Gesamttageslänge, die sich aus der Summe sämtlicher Kurven stets ergibt, gehabt haben. Von 0 bis 1 ist also die Gesamtstundenzahl angezeigt, in der während des betreffenden Monats im günstigsten Falle die Sonne hätte scheinen können, von 1 bis 2, in welchen sie tatsächlich geschienen hat und von 0 bis 6 ist die Zeit, in welcher der Apparat nicht registriert hat, die Tageshelligkeit also unter 100 NK. gewesen ist. Dieser Anteil an der Gesamttageshelligkeit ist namentlich in den Wintermonaten ein auffallend großer, er erklärt sich nicht allein aus der verhältnismäßig langen Morgen- und Abenddämmerung unseres Klimas, sondern auch daraus, daß tatsächlich mitten am Tage sehr oft viele Stunden lang ein fast dämmerungsähnlicher Zustand bei uns herrscht, dem man in unseren Wohnungen dann mit künstlicher Beleuchtung nachhelfen muß. Noch viel ungünstiger wird das Verhältnis, wenn man als dunkle Tageszeit auch noch diejenige hinzunimmt, wo der Himmel mit einem dichten Wolkenschleier bedeckt ist und die Helligkeit immer noch unter 500 NK. bleibt. Im Monat Januar betrug die Gesamtzahl der Sonnenstunden nur 36, der Helligkeitsstunden über 500 NK. (= 1 bis 4) 71 Stunden bei einer Gesamttageslänge von 254 Stunden in dem Monat, mit anderen Worten über $\frac{2}{3}$ der Tagesstunden ist als sehr dunkel zu bezeichnen.

Aber selbst in dem bei uns hellsten Monat Juli ist der Anteil der dunklen Stunden an der Gesamttageshelligkeit kein geringer und betrug z. B. im Jahre 1906 162 Stunden auf 501 Gesamtstunden, also etwa $\frac{1}{3}$, was aber hier wohl hauptsächlich auf die lange Dämmerung am Morgen und Abend zu schieben sein wird.

Von Interesse ist auch ein Vergleich meiner Aufzeichnungen mit denen eines des gebräuchlichen Sonnenscheinregistratoren, zu dem mir Professor v. Seelhorst Gelegenheit gab, der in dem Garten seines hiesigen landwirtschaftlichen Instituts den Sonnenschein durch den bekannten Sonnenscheinautographen von Campbell und Stokes fortdauernd registrieren läßt und mir die Aufzeichnungen für das Jahr 1906 liebenswürdig zur Einsicht überließ. Ich habe der besseren Übersicht-

lichkeit wegen die monatlichen Zahlen dieses Autographen auf der Tabelle unter Nr. 7 mit angefügt. Aus denselben geht hervor, daß die Aufzeichnungen beider Instrumente nicht unwesentlich voneinander abweichen, und zwar bei dem Campbellschen Autographen mehr registriert wird. Wenn ich allerdings, wie es richtig zu tun ist, meine Rubrik 1 und von Rubrik 2 mit dem stets wechselnden Sonnenschein noch die Hälfte als Sonnenschein zusammenaddiere, wie es als Rubrik 8 geschehen ist, erhalte ich auch Zahlen, die sich dem Campbellschen Instrument sehr nähern. Daß sie nicht vollständig übereinstimmen, dürfte darin seinen Grund haben, daß der Campbellsche Autograph auch bei leicht verschleierter Sonne noch Eindruck auf dem Papier hervorbringt, was dann aber eigentlich nicht mehr als reiner Sonnenschein zu bezeichnen ist, in der Regel aber als solcher angesehen wird. Mein Instrument macht daher auch wohl in dieser Richtung genauere und richtigere Angaben als die bisher gebräuchlichen; denn bei dem Maurerschen Instrument z. B., das ich mehrfach zu Vergleichen mit dem meinigen heranzog, verhält es sich genau ebenso.

Tabelle.

Es registrierte der Helligkeitsmesser 1906 monatlich in Stunden:

- Helligkeit 1 = heller Sonnenschein, schwarze Verfärbg. d. Papiers = üb. 3000 HK i. Rot.
 „ 2 = Sonne und Wolken in kurzen Abständen (Minuten) abwechselnd.
 „ 3 = leicht verschleierte Sonne, dunkelbraune Verfärbung des Papiers = 1500—3000 HK.
 „ 4 = vollkommen verdeckte Sonne, hellbraune Verfärbung des Papiers = 500—1500 HK.
 „ 5 = dichter Wolkenschleier, leichte Verfärbung des Papiers = 100—500 HK.
 „ 6 = starke Verdunkelung der Atmosphäre, Dämmerung usw. Kein Eindruck auf das Papier = unter 100 HK.
 „ 7 = Durch den Campbellschen Sonnenscheinautographen registrierte Sonnenscheinzeit.
 „ 8 = Addition von Nr. 1 und halb 2 zum Vergleich mit Nr. 7.

Monat	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Januar	30	12	5	24	121	62	44	86
Februar	25	15	11	46	122	58	33	33
März	79	37	26	53	95	75	119	98
April	74	40	63	85	82	70	159	94
Mai	105	40	94	93	75	76	156	125
Juni	113	52	70	104	68	94	188	139
Juli	128	72	48	76	96	86	175	164
August	118	59	40	80	102	60	181	147
September . . .	87	34	17	56	112	78	110	104
Oktober	82	43	21	46	96	46	114	104
November . . .	33	10	21	34	120	54	39	38
Dezember	4	4	17	62	91	56	7	6
Summe	878	418	433	759	1130	815	1275	1088

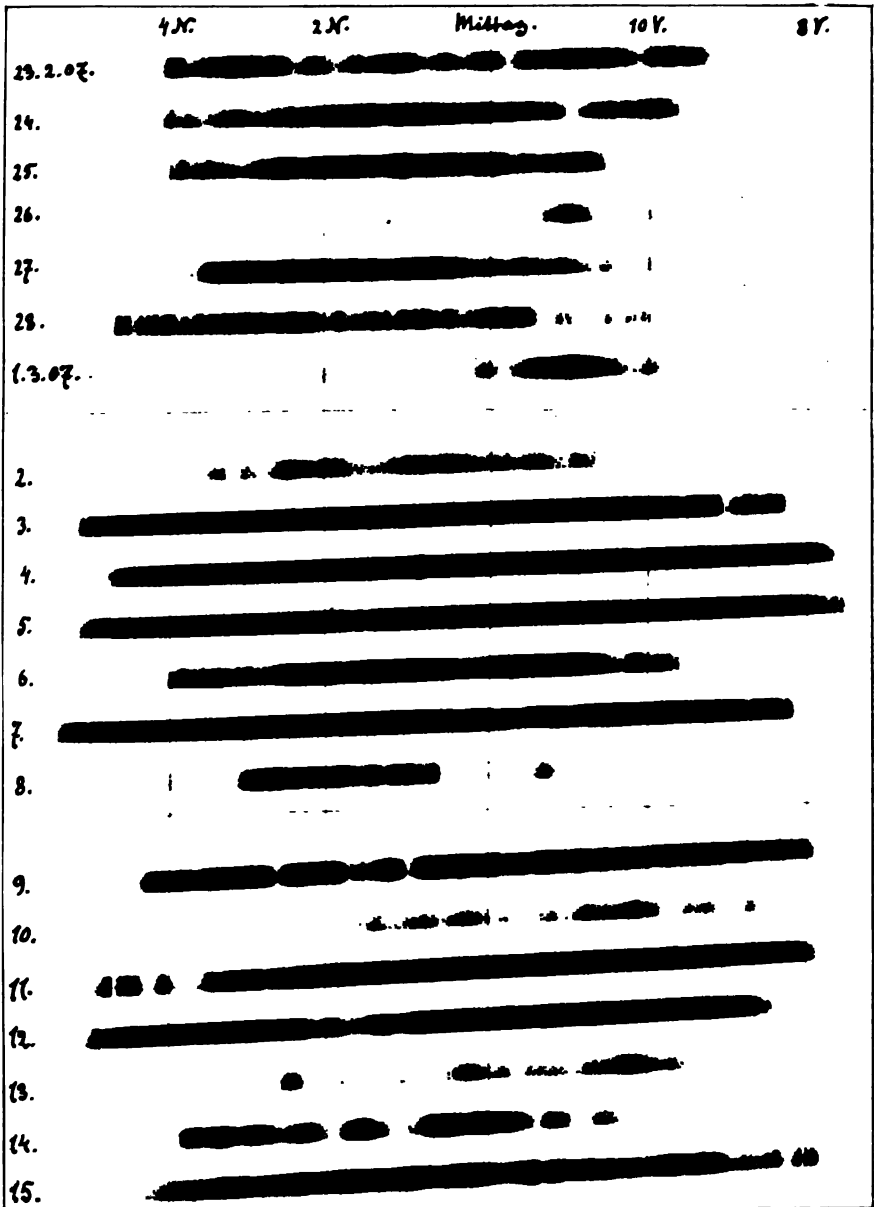


Fig. 3.

Auf weitere Details in den Aufzeichnungen, namentlich der einzelnen Tage möchte ich hier nicht weiter eingehen, es wäre dazu nötig, die registrierten Kurven sämtlich in natura zu reproduzieren, was wohl zu kostspielig werden würde. Was der Apparat im einzelnen leistet, zeigt sich ja auch an der einen Probetafel, die die Aufzeichnungen von 3 Wochen enthält. Man wird daraus unschwer die verschiedenen Helligkeitsphasen, welche ich meinen Kurven zugrunde gelegt habe, unterscheiden können, da ich absichtlich 3 Wochen ausgewählt habe, in denen sowohl ganz heitere, wie ganz dunkle Tage vorgekommen sind.

So zeigt z. B. der 26. II. nur um 11 Uhr vormittags für $\frac{1}{2}$ Stunde eine Helligkeit, die 500 NK. überschreitet. Umgekehrt ist der 5. III. ein fast vollkommen heiterer Sonnentag, nur nachmittags um $1\frac{1}{2}$ Uhr haben zweimal kleine Wolken auf kürzeste Zeit die Sonne verdeckt.

Mehr noch als ich es beschreiben kann, wird der einfache Anblick der registrierten Streifen die Überzeugung liefern, daß uns dadurch in der Tat ein ziemlich vollkommener dauernder Ausdruck des Wetters überliefert wird, der von Interesse und Nutzen sein kann, und daß wir mit einem Blick ein vollkommenes Urteil über den Verlauf und den Charakter des Wetters an den einzelnen Tagen gewinnen. Besonders deutlich zeigt sich die Überlegenheit meines Instrumentes im direkten Vergleich mit einem der üblichen Sonnenscheinmesser. Während uns diese nur Bruchstücke und oft dann nur ganz vereinzelte aus dem Wittertagebuche überliefern, setzt uns jenes in den Stand, fortdauernd das Wetter abzulesen; der Unterschied ist in der Tat ohne weiteres in die Augen springend.

Ich glaube daher, den neuen Apparat zur Benutzung empfehlen zu können und verspreche mir namentlich Vorteil von seinem Gebrauch, wenn an möglichst zahlreichen Orten Aufzeichnungen damit gemacht und miteinander verglichen werden; daß der Preis desselben, der von Fuess in Steglitz zu beziehen ist, ein nur mäßiger ist und nur etwas über 100 Mark beträgt, dürfte auch seiner Anschaffung nur förderlich sein.

[Aus der I. medicin. Klinik der Universität München.]
(Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. Ritter von Bauer.)

Zur Streptokokkenfrage.

Von

M. Mandelbaum.

(Hierzu Taf. II u. III.)

Seit den Untersuchungen Robert Kochs über die Ätiologie der Infektionskrankheiten verstehen wir unter Infektion eine krankhafte Reaktion des Körpers, hervorgerufen durch Bakterien und deren Stoffwechselprodukte, die jeweilig nach ihrer Art eine ganz spezifische Krankheit mit fest umschriebenen klinischen Symptomen verursachen. Um so auffallender mußte es daher sein, wenn man auf der Suche nach dem spezifischen Erreger von Erysipel, Skarlatina, Gelenkrheumatismus, Krankheiten, die klinisch ein voneinander grundverschiedenes Bild darbieten, immer und immer wieder auf den bekannten Erreger von Sepsis, Phlegmonen und anderen pyämischen Prozessen den bekannten Kettencoccus — den Streptococcus pyogenes — stieß. Es war daher ganz folgerichtig, wenn Forscher, die bei den obengenannten Krankheiten eben den Streptococcus fanden und diesen für den spezifischen Erreger einer jeweiligen Krankheit hielten, diesen Streptococcus mit spezifischen Eigenschaften auszustatten versuchten, die ihn von dem gewöhnlichen Streptococcus unterscheiden sollten.

So glaubte Fehleisen in dem „Streptococcus erysipelatodes“ den spezifischen Erreger der Rose gefunden zu haben, der eben nur allein imstande wäre, ein echtes Erysipel hervorzurufen, und der sich infolge dieser Eigenschaft gerade von dem Streptococcus pyogenes unterscheidet,

der nur bei eitrigen Prozessen anzutreffen sei. Diese Behauptung konnte aber nicht lange aufrecht erhalten werden, da andere Forscher, vor allem Petruschky und Koch nachwiesen, daß man imstande ist, sowohl durch Verimpfung des „Streptococcus erysipelatodes“ Eiterung, als auch durch Übertragung vom Streptococcus pyogenes ein Erysipel beim Menschen hervorzurufen.

Ferner haben Wassermann, Meyer, Menzer und andere Forscher Streptokokken, die von Menschen stammten, welche an Gelenkrheumatismus litten, in Reinkulturen gezüchtet, diese dann Kaninchen intravenös injiziert und so Gelenkaffektionen hervorgerufen. Auch diese Eigenschaft kann nicht als „spezifisch“ bezeichnet werden. Denn „es rufen Streptokokken der verschiedensten Herkunft, wenn sie mit geringerer Virulenz begabt, in größeren Mengen Kaninchen intravenös appliziert werden, Gelenkaffektionen hervor“ (von Lingelsheim).

Was schließlich den Streptococcus betrifft, den man bei Scharlachkranken findet, so schreibt darüber Heubner: „Seit Beginn der bakteriologischen Ära hat es nicht an Ärzten gefehlt, die mit mehr oder weniger Sicherheit die Kettenkokken, die man fast ausnahmslos im Rachen der Scharlachkranken und sehr oft im Blute und in den Geweben der Scharlachleichen nachzuweisen imstande ist, als den Scharlacherreger angesprochen haben. Die Mehrheit dieser ist wohl, wie Sörensen u. a., nicht der Meinung, daß es sich dabei um einen Parasiten handle, der mit dem Streptococcus pyogenes identisch sei, sondern vielmehr um einen Mikroben, der zwar dem gewöhnlichen Streptococcus morphologisch ähnlich sei, aber eben einen ganz spezifischen Charakter, mit der Eigenschaft der Erzeugung einer ganz besonderen Krankheit begabt, besitze. Bis jetzt aber hat keine Untersuchung an dem beim Scharlach gefundenen Streptococcus irgend eine spezifische Eigenschaft nachzuweisen vermocht. Vielmehr hat sich von neuem herausgestellt, daß er in allen bis jetzt erforschbaren Nuancen sich dem Streptococcus pyogenes gleich verhält. Nicht einmal die von Baginsky und Sommerfeld behauptete Fähigkeit, Toxine zu sezernieren, hat Hilbert an dem Streptococcus der Scharlachangina zu bestätigen vermocht.“

Wir haben zur Zeit also keinen Grund, in diesen Streptokokken — Gelenkrheumatismus, Scharlach — von den pyogenen Streptokokken artverschiedene Formen zu erblicken.

In neuerer Zeit nun hat Schottmüller einen Nährboden angegeben, mit dessen Hilfe man imstande sein soll, drei artverschiedene Streptokokken zu unterscheiden: den Streptococcus longus pathogenes seu erysipelatos, den Streptococcus mitior seu viridans und den Streptococcus mucosus. Der erste, der bei schweren durch Streptokokken hervor-

gerufenen Krankheitsprozessen gefunden wird, soll auf Blutagar Kolonien mit einem hellen, kreisrunden Hof bilden. Der *Streptococcus mitior* dagegen stammt von einer ganz anderen Gruppe von Krankheiten, die sich durch einen relativ milden Verlauf auszeichnen, bildet keinen Hof und hat als charakteristische Eigenschaft, daß seine Kolonien auf Blutagar grüne Färbung hervorrufen. Nur in einzelnen, praktisch belanglos seltenen Fällen war ein schmaler heller Hof zu erkennen, der aber auch noch grünlichen Schimmer zeigte. Der *Streptococcus mucosus* endlich bildet ebenfalls grünlichen Farbstoff, unterscheidet sich aber von den beiden anderen durch sein feuchtes, schleimiges, üppiges Wachstum. Schließlich soll auch der *Streptococcus lanceolatus* seu *Pneumococcus* durch sein Wachstum auf Blutagar deutlich von den obigen drei Streptokokkenarten differenziert werden können. Er bildet ebenfalls grünen Farbstoff. Der *Streptococcus mucosus* unterscheidet sich von ihm durch seine mächtige Schleimentwicklung, dem *Streptococcus mitior* gegenüber hat er schnelleres Wachstum, helleres Grün, Kapselbildung und große Tierpathogenität voraus.

Bei der einschneidenden Bedeutung, die der Frage der Artverschiedenheit der Streptokokken bei der Herstellung spezifischer Sera zuzuerkennen ist, war es nicht zu verwundern, daß eine ganze Anzahl Forscher diese Befunde Schottmüllers nachprüften. Neue Punkte, die die Behauptung Schottmüllers stützen könnten, hat außer E. Fränkel kein Autor, der die Befunde Schottmüllers bestätigte, angeben können. E. Fränkel hat nämlich angegeben, daß der Lakmusnitrosegagar ein ausgezeichnetes differentialdiagnostisches Hilfsmittel für die obigen vier Mikrobenarten sei. Aber auch diese Befunde sind von Beitzke und Rosenthal, Levy und Nieter nicht bestätigt worden. Andererseits soll es anderen Nachprüfern gelungen sein, durch langes Fortzüchten des *Streptococcus longus* pathogenes diesen in einen *mitior* und umgekehrt, den *mitior* durch Tierpassage und Fortzüchten auf Blut in einen hämolysierenden pyogenes zu verwandeln. Diesen Forschern, die auf Grund ihrer negativen Resultate die Behauptung Schottmüllers von der Artverschiedenheit der Streptokokken in Frage stellten, wird teilweise von Anhängern Schottmüllers ungenaue Mischung von Blut und Agar bei der Herstellung des Nährbodens zum Vorwurf gemacht. Dann darf man aber nicht, wie dies in neuester Zeit Schultze getan, die negativen Resultate auf Grund dieses vermeintlichen Fehlers ausschalten, die positiven wie die von Nieter — der 1 bis 2^ocm Blut mit 10 bis 15^ocm Agar mischte — als beweisend anführen.

Im folgenden will ich nun die bisher gefundenen Resultate kritisch gegeneinander abwägen, ferner untersuchen, wie weit die gemachten Vor-

würfe bei der Mischung von Blut und Agar zurecht bestehen und schließlich meine eignen Beobachtungen und Resultate mitteilen.

Durch die Liebenswürdigkeit des Hrn. Dr. Seitz, Oberarzt an der hiesigen Frauenklinik, war es mir möglich, stets mit frischem Menschenblut zu arbeiten. Das Blut stammte aus der Nabelschnur gesunder Wöchnerinnen und wurde in sterilen Glaskolben, in denen Glasperlen zum Defibrinieren des Blutes sich befanden, aufgefangen. Stets wurde das Blut auf Sterilität geprüft.

Als Nährboden zur Differenzierung meiner Stämme wurde Blutagar gebraucht, der genau nach den Schottmüllerschen Angaben hergestellt wurde. Ich prüfte ferner das Verhalten der von mir gezüchteten Stämme auf Nährböden, die Blut und Agar im Verhältnis von 0.5:5 gemischt enthielten. Wenn nichts weiter angegeben, handelt es sich um Nährböden, bei denen das Mischverhältnis von Blut und Agar 2:5 betrug. Zur Aussaat wurden nur Reinkulturen genommen, dieselben wurden in Strichkultur auf der Oberfläche der Platte angelegt.

Alle diejenigen, die sich mit dem Wachstum der Streptokokken auf Blutagar und mit deren Differenzierung durch diesen Nährboden beschäftigt haben, haben bei ihren Untersuchungen wohl den von Schottmüller als *Streptococcus pathogenes* bezeichneten Kettencoccus gefunden. Ist er doch auch der weitverbreitetste, gefährlichste und wohl auch gefürchtetste Repräsentant dieser Kokkenarten, der zweifellose Erreger verschiedener oft rasch zum Tode führender Infektionskrankheiten. Charakteristisch ist für ihn der helle Hof, der sich bei seinem Wachstum auf Blutagar um seine Kolonie bildet. Der Mehrzahl der Untersucher genügte wohl auch dieses makroskopische Kennzeichen von eingetretener Hämolyse auf der Blutagarplatte um einen Kettencoccus, der nach 24stündigem Wachstum diesen Hof erkennen ließ, als den *Streptococcus pathogenes* anzusprechen. Wenigstens habe ich bei vielen eben nur diese Eigenschaft angeführt gefunden, auf Grund deren sie die Diagnose: *Streptococcus pathogenes* stellten. Diese Hofbildung allein genügt aber durchaus nicht, um einen Kettencoccus, der eine solche Aufhellung des Blutagarnährbodens herbeizuführen imstande ist, als einen Pathogenes zu bezeichnen. Denn auch der *Mitior* besitzt hämolytische Eigenschaft und vermag ebenfalls unter gewissen Bedingungen Höfe zu bilden. Auf diesen Punkt werde ich später noch zurückkommen. Um einen Kettencoccus, der Höfe bildet, als sicheren Pathogenes ansprechen zu können, ist es unbedingt erforderlich, dessen Kolonien mikroskopisch zu betrachten. Dieselben sind als runde Gebilde zu erkennen, deren Farbe grauweiß bis gelbbraun ist, die ferner keinerlei Struktur aufweisen, kurz, die sich von den bekannten Kolonien des *Streptococcus* auf gewöhnlichem Agar nicht unterscheiden

lassen. Nur zuweilen liegen einige zusammengeballte Reste von roten Blutkörperchen, sogenannte „Schatten“, der Kolonie auf. Niemals aber enthalten dieselben noch Blutfarbstoff. Diese Eigenschaft, die roten Blutkörperchen zur Auflösung zu bringen und deren Blutfarbstoff zu zerstören, behielt der *Streptococcus pathogenes* trotz monatelanger Fortzucht bei. Es ist ganz gleichgültig, ob derselbe auf gewöhnlichem Agar oder auf Blutagar gezüchtet wird. Mir stand z. B. ein Stamm zur Verfügung, der schon 3 Monate auf gewöhnlichem Agar im Laboratorium gewachsen war. Dieser Stamm wurde noch weitere 3 Monate auf demselben Nährboden gezüchtet, gleichzeitig aber auch auf Blutagar weitergeimpft. Wurden nun Streptokokken dieses Stammes, der einerseits 6 Monate auf Agar, andererseits 3 Monate auf Blutagar fortgezüchtet worden war, nebeneinander auf Blutagar ausgestrichen, so zeigte sich keine nennenswerte Differenz in ihrer hämolytischen Wirkung. Ich kann deshalb die Beobachtung von Beitzke und Rosenthal, denen es nach ihrer Angabe gelungen ist, durch mehrmonatliches Fortzüchten drei Longusstämme in nicht hämolysierende Mitiorstämme zu verwandeln, durchaus nicht bestätigen. Außerdem möchte ich bemerken, daß — gesetzt den Fall, es gelänge in der Tat, die hämolysierende Fähigkeit des Longus aufzuheben — noch lange kein Grund vorhanden ist, einen derartig veränderten Pathogenes als Mitior zu bezeichnen. Weiter versuchte ich die Bildung von Hämolsinen durch den Pathogenes durch Schädigung dieses Mikroben zu verhindern. Zu diesem Zwecke wurde eine Bouillonkultur dieses Coccus einer Temperatur von 50° ausgesetzt und nach 10 bzw. 20 und 30 Min. langer Erhitzung Ausstriche auf Blutagar gemacht. Je länger nun dies schädigende Moment auf die Bakterien einwirkte, um so weniger Kolonien kamen zur Entwicklung. Jede aufgegangene Kolonie aber war von einem deutlichen hellen Hof umgeben, die Blutkörperchen unter der Kolonie waren ebenfalls aufgelöst. Durch das Erhitzen wurde also die Hämolsinbildung des Pathogenes ebenfalls nicht beeinflußt. Durch diesen Versuch ist weiter erwiesen, daß die Größe des Hofes nicht, wie Marmorek annimmt, abhängig ist von der Virulenz des *Streptococcus*. Schottmüller führt den Unterschied in der Größe der Hofbildung auf den Gehalt bakterizid wirkender Substanzen des Blutes zurück, der eben bei verschiedenen Menschen verschieden ist. Ich glaube, daß es der Mangel bzw. das Vorhandensein von Antihämolsinen im Blute ist, wodurch diese Schwankungen in der Größe der aufgehellten Zone veranlaßt werden.

Eine weitere charakteristische Eigentümlichkeit des *Pyogenes* ist die Fähigkeit, in Blutbouillon eine Hämolyse der roten Blutkörperchen herbeizuführen. Die Bouillon wird burgunderrot gefärbt. Am Boden des

Reagensglases befinden sich Bakterienhaufen und Reste der roten Blutkörperchen. Schüttelt man das Röhrchen kräftig durch und macht von der Bouillonkultur einen hängenden Tropfen, so sind die Blutkörperchen nur noch als Schatten zu erkennen. Nach längerem Stehen nach 8 bis 10 Tagen nimmt die burgunderrote Farbe der Bouillon allmählich eine braune Tönung an.

Der *Streptococcus pathogenes* vermag also sowohl auf Blutagar wie in Blutbouillon eine vollkommene Hämolyse der roten Blutkörperchen herbeizuführen. Ein Aufheben dieser Fähigkeit durch längeres Fortzüchten auf blutfreiem Nährboden oder durch Einwirkung von Hitze gelang mir nicht.

Viel seltener wird der

Streptococcus mitior seu *viridans*

gefunden. Seine charakteristischen Merkmale, die ihn von dem *Streptococcus longus* unterscheiden sollen, sind: grüne Farbstoffbildung, Unfähigkeit auf Blutagar Hämolyse zu bilden, mangelnde Tierpathogenität. Was die letztere betrifft, so stellte schon E. Fränkel fest, daß einzelne Stämme für Mäuse äußerst virulent waren. Zu demselben Resultat kamen auch Beitzke und Rosenthal, sowie Levy. Von meinen 7 Stämmen war kein einziger virulent für weiße Mäuse. Im allgemeinen besitzen also die Streptokokken, die zu der Gruppe des *Mitior* zu rechnen sind, keine oder sehr geringe Tierpathogenität. Wenn sich hier und da Stämme finden, die für weiße Mäuse pathogen wirken, so kann dies nicht wundernehmen. Denn der *Streptococcus viridans* gehört ja nach Schottmüller zu den menschenpathogenen Kokken. Nur soll er bei leichteren, chronisch verlaufenden Krankheitsfällen gefunden werden. Ja derselbe ist sogar von Beitzke und Rosenthal, sowie von Levy auch bei schweren, rasch verlaufenden Krankheitsfällen wie Sepsis, Peritonitis usw. als Erreger gefunden wurden. Meine Stämme stammen, wie aus der Tabelle ersichtlich, teilweise von akuten Infektionskrankheiten und solchen, die einen chronischen Verlauf zu nehmen pflegen. Niemals sind meine Streptokokken, die zu der Gruppe des *Mitior* zu rechnen sind, als eigentliche Erreger der jeweiligen Krankheit, bei der ich sie fand, anzusprechen, stets wurden sie in Begleitung anderer pathogener Bakterien angetroffen. Auffällig ist dagegen ihr fast ständiges Vorkommen bei Pneumonie und den anderen Lungenerkrankungen. Nachdem ich erst einmal einen *Mitior* neben dem *Pneumococcus* im Auswurf eines Pneumonikers gefunden, gelang es mir jedesmal, aus pneumonischem Sputum neben dem eigentlichen Erreger dieser Infektionskrankheit den *Streptococcus mitior* herauszuzüchten. Ebenso fand er sich bei Bronchiektasie und Lungengangrän.

Im Gegensatz hierzu sind die zwei Streptokokkenstämme, die ich aus zwei Fällen von Lungentuberkulose züchtete, zu der Gruppe des *Streptococcus pathogenes* zu rechnen.

Als eines der Hauptkriterien zwischen *Streptococcus longus* und *mitior* hat Schottmüller ferner das Fehlen der Hämolyse auf Blutagar beim Verhältnis von Blut und Agar 2:5 als bezeichnend für die letztere Streptokokkenart aufgestellt. „Nur aus theoretischen Gründen sei erwähnt, daß ich ganz verschwindend Blut antraf, welches von einzelnen Stämmen in stärkerem Grade angegriffen wurde. In diesen wie gesagt praktisch belanglosen Fällen bildete sich dann um die einzelnen Kolonien auch beim Verhältnis von Blut und Agar 2:5 ein schmaler heller Hof, aber erst ganz allmählich, im Verlauf von Tagen, und auch hier konnte noch ein grüner Schimmer erkannt werden.“ Auch wenn man nur wenig Blut mit Agar mischt, bringt der *Streptococcus mitior* den für den *Pyogenes* charakteristischen Hof hervor. Die Fähigkeit für Menschenblut wirksame Hämolyse zu bilden, wird also auch von Schottmüller unter gewissen Bedingungen dem *Mitior* zuerkannt.

Deshalb ist es auch kein besonderes Ereignis, wenn zwei Stämme des *Streptococcus mitior* von Levy, die anfangs gar keine Hämolyse hervorriefen, später sehr stark hämolysierten, oder wenn es Beitzke und Rosenthal gelang, durch zweimonatliches Fortzüchten auf Blutagar oder durch öftere Tierpassage den *Mitior* in einen hämolysierenden *Streptococcus* zu verwandeln. Hier hat es sich doch nur darum gehandelt, eine bereits vorhandene Eigenschaft eines Bakteriums zu steigern, was ja auch durch Schaffung der dazu erforderlichen Bedingungen gelingt. Von meinen Stämmen zeigten fünf nach 3 bis 5 Tagen ganz deutlich Hämolyse. Zwei Stämme wurden auf Blutagar fortgezüchtet. Überimpft wurde in Zwischenräumen von 8 Tagen. Dadurch wurde das Vermögen des *Mitior*, Hämolyse zu bilden, derartig gesteigert, daß er nach 2 bis 3 Tagen auf Blutagar Höfe bildete, die den des *Streptococcus pyogenes* an Größe und Helligkeit nicht nachstanden. Oft war die Aufhellung schon nach 24 Stunden deutlich wahrzunehmen. Ist nun durch diese Untersuchungen festgestellt, daß es in Wirklichkeit gelingt, den *Mitior* in einen *Streptococcus pathogenes* zu verwandeln und ist infolgedessen die Behauptung Schottmüllers von der Artverschiedenheit dieser beiden Mikroorganismen als nicht zu Recht bestehend zurückzuweisen, oder ist die „Hofbildung“ nur eine von den vielen gemeinschaftlichen Eigenschaften dieser beiden Streptokokken, die trotzdem Repräsentanten zweier verschiedener Arten darstellen? Alle diejenigen, die sich mit dieser Frage beschäftigten, haben, soweit ich dies aus der mir zu Gebote stehenden Literatur beurteilen kann, den „*Mitior*“, der spontan oder nach Fortzüchtung auf Blut-

agar oder nach öfterer Tierpassage Höfe bildete, als einen Streptococcus pathogenes seu erysipelatos betrachtet und damit die Frage von der Artverschiedenheit der Streptokokken im negativen Sinne beantwortet. Ist nun in der Tat zwischen dem in einen „pathogenes“ umgewandelten Mitior und dem von vornherein als „pathogenes“ angesprochenen Streptococcus kein Unterschied vorhanden?

Da mir kein „umgewandelter“ Mitior anderer Beobachter zur Verfügung stand, so kann ich im folgenden nur Erscheinungen schildern, die mir beim Wachstum der Mitiorstämme, die ich selbst gezüchtet und „umgewandelt“ habe, auf dem Blutagarnährboden aufgefallen sind.

Bei der makroskopischen Betrachtung sehen die Kolonien eines hämolysierenden Mitior denen eines Pathogenes täuschend ähnlich. Der „Hof“ ist hell und ungefärbt. Einen grünlichen Schimmer konnte ich nicht bemerken. Während aber beim Streptococcus pathogenes nach 24stündigem Verweilen im Brutschrank der Hof bereits voll ausgebildet ist, zeigt sich beim Mitior nach derselben Zeit erst ein schmaler, heller Saum rings um die Kolonie. Nach 2 bis 3 Tagen aber ist, wie schon bemerkt, kein Unterschied im Aussehen oder in der Größe der aufgehellten Zone zu bemerken. Nur selten kam es vor, daß bereits nach 24 Stunden die Höfe des Mitior ebenso entwickelt waren wie die des Streptococcus longus. Dagegen zeigten die Kolonien des Mitior manchmal einen dunkleren Ton. Ganz deutlich wird in allen Fällen der Unterschied schon bei der Betrachtung mit der Lupe. Hiermit kann man schon ganz deutlich die grauen oder braungelben Kolonien des Streptococcus pathogenes, die homogen in der Färbung sind und sich scharf von dem hellen Hof abheben, erkennen. Die Kolonien des Mitior dagegen zeigen niemals die Färbung und strukturlose Form, die man bei ihrem Wachstum auf gewöhnlichem Agar zu sehen gewohnt ist. Die Farbe ist tiefbraun bis braunrot oder rostbraun, die Kolonien scheinen grob gekörnt (Taf. III, Fig. 3). Untersucht man nun diese Kolonien mit dem Mikroskop, so entdeckt man, daß man von der eigentlichen Kolonie gar nichts sieht, sondern nur die Form oder, besser gesagt, den Abdruck, der durch die roten Blutkörperchen gebildet wird, die „grobe Körnung“ ist nichts anderes als eben die dicht zusammenliegenden roten Blutkörperchen. Der Rand der Kolonie ist durch eine dunklere Linie angedeutet. Über diesen hinaus liegen noch auf eine kurze Strecke die unaufgelösten roten Blutkörperchen, die dieselbe Farbe zeigen wie die unmittelbar unter der Kolonie liegenden. Dann folgt der helle, farblose Hof, in dem die roten Blutkörperchen nur noch als „Schatten“ zu erkennen sind. Man kann die eigentliche graue Kolonie ruhig mit der Platinöse abtragen, ohne das mikroskopische Bild zu verändern (Taf. III, Fig. 6).

Der *Streptococcus mitior* darf also noch so stark Hämolsine sezernieren, niemals vermag er die roten Blutkörperchen, die direkt unterhalb der Kolonie sich befinden oder dieser anliegen, aufzulösen.

Oder mit anderen Worten: Rote Blutkörperchen, die unmittelbar mit den Kokkenleibern des *Mitior* in Berührung kommen, können von dessen Hämolsinen nicht mehr angegriffen werden.

Der *Streptococcus mitior* liefert also zunächst ein Toxin, das an den Kokkenleib gebunden zu sein scheint und das nicht in das umgebende Nährmedium zu diffundieren vermag. Dasselbe wirkt schädigend auf den Blutfarbstoff der roten Blutkörperchen ein: Derselbe wird in eine Verbindung von braungelber bis rostbrauner Farbe übergeführt (Hämoglobintoxin.) Dieses Toxin wird erst bei der Berührung mit roten Blutkörperchen von der lebenden Bakterienzelle gebildet. Denn abgetötete Bakterienleiber vermögen den Blutfarbstoff nicht umzuändern. Rote Blutkörperchen, deren Farbstoff durch das Hämoglobintoxin des *Mitior* geschädigt wurde, können durch das Hämotoxin (Hämolysin) des *Mitior* nicht mehr aufgelöst werden. Denn sonst müßten doch die roten Blutkörperchen, die unmittelbar unter der Kolonie des *Mitior* liegen, zuerst aufgelöst werden, da die Hämolsine erst durch diese wie durch ein Filter in die Umgebung diffundieren. In der Tat aber bleiben sie ungelöst, während die anderen roten Blutkörperchen, die nicht durch das Hämoglobintoxin gewissermaßen „immunisiert“ wurden, durch die Hämolsine zur Auflösung gebracht werden, was auf der Agarplatte makroskopisch in der „Hofbildung“ erkannt wird.

Diese Eigenschaft des *Mitior* ist konstant bei allen Stämmen dieser Art und ist deshalb als eines der wichtigsten Unterscheidungsmerkmale zwischen *Mitior* und *Pathogenes* zu betrachten. Die Kolonie des letzteren zeigt ja, wie bereits geschildert, auf der Blutagarplatte mikroskopisch genau dasselbe Aussehen, wie auf der gewöhnlichen Agarplatte.

Ein weiteres charakteristisches Erkennungszeichen für den *Mitior* ist folgendes. Bringt man in die gewöhnliche Nährbouillon einige Tropfen defibrinierten Menschenblutes und impft in diese Blutbouillon den *Streptococcus mitior*, so bemerkt man nach 24 stündigem Verweilen des Röhrchens im Brutschrank, daß sich die Blutkörperchen am Boden des Reagensglases angesammelt haben. Sie sind gegen die darüberstehende Bouillon scharf abgegrenzt. Die Bouillon ist durch das Wachstum der Bakterien diffus getrübt aber ungefärbt. Man kann ruhig die Blutkörperchen durch kräftiges Umschütteln wieder in der Flüssigkeit gleichmäßig verteilen und das Röhrchen noch einige Tage bei Brutofentemperatur halten; stets setzen sich die Blutkörperchen wieder zu Boden, die Bouillon bleibt stets ungefärbt, nie tritt Hämolyse ein. Diese Versuche haben schon Schu-

macher und Nieter gemacht, beide sind zu demselben Resultate gekommen. Dem kann ich nun noch hinzufügen, daß es ganz gleichgültig ist, ob es sich um einen Mitior handelt, der auf Blutagar Höfe bildet oder nicht.

Ein Mitior also vermag, trotz kräftigster Hämolysinbildung auf Blutagar, in Blutbouillon die roten Blutkörperchen nicht zum Auflösen zu bringen. Eine Veränderung der roten Blutkörperchen tritt aber doch ein. Ihre rote Farbe wird in ein tiefes Braunrot umgewandelt. Schüttelt man die Bouillon kräftig durch, so daß sich die Blutkörperchen in der Flüssigkeit verteilen, so kann man sich durch mikroskopische Betrachtung des hängenden Tropfens leicht davon überzeugen, daß die Blutkörperchen in der Tat unaufgelöst sind und ihren Farbstoff, der braungelb erscheint, nicht verloren haben.

Wie kommt es nun, daß dieselben Bakterienprodukte auf der Blutagarplatte rote Blutkörperchen aufzulösen vermögen, in Blutbouillon aber diese Fähigkeit verloren zu haben scheinen? Dieser Unterschied in der Wirkung ein und desselben Produktes von Mikroben ist schon längst anderen Beobachtern sowohl bei Streptokokken als auch bei den verschiedensten Bakterien aufgefallen. Pribram gibt folgende Erklärung für den Wegfall der hämolytischen Wirkung in Blutbouillon: „Wenn es sich überhaupt stets um Sekretionsprodukte der Bakterien handelt, so scheint am meisten dafür zu sprechen, daß von den Mikroorganismen während gewisser Zeiten — jedenfalls bereits in den ersten Tagen spärliche Mengen Hämolysins produziert werden, die im löslichen Medium aus uns unbekanntem Gründen rasch wieder verschwinden und wegen ihrer äußerst geringen Konzentration sich unserer Untersuchung entziehen.“ Dagegen soll „durch den kolloidalen Charakter der Blutagarplatte eine Beschleunigung der Hämolyse herbeigeführt werden.“ Dieser Anschauung kann ich nicht beipflichten. Wir haben gesehen, daß der *Streptococcus pathogenes*, der auf der Blutagarplatte alle Blutkörperchen im Bereiche seiner Hämolysinwirkung aufzulösen vermag, auch in der Blutbouillon eine vollkommene Hämolyse herbeizuführen imstande ist. Beim Mitior dagegen ist die Fähigkeit, rote Blutkörperchen aufzulösen, auch auf der Blutagarplatte beschränkt. Nur Blutkörperchen, die nicht in unmittelbare Berührung kommen mit dem Bakterienleib, fallen der Auflösung durch dessen Hämolysin anheim. In der Blutbouillon nun kommen wohl alle Blutkörperchen mit dem Bakterienleib in Berührung, der Mitior bildet nun, genau wie auf der Blutagarplatte, ein Hämoglobintoxin, durch das die roten Blutkörperchen unempfindlich gegen das Hämolysin dieses Bacteriums werden. Die Blutkörperchen können also in der Blutbouillon gar nicht durch die Hämolysine des Mitior aufgelöst werden. Man könnte hiergegen einwenden, daß es im Gegensatz zur Blutagarplatte

in der Blutbouillon gar nicht zur Produktion von Hämolytinen durch dies Bacterium kommt. Man kann aber ruhig zur Blutbouillon etwas Agar hinzusetzen, ohne dadurch irgend welche Änderung im Resultate zu erzielen. Mich interessierte nun weiter die Frage, ob die durch das Hämoglobintoxin des Mitior veränderten roten Blutkörperchen, die ja durch das Hämolytin dieses Coccus nicht aufgelöst werden können, überhaupt sich als resistent erweisen gegenüber den Hämolytinen anderer Bakterien. Zur Lösung dieser Frage stellte ich nun folgende Versuche an. Zwei Blutbouillonröhrchen wurden mit dem Streptococcus mitior geimpft und 2 Tage in den Brütschrank gestellt. Alsdann wurde die durch den Mitior diffus getrübe Bouillon vorsichtig abgegossen, so daß nur noch die roten Blutkörperchen und etwas Bouillonkultur im Reagensglase zurückblieben. Nun wurde sterile frische Bouillon zu beiden hinzugegossen, das eine Röhrchen noch mit einem hämolysierenden Staphylococcusstamme beschickt und wiederum beide in den Brütschrank gestellt. Nach 24 Stunden zeigte das eine Röhrchen, in dem nur der Streptococcus mitior gewachsen war, wiederum keine Hämolyse, das andere dagegen, in dem der Mitior und der Staphylococcus zur Entwicklung gekommen waren, zeigte im unteren Teile eine rötliche Wolke. Schüttelte man dieses Röhrchen durch, ließ die noch unversehrten Blutkörperchen sich zu Boden setzen, so blieb dann die Bouillon gefärbt. Es war also Hämolyse eingetreten. Ich variierte nun diesen Versuch insofern, daß ich das Röhrchen an Stelle des Staphylococcus mit einem Streptococcus pyogenes beschickte, andererseits diesen Pyogenes gleichzeitig mit dem Mitior in eine sterile Blutbouillon einimpfte. In beiden Fällen zeigte sich nach 24 stündigem Verweilen im Brütschranke Hämolyse. Da nun Blutkörperchen, die durch das Hämoglobintoxin des Mitior für dessen Hämolytin unempfindlich geworden sind, durch Hämolytine von Bakterien anderer Art aufgelöst werden, und da diesen Effekt eben auch die Hämolytine des Streptococcus pathogenes auslösen, so muß dieser in der Tat artverschieden von dem Streptococcus mitior sein.

Daß ferner das durch den Mitior produzierte Hämoglobintoxin verschieden ist von dem durch den Pathogenes gebildeten Hämolytin, lehrt deutlich folgender Versuch. Impft man gleichzeitig den Mitior und den Pathogenes in sterile Blutbouillon — man kann ebensogut nur mit dem Mitior impfen, die Bouillon nach einigen Tagen abgießen, frische Bouillon zusetzen und dann erst den Pathogenes einimpfen —, läßt dieselbe 24 Stunden im Brütschrank, so zeigt sich dann, wie bereits erwähnt, im unteren Teile des Röhrchens eine rote Wolke, als Zeichen für den Austritt des Blutfarbstoffes aus den Blutkörperchen. Schüttelt man nun das Röhrchen durch, läßt dann dasselbe wieder ruhig stehen, damit sich

Bakterien und die Reste der roten Blutkörperchen absetzen können, so sieht man, daß die Bouillon gefärbt ist. Während aber die Farbe der Bouillon nach der Hämolyse durch den *Streptococcus pyogenes*, wenn derselbe allein auf Blutbouillon verimpft war, burgunderrot, lackfarben ist, zeigt dieselbe hier beim Zusammenwirken des *Pyogenes* und des *Mitior* einen tiefen braunen Ton bereits nach 24 Stunden. Wir haben also hier erstens: das Austreten des Blutfarbstoffes aus den Blutkörperchen herbeigeführt durch das Hämolsin des *Streptococcus pyogenes*, zweitens: Umwandlung des roten Hämoglobins durch das Hämoglobintoxin des *Streptococcus mitior* in eine Verbindung von brauner Farbe.

Weiter versuchte ich zu ergründen, inwieweit all diese Erscheinungen auf der Blutagarplatte abhängig sind von dem Verhältnis der von Schottmüller angegebenen Mischung von Blut und Agar 2:5. Ich benützte deshalb Nährböden, die Blut und Agar im Verhältnis von 0.5:5 enthielten. Das Resultat war das gleiche. Nur bildete der *Mitior*, was ja gar nicht zu verwundern ist, in viel kürzerer Zeit mächtige Höfe. Aber auch hier blieben die Blutkörperchen unmittelbar unterhalb der Kolonie dieses Coccus im Gegensatz zu denen des *Pathogenes* ungelöst. Zur Unterscheidung dieser beiden Streptokokkenarten bedarf es also nicht des von Schottmüller angegebenen Mischungsverhältnisses. Im Gegenteil, je weniger Blut man zusetzt, um so durchsichtiger bleibt der Nährboden, um so rascher tritt die Hofbildung ein, um so besser kann man dann die sichere mikroskopische Differentialdiagnose stellen.

Während es sich bei den zwei oben geschilderten Streptokokken um menschenpathogene Kettenkokken handelt, will ich nun einen anderen vollkommen avirulenten Streptokokkentypus schildern, der sicher schon sehr häufig von Untersuchern gefunden, bisher aber nicht scharf genug von den pathogenen Arten, von denen er sich durch wesentliche und, wie ich gleich bemerken will, konstant bleibende Eigenschaften unterscheidet, getrennt wurde. Ich habe diesen Repräsentanten der Streptokokkenarten als

Streptococcus saprophyticus

bezeichnet. Derselbe findet sich fast überall auf den Schleimhäuten, die mit der Außenluft in Berührung kommen. Im Mund, in der Nase, in der Vagina, im Darm. Dieser Coccus besitzt gar keine Pathogenität. Sein Wachstum auf den gewöhnlichen Nährböden unterscheidet sich in keinem Punkte von dem der beiden anderen Streptokokken. Dagegen fehlen ihm beim Züchten auf Blutagar die für die beiden anderen Streptokokkenarten so charakteristischen Merkmale. Auf Blutagar ausgestrichen wächst er in zarten, feinen, grauweißen Kolonien, die die Blutkörperchen in keiner, wenigstens durch keine der bisher bekannten Methoden nach-

weisbaren Weise verändern. Bei durchfallendem Lichte erscheint manchmal allerdings der Streifen, auf dem die Kolonien wachsen, leicht schwarz. Entfernt man aber die Kolonien mit der Platinnadel, so zeigt die vorher schwarz erscheinende Stelle wieder den roten Farbenton der Blutagarplatte. Die Blutkörperchen sind also unverändert. In der Blutbouillon, die mit dem Saprophyticus beschickt ist, setzen sich die Blutkörperchen scharf ab, zeigen aber eine dunklere Färbung. Impft man nun hierzu noch den Pathogenes, so tritt Hämolyse ein. Die Bouillon färbt sich karmoisinrot, bald aber wie beim Pathogenes allein burgunderrot. Der Saprophyticus liefert also weder Hämolsine noch Hämoglobintoxine. Auch nach 4 monatlicher Fortzucht auf Blutagar konnte noch nicht eine Spur von Hämolsin- bzw. Hämotoxinbildung nachgewiesen werden. Ein eventueller Versuch zur Erzielung dieser beiden Eigenschaften durch häufige Tierpassage scheidet an dem vollständigen Mangel der Pathogenität dieses Mikroben.

Durch die Blutagarplatte sind wir also imstande, drei verschiedene Streptokokkenarten zu unterscheiden:

1. Den *Streptococcus pathogenes*. Derselbe bildet nach 24 Stunden helle, farblose Höfe. Seine Kolonien sind deutlich mit Hilfe des Mikroskopes zu erkennen. Sie gleichen vollkommen denen auf gewöhnlichem Agar. Die roten Blutkörperchen sind vollkommen gelöst.

2. Den *Streptococcus mitior*. Derselbe repräsentiert sich gewöhnlich nach 24 Stunden als schwarzer bis grünschwarzer Strich. Nach mehreren Tagen ist ein heller, bald kleinerer, bald größerer Hof rings um die Kolonie zu erkennen. Es gelingt durch längeres Fortzüchten auf Blutagar oder durch öftere Tierpassage die hämolysische Kraft des *Mitior* zu steigern. Derselbe kann dann schon nach 24 Stunden Höfe bilden. Dieser hämolysierende *Mitior* unterscheidet sich dadurch von dem *Pathogenes*, daß er die Blutkörperchen, die unmittelbar unter seinen Kolonien liegen, nicht aufzulösen vermag. Deshalb sind die eigentlichen Kolonien mikroskopisch nicht wahrzunehmen. Die roten Blutkörperchen werden durch ein Toxin, das bei der Berührung derselben mit dem Kokkenleib von dem *Bacterium* gebildet wird, den Hämolsinen dieses *Coccus* gegenüber unempfindlich.

3. Den *Streptococcus saprophyticus*. Die Kolonien desselben sind nach 24 Stunden bei durchfallendem Licht als kaum wahrnehmbare schwarze Auflagerung zu erkennen. Die schwarz erscheinende Farbe rührt aber nicht von einer Umwandlung des roten Blutfarbstoffes her. Denn, hebt man die Kolonien mit der Platinnadel ab, so verschwindet die Färbung, die rote Farbe des Blutagars tritt zutage. Der *Saprophyticus* vermag die Blutagarplatte gar nicht zu verändern. Er bildet weder Hämoglobintoxine noch Hämolsine.

Niemals gelang es mir, die eine Art derart umzuwandeln, daß sie die charakteristischen Merkmale einer der anderen annahm.

Die oben geschilderten Kennzeichen treten auch auf Blutagar, bei dem das Mischverhältnis von Blut und Agar 0·5:5 beträgt, zutage. Nur vollzieht sich die Hofbildung des Mitior in kürzerer Zeit.

Ein weiteres diagnostisches Hilfsmittel zur Differenzierung dieser drei Streptokokkenarten ist die Bouillon, der einige Tropfen Blut zugesetzt sind.

1. Der *Streptococcus pathogenes* führt eine Hämolyse der roten Blutkörperchen herbei. Die Bouillon wird burgunderrot gefärbt.

2. Der *Streptococcus mitior* vermag die roten Blutkörperchen nicht aufzulösen. Impft man aber Pathogenes und Mitior zusammen in die Blutbouillon, so tritt Hämolyse ein, die Bouillon wird braun gefärbt.

3. Der *Streptococcus saprophyticus* allein vermag ebenfalls nicht die roten Blutkörperchen zu zerstören. Zusammen mit dem Pathogenes bewirkt er den Austritt des Hämoglobins aus den Blutkörperchen, wodurch die Bouillon zunächst eine karmoisinrote, bald aber eine burgunderrote Farbe annimmt.

Des weiteren wäre noch über das Wachstum des .

Pneumococcus seu *Streptococcus lanceolatus*

und des *Streptococcus mucosus*

auf Blutagar zu berichten. Ich will gleich bemerken, daß dasselbe in den charakteristischen Punkten voll und ganz mit dem des *Streptococcus mitior* übereinstimmt. In 24 Stunden hat sowohl der *Pneumococcus* wie der *Mucosus* den Blutfarbstoff in eine Verbindung überführt, deren Farbenton zwischen schwarz, schwarzgrün bis grün sich bewegt. Nach mehreren Tagen lassen beide Mikroorganismen einen hellen Hof um ihre Kolonien erkennen, eine Erscheinung, auf die schon Schumacher, Süpfle und Levy hinweisen. Also auch diese beiden Bakterien rufen Hämolyse hervor. Auch hier kann diese hämolytische Kraft durch Tierpassagen oder Fortzucht auf Blutagar gesteigert werden. *Mucosus* sowohl wie *Pneumococcus* vermögen ebensowenig wie der *Mitior* Blutkörperchen, die mit den Kokkenleitern in Berührung kommen, aufzulösen. Deshalb tritt auch in der Blutbouillon nach Impfung mit dem *Pneumococcus* oder *Mucosus* keine Hämolyse ein. Die Blutkörperchen sind wie beim *Mitior* gegen die darüber stehende Bouillon scharf abgesetzt, letztere ist ungefärbt. Ein üppigeres Wachstum des *Pneumococcus* oder Bildung eines helleren Grün auf Blutagar, wodurch sich dieser *Diplococcus* von dem *Mitior* unterscheiden soll, konnte ich nicht beobachten. Dagegen ist der *Mucosus* sofort von all den übrigen zu unterscheiden durch Bildung eines feuchten schleimigen Produktes, wodurch dessen Kolonie ein kolossal üppiges

Wachstum vortäuscht. Aber die Bildung dieser schleimigen Substanz ist nicht konstant. Dieselbe unterbleibt sehr häufig. Dann sind, wie gesagt, auch die Kolonien des Mucosus nicht von denen des Mitior und des Pneumococcus zu unterscheiden.

Ein ausgezeichnetes Mittel aber zur Unterscheidung des Pneumococcus und des Mucosus von den anderen Streptokokken — in diesem speziellen Falle vom Mitior — besitzen wir in der Galle bzw. dem taurocholsauren Natrium. Beide Substanzen führen gemischt mit Bouillonkultur des Pneumococcus bzw. des Mucosus eine Aufhellung der Bouillon herbei. Bouillonkulturen der anderen Streptokokken bleiben auch nach der Mischung getrübt. Die Aufhellung kommt dadurch zustande, daß die Kokken von den in Frage stehenden Reagentien aufgelöst werden. Die Bakteriolyse ist, wie ich in einer anderen Arbeit nachgewiesen, bei Anwendung der Galle eine vollständige, beim Gebrauch des taurocholsauren Natriums kann noch eine große Anzahl Kokken mikroskopisch nachgewiesen werden.

Durch den Blutagarnährboden kann also der Mitior nicht vom Pneumococcus differenziert werden, vom Mucosus nur dann, wenn letzterer eben die schleimige Substanz bildet. Nur dann auch ist es möglich, Mucosus und Pneumococcus zu unterscheiden. Leicht dagegen ist die Differenzierung dieser beiden Mikroben durch Impfen auf schrägem Agar. Auf diesem Nährboden wächst der Pneumococcus in kleinen feinsten trockenen Kolonien, die keine Neigung zum Konfluieren zeigen, der Mucosus dagegen als schleimiger, zusammenhängender Rasen.

Betreffs der in Frage stehenden Verwandtschaft von Pneumococcus und Mucosus will ich hier nicht die schon vielfach geschilderten gemeinschaftlichen Eigenschaften, bzw. die Verschiedenartigkeiten, die diese beiden trennen sollen, nochmals anführen, sondern ich will nur erwähnen, daß es mir gelungen ist, sowohl mit durch Galle aufgelösten Pneumokokken gegen den Mucosus, wie umgekehrt mit dem Mucosus gegen den Pneumococcus Meerschweinchen erfolgreich zu immunisieren. Ich halte deshalb den Mucosus für einen nahen Verwandten des Pneumococcus.

Bei all diesen differentialdiagnostischen Untersuchungen war es das Blut, dessen hochgradige Empfindlichkeit gegenüber den Sekretionsprodukten der Bakterien uns die charakteristischen Merkmale für die jeweilige Bakterienart erkennen ließ. Jedesmal aber wurde das Blut noch mit einem anderen Nährmedium gemischt. Um nun die Einwirkung der Mikroorganismen auf das Blut allein beobachten zu können, habe ich folgende Versuche angestellt. Auf der Oberfläche der gewöhnlichen Agarplatte wurde steriles defibriniertes Menschenblut ausgestrichen. Das Blut muß ziemlich dick aufgetragen werden, so daß der Ausstrich aus einer

zusammenhängenden Schicht roter Blutkörperchen besteht, der rote Farbton des Blutes muß gut zu erkennen sein, der Agarnährboden darf nicht durchblicken. Diese Platte läßt man 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Nach dieser Zeit haftet das Blut als feine Schicht an dem Agar. In diese Blutschicht wird nun die zu untersuchende Kultur mit der Platinnadel eingepflegt, so zwar, daß man den Blutaustriech „punktiert“. Ich lasse zwischen den einzelnen Punkten einen Raum von 3 bis 5 mm. Dadurch bekommt man ein Wachstum kleiner Häufchen, die aus einer größeren Anzahl von Einzelkolonien sich zusammensetzen, und die das Blut in ganz charakteristischer Weise verändern.

So wächst der *Streptococcus pathogenes* in Kolonien, die, mit der Lupe betrachtet, weiß erscheinen. Mit dem Mikroskope kann man die einzelnen Kolonien deutlich erkennen. Die Farbe derselben erscheint grauweiß, der rote Blutfarbstoff zwischen den einzelnen Kolonien ist vollständig verschwunden, ein schmaler heller Saum ist zwischen dem Kolonienhaufen und dem unversehrten Blut. Nach mehreren Tagen ist ein größerer Hof schwach angedeutet mit dem bloßen Auge zu erkennen. (Fig. 7 und 8, Taf. III.)

Die Kolonien des *Streptococcus saprophyticus* erscheinen ebenfalls grauweiß, oft bläulichgrau. Dagegen ist der rote Blutfarbstoff zwischen den einzelnen Kolonien erhalten geblieben, so daß die Häufchen wie von zarten Arterien durchzogen erscheinen. Rings um den Kolonienhaufen hat sich ein mächtiger Wall von roten Blutkörperchen gebildet. Es macht den Eindruck, als ob die Blutkörperchen durch das Wachsen der Kolonien nach dem Rande zu zusammengedrängt worden wären. (Fig. 9 und 10, Taf. III.)

Die Kolonien des *Streptococcus mitior* zeigen nach 24 Stunden eine grünlich gelbe Farbe. Nach mehreren Tagen nimmt dieselbe einen dunklen braungelben Ton an. Auffallend ist die mächtige Hofbildung nach mehreren Tagen, die an Größe und Helle die des *Pathogenes* weit übertrifft. (Fig. 11 und 12, Taf. III.)

Ein ganz eigenartiges Wachstum zeigen der *Pneumococcus* und *Mucosus*. Ihre Kolonien zeigen sehr häufig schon makroskopisch sichtbar eine große Anzahl von Schlingen und Ausläufern, wodurch die Kolonien sofort zu erkennen sind. Oft aber sind diese Erscheinungen nicht so stark ausgeprägt. Aber auch dann sind die Kolonien noch deutlich von denen des *Mitior* zu differenzieren. Betrachtet man nämlich eine Kolonie des *Pneumococcus* mit dem Mikroskope, so findet man, daß stets das Zentrum der Kolonie heller ist als der Rand derselben, der eine grün-gelbliche Farbe aufweist. Die Kolonie des *Mitior* ist gleichmäßig gefärbt. Ganz deutlich wird der Unterschied aber nach einigen Tagen. Dann

zeigt, wie bereits geschildert, die Kolonie des *Mitior* einen tiefen braungelben Ton, der den Kolonienhaufen als kompakte gleichmäßige Masse erscheinen läßt. Bei den Pneumokokkenkolonien kann man dagegen die hellen Zentren und den gefärbten Rand der Kolonie deutlich erkennen. (Fig. 13 und 14, Taf. III.)

Auch der *Mucosus* ist durch sein Wachstum in dem Blutaussstrich auf Agar oft deutlich von dem *Pneumococcus* zu unterscheiden. Seine Kolonien sind meist doppelt so groß als die des *Pneumococcus*, haben mächtige Ausläufer, das Zentrum der Kolonie ist ganz hell, der Rand ganz schwach gefärbt.

Nochmals hinweisen möchte ich auf das ähnliche Wachstum des *Pneumococcus* und des *Mucosus*, das sich scharf abhebt von dem der Streptokokken, das also ebenfalls auf ein nahes Verhältnis dieser beiden Mikroben schließen läßt.

Das Wachstum der Streptokokken im Blutaussstrich läßt also ebenfalls drei verschiedene Arten der Kettenkokken erkennen, die Kolonien des *Pneumococcus* und des *Mucosus* sind leicht von denen des *Mitior* durch die oben geschilderten Unterschiede zu unterscheiden.

Tabelle.

Stamm	Herkunft	Wachstum auf		Gallenreaktion	
		Blutagar	Blutbouillon		
Pneumokokken					
1	Pneumonie	Grünfärbung, nach 3 Tagen Hof	keine Hämolyse	positiv	
2	"	"	"	"	
3	"	"	"	"	
4	"	"	"	"	
5	"	"	"	"	
6	"	"	"	"	
7	"	"	"	"	
8	"	"	"	"	
9	Rhinitis acuta	"	"	"	
Mucosus					
1	Prof. Weichselbaum	Grünfärbung, nach einigen Tagen Hofbildung	keine Hämolyse	positiv	
2	"				
3	Kräl				
4	Pneumonie				
Streptokokken					
1	Panaritium	Hofbildung, Kolonie deutlich zu erkennen. Kolonien ungefärbt	Hämolyse, Bouillon burgunderrot gefärbt	negativ	Patho- genes
2	Angina				
3	Tuberkulose				
4	"				
5	Sepsis				
6	Empyem				
7	Otitis				
8	Pneumonie	Grünfärbung, nach einigen Tagen Hofbildung. Blutkörperchen unter der Kolonie nicht aufgelöst	allein keine Hämolyse. Zusammen mit Pathogenes Hämolyse. Bouillon braun gefärbt	negativ	Mitior
9	"				
10	"				
11	Lungengangrän				
12	Bronchiektasie				
13	Pneumonie	Grünfärbung, keine Hofbildung			
14	"				
15	aus Sputum eines Gesunden		allein keine Hämolyse. Zusammen mit Pathogenes Hämolyse. Bouillon karmoisinrot, dann burgunderrot gefärbt	negativ	Sapro- phyticus
16	"				
17	Schleimhaut der Vagina				
18	Haut				
19	Darm				
20	Nase				

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. II u. III.)

Wachstum auf Blutagar. Mischungsverhältnis von Blut und Agar 2 : 5.

Tafel II.

- Fig. 1.** Die ersten zwei Striche: *Streptococcus pathogenes*.
Die mittleren zwei Striche: *Streptococcus saprophyticus*.
Die zwei letzten Striche: *Streptococcus mitior*.
- Fig. 2.** Die ersten zwei Striche: *Pneumococcus*.
Die mittleren zwei Striche: *Streptococcus mitior*.
Die zwei letzten Striche: *Streptococcus mucosus*.

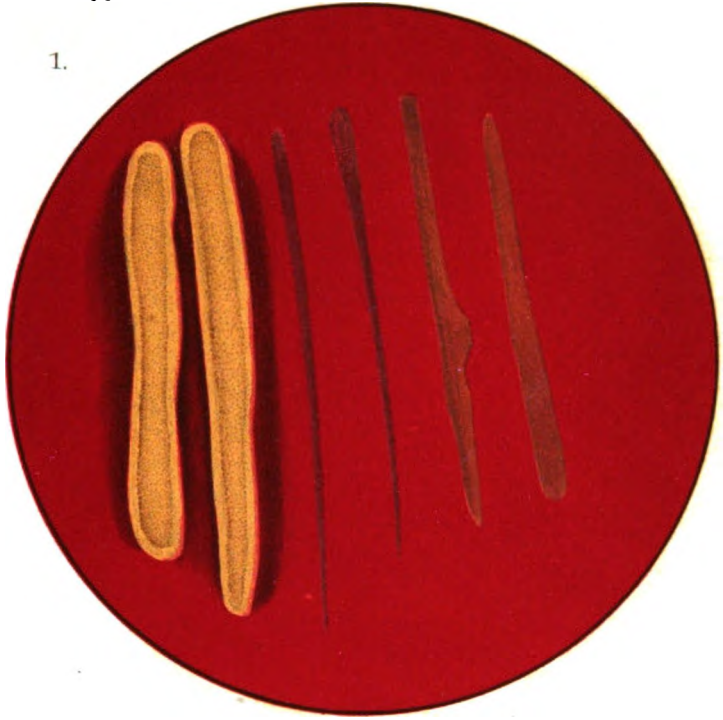
Tafel III.

- Fig. 3.** *Streptococcus mitior* mit Hofbildung mit der Lupe gesehen.
- Fig. 4.** *Pneumococcus* mit Hofbildung mit der Lupe gesehen.
- Fig. 5.** *Streptococcus mucosus* mit Hofbildung mit der Lupe gesehen.
- Fig. 6.** Einzelne Kolonien des *Mitior* mit den unaufgelösten roten Blutkörperchen, Hofbildung. Rand des Hofes nicht mehr zu sehen.

Wachstum im Blutausrich auf Agar.

- | | | |
|-----------------|---|-----------------------------------|
| Fig. 7. | Kolonienhaufen des <i>Streptococcus pathogenes</i> | } mit der Lupe
gesehen. |
| Fig. 9. | „ „ „ <i>saprophyticus</i> | |
| Fig. 11. | „ „ „ <i>mitior</i> | |
| Fig. 13. | „ „ <i>Pneumococcus</i> | |
| Fig. 8. | Einzelner Kolonienhaufen des <i>Streptoc. pathog.</i> | } bei mikroskop.
Vergrößerung. |
| Fig. 10. | „ „ „ „ <i>saprophyt.</i> | |
| Fig. 12. | „ „ „ „ <i>mitior</i> | |
| Fig. 14. | „ „ „ <i>Pneumococcus.</i> | |

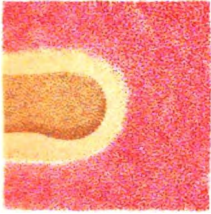
1.



2.



3.



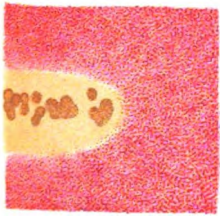
7.



8.



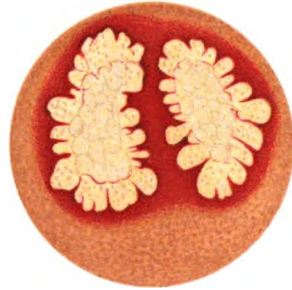
4.



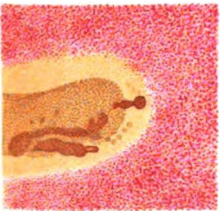
9.



10.



5.



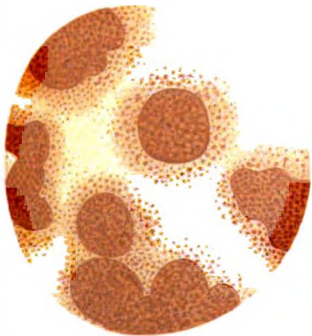
11.



12.



6.



13.



14.



[Aus dem Institut
zur Erforschung der Infektionskrankheiten an der Universität Bern.]
(Direktor: Prof. Dr. W. Kolle.)

Die Einwirkung der Seifen für sich und in Verbindung mit Phenol auf die Bakterien vom chemischen Standpunkt aus betrachtet.

Von

Dr. C. Rasp.

Von maßgebender Bedeutung für die Fortschritte der Seifenindustrie, die sich im Laufe der letzten Jahrzehnte mächtig entwickelt hat, war nicht allein die Tatsache, daß die Seifen eine reinigende Wirkung besitzen, sondern auch eine desinfizierende Kraft in sich schließen.

Es ist deshalb dieser für alle Kulturvölker so nötige Bedarfsartikel in einer großen Reihe von Versuchen auf seinen Desinfektionswert hin untersucht worden. Nicht nur die Seife für sich, sondern auch ihre Mischungen und Verbindungen sind es, die in der heutigen Desinfektionspraxis eine ungemein große und bedeutende Rolle spielen.

Ehe ich jedoch auf die Besprechung der Untersuchungen eingehe, die auf Veranlassung des Direktors des bakteriologischen-hygienischen Institutes, des Hrn. Prof. Dr. W. Kolle, vorgenommen wurden, sollen noch einige Bemerkungen über das Verhalten und Wesen der Seifen vorausgeschickt werden.

Bekanntlich werden die fettsauren Alkalien mit dem Namen Seifen belegt. Da die natürlichsten Fette gewöhnlich Gemenge von Stearin, Palmitin und Olein sind, so sind die gewöhnlichen Seifen des Handels im wesentlichen Gemenge der Kalium- und Natriumsalze der Stearin-, Palmitin- und Oleinsäure.

Zu ihrer Herstellung verseift man die Fette durch Kochen mit Kali oder Natron. Die Kaliseife ist weich und weiß, Kaliumstearat und Kaliumpalmitat sind an sich von gelblicher Farbe, werden aber durch Zusatz von ein wenig Indigo grün gefärbt, daher der Name „grüne Seife“. Die Kaliseife enthält neben fettsaurem Kali das gebildete Glycerin und viel Wasser.

Natronseifen hingegen sind hart und werden durch Aussalzen abgetrennt, indem man der kochenden Masse nach der Verseifung Kochsalz in Überschuß zusetzt. Da das fettsaure Natron in konzentrierter Kochsalzlösung unlöslich ist, scheidet es sich im geschmolzenen Zustand oben auf der Lauge (die auch das Glycerin enthält) ab. Die so gewonnenen Seifen heißen Kernseifen und bestehen bis auf einige Prozent Wasser völlig aus fettsaurem Natron. Diese Seifen haben für unsere Betrachtungen keine große Bedeutung.

Bis zum Jahre 1823 war man über die Saponifikation noch arg im unklaren (1); da gelang es dem französischen Chemiker Chevreul, durch seine bahnbrechenden Arbeiten über die Vorgänge beim Verseifungsprozeß volle Klarheit zu verschaffen.

Bis dahin begnügte man sich mit der Annahme, daß bei der Einwirkung von Alkaliläugen auf Fette, diese von jenen einfach aufgelöst würden, und daß sich so Verbindungen von Fett und Alkali bildeten, die in Wasser löslich seien. Chevreul tat in 10jährigen Arbeiten dar, daß bei Einwirkung von Alkalien auf Fette, bei Gegenwart von Wasser eine Zerlegung der Fette derart erfolgt, daß gewisse Bestandteile des Fettes unter Aufnahme von Wasser als Glycerin abgeschieden werden, während die Säuren des Fettes sich mit Alkalien vereinigen.

Chevreul (2) war es auch, der durch seine Versuche in klarer Weise seine Ansicht über die Seifenwirkung äußerte; die reinigende Wirkung der Seifen beruht nach ihm wesentlich auf der Fähigkeit, die Fette zu emulgieren.

Nach Berzelius (3) unterscheiden sich die Seifen bezüglich der Verwendung zu praktischen Zwecken nach dem Grade der Fähigkeit, mit der sie „ihr Alkali fahren lassen“. Das neutrale ölsäure Salz wird bei gewöhnlicher Temperatur leicht zersetzt und unterscheidet sich von den kaustischen Alkalien, die ein wohlfeileres Waschmittel wären, vorteilhaft durch die Schonung von Stoffen, Epidermis usw.

Persoz (4), der ausführlich die Seifen behandelt, sagt: Die Seife besitzt die Fähigkeit, viele Körper, die für sich in Wasser unlöslich sind, in diesem Mittel löslich zu machen oder zu suspendieren. Indem die Seife sich in Wasser in basisches Salz und saures Salz zerlegt, verbindet sich derjenige Teil der Fettsäure, der in Berührung mit Fetten oder ähn-

lichen Substanzen kommt, mit diesen letzteren, versetzt sie in einen Zustand feiner Verteilung und entfernt dieselben unter Mitwirkung ihres löslichen alkalischen Anteils.

Nach Kolbe (5) ist die reinigende Wirkung dem Umstande zu verdanken, daß die fettsauren Alkalisalze in Berührung mit viel Wasser in freies Alkali und ein in Wasser unlösliches, damit starken Schaum bildendes saures Salz zerlegt werden. Das Alkali nimmt den fettigen Schmutz der mit Seife behandelten Objekte fort, der Schaum trägt durch Umhüllen dazu bei, ihn mechanisch zu entfernen.

Die bisher gemachten Beobachtungen wurden wesentlich bereichert durch den Ausbau der Lehre der Dissoziation.

Das Verhalten gewisser Stoffe, nämlich der Säuren, Basen und Salze, welche in wäßriger Lösung den elektrischen Strom leiten und daher mit dem gemeinsamen Namen Elektrolyte bezeichnet werden, hat dazu geführt, anzunehmen, daß ein Teil der in wäßriger Lösung befindlichen Molekeln in elektrisch geladene Teilstücke, elektropositive und elektronegative: die Ionen zerfallen ist, welche den Transport der Elektrizität vermitteln können.

Seifen, Alkalisalze hochmolekularer Fettsäuren, sind in Wasser leicht löslich und dissoziieren teilweise bei hinreichender Verdünnung, wobei einerseits Alkali frei wird, andererseits schwerlösliche saure Fettsalze zur Ausscheidung gelangen, welche dem Wasser beim Umschütteln einen dicken Schaum erteilen. Das freie Alkali wirkt zum Teil lösend, zum Teil loslösend auf die Schmutzteile ein, während der Seifenschaum die losgelösten und suspendierten Schmutzpartikel einhüllt und auf diese Weise die mechanische Reinigung der Waschobjekte unterstützt. Auf diesem Verhalten, das sich also auf die Annahme der Dissoziation gründet, beruht die reinigende Wirkung der Seifen.

Nachdem wir diese chemischen und chemisch-physikalischen Prozesse erörtert haben, können wir nun der Frage näher treten, in welchen Beziehungen dieselben zu den desinfizierenden Wirkungen der Seifen stehen.

Die Wirkungsweise und das Verhalten der Bakterien zu den verschiedensten Stoffen mit besonderer Berücksichtigung der Ionenlehre hat Paul (6) eingehend studiert, unter Zugrundelegung der modernen Auffassung über die Eigenschaften der Körper in gelöstem Zustand, Anschauungen, welche durch die Fortschritte der physikalischen Chemie im letzten Jahrzehnt in vollkommen neue Bahnen gelenkt worden sind. Paul geht von der Annahme aus, daß die Wirkung eines Salzes hauptsächlich von seinen Komponenten, den Metall- und Säure-Ionen abhängt, und daß die Wirkung des Metall-Ions derjenigen des Säure-Ions nicht parallel zu sein braucht. Aus seinen Desinfektionsversuchen mit Neutral-

salzen geht hervor, daß die Desinfektion vor allem durch die Wirkung des Metall-Ions zustande kommt, daß außerdem aber sich daran auch das Säure-Ion, vielleicht auch die nicht dissoziierten Molekeln beteiligen.

Von den Neutralsalzen ist ja bekannt, daß schon in einer konzentrierten Lösung der größere Teil in Ionen zerfällt; und dieser elektrolytisch dissoziierte Anteil wächst mit zunehmender Verdünnung. Das trifft auch bei den Seifen zu. Man kann sich von dem Freiwerden des Alkali leicht auf folgende Weise überzeugen: Zu einer konzentrierten Seifenlösung gebe man einige Tropfen Phenolphthaleinlösung; die Flüssigkeit bleibt nahezu farblos. Verdünnt man jedoch stark mit Wasser, so nimmt sie rote Farbe an, weil das freiwerdende Alkali Phenolphthalein rot färbt. Es erfolgt also hydrolytische Spaltung des Salzes, und zwar um so mehr als die höheren Fettsäuren sehr schwache Säuren sind und deshalb leichter der Hydrolyse unterliegen.

Die Richtigkeit dieser Erklärung anerkennend, bemerkt Hollemann (7), könnte man doch fragen, warum man denn nicht freies Alkali an Stelle der genannten Alkalisalze beim Waschen verwendet? Darauf ist zu antworten: Wird die Seife mit nur wenig Wasser zusammengebracht, so ist die Bildung von freiem Alkali gering. Beim Zufügen von viel Wasser wird sie allerdings erheblicher; aber da eben die Wassermenge größer ist, wird gleichwohl die Konzentration des Alkali nicht wesentlich verändert. Die Anwendung von Seife bewirkt also, daß das freie Alkali stets nur in geringer Konzentration, die sich von selbst regelt, in dem Wasser zugegen ist, was beim direkten Gebrauch von freiem Alkali nicht der Fall sein würde, ein Umstand, auf dem zum Teil eben der praktische Vorteil der Kaliseife beruht.

Wie verhalten sich nun die Seifen gegenüber den Mikroorganismen, sind sie imstande auf dieselben einzuwirken, sie zu töten oder in ihrem Wachstum zu hemmen? Dies ist eine Frage, welche schon vielfach bejaht und auch ebenso oft verneint wurde.

Robert Koch, der Begründer der modernen Bakteriologie, war es, der die ersten Versuche über die Desinfektionswirkung der Seifen anstellte, und zwar mit der gewöhnlichen Schmierseife (8). Er fand, daß dieselbe schon bei einer Konzentration von 1:5000 bei Milzbrand eine Wachstumshemmung und bei 1:1000 eine völlige Abtötung bewirkt.

6 Jahre später hat Wernich (9) auf Grund dieser Beobachtungen von Koch Kaliseife zur allgemeinen Verwendung als Desinfektionsmittel empfohlen.

1890 hat Behring (10) umfassende Versuche mit 40 verschiedenen Seifenproben gemacht und den Schluß gezogen, daß der desinfizierende Wert der Seifenlösung allein von dem Alkaligehalt abhängig sei. Diesem

entgegen konstatiert Beyer (11), daß dem Alkaligehalt der Seifen nur eine untergeordnete Bedeutung zuzuschreiben ist und nicht wesentlich für den Desinfektionsvorgang von Bedeutung zu sein scheint. Absolut negative Desinfektionswirkung entfaltete die Schmierseife nach den Versuchen von Försters (12). Nijland (13) hingegen erzielte wieder bei Benutzung der Schmierseife gegenüber Cholera-vibrien außerordentlich günstige Desinfektionserfolge.

Die Untersuchungen Jolles (14) 1893 und 1895 kommen zu dem Resultat, daß die Lösungen der einzelnen Seifengattungen unter den gleichen Bedingungen, wie gleicher Temperatur, Wirkungsdauer und Konzentration hinsichtlich ihrer Desinfektionsenergie gegen Cholera-bazillen nur unbedeutende Differenzen zeigen und alle gleich brauchbar als Cholera-desinfektionsmittel sind. Reithoffer (15) bestätigt die Angaben von der starken Desinfektionswirkung der Seife.

Serafini (16) versuchte den widersprechenden Resultaten, gestützt auf Seifenanalysen, auf den Grund zu kommen. Am Schlusse seiner Versuche kommt er zu dem Resultat, daß die Seifen eine bedeutende Desinfektionskraft besitzen, daß diese aber nicht der freien Alkalinität zuzuschreiben ist, und daß, wenn freies Alkali vorhanden ist, dies die Wirkung nur bei wäßrigen schwachen Seifenlösungen vermehrt.

Conradi (17) hingegen glaubt bewiesen zu haben, daß die Seifen-substanz an sich gar keine desinfizierende Wirkung hat.

Eine der letzten erschienenen Arbeiten stammt von O. Heller (18). Von Sapoznikow (19) konstatiert er nur eine geringe desinfizierende Kraft gegenüber Typhusbazillen. Das desinfizierende Agens ist nach Heller nicht das freie Alkali.

I.

Um nun Anhaltspunkte zu finden, welche von den Faktoren es sind, die bei der Desinfektionswirkung der Seifen in Betracht kommen können, wurden deshalb von käuflichen Schmierseifen Analysen nach den üblichen Methoden (19) vorgenommen. Es wurden so Vergleichswerte verschiedener Seifenproben erhalten. Hierüber gibt Tabelle S. 50 Aufschluß.

Die Prüfung der Desinfektionskraft bei den einzelnen Seifen gestaltete sich folgendermaßen:

In sterile Erlenmeyerkolben wurden 100^{ccm} Seifenlösung gegeben und diese mit einer 24stündigen in sterilem Wasser aufgeschwemmten Schrägagarkultur der Bakterien infiziert. Zur Aufschwemmung wurde deshalb keine Kochsalzlösung verwendet, da dieselbe, wenn sie zu Seifenlösung gegossen wird, einen Teil der Fettsäuren auszufällen imstande ist.

Bezeichnung der Seifen	Wasser	Fettsäureanhydrid	Gesamtalkali (K ₂ O)	Freies Alkali
Ph.	35.00	56.07	9.02	—
A.	36.97	34.77	10.81	Spuren
B.	33.22	38.11	10.15	—
C.	36.27	36.82	11.09	0.0158
D.	38.15	40.16	10.81	0.0079
E.	38.01	46.18	9.59	Spuren
F.	33.57	44.90	10.53	"
G.	40.48	31.57	9.40	0.0435
H.	37.52	44.19	10.81	0.0079
I.	37.18	29.39	9.12	0.0478
K.	34.45	38.89	10.90	0.0617

Hierauf wurde in gleichmäßigen Zeitabständen mit steriler Pipette 1^{ccm} entnommen und damit Peptonröhrchen geimpft; die hierbei verwendete Peptonlösung wurde nach der üblichen Vorschrift [vgl. Kolle und Hetsch (20)] angefertigt.

Die geimpften Peptonröhrchen wurden nach der Impfung 24 Stunden in den Brutschrank gestellt; aus den Röhrchen wurde dann 1^{ccm} entnommen und zur Kontrolle *Agarplatten* gegossen. Die Versuche wurden vorerst mit 20prozent. Lösungen ausgeführt.

Als Testobjekte dienen einerseits die nur wenig widerstandsfähigen Vibrionen, und zwar Cholera-vibrionen El Tor, andererseits Staphyl. pyog. aureus, der sehr unempfindlich gegen chemische und physikalische Einflüsse ist und deshalb zu Desinfektionsversuchen, aus denen weitergehende Schlüsse abgeleitet werden sollen, sehr geeignet erscheint.

Bezüglich der El Tor-Vibrionen sei noch folgendes bemerkt: Die ausgedehnten Untersuchungen von F. Gotschlich, sowie von Kolle und Meinicke haben eine vollständige Identität der Cholera-vibrionen El Tor mit dem Kochschen Vibrio ergeben. Kraus und Příbram (22) bestätigten durch Versuche mit El Tor-Stämmen, daß diese morphologisch, kulturell und biologisch alle Charaktere der Cholera-vibrionen aufwiesen. Jedoch besitzen die El Tor-Stämme eine Eigenschaft, die sie als besondere Gruppe charakterisiert: sie produzieren nämlich ein lösliches Hämotoxin, das bisher nur bei wenigen typischen Cholera-stämmen nachgewiesen wurde.

Zu bemerken ist, daß bei dieser Versuchsanordnung nur eine volle Desinfektionswirkung konstatiert werden konnte. So wurde El Tor von den Seifenlösungen in Zeit von 15 bis 30 Minuten abgetötet, während bei Staphylokokken bei den meisten Seifen dies erst nach 24 Stunden der Fall war. Im übrigen wurden sämtliche Versuchsreihen wiederholt ausgeführt.

Der Versuch zeigte folgendes:

Bezeichnung der Seife	Einwirkungsdauer	El Tor	Staphylococcus
Ph.	5'	+	+
	15'	+	+
	30'	+	+
	2 ^h	—	+
	6 ^h	—	+
	24 ^h	—	—
A.	5'	+	+
	15'	+	+
	30'	—	+
	2 ^h	—	+
	6 ^h	—	+
	24 ^h	—	—
B.	5'	+	+
	15'	+	+
	30'	—	+
	2 ^h	—	+
	6 ^h	—	+
	24 ^h	—	—
C.	5'	+	+
	15'	+	+
	30'	+	+
	2 ^h	—	+
	6 ^h	—	+
	24 ^h	—	—
D.	5'	+	+
	15'	+	+
	30'	+	+
	2 ^h	—	+
	6 ^h	—	+
	24 ^h	—	+
E.	5'	+	+
	15'	+	+
	30'	—	+
	2 ^h	—	+
	6 ^h	—	+
	24 ^h	—	+
F.	5'	+	+
	15'	—	+
	30'	—	+
	2 ^h	—	+
	6 ^h	—	+
	24 ^h	—	+

4*

(Fortsetzung.)

Bezeichnung der Seife	Einwirkungsdauer	El Tor	Staphylococcus
G.	5'	—	+
	16'	—	+
	30'	—	+
	2 ^h	—	+
	6 ^h	—	+
	24 ^h	—	—
H.	5'	—	+
	15'	—	+
	30'	—	+
	2 ^h	—	+
	6 ^h	—	+
	24 ^h	—	—
I.	5'	+	+
	15'	+	+
	30'	+	+
	2 ^h	—	+
	6 ^h	—	+
	24 ^h	—	+
K.	5'	+	+
	15'	—	+
	30'	—	+
	2 ^h	—	+
	6 ^h	—	+
	24 ^h	—	+

Für die Feststellung feinerer Desinfektionsunterschiede wurde das Verfahren entsprechend modifiziert.

Es wurden 5 Seifen, um die offenbar nicht sehr großen Desinfektionsunterschiede an der Zahl der entwicklungsfähigen Keime zu kontrollieren, ausgewählt, jede von diesen verschiedenen Lösungen mit 5 Ösen Reinkultur infiziert. Zu entsprechenden Zeiten wurden wieder Proben mittels 1^{ccm} fassender Pipette entnommen, in Röhrchen mit 10^{ccm} Peptonlösung übertragen und davon wieder 1^{ccm}, sofort in Agar geimpft, zu Platten gegossen.

Durch vorhergehende, sofortige, Anfertigung einer Kontrollserie konnte man sich überzeugen, daß die Anzahl der Keime eine genügende war, andererseits ergab sich mit wachsender Desinfektionsdauer eine fortschreitende Abtötung der eingebrachten Organismen.

20 Prozent. Seifenlösung wirkte so intensiv, daß bei Aussaat von Staphylokokken Platten und Pepton schon nach 5 Minuten Einwirkung dauernd steril blieben, während bei 10 Prozent. Seifenlösungen dies erst nach 2 Stunden eintrat. Folgende Tabellen geben hierüber Aufschluß. (Siehe Tabelle I.)

Bezeichnung der Seife:	Ph.		A.		D.		F.		K.	
	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle
10 prozentige Seifenlösung.										
S.	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+
5'	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+
15'	1200	+	2000	+	2700	+	1000	+	2000	+
30'	900	+	500	+	1200	+	500	+	1000	+
1 ^h	300	+	100	+	800	+	150	+	350	+
2 ^h	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20 prozentige Seifenlösung.										
S.	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
5'	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Tabelle II. Versuch mit El Tor.										
0.1 prozentige Seifenlösung.										
S.	4000	+	4200	+	4500	+	3900	+	4000	+
S.	3000	+	3900	+	2900	+	300	+	3200	+
15'	1500	+	1700	+	1600	+	1400	+	1200	+
30'	1200	+	900	+	700	+	760	+	—	+
1 ^h	700	+	40	+	—	+	35	+	—	+
2 ^h	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
0.3 prozentige Seifenlösung.										
S.	3000	+	2800	+	3000	+	2700.	+	2400	+
5'	300	+	290	+	310	+	250	+	300	+
15'	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
30'	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
1 ^h	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
2 ^h	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

x = unendlich viel Keime.

Wenn man die so außerordentlich geringen Unterschiede in der Desinfektionskraft der einzelnen Seifen in Vergleich mit den Ergebnissen der chemischen Analyse derselben Präparate betrachtet, so findet man wohl, daß ein Zusammenhang hier nicht zu finden ist, weder in bezug auf Kali noch freies Alkali, noch bezüglich der Fettsäuren, welche übrigens noch weiter unten eingehender besprochen werden sollen.

Bei den El-Tor-Vibrionen vermögen schon 0.5 prozent. Seifen nach 5 Minuten eine Vernichtung der Keime herbeizuführen, während eine 0.3 prozent. Lösung nach 15 Minuten Wachstumshemmung bedingt. Eine 0.1 prozent. Seifenlösung bewirkt nach 2 Stunden völlige Abtötung.

Fragen wir uns nun, welche Komponenten der Seife es sind, denen weiterhin die desinfizierende Wirkung zukommen könnte.

Bei den Arbeiten von Paul hatte sich herausgestellt, daß die bakterientötende Wirkung um so größer ist, je mehr Metallionen in der Lösung sind. Daß solche Metallionen auch in konzentrierten Lösungen bei den Seifen vorhanden sind, beweist die von mir geprüfte elektrische Leitfähigkeit derselben.

Die Prüfung der elektrischen Leitfähigkeit wurde mit Seifenproben in 20 prozent. Lösungen mittels Widerstandsbestimmungen gemacht. Beiliegende Tabelle zeigt, daß die Seifen schon in dieser Konzentration stark dissoziiert waren, sie also sämtlich gute Leiter des Stromes waren, was die gefundenen Werte deutlich veranschaulichen.

Ph.	A.	B.	C.	D.	E.	F.	G.	H.	I.	K.
6.3098	4.5656	3.2649	4.8235	3.8384	4.999	5.0442	3.6996	4.8593	3.8348	4.3278

Diese Bestimmungen wurden alle in demselben Gefäß mit gleichen Füllungen gemacht. Die gefundenen Werte sind ausgedrückt in Ohm.

Die Leitfähigkeit schwankt also in erheblicher Weise bei den verschiedenen Seifen, ohne daß diese Werte in irgend einem bestimmten Verhältnis zu den Desinfektionswerten stehen. Aus diesen Versuchen kann man daher gleichfalls keinen weiteren Schluß bezüglich des Desinfektionswertes ziehen.

Es bleibt zur Erklärung der Desinfektionswirkung nun noch eine weitere Möglichkeit.

Koch hat bei seinen grundlegenden Versuchen festgestellt, daß die Kaliseifen gegen das Kali eine um das 8fache vermehrte Desinfektionsfähigkeit aufwiesen, und er schrieb diesen Umstand den Fettsäuren zu; Serafini hat gegen diese Annahme allerdings geltend gemacht, daß die Fette, mit Alkali zur Seife verbunden nicht mehr wie Fettsäuren wirken können und, wenn frei vorgefunden, nicht in Wasser löslich sind.

Trotz diesen Einwüfen Serafinis habe ich die Frage experimentell geprüft, ob nicht die Art der bei den Seifen verwendeten Fette und Öle irgendwelchen Einfluß auf die Desinfektionskraft ausüben kann; dies versuchte Schneider (23) zu beweisen, als er im Laboratorium von Proskauer verschiedene Leinölseifen prüfte und besser wirkend befand als die Rübölseifen. Er berücksichtigt hierbei die Jodzahl des Leinöls bis 180 und die des Rüböls bis 100, wonach das Leinöl mehr ungesättigte Fettsäuren enthält als das Rüböl. Diesem Umstande schreibt er die bessere Wirkung zu.

Es wurde deshalb bei sämtlichen Seifen die Bestimmung der Jodzahl ausgeführt und ergab folgende Werte:

Ph.	A.	B.	C.	D.	E.	F.	G.	H.	I.	K.
130·5	158·2	65	144	160	128	180·5	107	124·1	147·6	142·9

Über die Jodzahlen, deren Bestimmung nach der Methode von Hübl (19) ausgeführt wurde, sei übrigens noch folgendes bemerkt: Hinsichtlich der Ursache der Schwankungen der Jodzahl bei ein und demselben Öle finden sich Angaben hierüber in den Originalarbeiten über Analyse der Nahrungsmittel von Jul. Ephraim (24). Es ist von Ephraim behauptet worden, daß längere Einwirkung von Licht und Luft auf Leinöl einen Einfluß hat. Aus diesem Grunde besitzt ein dickflüssig gewordenes ranziges Leinöl die Jodzahl 130, statt der geforderten Grundzahlen 156 bis 160.

Verunreinigungen wirken natürlich mit ein. Im übrigen enthalten die ausgeschüttelten Fettsäuren der Seifen durchweg Spuren von Seife, eine Tatsache, die natürlich ebenfalls einen Einfluß auf die Jodzahl hat. Ist das Leinöl mit einem anderen Öle gemischt, so sinkt die Jodzahl. Da die in den Seifen enthaltenen Fettsäuren nicht absolut rein sind, so ist ohne weiteres anzunehmen, daß die Jodzahlen um ein wenig zu niedrig ausfallen, denn bei der Jodzahlbestimmung machen sich die geringsten störenden Ursachen in relativ hohem Maße bemerkbar. Jedoch läßt sich aus den gewonnenen Jodzahlen unschwer die Zugehörigkeit des bei der Fabrikation benutzten Öles zur Leinöl- oder Rübölgruppe ersehen, sofern nicht eine Öl- oder Fettmischung verwendet wurde, deren einzelne Komponenten sehr verschiedene Jodzahlen besitzen und in ihrer Gesamtheit einen Mittelwert ergeben.

So deutet die Jodzahl 160 in Seife D, die Jodzahl 158·2 in Seife A auf Leinöl, die Jodzahl 147·6 auf Hanföl, das ja auch vielfach zur Bereitung der Schmierseife dient.

Schneider hatte auch Versuche in Aussicht gestellt, Leinöl und Rüböl der Seife durch Tran zu ersetzen. Bisher sind aber derartige Versuche von ihm nicht veröffentlicht worden. Die hier zugrunde liegende Idee ist jedenfalls die, das pflanzliche Fett durch tierisches zu ersetzen. Dies ist zum Teil schon bei den weißen Schmierseifen des Handels der Fall, soweit sie Fettgemenge von Baumwollsamööl, Knochenfett, Talg und Schweineschmalz enthalten (23).

Auch von solchen Seifen wurden 10 von mir analysiert.

Bezeichnung der Seifen	Wasser	Fettsäureanhydrid	Gesamtalkali (K ₂ O)	Freies Alkali
A.	55·17	14·75	14·82	—
B.	33·93	37·57	11·06	Spuren
C.	36·31	36·28	11·25	—
D.	38·40	29·15	9·44	—
E.	39·54	19·22	11·03	0·008
F.	40·08	31·98	12·41	—
G.	41·33	36·89	11·81	Spuren
H.	30·38	35·44	13·16	—
I.	58·11	13·40	11·33	—
K.	32·29	40·28	13·37	—

Die Desinfektionsversuche, die in gleicher Weise wie bei den grünen Seifen mit 20 Prozent. Lösungen von mir angestellt wurden, hatten dieselben Erfolge in bezug auf die Desinfektionswirkung (auch solche zu deren Herstellung tier- und pflanzliches Fett verwendet war, zeigten keine besonderen Unterschiede in dieser Hinsicht), und so wurden die weißen Seifen, da sie weniger gebräuchlich sind, von den weiteren Versuchen ausgeschlossen.

Einen Aufschluß über die Bedeutung der verarbeiteten Fette kann man erst dann geben, wenn man vergleichende Versuchsreihen mit Seifen anstellt, die aus Fetten mit bekannter Jodzahl fabriziert werden.

II.

Die obigen Versuche wurden sämtlich bei Zimmertemperatur ausgeführt. Mit Rücksicht auf etwaige Dissoziationsvorgänge bei höherer Temperatur wurde im folgenden ein weiterer Punkt in Betracht gezogen, nämlich die Ermittlung des Einflusses der Temperatur auf die Desinfektionswirkung der Seifen.

Mit der Erwärmung tritt bekanntlich eine bedeutende Steigerung der Wirksamkeit fast aller Desinficientia ein. Auch die Alkalisalze unterliegen in der Wärme denselben Regeln wie die anderen Salze: sie befinden sich nämlich in einem Zustande stärkerer Dissoziation.

Das Verhalten der Seife zu Wasser ist ein eigentümliches. Während Seifen sich in kochendem Wasser klar lösen, ist eine kalt bereitete oder erkaltete Lösung nicht vollkommen klar, sondern eigentümlich trüb opaleszierend. Über den Vorgang, welcher beim Behandeln der Seifen mit kaltem Wasser vor sich geht, sind die Ansichten geteilt. Chevreul fand, daß in verdünnten Lösungen sich saure stearinsäure Salze abscheiden, während sich in konzentrierten Lösungen ein Gemisch von neutralem saurem stearinsäurem Kalium abscheidet. Diese abgeschiedenen Salze dürften also wohl mit einer Rolle bei der Desinfektion mit warmen Seifenlösungen spielen, wenngleich nicht zu vergessen ist, daß die Temperatur an sich und die bei steigender Temperatur zunehmende Intensität chemischer und biochemischer Prozesse von großem Einflusse sind.

Die Anschauungen von Krafft und Stern gehen dahin: Die Wirkung einer heißen Seifenlösung beruht je nach den Umständen nicht nur auf ihrem Alkaligehalt, sondern auch auf Anwesenheit einer ölförmigen geschmolzenen Fettsäure. Krafft und Stern nehmen an, daß in der Wärme eine in Form feiner Öltropfen suspendiert bleibende freie Ölsäure gebildet wird.

Die von Behring angestellten Versuche besagen, daß allein der Alkaligehalt der Seifen desinfizierenden Wert habe, dieser ganz besonders, wenn die Einwirkung durch eine Temperatur von 80° bis 85° unterstützt wird.

Förster zitiert: Heider, Kitasato und andere behaupten, daß nicht das Alkali die Wirkung bedinge, sondern allein das heiße Wasser den Desinfektionseffekt steigere.

Daß sich mit Zunahme der Temperatur eine Erhöhung der Desinfektionsfähigkeit bei allen desinfizierenden Substanzen feststellen läßt, zeigt auch Serafini.

Ich komme nun zu meinen eigenen Versuchen, bei denen nicht allzu hohe Wärmegrade angewandt wurden, um die bakterienfeindliche Wirkung der Wärme an sich möglichst auszuschalten.

Während bei den folgenden Versuchen Staphylokokken schon in 1 Prozent Seifenlösung bei 50° nach 5 Minuten getötet waren, zeigte ein Kontrollversuch mit Staphylokokken in dem auf 50° erwärmten sterilen Wasser erst nach 2 Stunden eine Abnahme der Keime. Die Resistenz von Staphylokokken gegenüber warmem Wasser konstatierte übrigens schon Heider.

Sogar 0.1 Prozent heiße Seifenlösungen bewirken schon nach 30 Minuten völlige Sterilität, sowohl der Agarplatten wie der Bouillonröhrchen. (Siehe Tabelle III.)

Tabelle III.
Versuche mit Staphylokokken bei 50° C.

Bezeichnung der Seife:	Ph.		A.		D.		F.		K.	
	Keim- zahl	Kon- trolle	Keim- zahl	Kon- trolle	Keim- zahl	Kon- trolle	Keim- zahl	Kon- trolle	Keim- zahl	Kon- trolle
3 prozentige Seifenlösung.										
S.	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+
5'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1 prozentige Seifenlösung.										
S.	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+
5'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.1 prozentige Seifenlösung.										
S.	70000	+	x	+	x	+	x	+	x	+
5'	200	+	300	+	150	+	180	+	90	+
15'	40	+	70	+	-	+	30	+	-	+
30'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Steriles Wasser.										
				30'	x					
				1 ^h	x					
				2 ^h	3000					

Dieses Resultat beweist uns deutlich, daß es in dem mitgeteilten Versuch nicht das heiße Wasser allein ist, sondern die Seifensubstanz, welcher eine desinfizierende Wirkung und das ganz besonders in der Wärme mit Recht zuerkannt werden muß.

III.

Von den Phenolen wissen wir, daß sie bis zu einem gewissen Grad mit den tertiären Alkoholen verglichen werden können. Aber außer diesen Alkoholfunktionen besitzen die Phenole noch spezielle Eigenschaften, welche bedingt sind durch ihren stärker sauren Charakter: sie sind in Alkalien löslich unter Bildung von Phenolaten. Diesen Phenolaten kommt eine geringere Desinfektionswirkung zu, ein Umstand, auf den bereits R. Koch hingewiesen hat. Er beobachtete nämlich in seinen Versuchen, daß das Phenolnatrium ganz wirkungslos war im Gegensatz zum reinen Phenol.

Da von Phenol wäßrige Lösungen bei gewöhnlicher Temperatur nur bis zu einer Konzentration von etwas über 6 Prozent leicht hergestellt werden können, wurde von der Fähigkeit der Seifen Gebrauch gemacht, die in Wasser weniger löslichen Kresole durch Seifenzusatz löslicher zu

machen, ein Verfahren, das in der Praxis vielseitige Anwendung gefunden hat, bei Herstellung von Kresolseifen, Lysol und anderen Handelspräparaten dieser Art.

Daß die Herstellung dieser seifenhaltigen Desinfektionsmittel nur dann rationell ist, wenn sie in richtigen Prozentverhältnissen gemacht wurde, ergibt sich aus vielen Untersuchungen.

Es sind nämlich die meisten Handelsseifen mit 3 bis 5 Prozent Phenolzusatz reinen Seifen nicht immer überlegen, ja häufig sogar höchstens gleichwertig bezüglich des Desinfektionseffektes, da hier die Möglichkeit gegeben ist, daß Phenol sich mit dem Alkali der Seifen zu dem unwirksamen Phenalkali umsetzt.

Reithoffer, Tonzig (24), Conradi und andere schätzen deshalb den Desinfektionswert von Seifen dieser Art gering ein, sie behaupten sogar, daß derselbe durch Phenolzusatz herabgesetzt werde.

Daß dies jedoch bei richtigen Mischungsverhältnissen nicht der Fall ist, zeigen die sehr anschaulichen von O. Heller und Schneider angeführten Beispiele. Heller folgert aus seinen Versuchen, daß der Zusatz von Phenol größte Steigerung in der Wirkung erlangt bei einem Verhältnis von 1:1. Es wirkt gegen Typhusbakterien eine 4prozent. Phenolseifenlösung genau so wie eine 5prozent. Phenollösung; somit wurde von Heller der gleiche Erfolg durch eine Mischung mit weniger als der Hälfte Acid. carb. cryst. erreicht.

Schneider zeigte an der Hand von Versuchen, analog den früheren Experimenten Hellers mit Phenol, daß wäßrige Kresollösungen nicht so stark wirkten, wie Kresolseifenlösungen von derselben Konzentration bei der gleichen Einwirkungsdauer.

Hierbei beobachtete er, daß, wenn die zur Herstellung von Kresolseifen verwendete Kaliseife freies Alkali enthält, sich dieses mit Kresol zu Kresolalkali verbindet und infolgedessen die Desinfektionskraft der Kresolseifen verringert. Er bemerkt, daß dies bei Lysol schon lange Zeit berücksichtigt wird und darin sein Vorzug gegenüber dem im Handel vorkommenden Liquor cresoli saponat. besteht.

Heider hingegen fand, daß die mit alkalischen Seifenlösungen bereiteten Kresolschmierseifen den mit neutraler Seife bereiteten überlegen waren.

Auf Grund der Angaben Hellers wurden auch von mir Seifenlösungen mit Phenol $\frac{1}{2}$ pts. hergestellt und mit diesen in verschiedenen Konzentrationen Desinfektionsversuche mit Staphylokokken und El Tor-Vibrionen angestellt, deren Ergebnis Tabelle IV und V besagen.

Tabelle IV. Versuch mit Staphylokokken.

Bezeichnung der Seife	Ph.		A.		D.		F.		K.	
	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle
S. 5'	×	+	×	+	×	+	×	+	×	+
	×	+	×	+	×	+	×	+	×	+
	60000	+	×	+	×	+	×	+	×	+
	6500	+	300	+	16500	+	×	+	×	+
	400	+	50	+	2700	+	8600	+	15000	+
2a	—	—	—	—	800	+	2000	+	5000	+
3 prozentige Phenolseifenlösung.										
S. 5'	900	+	3000	+	×	+	×	+	×	+

C. RASP:

Tabelle V. Versuch mit El Tor.

Bezeichnung der Seife	Ph.		A.		D.		F.		K.	
	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle	Keimzahl	Kontrolle
S. 5'	4300	+	5000	+	5500	+	4500	+	7000	+
	3100	+	4000	+	3900	+	3700	+	4200	+
	2800	+	2800	+	2500	+	2800	+	2900	+
	2100	+	2000	+	1800	+	1700	+	2100	+
	500	+	700	+	550	+	600	+	800	+
2a	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
0.1 prozentige Phenolseifenlösung.										
S. 5'	4000	+	3200	+	3400	+	3600	+	4000	+
5'	800	+	1900	+	2000	+	1800	+	2200	+
15'	400	+	700	+	850	+	750	+	900	+
30'	100	+	250	+	360	+	730	+	500	+
1a	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
2a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.3 prozentige Phenolseifenlösung.										

Schneiders oben zitierte Ansicht findet in unsern Resultaten eine Stütze. Die Versuche mit El Tor-Vibriolen bewiesen, daß die freies Alkali enthaltenden Seifen den anderen Seifen in ihrem Desinfektionswert, wenn auch nur um geringes nachstehen.

Bekanntlich ist der Dissoziationsgrad je nach der Natur der Stoffe und der Lösungsmittel sehr verschieden. Außerdem hängt die Dissoziation von der Konzentration der Lösungen dergestalt ab, daß mit steigender Verdünnung der Dissoziationsgrad beständig zunimmt.

Darum wirkt auch die Seife in sehr starker Verdünnung sogar besser als Phenolseife von gleicher Konzentration, was nur darauf beruhen kann, daß bei diesen Seifen das Alkali die desinfizierende Funktion ausübt, dagegen bei den anderen durch Phenol gebunden ist.

Werden nun Phenolseifen ∞ pts. verdünnt, so tritt zunächst die Dissoziation in gleicher Weise ein, das vorhandene Phenol bindet jedoch das auftretende freie Kalium zu Kaliumphenolat und macht es dadurch unwirksam. Die Verdünnung bedingt also eine biologisch unwirksame Verbindung.

Es ist aber noch ein weiterer Faktor ins Auge zu fassen, welcher bei den Desinfektionsversuchen ausschlaggebend ist und deshalb auch beobachtet werden muß.

Serafini hat schon festgestellt, daß vor allem das Lösungsmittel in Betracht gezogen werden muß. Da Brunnenwasser Kalium und Magnesium enthält, so wird durch Benutzung desselben der Wert der seifigen Lösungen durch Bildung unlöslicher Salze mehr oder weniger beeinflußt.

Wir wissen ja, daß fast alle Wasser einen gewissen Gehalt an Kalksalzen besitzen und erst dann mit Seife Schaum geben, wenn die Kalksalze vollkommen gebunden und in Form weißer Flocken ausgeschieden sind. Diese sind Kalksalze der Fettsäuren, welche sich in Wasser nicht lösen. Wasser mit sehr viel Kalksalzen ist bekanntlich zum Waschen weniger geeignet, da es einen erheblichen Seifenverbrauch bedingt, bis es zur Schaumbildung kommt und außerdem in seiner Wirkung dadurch beeinträchtigt wird, daß das Alkali durch die Säuren der Kalksalze (H_2SO_4 , H_2CO_3) gebunden wird. Dieser Umstand wurde bei den Versuchen beachtet und eine Beeinträchtigung der Seifenwirkung in dieser Hinsicht dadurch ausgeschaltet, daß alle Seifen in destilliertem Wasser gelöst wurden. Darauf dürften auch zum großen Teil meine günstigen Resultate beruhen, die sich in der Praxis je nach dem Härtegrad eines zur Lösung verwendeten Wassers verschlechtern müssen.

Zusammenfassung.

Die Desinfektionswirkung der von mir geprüften grünen und weißen Schmierseifen schwankte in gewissen Grenzen. Weder die chemische Analyse hinsichtlich des Alkaligehaltes, noch die chemisch-physikalische Untersuchung (Leitfähigkeit), noch die Feststellung der Fettsäuren durch die Hüblsche Jodzahl erklären diese Schwankungen.

Mit der Temperaturerhöhung trat eine Steigerung der Desinfektionswirkung ein, was für eine Wirkung der Seifen infolge von Dissoziation im Sinne der Ionentheorie spricht.

Der Desinfektionswert verschiedener Seifen wird auf Grund meiner Versuche keineswegs allein durch das freie Alkali bedingt.

Die mit Phenolseifengemisch angestellten Versuche stimmten mit den analogen Versuchen von O. Heller und mit denjenigen von Schneider (Seifen + Kresol) überein.

Einen besonderen Unterschied hinsichtlich ihres Desinfektionseffektes zeigten die verschiedenen Phenolseifen nicht. Die schwachen Lösungen von Phenolseifen, die aus Seifen mit reichlichem Gehalt an freiem Alkali bereitet waren, standen an Desinfektionswert den Seifen, die nur gebundenes Alkali besaßen, nach, höchstwahrscheinlich infolge der Bildung von Phenolaten.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich somit folgendes: Die Desinfektionswirkung der Seifen für sich ist eine bedeutende; sie wird durch den Zusatz von Phenolen noch beträchtlich gesteigert, wenn dieses in richtigen Prozentverhältnissen (aa pts.) zugefügt wird und davon Lösungen hergestellt werden.

Einen weiteren Beitrag zur Theorie der Seifenwirkung dürften wohl Versuche mit Seifen bringen, welche mit chemisch reinen Substanzen angefertigt werden.

Literatur-Verzeichnis.

1. Feldhaas, *Der Seifensieder einst und jetzt*.
2. Krafft und Stern, *Berichte der chemischen Gesellschaft*. Bd. XXVII.
3. Berzelius, *Lehrbuch der Chemie*. 1828. 2. Aufl.
4. Persoz. 1846. p. 854.
5. Kolbe, *Organische Chemie*. 1880. I. S. 817.
6. Paul und Krönig, Über das Verhalten der Bakterien in chemischen Reagenzien. *Zeitschrift für phys. Chemie*. Bd. XXI.
7. Holleman, *Anorganische Chemie*. S. 239.
8. Koch, *Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. 1881.
9. Wernich, Anleitung zum Desinfektionsverfahren. *Reichsmedizinalkalender*. 1887.
10. Behring, Über Desinfektion, Desinfektionsmittel u. Desinfektionsmethoden. *Diese Zeitschrift*. 1890. Bd. IX.
11. Beyer, Über Wäschedesinfektion mit 3prozentiger Schmierseifenlösung und Kalkwasser. *Ebenda*. 1896. Bd. XXII.
12. Förster, Versuche über Wäschedesinfektion. *Hygien. Rundschau*. Jahrg. X. Nr. 11.
13. Nijland, Über das Abtöten von Cholera Bazillen im Wasser. *Archiv für Hygiene*. 1893. Bd. XVIII.
14. Jolles, Desinfektion mit Seifenlösungen. *Diese Zeitschrift*. 1893. Bd. XV.
15. Reithoffer, Über die Seifen als Desinfektionsmittel. *Archiv für Hygiene*. 1896. Bd. XXVII.
16. Serafini, Beitrag zum experimentellen Studium der Desinfektionsfähigkeit gewöhnlicher Waschseifen. *Ebenda*. 1898. Bd. XXXIII.
17. Conradi, Über die bakterizide Wirkung der Seifen. *Ebenda*. 1902. Bd. XLIV.
18. Heller, Über die Bedeutung von Seifenzusatz zu Desinfektionsmitteln. *Ebenda*. Bd. XLVII.
19. Benedict, *Analyse der Fette und Wachsarten*.
20. Kolle-Hetsch, *Lehrbuch für experimentelle Bakteriologie*.
21. Kolle und Meinicke, Untersuchungen über El Tor-Vibrionen. *Klin. Jahrbuch*. 1906.
22. Kraus und Pfibram, Über die Beziehungen der Vibrionen El Tor zu dem Cholera vibrio. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1906. Bd. XLI.
23. Schneider, Phenol in Verbindung mit Säuren und Gemischen mit Seifen vom chemischen und bakteriologischen Standpunkte aus. *Diese Zeitschrift*. Bd. LIII.
24. Ephraim, *Originalarbeiten über Analyse der Nahrungsmittel*.
25. Hager, *Handbuch der Pharmakopö*.
26. Tonzig, Beitrag zum Studium der sogen. desinfizierenden Seifen mit besonderer Berücksichtigung der Kreolinseifen. *Wiener klin. Rundschau*. 1902.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Giessen.]
(Direktor: Prof. Dr. Kossel.)

Zur Ätiologie der Cholecystitis.

Von

Dr. Kurt Laubenheimer,
Assistenten am Institut.

(Hierzu Taf. IV.)

Unter normalen Verhältnissen wird, nach den Untersuchungen von Netter (1), Naunyn (2), Fränkel (3), Krause (4) und anderen, der Inhalt der Gallenblase frei von Mikroorganismen gefunden, trotzdem der Galle keine bakteriziden Eigenschaften zukommen, sondern dieselbe geradezu für viele Bakterien einen günstigen Nährboden abgibt.

Nur die Bewegung der Galle, der nach dem Darm zu gerichtete Gallenstrom, verhindert ein Eindringen der Keime von dem Duodenum in die Gallenblase.

Wird aber durch pathologische Vorgänge der Abfluß der Galle behindert, tritt Gallenstauung ein, so vermögen Bakterien sich in der Gallenblase anzusiedeln, finden hier einen günstigen Ort für ihre Vermehrung und können so ihre Wirkung auf die Schleimhaut ausüben.

In leichten Fällen kommt es nur zu einem Katarrh der Gallenblase; bei schwereren Prozessen finden wir Zerstörung des Epithels, Nekrose der Schleimhaut und schließlich Perforation der Gallenblasenwand.

Haben sich Bakterien einmal in der Gallenblase eingenistet, so vermögen sie lange Zeit darin zu wuchern und eine Reizwirkung auf die Schleimhaut auszuüben. Die Bildung von Gallensteinen muß nach unseren heutigen Kenntnissen auf einen solchen chronischen, durch Bakterien bedingten Katarrh der Gallenblasenschleimhaut zurückgeführt werden. Eine

große Reihe der sogenannten „chronischen Bazillenträger“, d. h. Individuen, die nach einem überstandenen Typhus noch lange Zeit Typhusbazillen in der Gallenblase beherbergen und mit den Fäces ausscheiden, sind mit einem chronischen Gallenblasenleiden behaftet. So berichten Forster und Kayser (5) über drei Bazillenträger, die sämtlich an Gallensteinen litten. Ebenso erwähnt Lentz (6) drei ähnliche Fälle.

Über den Weg, auf dem eine Infektion der Gallenblase erfolgt, gehen die Ansichten der Autoren auseinander. Während die einen ein direktes Einwandern der Bakterien von dem Darm aus in die Gallenblase annehmen, eine Auffassung, die auch mir die richtige zu sein scheint, wollen andere nur eine hämatogene Infektion gelten lassen, indem sie sich auf Tierexperimente von Forster und Kayser (7) und von Dörr (8) stützen. Forster und Kayser injizierten Kaninchen Typhusbazillen in die Ohrvene und konnten diese Bakterien aus der Galle der Tiere wieder züchten. Ebenso zeigte Dörr an Kaninchen, daß Typhusbazillen nur auf dem Wege der Blutbahn in die Gallenblase gelangen können. Bei subkutaner, intraperitonealer und stomachaler Infektion blieb die Galle der Versuchstiere stets steril. Dagegen fanden sich nach intravenöser Injektion Typhusbazillen in großer Menge in der Gallenblase. Derselbe Autor berichtet über zwei Fälle von Konkrementbildungen in der Gallenblase, in denen Typhusbazillen nachweisbar waren. Auch hier waren die Tiere intravenös infiziert worden. Diese im Tierversuch gewonnenen Resultate auf die Verhältnisse bei der Infektion des Menschen mit Typhusbazillen zu übertragen ist jedoch nicht angängig. Denn bei keinem unserer Versuchstiere kann durch Typhusbazillen eine spezifische, dem menschlichen Typhus analoge Krankheit hervorgerufen werden. Die Annahme dagegen, daß die Galle direkt vom Darm aus infiziert wird, erhält eine Stütze durch die Untersuchungen von v. Drigalski (9) und Jürgens, wonach bei Typhusleichen Typhusbazillen am reichlichsten und häufig in Reinkultur im Duodenum und in den oberen, d. h. der Gallenblase naheliegenden Teilen des Darmrohrs vorkommen, während sie im Coecum und Rectum meist vermißt werden.

In folgendem soll über die bakteriologischen Befunde bei 22 Fällen von Empyem der Gallenblase berichtet werden unter besonderer Berücksichtigung einiger seltener Erreger.

In den 22 Fällen fanden sich 11 mal *Bact. coli commune* in Reinkultur, 1 mal zusammen mit *Bacillus pycocyanus* und 2 mal in Gemeinschaft mit Streptokokken. In zwei Fällen wurden Streptokokken allein nachgewiesen; 1 mal fanden sich Streptokokken zusammen mit Staphylokokken. Typhusbazillen wurden 1 mal beobachtet. In je zwei Fällen konnten Kapselbazillen und Influenzabazillen in Reinkultur gezüchtet werden.

Aus dieser Zusammenstellung ist ersichtlich, daß dieselben Bakterien, die sonst in der menschlichen Pathologie als Eitererreger hauptsächlich in Frage kommen, auch bei der Entstehung des Gallenblasenempyems eine hervorragende Rolle spielen, daß aber der erste Platz unter ihnen von dem *Bact. coli commune* eingenommen wird. Fand es sich doch 14 mal bei den untersuchten 22 Fällen, d. h. in 63.6 Prozent, darunter 11 mal in Reinkultur.

Bact. coli commune.

In der Literatur finden sich zahlreiche Angaben über die Bedeutung des *Bact. coli* als Erreger von Entzündungen der Gallenblase. So züchteten Gilbert und Girode (10) diesen Mikroorganismus in zwei Fällen von Cholecystitis aus der Galle, ebenso Gilbert und Domenici (11). Charrin und Roger (12) erzeugten experimentell bei einem Kaninchen eitrige Entzündung der Gallenblase durch Injektion von *Coli-Bouillonkultur* in die Gallenwege. Wiederholt und bestätigt wurden diese Experimente von Gilbert und Domenici (13).

In Deutschland war es Naunyn (14), der zuerst genauere Untersuchungen über den Keimgehalt der Galle unter normalen und pathologischen Verhältnissen anstellte. In einem Falle von *Hydrops cystidis isolierte* er *Bact. coli commune*, und in seinem grundlegenden Werk von 1892 (15) berichtete er über fünf Fälle von akuter Cholelithiasis, bei denen er durch Punktion *Bact. coli* nachweisen konnte. In derselben Arbeit vertritt Naunyn die Ansicht, daß der steinbildende Katarrh durch Infektion der Gallenblase mit *Bact. coli* hervorgerufen wird. Naunyn wies auch experimentell nach, daß nur dann Cholecystitis durch *Bact. coli* hervorgerufen wird, wenn der Abfluß der Galle in den Darm gehindert ist.

A. Fränkel (16) fand *Bact. coli* in einem durch Gallensteine hervorgerufenen Leberabszeß. Auch er schließt sich der Auffassung Naunyns über die Bedeutung des *Bact. coli* für die entzündlichen Erkrankungen der Gallenwege an, desgleichen Dmochowski und Janowski (17).

Von weiteren Autoren, die ebenfalls *Bact. coli* als Erreger von Cholecystitis feststellten, sind noch zu nennen d'Alloco (18), Hintze (19), Étienne (20) und aus der letzten Zeit Blumenthal (21). Letzterer fand in 10 Fällen von Cholecystitis 4 mal Typhusbazillen, 1 mal *Paratyphus A*, 4 mal typisches *Bact. coli* und 1 mal ein nicht gasbildendes Stäbchen der Coligruppe. Blumenthal ist jedoch der Ansicht, daß in den meisten Fällen der sekundäre Charakter des Colibefundes nachzuweisen sei, oder daß eine genaue Bestimmung der Bazillen zeige, daß es sich nicht um Colibakterien, sondern um andere Mikroorganismen der *Coli-Typhusgruppe* handle, die sich in ihren kulturellen und biologischen Eigenschaften dem *Typhusbazillus* nähern.

Dagegen konnten wir in 11 Fällen in der Galle Bakterien in Reinkultur nachweisen, die in Milch, Lackmusmolke, Neutralrotagar, Traubenzuckeragar dieselben Eigenschaften zeigten wie das *Bact. coli* des Darmes.

Aus allen angeführten Arbeiten geht hervor, daß dem *Bact. coli* als Erreger der Cholecystitis eine weitgehende Bedeutung zuzusprechen ist, womit das Ergebnis unserer Untersuchungen durchaus im Einklang steht. Fand sich doch das *Bact. coli commune* bei unserem Material von Empyem der Gallenblase in 50 Prozent aller Fälle in Reinkultur. Dreimal trat es zusammen mit anderen Eitererregern auf, davon zweimal mit Streptokokken und einmal mit *Bac. pyocyaneus*.

Bacillus pyocyaneus.

Ob in letzterem Falle dem *Bac. pyocyaneus* eine ätiologische Bedeutung für das Entstehen des Gallenblasenempyems zukommt, muß dahin gestellt bleiben. Wahrscheinlich hat auch hier das *Bact. coli* die Cholecystitis verursacht und der *Bac. pyocyaneus* ist erst sekundär aus dem Darm eingewandert, in dem er ja nach den Untersuchungen von Salus (22) und Jakowski (23) sehr häufig als Saprophyt vorkommt. Auch ist bis jetzt kein Fall beobachtet worden, in dem der *Bac. pyocyaneus* allein aus der Galle gezüchtet worden wäre.

Streptokokken und Staphylokokken.

Eine wesentlich aktivere Rolle werden bei Cholecystitis andere Begleitbakterien des *Bact. coli* spielen, die Streptokokken. In zwei Fällen wurden *Bact. coli* und Streptokokken zusammen angetroffen. Daß letztere Eitererreger allein ebenfalls Entzündung der Gallenblase hervorzurufen vermögen, wird durch zwei weitere Fälle erhellt, in denen sich diese Mikroben in Reinkultur fanden. In einem anderen Falle traten sie zusammen mit *Staphylococcus pyogenes aureus* auf.

Ich komme nun zu der Besprechung einiger Fälle von Gallenblasenempyem, in denen Bakterien gefunden wurden, die ein besonderes ätiologisches Interesse beanspruchen, oder die bis jetzt sehr selten als Erreger von Cholecystitis nachgewiesen wurden.

Typhusbazillen.

Ein Fall betrifft ein Empyem der Gallenblase, aus dem mein Vorgänger am Institut, Herr Privatdozent Dr. Kisskalt (24) Typhusbazillen in Reinkultur züchten konnte. Die Identifizierung der gefundenen Bakterien geschah durch ihr für Typhus charakteristisches Verhalten auf den verschiedenen Nährböden und durch Agglutination mit hochwertigem Typhusserum.

Wie durch neuere Untersuchungen festgestellt ist, treten Typhusbazillen außerordentlich häufig im Verlaufe eines Typhus in der Galle auf. Meist jedoch machen sie keine klinischen Erscheinungen, oder es kommt nur zu einem leichten vorübergehenden Katarrh der Gallenblase. In solchen Fällen können Typhusbazillen als Erreger nur vermutet werden [Rysker (25)]. Nicht selten verursachen sie aber auch eine Cholecystitis mit Vereiterung des Gallenblaseninhaltes und können dann, wie in unserem Falle bei Gelegenheit einer Operation, oder bei einer Sektion nachgewiesen werden (26).

Kapselbazillen.

Ebenfalls von Dr. Kisskalt wurde bei einer Cholecystitis ein Bacillus gefunden, der auf Agar Kapseln bildete. Über seine sonstigen Eigenschaften finde ich folgende Angaben: Nach Gram waren die unbeweglichen Mikroben nicht zu färben, Milchgerinnung trat nach vier Tagen ein. Neutralrot wurde nicht reduziert, Zucker nicht vergoren. Auf Drigalski-Conradi-Agar fand üppiges Wachstum statt unter Rötung des Nährbodens. Bouillon wurde gleichmäßig getrübt. Auf Gelatineplatten bildeten sich runde, stark granuliert Kolonien. In der Bouillon wuchs der Mikroorganismus als kleines, auf Drigalski-Conradi-Agar als größeres Stäbchen.

Ich hatte nun kürzlich Gelegenheit, bei einem Gallenblasenempyem einen ausgesprochenen Kapselbacillus zu beobachten, auf dessen kulturellen und biologischen Eigenschaften ich hier näher eingehen möchte. Es fand sich nämlich bei Durchsicht der recht umfangreichen Literatur über Kapselbazillen eine weitgehende Meinungsverschiedenheit der einzelnen Autoren über Identität oder Verschiedenheit der zahlreichen bisher gefundenen Mikroorganismen dieser Gruppe, so daß es angebracht erscheint, jeden derartigen Befund genau zu verfolgen und zu beschreiben, da es nur auf diese Weise gelingen wird, Klarheit in die Frage zu bringen, ob alle bisher gefundenen Kapselbazillen identisch sind, oder ob eine Trennung in viele Arten zu Recht besteht.

Seit der Entdeckung des Bacillus pneumoniae durch Friedländer im Jahre 1882 häuften sich die Befunde von „neuen Kapselbazillen“, und man fand zu dieser Gruppe gehörigen Mikroorganismen bei den verschiedensten pathologischen Prozessen bei Mensch und Tier.

Ich muß davon absehen, alle Arbeiten aufzuzählen, die sich mit dem Vorkommen von Kapselbazillen im menschlichen Körper beschäftigen. Eine sehr ausführliche Zusammenstellung über diesen Punkt findet sich bei Fricke (27) in seiner Abhandlung „Über den sogenannten Bacillus mucosus capsulatus“. Nur solche Fälle sollen hier erwähnt werden, in denen

sich, analog dem unseren, Kapselbazillen als Erreger eines Gallenblasenempyems nachweisen ließen. Beschränkt man sich auf diese Lokalisation der Kapselbazillen, so finden sich in der Literatur bisher nur zwei brauchbare Fälle verzeichnet.

So berichtet Canon (28) über das Vorkommen des *Bacillus Friedländer* in Gallenabszessen bei Gallensteinen. Canon konnte in diesem Falle die Bazillen post mortem auch im Blute nachweisen. Ferner wurde von Wicklein (29) ein dem *Bacillus capsulatus* Pfeiffer nahestehender Mikroorganismus gefunden in einem Falle von chronisch-eitriger Gallenblasenentzündung mit Perforation in die Bauchhöhle und Lunge und Abszeßbildung in der Leber.

In unserem Falle war die klinische Diagnose auf eitrige Cholecystitis gestellt worden. Bei der Operation, die in einer Cystectomie bestand und in der hiesigen chirurgischen Klinik ausgeführt wurde, fand sich ein großes Empyem der Gallenblase mit Schleimhautnekrosen und Steinbildung. Die Beschwerden bestanden seit etwa $1\frac{1}{2}$ Jahren. Der uns zur bakteriologischen Untersuchung übergebene Eiter war von außerordentlich zäher und fadenziehender Beschaffenheit, geruchlos, von grün-gelber Farbe. In Ausstrichpräparaten, die mit Alkohol fixiert und verdünntem Karbolfuchsin gefärbt waren, fanden sich große Bazillen von eigentümlichem Aussehen, meist in Nestern zusammenliegend (Taf. IV, Fig. 1). Die Länge der beobachteten Mikroben war sehr wechselnd. Von kurzen Stäbchen bis zu langen Fadenformen waren alle Übergänge vorhanden. Häufig zeigten sich die Bazillen gekrümmt, ja sie bildeten nicht selten vollständige Schleifen. Bei zahlreichen Exemplaren waren helle, ungefärbte Stellen im Bazillenleib zu erkennen, die Sporenbildung vortäuschen konnten (Taf. IV, Fig. 1, rechts oben). Es handelte sich jedoch dabei offenbar um plasmolytische Vorgänge, da in Reinkulturen und im Tierkörper derartige helle Stellen nicht bemerkt wurden.

Am auffallendsten aber war eine ausgeprägte Kapselbildung bei sämtlichen Stäbchen. Jeder *Bacillus* war mit einer breiten, durch Karbolfuchsin rosa gefärbten Hülle umgeben. Es fanden sich auch leere Kapseln vor, in denen nur noch Reste von Bazillensubstanz zu erkennen waren, und die ich als Degenerationsformen auffassen möchte (Taf. IV, Fig. 1).

Um die im Ausstrichpräparat gefundenen Bazillen zu kultivieren, wurde eine Öse Eiter auf drei gewöhnliche Agarplatten mit dem Glaspatel ausgestrichen. Ebenso wurde mit drei Drigalski-Conradiplatten verfahren. Ferner wurden zwei Serien Agarplatten in der üblichen Weise mit Verdünnungen gegossen, und davon eine Serie unter Ausschluß von Sauerstoff gehalten.

Schon nach 16 Stunden bei 37° fand sich auf allen Platten ein außerordentlich üppiges Bakterienwachstum. Nur die anaërob stehenden Kulturen waren steril geblieben. Auf allen übrigen waren saftig glänzende, weiße, über die Oberfläche erhabene Kolonien aufgegangen, und zwar nur von der gleichen Art. Die in der Tiefe des Nährbodens zur Entwicklung gelangten Kolonien zeigten eine wetzsteinähnliche Form und eine mehr bräunliche Farbe. Bei schwacher, 60 facher Vergrößerung erschien die Struktur der oberflächlichen Kolonien leicht granuliert, besonders nach dem Rande zu. Ihre Konsistenz war auffallend schleimig, bei Berührung mit der Platinnadel fadenziehend.

Auf Schrägagar bildete sich in kurzer Zeit ein schmierig-schleimiger Belag von weißer Farbe, der bald die ganze Oberfläche überzog und eine starke Neigung zum Herabfließen zeigte. Das Kondenswasser wurde in eine trüb-schleimige Flüssigkeit umgewandelt.

Auf Drigalski-Conradi-Platten wuchsen die Kolonien nicht so üppig, wie auf gewöhnlichem Agar. Die blaue Farbe des Nährbodens wurde nicht verändert.

Lakmusmolke wurde unter Bildung eines starken Bodensatzes karminrot gefärbt. Die Flüssigkeit selbst blieb klar. Die Rotfärbung der Lakmusmolke hielt auf die Dauer an und schlug später nicht in blau um.

Mannit-Nutrose-Lakmuslösung nach Barsiekow wurde rosa gefärbt; dabei fand Gerinnung des Nutrose-Kaseins und geringe Gasbildung aus dem Mannit statt, die sich in Form einer kleinen Gasblase in der Kuppe des Gärungsröhrchens zeigte. Reduktion von Neutralrot trat nur sehr langsam ein. Erst nach 4 Tagen fand sich eine Andeutung von Fluoreszenz, die dann langsam zunahm.

Bouillon wurde gleichmäßig getrübt. Auf der Oberfläche bildete sich ein schleimiges Häutchen, das sich an der Glaswand hinaufzog. Auf dem Grunde des Röhrchens fand sich ein dicker Bodensatz.

Indolbildung wurde nicht beobachtet.

Traubenzuckeragarkulturen zeigten starke Gasentwicklung.

Milch gerinnt unter erheblicher Säurebildung in 48 Stunden.

Auf Kartoffeln wächst der Kapselbacillus in Form eines weißen schmierigen Belages, der jedoch keine große Ausdehnung erreicht. Gasbildung findet auf diesem Nährboden nicht statt.

Die Gelatinestichkultur zeigt das ausgesprochene Bild der sogenannten „Nagelkultur“. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. In Gelatineschüttelkulturen findet Wachstum in allen Schichten statt, am besten aber nahe der Oberfläche. Schon nach 24 Stunden bilden sich Gasblasen in der Gelatine, dieselbe bald vollständig zersprengend. Der Nährboden selbst

zeigt sich in der Umgebung der einzelnen Kolonien getrübt. Eine Braunfärbung wurde nicht beobachtet.

Auf Gelatineplatten wächst der Kapselbacillus ähnlich wie auf der Oberfläche von Agar. Nur sind die Kolonien noch weißer, porzellanähnlicher und halbkugelig über die Oberfläche erhaben.

Auf Löffler Serum und Rinderserum gedeiht der Bacillus üppig. Der Nährboden wird nicht verflüssigt.

In Reinkultur ist der Mikroorganismus erheblich kürzer, wie in dem Eiter aus der Gallenblase. Nie treten lange Fäden in den Kulturen auf. Der Bazillenleib zeigt häufig eine hantelförmige Einschnürung in der Mitte. Alle Exemplare sind von einer deutlichen Kapsel umgeben (Taf. IV, Fig. 2). Am schönsten und klarsten lassen sich die Kapseln zur Anschauung bringen bei Anwendung der Fixationsmethode nach Weidenreich-Hamm (30) durch Osmiumsäuredämpfe. Jedoch gab auch einfache Behandlung mit Alcohol. abs. gute Resultate. Zur Färbung am besten geeignet erwies sich verdünntes Karbolfuchsin. Auch nach der Geißelfärbemethode nach Zettnow lassen sich die Kapseln darstellen. Geißeln wurden bei Anwendung dieses Verfahrens nicht beobachtet, wie auch die Bazillen keine Eigenbewegung besitzen. Nach Gram entfärbten sich die Mikroorganismen schnell und vollständig.

Die Kapselbazillen sind pathogen für weiße und graue Mäuse und für Meerschweinchen. Kaninchen ließen sich, auch bei Anwendung großer Dosen, weder intraperitoneal noch intravenös infizieren. Ebenso traten bei Tauben nach intravenöser, intraperitonealer oder subkutaner Injektion von je 1^{ccm} Bouillonkultur keinerlei Krankheitserscheinungen ein. Sehr empfänglich sind dagegen Mäuse, die einer Injektion von 0.1^{ccm} einer 24 stündigen Bouillonkultur in das Unterhautzellgewebe nach 48 Stunden sicher erliegen. Bei der Sektion fand sich an der Injektionsstelle nur ein geringes sulziges Ödem. Sämtliche Organe waren hyperämisch, mit kleinen Blutungen durchsetzt. In den Körperhöhlen hatten sich kleine Mengen eines trüben, fadenziehenden Exsudats gebildet. Die Oberfläche der Organe war mit einem schleimigen Überzug versehen. Das Blut zeigte eine eigentümlich dicke, zähflüssige Beschaffenheit.

Meerschweinchen ließen sich leicht vom Peritoneum, subkutan nur durch größere Mengen Kultur tödlich infizieren. Wurden die Bazillen intraperitoneal injiziert, so starb das Tier meist schon nach 12 bis 16 Stunden. Die Bauchhöhle war dann angefüllt mit einem trüben, fadenziehenden, gelblichen Exsudat.

Bei allen der Infektion erlegenen Tieren ergab die mikroskopische Untersuchung das gleiche Resultat. Stets fand sich eine Überschwemmung des ganzen Tierkörpers mit den Kapselbazillen, eine ausgesprochene

Septikämie. Im Blut, in den Organen fanden sich die Bazillen regelmäßig in außerordentlich großen Mengen. Das Exsudat in der Bauchhöhle der peritoneal infizierten Meerschweinchen bestand aus einer zähen Flüssigkeit mit Bazillen in enormer Zahl. Leukozyten und andere zellige Elemente wurden fast ganz vermißt. Auch in der Gallenblase hatte, unter Trübung ihres Inhaltes, eine starke Bakterienwucherung stattgefunden.

Mäuse gingen auch nach Fütterung von Brot, das mit Bouillonkultur getränkt war, nach 4 bis 5 Tagen ein.

Die Neigung der Bazillen zur Kapselbildung tritt im Tierkörper am schönsten zutage (Taf. IV, Fig. 3a b u. 4). Die Größe der Mikroorganismen unterliegt außerordentlichen Schwankungen, wie aus den Photogrammen (Tafel IV) erhellt, die sämtlich bei der gleichen 1000fachen Vergrößerung aufgenommen sind. Die größten Formen wurden im Blut von Mäusen beobachtet. Auch die Kapselbildung erreicht im Körper dieser Tiere eine oft außerordentliche Mächtigkeit (Taf. IV, Fig. 4). Im Tierkörper kommt es nicht selten zur Bildung von längeren Kettenformen. So fanden sich Verbände bis zu sechs Exemplaren. Alle Individuen werden in diesem Falle von einer gemeinschaftlichen Kapsel umhüllt, die an den Teilungsstellen der Bazillen zuweilen eine leichte Einschnürung zeigt, so daß, wenn zwei Stäbchen aneinander gelagert sind, Biskuitformen zustande kommen. Die Darstellung der Kapsel bei Bazillen aus dem Tierkörper bot niemals Schwierigkeiten.

Aus dieser Beschreibung der morphologischen und kulturellen Eigenschaften des gefundenen Mikroorganismus geht hervor, daß derselbe von den beiden Hauptvertretern der Gruppe der Kapselbazillen, dem *Bacillus pneumoniae* Friedländer und dem *Bact. lactis aerogenes*, in nicht unwesentlichen Punkten abweicht.

Unser *Bacillus* bringt im Gegensatz zu dem *Bac. pneumoniae* Milch schnell zur Gerinnung. Auf Kartoffel bildet er keine Gasblasen, deren Auftreten für den *Bac. aerogenes* charakteristisch ist. Zu erwähnen ist noch, daß die Bazillen durch das Blutserum der Patientin in keiner Verdünnung agglutiniert wurden.

Influenzabazillen.

Besonderes bakteriologisches, wie auch klinisches Interesse beanspruchen die bakteriologischen Befunde bei den beiden letzten hier zur Besprechung kommenden Fälle von Empyem der Gallenblase. Es konnten nämlich kurz hintereinander in zwei Fällen von Cholecystitis Influenzabazillen in Reinkultur im Eiter der Gallenblase nachgewiesen werden.

Soviel ich aus der Literatur-ersehe, liegt bis jetzt erst eine analoge Beobachtung von Heyrovski (31) vor.

Heyrovski fand als Erreger einer Cholecystitis ausschließlich den Influenzabacillus. Die Patientin litt an Bronchitis, und H. hält eine Infektion der Gallenblase durch verschlucktes Sputum für wahrscheinlich.

Was unsere beiden Fälle betrifft, so ist zu bemerken, daß beide zu einer Zeit zur Beobachtung kamen, in der eine ausgedehnte Influenza-epidemie hier und in der Umgebung herrschte.

In dem ersten Falle wurde in der chirurgischen Klinik die Diagnose auf akutes Empyem der Gallenblase gestellt. Die Patientin war plötzlich mit hohem Fieber, Erbrechen und Schmerzen in der rechten Bauchseite erkrankt. Anamnestisch war nichts zu eruieren, was auf eine vorausgegangene Influenza hätte schließen lassen. Auch von Seiten des Darmes waren keine Erscheinungen bemerkt worden.

Bei der Operation fand sich ein etwa haselnußgroßer Stein. Der uns zur Untersuchung übergebene Eiter zeigte eine rahmige Beschaffenheit, war geruchlos, von fast weißer Farbe, mit geringen Blutspuren vermengt.

In Ausstrichpräparaten, mit Alkohol fixiert und verdünntem Karbol-fuchsin gefärbt, fanden sich äußerst kleine Stäbchen, die häufig so kurz waren, daß sie wie Kokken aussahen, und die, wenn sie zu zweien aneinander lagen, Pneumokokken in verkleinertem Maßstabe glichen. Nach Gram ließen sich die Mikroorganismen nicht färben. Schon der hier skizzierte Befund im Ausstrichpräparat wies darauf hin, daß ein nicht gewöhnlicher Infektionserreger vorlag. Um ihn rein zu züchten, wurde folgendes Verfahren eingeschlagen:

Zunächst wurden in der gewöhnlichen Weise mit Verdünnungen Agarplatten gegossen. Ferner wurde Eiter in ziemlich reichlicher Menge auf drei erstarrte Agarplatten hintereinander ausgestrichen. Auf dieselbe Weise wurden drei Drigalski-Conradi-Platten beschickt.

Nach 20 stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° C boten die Kulturen folgendes Bild: Auf den gegossenen Platten war, auch mikroskopisch, nichts von Bakterienentwicklung zu sehen. Dagegen fanden sich auf den mit Eiter bestrichenen Platten feinste, glasig durchscheinende, tautropfenähnliche Kolonien, die nie miteinander konfluieren. Diese Kolonien fanden sich in größerer Zahl nur auf der ersten Platte der Serie. Auf der zweiten Platte waren nur sehr wenige, auf der dritten gar keine zur Entwicklung gekommen.

Das gleiche Verhalten wurde auf dem Drigalski-Conradi-Agar beobachtet, nur war hier das Wachstum bedeutend kümmerlicher wie auf gewöhnlichem Agar.

Selbst bei 60facher Vergrößerung erschienen die Kolonien strukturlos, nur das Zentrum war leicht getrübt.

Aus dem Ausfall dieses Versuches ging hervor, daß es sich um Bakterien handeln müsse, die nur bei Gegenwart des mitausgestrichenen Eiters zur Entwicklung kamen, und die jetzt aus den morphologischen und kulturellen Verhältnissen gestellte Diagnose „Influenzabazillen“ wurde durch die weitere Beobachtung gesichert. Die Stäbchen gediehen nämlich nur auf hämoglobinhaltigen Nährböden. Auf gewöhnlichem Agar trat kein Wachstum auf. Eigenbewegung fehlte. Die Färbung gelang leicht mit verdünntem Karbolfuchsin.

Mäuse und Meerschweinchen, die subkutan und intraperitoneal mit Eiter infiziert waren, blieben gesund.

Völlig klar gestellt wurde die Influenzanatur der Mikroben durch den Nachweis von spezifischen Antikörpern im Blute der Patientin. Das Serum agglutinierte Influenzabazillen, die von einem anderen Falle aus Sputum gezüchtet waren, noch in einer Verdünnung von 1:150 bei makroskopischer Beobachtung. Der Agglutinationstiter für den ursprünglichen, aus dem Eiter der Gallenblase isolierten Stamm konnte leider nicht festgestellt werden, da die Kulturen inzwischen abgestorben waren.

Der relativ hohe Agglutinationswert von 1:150 ist besonders hervorzuheben, denn bisher konnten im Blut von Influenzapatienten oder Rekonvaleszenten spezifische Antikörper gar nicht oder nur in geringer Menge nachgewiesen werden. So kommen Delius und Kolle (32) auf Grund eingehender Versuche zu dem Resultat, daß weder beim Menschen noch im Tierkörper durch Infektion mit Influenzabazillen eine Anhäufung von Immunstoffen zustande kommt.

Ähnliche Ergebnisse erhielt Slatinéano (33). Jedoch gelang es diesem Forscher bei aktiv immunisierten Kaninchen einen Agglutinationstiter von 1:80 zu erreichen.

Durch lange fortgesetzte Immunisierung konnte Cantani (34) beim Meerschweinchen Agglutinine noch bei einer Verdünnung von 1:200 und 1:500 feststellen.

Beim Menschen mit Influenza fand Cantani im allgemeinen nur Agglutinationswerte von 1:10 bis 1:20. Nur in einem Falle, der event. als Influenza angesehen werden konnte, agglutinierte das Serum Influenzabazillen bis 1:200. Jedoch konnte dieser Fall nicht weiter verfolgt werden.

Jehle (35) fand bei Kindern, welche eine Influenza-Bakteriämie (bei Scharlach, Masern usw.) hatten, Agglutination des Serums bei 1:20, welche bei denselben Krankheiten ohne Komplikation mit Influenza fehlte.

Was unseren zweiten Fall von Cholecystitis, hervorgerufen durch Influenzabazillen, betrifft, so ergab hier die Anamnese, daß die Patientin

8 Tage vor der Aufnahme in die Klinik an Influenza gelitten hatte, ebenso vor etwa 2 Jahren. Beschwerden von Seiten der Gallenblase sollen jedoch schon seit 30 Jahren bestanden haben.

Bei der Operation fand sich bei rein eitrigem Inhalt der Gallenblase auch hier ein großer, faßförmiger Stein.

In Ausstrichpräparaten wurden wieder die kleinen für Influenza verdächtigen Stäbchen gefunden, und zwar fast stets in Zellen eingeschlossen, die oft vollständig mit Bazillen vollgepfropft waren.

Die Kulturversuche wurden in derselben Weise wie in dem ersten Falle vorgenommen und ergaben dasselbe Resultat: Influenzabazillen in Reinkultur.

Auch bei dieser Patientin konnten spezifische Agglutinine im Blutserum nachgewiesen werden, wenn auch in geringerer Menge, wie in unserem ersten Falle. Der Agglutinationstiter war nur 1:40.

Was die Deutung der Befunde von Influenzabazillen bei Cholecystitis betrifft, so bin ich der Ansicht, daß sowohl in dem von Heyrovski beobachteten Fall, wie auch in den beiden unserigen, diesen Mikroorganismen eine ätiologische Bedeutung für das Entstehen des Empyems zukommt, und zwar in dem Sinne, daß zuerst ein chronischer Katarrh mit Steinbildung bestand, wodurch den Influenzabazillen Gelegenheit geboten wurde, sich in der Gallenblase anzusiedeln und eine Vereiterung ihres Inhaltes hervorzurufen.

Ich bin geneigt, den Influenzabazillen für das Zustandekommen eines Gallenblasenempyems zu Zeiten einer Influenzaepidemie eine weit größere Bedeutung zuzuschreiben, wie man es nach den bisher beobachteten wenigen Fällen annehmen sollte. Das Kulturverfahren muß bei Untersuchung zweifelhafter Fälle den eigentümlichen Wachstumsbedingungen des Influenzabacillus angepaßt werden, da er ja bei dem gewöhnlichen Plattengießverfahren nicht zur Entwicklung kommt.

Auch in Ausstrichpräparaten können die kleinen Mikroben der Beobachtung entgehen, wenn sie nur spärlich vorhanden sind, so daß sie in manchen Präparaten, wie in unserem ersten Fall, ganz vermißt wurden.

Immerhin müssen die Influenzabazillen, auch wenn sie häufiger als bisher gefunden werden sollten, als Erreger der Cholecystitis weit zurücktreten gegenüber dem *Bacterium coli commune*, das auch nach unseren Untersuchungen in erster Linie in Betracht kommt für das Entstehen des Gallenblasenempyems.

Nachtrag.

Während der Drucklegung vorliegender Arbeit hatte ich Gelegenheit, noch 14 weitere Fälle von Cholecystitis, die alle in der hiesigen chirurgischen Klinik operiert wurden, bakteriologisch zu untersuchen.

Ich stelle das Ergebnis dieser Untersuchungen in Form eines Nachtrages in folgendem kurz zusammen.

Es fand sich: *Bact. coli commune* in 7 Fällen in Reinkultur; zweimal *Bact. coli commune* zusammen mit Streptokokken. Streptokokken allein wurden einmal beobachtet.

In zwei Fällen konnten Pseudodiphtheriebazillen nachgewiesen werden.

Wenn ich oben die Vermutung aussprach, daß die Influenzabazillen eine größere ätiologische Rolle bei der Cholecystitis spielen, als bisher bekannt war, so erhält diese Annahme eine Stütze durch einen weiteren, dritten, Fall von Empyem der Gallenblase, bei dem diese Bakterien in dem Gallenblaseneiter nachzuweisen waren. Die Anamnese ergab in diesem Falle nichts für eine vorausgegangene Influenza. Die Operation bestand in einer Cystektomie und Drainage des Choledochus. Von besonderem Interesse ist, daß in der gallig gefärbten trüben Flüssigkeit, die aus dem Drainrohr abfließt, noch jetzt, d. h. 3 Wochen nach der Operation, Influenzabazillen in großen Mengen neben zahlreichen anderen Bakterien nachweisbar sind. Leider konnte bisher das Blut nicht auf Agglutinine untersucht werden, da die Patientin, eine Jüdin, aus religiösen Gründen die Blutentnahme verweigerte.

Schließlich wurde in dem letzten der hier angeführten Fälle, der unter dem Bilde eines akuten septischen Ikterus rasch tödlich verlief, aus der Galle ein Bazillus aus der Gruppe der anaeroben Gasbazillen in Reinkultur gefunden, über dessen Eigenschaften demnächst Näheres mitgeteilt werden soll.

Eine Betrachtung der hier noch angeführten 14 Fälle zusammen mit den oben besprochenen 22 Fällen zeigt ebenfalls die hervorragende Rolle des *Bact. coli commune* bei der Cholecystitis. Bei 36 Fällen fand es sich 21 mal = 58.3 Prozent, darunter 18 mal = 50 Prozent in Reinkultur.

Literatur-Verzeichnis.

1. Netter u. Martha, De l'endocardite végétante ulcéreuse dans les affections des voies biliaires. *Arch. de phys. norm. et path.* 1886. Nr. 5.
2. Naunyn, Vorkommen von Spaltpilzen in der Gallenblase. Sitzung des naturw. Vereins in Straßburg, 16. I. 1891. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1891. Nr. 5.
3. Fränkel u. Krause, Bakteriologisches und Experimentelles über die Galle. *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXXII.
4. Krause, Vortrag im ärztlichen Verein in Hamburg. Ref. *Münchener med. Wochenschrift.* 1900.
5. Forster u. Kayser, *Ebenda.* 1905. Nr. 81.
6. Lentz, *Klin. Jahrbuch.* 1905. Bd. XIV.
7. Forster u. Kayser, *Münchener med. Wochenschrift.* 1905. Nr. 91.
8. Dörr, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1905. Bd. XXXIX.
9. v. Drigalski, *Ebenda.* 1904. Bd. XXXV. S. 790.
10. Gilbert u. Girode, Contribution à l'étude bactériologique des voies biliaires. *Bulletin de la soc. de biologie.* 27. XII. 1890.
11. Gilbert u. Domenici, Recherche sur le nombre des microbes du tube digestif. *Ebenda.* 10. II. 1894.
12. Charrin u. Roger, Angiocholite microbienne expérimentale. *La semaine méd.* 1891.
13. Gilbert u. Domenici, De l'angiocholite et de la cholécystite colibacillaires expérimentales. *Bull. de la soc. de biol.* 20. I. 1894.
14. Naunyn, Vorkommen von Spaltpilzen in der Gallenblase. Sitzung des naturw. Vereins in Straßburg, 16. I. 1891. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1891. Nr. 5.
15. Derselbe, *Klinik der Cholelithiasis.* Leipzig 1892.
16. A. Fränkel, Ein Fall von Leberabszeß im Gefolge von Cholelithiasis. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1891. Nr. 48.
17. Dmochowski u. Janowski, Zwei Fälle von eitriger Entzündung der Gallengänge, hervorgerufen durch das Bacterium coli commune. *Centralblatt f. allg. Pathol. u. pathol. Anatomie.* 1894. Nr. 4.
18. d'Alloco, O., Un caso di colecistite infettiva etc. *Riforma med.* Nr. 58/54.
19. Hintze, K., Über Gasbildung in der Leber bei Cholelithiasis. *Münchener med. Wochenschrift.* 1895. S. 209.
20. Étienne, S., Forme pyosepticémique du cancer du canal cystique, icère; obturation du canal cholédoque par un ascaride; cholécystite suppurée paracolibacillaires. *Arch. génér. de Méd.* Vol. II. p. 284.
21. Blumenthal, Die Coli-Typhusgruppe in ihren Beziehungen zu den Erkrankungen der Gallenwege. *Deutsches Archiv für klin. Medizin.* Bd. LXXXVIII.
22. Salus, *Prager med. Wochenschrift.* 1894.
23. Jakowski, *Diese Zeitschrift.* Bd. XV.
24. Kisskalt, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XLI. S. 701.
25. Rysker, *Münchener med. Wochenschrift.* 1899. S. 757.

26. Gilbert u. Girode, *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1890, Nr. 39 und 1893, Nr. 35. — Stewart, *Brit. med. Journal.* 1901. — Dupré, *Les infections biliaires.* Paris 1891. — Chiari, *Prager med. Wochenschrift.* 1893. Nr. 22. — Guarnieri, *Riv. gen. di clin. med.* 1892. Nr. 10. — Anduson, Ref. Baumgarten, *Jahresbericht.* 1896. S. 330. — Parmentier, *Sem. méd.* 1900. Nr. 25. — Cushing, *John Hopkins Bull.* Mai 1898. — Hunner, *Ebenda.* Aug. u. Sept. 1889. — Carnac, *John Hopk. Bull. Rep.* 1900. Vol. VIII. p. 339. — Ehret u. Stolz, *Mitt. a. d. Grenzgeb. f. Chirurg. u. Med.* 1900. S. 389. — Brion, *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. XXX. S. 400. — Mc Daniel, *Journ. of the americ. med. assoc.* Vol. XXXVIII. p. 443. — v. Drigalski, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1904. Bd. XXXV. — Blumenthal, *Münchener med. Wochenschrift.* 1904. Nr. 37. — Derselbe, *Med. Klinik.* 1905. — Derselbe, *Deutsches Archiv f. klin. Medizin.* Bd. LXXXVIII. — Müller, *Zeitschr. f. Heilkunde.* 1905. Bd. XXVI. — Forster u. Kayser, *Münchener med. Wochenschrift.* 1905. Nr. 31.
27. Fricke, *Diese Zeitschrift.* 1896. S. 380.
28. Canon, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1893. S. 1039.
29. Wicklein, Chronischer Leberabszeß, verursacht durch einen Kapselbacillus. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1895. Bd. XVIII. S. 425.
30. Hamm, Beobachtungen über Bakterienkapseln auf Grund der Weidenreichen Fixationsmethode. *Ebenda.* Bd. XLIII.
31. Heyrovski, J., Der Influenzabacillus als Erreger der Cholecystitis. *Wiener klin. Wochenschrift.* Jahrg. XIII. Nr. 23. S. 644.
32. Delius u. Kolle, Untersuchungen über Influenzaimmunität. *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXIV.
33. Statinéano, Septicémie expérimentale par le cocco-bacille de Pfeiffer, essais d'immunisation. Laval, *imprimerie parisienne.* 1901.
34. Cantani, Immunisierungsversuche gegen Influenza. *Diese Zeitschrift.* 1903. Bd. XLII.
35. Jehle, *Zeitschrift für Heilkunde.* 1901. Abt. f. innere Medizin.

Erklärung der Abbildungen.

(Tafel IV.)

Fig. 1. Kapselbazillen aus Empyem der Gallenblase. Eiterausstrich gef. mit verd. Karbolfuchsin. Fixiert mit Alkohol. Vergr. 1000 mal.

Fig. 2. Kapselbazillen aus Empyem der Gallenblase. Reinkultur von Schrägagar, 1. Generation. Fixiert mit Osmiumsäure, gefärbt mit verdünntem Karbolfuchsin. Vergr. 1000 mal.

Fig. 3a und b. Kapselbazillen aus Empyem der Gallenblase. Ausstrich von peritonitischem Exsudat eines periton.-infizierten Meerschweinchens. Fixiert mit Osmiumsäure. Gefärbt mit Karbolfuchsin. Vergr. 1000 mal.

Fig. 4. Kapselbazillen aus Empyem der Gallenblase. Blut einer subkutan infizierten Maus. Fixiert mit Osmiumsäure, gefärbt mit verdünntem Karbolfuchsin. Vergr. 1000 mal.



Fig. 1.

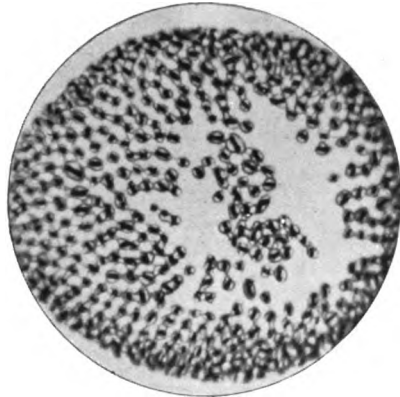


Fig. 2.

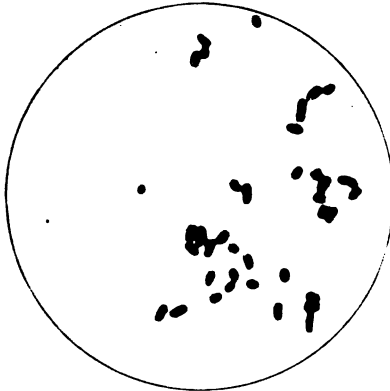


Fig. 3a.

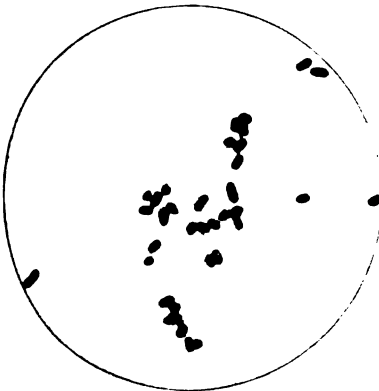


Fig. 3b.

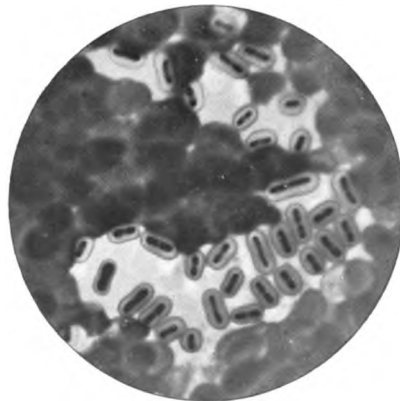


Fig. 4.

Über die Dauer der letalen Scharlachfieberfälle in der dänischen Stadtbevölkerung, Kopenhagen aus- genommen, in den Jahren 1885 bis 1900.

Von

Povl Helberg (Kopenhagen).

Die Monographien über das Scharlachfieber enthalten nur wenige Berichte über die Dauer der letalen Fälle. Vielleicht hat man wegen des launenhaften Charakters der verschiedenen Epidemien und des sehr ungleichen Verlaufs bei den verschiedenen Individuen es nicht der Mühe wert erachtet betreffs eines so schwierigen Gebietes nach Regeln zu forschen. In den meisten Fällen hat wohl auch kein brauchbares Material vorgelegen. Ein Hospitalmaterial wird für eine derartige Untersuchung häufig etwas ungünstig ausfallen, da bei der Einlieferung ins Hospital gewöhnlich zwischen den vorliegenden Krankenfällen eine Auswahl vorgenommen wird. Es liegt von vornherein die Vermutung nahe, daß die Dauer der letalen Fälle einen guten Charakterzug für die Beurteilung einer Epidemie abgeben wird. Ebenfalls ist es wohl nicht ganz ohne praktische Bedeutung, ob der Arzt weiß, wie lange die Mehrzahl der letalen Fälle zu dauern pflegt.

Das hier bearbeitete Material sind die aus den Totenscheinen für die Stadtbevölkerung Dänemarks, Kopenhagen ausgenommen, gewonnenen Erfahrungen für die Jahre 1885 bis 1900.

Herr Dr. med. I. Carlsen hat mir dieses teilweise schon geordnete Material mit großer Liberalität zur Verfügung gestellt.

Daß das Material Mängel aufweist, ist leicht nachzuweisen. Die Dauer der Krankheit ist wohl ab und zu erst von dem Tag gerechnet, an welchem das Kind so krank wurde, daß die erschrockenen Eltern es zu Bett brachten und den Arzt zu Rate zogen. Die Angaben der Ärzte über die Dauer der Krankheit sind nicht immer mit genügender Genauigkeit abgefaßt. Andererseits weist das hier vorliegende Material den Vorteil

auf, daß es alle in einer bestimmten Bevölkerung vorkommenden Fälle umfaßt, und daß eine sehr bedeutende Anzahl der Fälle von den Ausstellern der Totenscheine vom Beginn bis zum Abschluß der Krankheit beobachtet sind. Haben sich die Ärzte bei der Wiedergabe ihrer Beobachtungen genügende Mühe gegeben, was sich wohl bezüglich der Mehrzahl der Fälle sagen läßt, so ist das hier untersuchte Material so zuverlässig wie es überhaupt werden kann.

Von den Totenscheinen sind alle die Scheine gesammelt, welche Scharlachfieber als Todesursache bezeichneten. Außerdem sind in einer Tabelle (Tabelle II) die Fälle für sich zusammengestellt, wo sowohl Scharlachfieber wie auch Diphtherie (Diphtheritis oder Krupp) als Todesursache angegeben waren, indem diese Gruppe wohl zwei verschiedene Arten Fälle enthält, nämlich zum Teil Scarlatina + Diphtheritis vera, zum Teil Scarlatinafälle mit besonders heftigen Halsleiden. Durch gesonderte Aufzählung dieser Fälle bekommt man einen Überblick über den durch Hinzufügung oder Auslassung derselben hervorgerufenen Unterschied. Scarlatina wurde außerdem als Todesursache zusammen mit folgenden anderen Krankheiten auf 31 Todesscheinen gefunden (die Zahlen in Parenthese vor dem Namen der Krankheit geben das Alter der Patienten an, und die Zahlen in Parenthese nach dem Namen der Krankheit geben die Dauer des Krankenfalles an).

(2) Bronchitis (3 Wochen)

(4) Influenza (11 Monate)

(11 Monate, 3, 4, 4, 13, 22) Meningitis (14, 14, 1, ?, 14, 10)

(3, 5, 6) Morbilli (3 Wochen, 3 Wochen, ?)

(8, 25) Morbus cordis (4 Monate, 4)

(9) Nona (3 Wochen)

(6) Perikarditis (13)

(5 Monate, 10 Monate, 3, 4, 6) Pneumon. catarr. (5 Wochen, 3, 33, 14, 14)

(4) Pneumonia crouposa (14)

(19, 28, 30, 30, 31) Puerperium (2, 5, 6, 14, 16)

(11, 21) Tuberculosis pulmonum (2 Monate, ?)

(1, 2) Tussis convulsiva (2 Monate, 22).

Zu dem Material gehören nicht die (nicht wenigen) Scarlatinatodesfälle, die in diesen Jahren unter den auf den Krankenhäusern der Provinzialstädte eingelieferten Landbewohnern vorgekommen sind, da es sich hier um Fälle handelt, bezüglich welcher eine Auswahl stattgefunden hat, und da das Bild, das wir sonst von der Dauer sämtlicher letalen Fälle des Scharlachfiebers für die Stadtbevölkerung bekommen würden, sich hierdurch eventuell etwas anders gestalten könnte.

Die Dauer der letalen Scharlachfieberfälle in den dänischen Provinzialstädten 1885 bis 1900.

Alter	Dauer in Tagen																				Dauer in Woch.								Über 8 Wochen	Nicht ange- geben	Im ganzen
																					3 4 5 6 7 8										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	3	4	5	6	7	8					
Unter 1 Jahr	-	2	8	1	5	1	-	4	-	4	1	1	-	3	1	-	2	-	-	-	6	2	1	-	-	-	4	87+4			
1 "	-	2	3	8	1	5	1	10	-	3	1	3	2	8	-	2	3	1	1	-	11	1	3	-	1	-	4	65+4			
2 "	-	3	10	8	8	7	4	4	11	1	7	2	6	1	9	1	3	-	-	-	17	5	4	1	2	1	8	111+8			
Zusammen .	8	14	14	7	13	10	5	25	1	14	4	10	3	20	2	5	3	3	1	-	34	8	8	1	2	2	11	218+11			
3 Jahre	-	3	6	4	8	6	8	12	3	4	1	4	1	15	2	2	4	1	-	-	12	6	3	1	-	-	3	108+3			
4 "	-	2	8	2	4	4	9	4	8	1	2	1	2	1	9	-	1	-	-	-	10	6	2	-	1	1	3	78+3			
5 "	-	5	3	6	-	2	1	5	8	-	2	2	1	8	-	1	-	-	-	-	8	10	2	2	-	1	2	4	64+4		
Zusammen .	2	16	11	14	12	17	18	25	7	6	4	8	2	32	2	4	2	5	1	-	30	22	7	8	-	2	3	10	250+10		
6 Jahre	3	2	1	3	3	3	4	3	2	2	2	4	1	9	-	-	1	1	-	-	4	4	2	-	2	-	4	58+4			
7 "	-	2	1	4	4	-	1	2	-	1	1	1	-	3	-	-	-	1	1	-	-	5	3	-	1	-	1	31+1			
8 "	1	3	1	1	-	1	-	3	-	1	2	1	-	3	-	-	-	1	-	-	-	2	2	-	2	2	-	28			
Zusammen .	4	7	3	8	7	4	5	8	2	4	5	6	1	15	-	-	1	3	1	2	4	11	7	-	5	2	5	115+5			
9 Jahre	1	1	4	3	-	1	2	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3	1	1	-	-	-	-	21			
10 "	-	1	1	3	1	1	1	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3	1	-	-	-	1	15+1			
11 "	-	2	2	1	2	1	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	1	-	1	-	1	18+1			
Zusammen .	1	4	7	7	3	3	8	-	1	2	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	4	6	2	1	1	2	2	49+2			
12 Jahre	-	1	1	2	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	8+1			
13 "	1	-	-	1	2	1	-	-	-	-	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	10			
14 "	-	-	1	1	1	1	1	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	10			
Zusammen .	1	1	2	4	5	2	2	1	-	-	2	1	3	-	-	-	1	-	-	-	1	1	1	-	-	-	1	28+1			
15-20 Jahre	-	2	3	1	4	2	1	1	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	17			
21-29 "	-	-	2	3	4	-	-	1	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3	1	-	-	1	-	-	18			
30 und mehr	-	-	-	-	1	7	1	-	-	-	-	-	-	2	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14+1			
Zusammen .	-	2	5	5	15	3	1	2	-	2	1	2	-	2	-	2	-	1	-	-	3	2	-	-	1	-	1	49+1			
Im ganzen .	11	44	42	45	55	39	29	61	11	28	14	29	7	73	4	11	6	13	3	2	76	50	25	6	9	10	8	30	704+30		

6

Das untersuchte Material enthält 704 Fälle, bezüglich welcher die Dauer der Krankheit angegeben ist, während in 30 Fällen jeglicher Bericht über dieses Verhältnis fehlt.

Tabelle I enthält die Fälle geordnet nach ihrer Dauer innerhalb der einzelnen Altersklassen.

Nach der Dauer in Tagen und Wochen erhält man betreffs des ganzen Materials folgende Gruppierung:

Tabelle A.

Dauer in Tagen:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Anzahl der Fälle . . .	11	44	42	45	55	39	29	61	11	28
Dauer in Tagen:	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Anzahl der Fälle . . .	14	29	7	73	4	11	6	13	3	2
Dauer in Wochen:	3	4	5	6	7	8	über 8			
Anzahl der Fälle . . .	76	50	25	5	3	10	8			

Diese Zahlen illustrieren genügend deutlich die Gewohnheit der Ärzte, Bequemlichkeitsbezeichnungen wie „14 Tage“ und „3 Wochen“ zu gebrauchen, sowie die geraden den ungeraden Zahlen vorzuziehen, wenn die Dauer der Krankheit eine Woche überschreitet und demnach etwas größere Anforderungen an das Gedächtnis gestellt werden. Aus der Tabelle geht doch allerdings so viel hervor, daß von sämtlichen Todesfällen ungefähr $\frac{1}{5}$ innerhalb der 4 ersten Tage eingetreten, ungefähr $\frac{1}{3}$ innerhalb der 6 ersten Tage und ungefähr die Hälfte innerhalb der 10 ersten Tage, während der Tod nur betreffs einer kleinen Anzahl — nicht einmal $\frac{1}{25}$ — später als im Laufe von 5 Wochen eintritt.

Es ist noch zu erinnern, daß ein Teil spät eintretender Scarlatina-todesfälle unter anderen Namen und da wohl namentlich in der Rubrik Nierenentzündung aufgeführt werden.

Bezüglich des Einflusses des Alters auf die Dauer der letalen Fälle des Scharlachfiebers zeigt ein Blick auf Tabelle I, daß das Alter nicht hier — wie bei Diphtherie¹ — seinen Einfluß in Richtung längerer Dauer für die höheren Altersklassen geltend macht. Das hier vorliegende Material läßt sich eher zum Vorteil für die Anschauung benutzen, daß

¹ J. Carlsen und Povl Heiberg: Über die Dauer der tödlichen Diphtheriefälle in der dänischen Stadtbevölkerung außerhalb Kopenhagens während der Jahre 1895 bis 1901. *Diese Zeitschrift*. 1903. Bd. XLIII S. 547.

in den höheren Altersklassen die letalen Fälle rapider verlaufen. Jedoch darf man kaum, zum Teil wegen der verschiedenen früheren genannten Fehlerquellen, zum Teil wegen der relativ geringen Größe des Materials, dieser Andeutung zu großen Wert beimessen.

Der Einfluß des Alters auf die Dauer der letalen Fälle ist auch in Tabelle B gezeigt, wo die Fälle in 2 Klassen geteilt sind — diejenigen, die in 1 bis 11 Tagen verlaufen, und diejenigen, welche länger gedauert haben.

Tabelle B.

	Dauer 1—11 Tage	Dauer 12 Tage oder länger	Dauer über 11 Tage in Prozenten
Unter 1 Jahre	21	16	
1 Jahr	29	36	
2 Jahre	60	51	
Zusammen	110	103	48
3 Jahre	55	53	
4 „	45	33	
5 „	27	37	
Zusammen	127	123	49
6 Jahre	28	30	
7 „	16	15	
8 „	13	13	
Zusammen	57	58	50
9 Jahre	13	8	
10 „	9	6	
11 „	9	4	
12 „	8	—	
13 „	5	5	
14 „	5	5	
15—20 „	15	2	
21—29 „	12	6	
30 und mehr	9	5	
Zusammen	85	41	33
Alle Altersklassen . .	379	325	46

[Aus der medizinischen Klinik zu Königsberg i/Pr.]
(Direktor: Geh. Med.-R. Prof. Lichtheim.)

Klinische und kritische Beiträge zur Differenzierung pathogener „Proteusarten“ und Beiträge zur Wertung der „Proteusagglutination“.

Von

Privatdozent Dr. Carl Klieneberger,
I. Assistent der Klinik.

Im Jahre 1885 beschrieb Hauser^{1.2.3.4} unter dem Namen Proteus aus Faulflüssigkeiten isolierte Bakterien, deren Charakteristika die Erzeugung von stinkender Fäulnis, von pleomorphem Verhalten, insbesondere die Bildung eigenartiger, bisher unbekannter Wuchsformen (Spirulinen, Schwärmkolonien) waren. Während Hauser anfänglich drei Typen, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis (Proteus vulgaris rasch Gelatine verflüssigend, Proteus mirabilis langsam verflüssigend) und Proteus Zenkeri (Gelatine nicht verflüssigend), voneinander trennte, glaubte er später⁵, daß Proteus vulgaris die typische Form, Proteus mirabilis und Proteus Zenkeri physiologisch abgeschwächte Varietäten seien. Dieser letzte Schluß basierte auf der Beobachtung, daß in einer Gelatinekultur von Proteus

¹ G. Hauser, *Über Fäulnisbakterien und deren Beziehung zur Septikämie.* Leipzig 1885.

² Holschewnikoff, *Über die Bildung von Schwefelwasserstoff durch Bakterien.* Fortschritte der Medizin. 1889.

³ Sanfelice, *Contributo alla biologia e morfologia dei batterii saprogeni aerobi e anaerobi.* Atti della Accad. med. di Roma. Anno XVI.

⁴ F. Kuhn, *Morphologische Beiträge zur Leichenfäulnis.* Archiv für Hygiene. 1891.

⁵ G. Hauser, *Über das Vorkommen des Proteus vulgaris bei einer jauchig-phlegmon. Eiterung.* Münchener med. Wochenschrift. 1892. Nr. 7.

Zenkeri nach einigen Wochen gelegentlich Verflüssigung auftrat. Diese Anschauung von dem Übergang der drei ursprünglich getrennten Arten findet sich bis in die neueste Zeit, obwohl von den verschiedenen Untersuchern differentielle Wachstums- und Färbeveränderungen der Hauser'schen Proteusarten festgestellt worden sind.

In der Folge — vielleicht mit unter dem Eindruck der von Hauser betonten Variabilität — wurden als Proteusstämme und -arten pleomorph wachsende, auf Agar oder Gelatine Schwärmkolonien bildende, selbst lediglich in der Gestalt pleomorphe Bakterien beschrieben, und von den ursprünglich von Hauser aufgestellten anderen Kriterien wurde mehr und mehr weggesehen. Da in einer großen Reihe solcher Mitteilungen „sogenannte Proteusstämme“ nicht ausreichend nach ihren Merkmalen und dies bis in die neueste Zeit klassifiziert worden sind, ist die Proteusgruppe allmählich zum Schubkasten der Bakteriologie geworden. Erst in den letzten Jahren, seitdem Meyerhof¹ sich der verdienstvollen und mühseligen Aufgabe unterzogen hat, die Proteusliteratur kritisch zu sichten, nehmen die in den neueren Lehrbüchern aufgeführten Proteusarten an Zahl ab, es wird mehr betont, daß sogenannte Proteusstämme ganz anderen Gruppen angehören und daß eine größere Reihe beschriebener Varietäten und Arten nicht unterzubringen ist. Während Kruse² z. B. noch 17 verschiedene Proteusarten — freilich unter allem Vorbehalt — registriert, scheidet Lehmann-Neumann³ die Mikroorganismen Bordoni-Uffreduzzi⁴ und Banti⁵ völlig aus und beschreibt neben den drei Typen Hausers, die identisch sein sollen, noch das mit dem Typus Zenker fast identische Bacterium Zopfi. Günther⁶ erwähnt neben den drei Stämmen Hausers einen Proteus Jaeger (bei Morbus Weillii beschrieben), einen Proteus Bordoni-Uffreduzzi und Heim⁷ trennt scharf auf Grund der Färbung nach Gram und auf Grund des fehlenden Peptonisierungs-

¹ Max Meyerhof. Über einige biologische und tierpathogene Eigenschaften des Bacillus Proteus (Hauser). *Centralblatt für Bakteriologie*. 1898. Bd. XXIV. — (Dasselbst kritische Zusammenstellung der gesamten Literatur bis 1898, worauf im einzelnen verwiesen werden muß.)

² Kruse in C. Flügge, *Mikroorganismen*.

³ Lehmann-Neumanns *Bakteriologie*. (Lehmanns *Handatlas*en.)

⁴ Bordoni-Uffreduzzi, Über den Proteus hominis capsulatus . . . *Diese Zeitschrift*. 1888. Bd. III. — Über einen neuen, pathogenen Mikrophyten am Menschen und an den Tieren. *Centralblatt für Bakteriologie*. II.

⁵ Banti, Sopra 4 nuove specie di protei o bacilli capsulati. *Lo sperimentale*. 1888. — Die Proteusarten und der infektiöse Ikterus. *Münchener med. Wochenschrift*. 1895. Nr. 44. — Ein Fall von infektiösem Ikterus levis. *Ebenda*. 1895. Nr. 81.

⁶ Günther, *Bakteriologie*. 1906.

⁷ Heim, *Lehrbuch der Bakteriologie*. 1906.

vermögens auf der einen Seite B. Zopfii und Proteus Zenker (welche Gelatine nicht verflüssigen und die Gramfärbung halten), auf der anderen Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Proteus fluorescens Jaeger (verflüssigende, Gram negative Arten) und Bact. pyogen. ramosum Stefansky (welches weder die Gramfärbung annimmt, noch verflüssigt). In dem Handbuch von Kolle-Wassermann¹ sind die nur gelegentlich menschenpathogenen Proteusarten etwas stiefmütterlich behandelt und die bei Hadernkrankheit des Menschen isolierten Bakterien der italienischen Autoren zu den Kapselbazillen gerechnet.

Berücksichtigt man endlich, daß der am längsten und genauesten bekannte Proteus vulgaris sogar in der Fachliteratur von vereinzelt Bakteriologen als Gram positiv bezeichnet wird, und daß die nicht sehr reichlichen Mitteilungen über Agglutination gewöhnlich mit „Proteusagglutination“ ohne genauere Angaben über die verwendeten Stämme oder mit ungenügender Beschreibung der untersuchten und reingezüchteten Stämme schlechthin beschrieben werden, so genügt das wohl, um die Behauptung berechtigt erscheinen zu lassen, daß bezüglich sogenannter „Proteusidentifizierung“ und „Proteusagglutination“ eine unbeschreibliche Verwirrung in der bakteriologischen und erst recht in der klinischen Literatur herrscht. Nur so sind Streitigkeiten der jüngsten Zeit mit direkt sich widersprechenden Befunden zu erklären. So sagen Rodella², Grossmann³, daß pathogene, ähnliche Stämme durch dasselbe Immuns serum gleichmäßig beeinflußt werden, während Wolf⁴ und Weber⁵ betonen, daß Proteus-Immuns era im allgemeinen nur den zur Immunisierung verwendeten Stamm agglutinieren. So differieren durchaus die Angaben über Mitagglutination von Abeles⁶ und Jochmann.⁷ Und

¹ Kolle-Wassermann, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*. Vergl. R. Paltauf, Agglutination. — R. Abel, Kapselbazillen. — C. O. Jensen, Kälberruhr. — van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftung (Proteus vulgaris).

² Rodella, Experimenteller Beitrag zur Serumreaktion bei Proteus vulgaris. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXVII.

³ Grossmann, Beiträge zur Kenntnis der Proteusinfektion. *Beiträge zur klin. Chirurgie*. 1901.

⁴ Wolf, Beiträge zur Lehre der Agglutination . . . *Centralblatt für Bakteriologie*. 1899. Bd. XXV.

⁵ Weber, Über die Gruppe des Bacillus proteus vulgaris. *Ebenda*. 1903. Bd. XXXIII.

⁶ S. Abeles, Über die Beziehung von Proteus- und Typhusagglutininen zu einander. *Deutsches Archiv für klin. Medizin*. Bd. LXXXVIII.

⁷ G. Jochmann, Mischinfektion des Blutes mit Proteusbazillen und Streptokokken . . . *Zeitschrift für klin. Medizin*. Bd. LVII.

das ist weiter nicht verwunderlich, wenn man sieht, daß Jochmann ein Gram positives, Blutserum nicht peptonisierendes Stäbchen untersuchte, Abeles nicht näher beschriebene Proteusstämmen aus enteritischen Stühlen — nach meinen und anderen Erfahrungen handelt es sich dabei um den gemeinen Gram negativen, peptonisierenden *Proteus vulgaris* Hauseri der Literatur — verwandt hat.

Bei dieser Sachlage dürfte es berechtigt erscheinen, an der Hand eines eigenen Materials von 12 Stämmen, nach Untersuchung einer größeren Zahl mir von den Instituten überlassener Stämme und im Anschluß an Immunisierungsversuche den Versuch zu machen, klinisch wichtige Daten herauszufassen und klinisch in Betracht kommende Proteuserkrankungen, so weit wie möglich, zu rubrizieren.

Es ist demnach zunächst meine Aufgabe, festzustellen, was für Proteusinfektionen beim Menschen und gelegentlich beim Tiere vorkommen, durch welche genauer charakterisierten Stämme sie vermittelt werden, und wie weit man sich eventuell von den Hauserschen Kriterien der Proteuscharakterisierung emanzipieren darf. Wenn auf Grund literarischer und theoretischer Studien der Proteusbegriff feststeht und wenn es gelingt, vorläufig einzelne Arten spezieller zu unterscheiden, muß man weiter untersuchen, welche Ergebnisse die biologische Prüfung der Agglutination von Proteusarten beim Menschen und im Tierversuch ergibt.

Zunächst ist für alle Proteusuntersuchungen von der Materialentnahme zu verlangen, daß sie intra vitam unter modernen, bakteriologischen Kautelen statthat, und daß die Entnahme post mortem in den ersten Stunden nach dem Tode erfolgt. Der gemeine *Proteus* Hauser¹, nach Hofmeister² der Proletarier der Bakterienwelt, ist enorm verbreitet, außerordentlich rasch überwuchernd, vermöge seiner Eigenschaft auszuschwärmen, dazu ist er der gewöhnliche Begleiter aller Fäulnisprozesse, also auch der Leichenfäulnis. Diese Tatsachen erklären viele Irrtümer und falsche Angaben bis mindestens Mitte der 90er Jahre³ und mahnen zu besonderer Skepsis gegenüber der Beschreibung von Proteusinfektionen und -intoxikationen, sowie den Züchtungen post mortem. Man hat lange bestritten, daß der *Proteus vulgaris* Hauseri als gemeiner Fäulniserreger überhaupt Infektionen zu erregen imstande ist und nicht lediglich durch seine Stoffwechselprodukte, bzw. durch die Produkte der von ihm erzeugten

¹ Vgl. Tabelle *Proteus* Hauser, Wien, *vulgaris* Berlin, *vulgaris* Erlangen, Frankfurt, R. F. K. S. P. O., Fleisch I und Fleisch II.

² Hofmeister, Zur Charakteristik des Eklampsiebacillus Gerdes. *Fortschritte der Medizin* 1893. — Über Mikroorganismen im Urin gesunder Menschen. *Ebenda*. 1898.

³ Gerdes, Über den Eklampsiebacillus usw. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1892.

Eiweißspaltungen wirkt. So wenig pathogen der gemeine *Proteus Hauseri* — der bestgekannnte und meist beschriebene Spaltpilz der Proteusgruppe — gewöhnlich ist, an seiner gelegentlichen Pathogenität ist nicht zu zweifeln. Dafür spricht sein Vorkommen in Abszessen, sein Auftreten bei Schleimhautaffektionen usw. (vgl. u. a.^{1-3.5}). Bakterien der Proteusgruppe veranlassen Intoxikationen und Infektionen. In der Literatur sind Lebensmittelvergiftungen, welche sich auf Proteen zurückführen ließen, sowie Infekte bei Tieren und Menschen beschrieben.

Bakterien der Proteusgruppe als Krankheitserreger.

I. Intoxikationen.

Ob bei Vergiftungen durch Proteusarten neben den toxischen noch infektiöse Eigenschaften in Frage kommen, möchte ich dahingestellt sein lassen. Sicher ist — nach den Untersuchungen von Levy⁴ wenigstens — daß der *Proteus vulgaris* Hauseri ein gut charakterisiertes Gift, das Sepsin erzeugt, welches tierexperimentell deletäre Wirkungen entfaltet. Nach den Untersuchungen von Levy⁴ und Meyerhof¹ ist es wahrscheinlich, daß daneben auch infektiöse Eigenschaften mitspielen. Abgesehen von den von diesen Autoren publizierten Lebensmittelvergiftungen durch Proteen sind weitere Mitteilungen von Proteusvergiftungen des Menschen durch verdorbenes Kuhfleisch von G. Wesenberg⁵, durch verdorbenes Schweinefleisch von S. Glücksmann⁶, durch verdorbene Würste von W. Silberschmidt⁷, nach Wurstgenuß des weiteren von A. Pfuhl⁸ und Schumburg⁹, nach Genuß von verdorbenem Kartoffelsalat von Dieudonné (physikalisch-medizinische Gesellschaft zu Würzburg 1903) beschrieben worden. Die bei solchen Vergiftungen in der Regel aus dem

¹ Meyerhof, a. a. O.

² Kühnau, Über Mischinfektion mit *Proteus* bei Diphtherie der Halsorgane. *Zeitschrift für klin. Medizin.* 1897. — Über die Pathologie und Symptomatologie einiger Proteusinfektionen. *Kongreß für innere Medizin.* 1898.

³ Großmann, a. a. O.

⁴ E. Levy, Experimentelles und Klinisches über die Sepsinvergiftung. *Archiv für experim. Pathologie u. Pharmakologie.* Bd. XIV. — Sowie E. Levy u. Fernet, Nahrungsmittelvergiftung und Paratyphus. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XLI.

⁵ G. Wesenberg, Beitrag zur Bakteriologie der Fleischvergiftung. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVIII.

⁶ Sig. Glücksmann, Fleischvergiftung, verursacht durch *Bacillus proteus vulgaris*. *Hygienische Rundschau.* 1899.

⁷ W. Silberschmidt, Ein Beitrag zur Frage der sogen. Fleischvergiftung. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXX.

⁸ A. Pfuhl, Massenerkrankungen nach Wurstgenuß. *Ebenda.* Bd. XXXV.

⁹ Schumburg, Wurstvergiftung. *Ebenda.* Bd. XLI.

Ausgangsmaterial gezüchteten Bakterien entsprechen dem Typus *Proteus vulgaris* (Frankfurt, Berlin, Erlangen, Wien, Hauser (Král), meinen Stämmen Kr., O., K., S., F., P., Fleisch I und Fleisch II), welcher, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, geringe Differenzen im einzelnen zeigen kann. Die Differenzen der in der Literatur beschriebenen Stämme bei Vergiftungen sind geringfügig oder aber die gleichen, wie die meiner 13 *Vulgarisstämme* (Verschiedenheiten in dem Kartoffelwachstum, der Milchveränderung, der Kahmhautbildung usw.). Und solche Differenzen erlauben nicht ohne weiteres eine Trennung in verschiedene Arten. So halte ich durchaus dafür, daß das von Wesenberg¹ beschriebene Bacterium ein *Proteus vulgaris* gewesen ist. Von einzelnen freilich, wie von Schumburg², sind weitergehende Differenzen beschrieben worden (Milchgerinnung [ohne nachfolgende Peptonisierung?], Schwachrotfärbung der Lakmusmolke, gelegentlich Kapselbildung im Tierkörper). Solche Stäbchen als *Proteus vulgaris* noch zu bezeichnen, möchte ich Bedenken tragen, vorausgesetzt, daß diese Abweichungen, insbesondere die gelegentliche Kapselbildung, wirklich konstant sind. Dahingestellt muß es bleiben, ob man schlechthin als *Proteusart* bezeichnete Bakterien (Pfuhl³) unter den Sammelbegriff *Proteus vulgaris* aufnehmen will.

Eines steht fest: Lebensmittelvergiftungen des Menschen durch *Proteusarten* sind nicht häufig. In der Regel sind sie durch verunreinigte Nahrungsmittel, in welchen *Proteusarten* zur Wucherung gekommen sind, veranlaßt. Der Erreger der Vergiftung ist, soweit sich das noch nachweisen läßt, der genuine Fäulniserreger, der *Proteus vulgaris*, welcher im einzelnen geringe Wachstumsverschiedenheiten zeigt.

II. Infektionen.

A. Tierkrankheiten und Tierseuchen.

Für die Schilderung der durch *Proteusarten* hervorgerufenen Tierseuchen gilt im allgemeinen die Anschauung von Babes und Riegler⁴, „daß man nicht mehr imstande ist, die verschiedenen, bei Fischseuchen gefundenen Bakterien zu identifizieren, indem dieselben gewöhnlich unvollkommen beschrieben sind und die Untersuchung in verschiedenen Fällen verschiedenartig ausgeführt wurde.“ Jedenfalls aber verdanken die meisten bisher beschriebenen Fisch-, Frosch- und Krebsseuchen *Proteen*

¹ Wesenberg, a. a. O.

² Schumburg, a. a. O.

³ Pfuhl, a. a. O.

⁴ Babes und Riegler, Über eine Fischepidemie bei Bukarest. *Centralblatt f. Bakteriologie*. Bd. XXXIII.

ihren Ursprung.¹ Bei der Kälberruhr dürften nach C. O. Jensen² gelegentlich Proteusarten und zwar verschiedene Arten, bzw. Rassen, eine Rolle spielen. Genauer charakterisiert sind Bakterien, welche H. Jaeger³ beim Morbus Weillii, sowie einer Hühnerseuche feststellen konnte und die bei Fischepizootien isolierten Arten von N. Sieber⁴, von Wyss⁵, sowie Babes und Riegler⁶, bei dem sich übrigens auch eine kürzere sichtende Literaturzusammenstellung sonst einschlägiger Fälle findet. Diese Bakterien zeigen trotz der Neigung einzelner Autoren, sie mit den von Hauser⁷ ursprünglich gefundenen Rassen zu identifizieren, zum Teil so absolut andere Eigenschaften, daß es gänzlich unzulässig ist, sie mit *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* und Zenker⁸, auf die wir an geeigneter Stelle noch näher zu sprechen kommen werden, deren Charakteristika aber aus der Übersichtstabelle entnommen werden können, auf eine Stufe zu setzen. In dieser Auffassung können wir uns auf die Übereinstimmung mit der Anschauung von Babes und Riegler⁶ selbst berufen. In einigen Punkten wenigstens seien tiefgreifende Verschiedenheiten berührt. Der *Proteus fluorescens* Jaeger ist — ganz abgesehen von der ihn auszeichnenden Farbstoffproduktion — ein Gram negativer Kapselbacillus, *B. piscicidus agilis* ein Sporenbildner, *Bacterium* Wyss ein Gram positiver, Milch nicht verändernder, auf Kartoffel honiggelb wachsender Mikroorganismus. So ist auch der *Proteus piscicidus versicolor* von Babes und Riegler, den man am ehesten noch dem *Proteus vulgaris* angliedern möchte, durch sein eigenartiges Farbenspiel auf verschiedenen Substraten, durch Kahmhautbildung, Milchkoagulation, insbesondere aber durch seine spezifische Tierpathogenität — Erzeugung einer typischen, zum Tode führenden Allgemeinerkrankung — gut differenziert.

Wollte man bei diesen verschiedenen Typen die Zugehörigkeit zur Proteusgruppe von den Hauserschen Attributen abhängig machen, so könnte man die Mehrzahl, welche u. a. stinkende Fäulnis nicht erregt, gar nicht einbeziehen. Sieht

¹ Vgl. Zusammenstellung von Babes und Riegler.

² C. O. Jensen in Kolle-Wassermann's *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*.

³ H. Jaeger, Die Aetiologie des infektiösen, fieberhaften Ikterus. *Diese Zeitschrift*. Bd. XII.

⁴ N. Sieber, Zur Frage nach dem Fischgifte: *Bac. piscicidus agilis*. *Gazeta lekarska*. 1895.

⁵ O. Wyss, Über eine Fischseuche durch *Bacterium vulgare* (*Proteus*) 1898. *Diese Zeitschrift*. Bd. XXVII.

⁶ Babes und Riegler, a. a. O.

⁷ Hauser, a. a. O.

⁸ Vgl. Tabelle.

man dagegen als Charakter indelebilis der Proteusgruppe die gesteigerte Wachstumsenergie, die Beweglichkeit, (die pleomorphe Wuchsform), insbesondere aber die ursprünglich namengebende Eigenschaft, Fortsätze über die Nährsubstrate wegzusenden, weiterzukriechen und zu schwärmen, an, so sind mindestens fünf gut beschriebene Arten als Erreger von Tierkrankheiten oder Fischseuchen aufzuführen: *Proteus vulgaris* Hauseri, *B. piscicidus agilis* Sieber, *Proteus fluorescens* Jaeger, *Bakterium* Wyss, *Proteus piscicidus versicolor* (Babes und Riegler). Diese Arten sind durch die oben kursorisch erwähnten Verschiedenheiten, des weiteren durch ihr Verhalten zur Gelatine usw. genügend charakterisiert.

B. Proteuserkrankungen des Menschen.

Bei der Proteusinfektion des Menschen sind allgemeine und lokalisierte Erkrankungen, im einzelnen reine und Mischinfektionen zu unterscheiden. Sichere Mitteilungen von Allgemeininfektion mit *Proteus vulgaris* — an deren Möglichkeit ja im Hinblick auf die Tierversuche und analoge Erfahrungen mit anderen Mikroben kaum gezweifelt werden darf — fehlen in der Literatur. Allgemeininfektionen mit Proteusarten sind nur selten beschrieben und nur ausnahmsweise einwandfrei. Vielleicht hat es sich in der Mitteilung von Lenhartz¹ — geheilter Fall von eitriger, lymphatischer Peritonitis mit dem seltenen Befunde zahlreicher Kolonien von *Proteus* in den aus dem Blute und aus dem peritonitischen Eiter angelegten Agarkulturen — um eine Infektion mit dem gemeinen Fäulniserreger gehandelt. Ferner haben Schottmüller, sowie Bertelsmann und Mau² in 2 Fällen „*Proteus*“ (das eine Mal einen dem *Vulgaris* ähnlichen Stamm) aus strömendem Blute isoliert. Außerdem hat Jochmann³ eine Mischinfektion des Blutes mit *Proteus*bazillen und Streptokokken beschrieben. Dieses Bacterium ist aber von den Hauserischen Typen durchaus verschieden. Sein Wachstum bei 37°, sein Verhalten zur Gelatine und Lakmusmolke unterscheidet es von dem *Proteus Zenkeri*.⁴ Durch sein färberisches Verhalten (positive Gramfärbung),

¹ Lenhartz, Die septischen Erkrankungen in Nothnagels *Spezieller Pathologie und Therapie*.

² Bertelsmann und Mau, Das Eindringen von Bakterien in die Blutbahn als eine Ursache des Urethralfiebers. *Münch. med. Wochenschrift*. 1902.

³ Jochmann, a. a. O.

⁴ Vgl. bezüglich Typus Zenker, Typus mirabilis die Tabelle.

sein Verhalten zu Lakmusnährböden ist es ganz wesentlich gegenüber dem *Proteus vulgaris* und *Proteus mirabilis* abgegrenzt. Es scheint, daß Jochmann wegen des eigenartigen Wachstums der Kolonien, welche vom Zentrum aus über das Substrat Arme hinwegsenden, vielleicht auch wegen der Eigenschaft, die Gelatine langsam zu peptonisieren, das Stäbchen zur Proteusgruppe gerechnet hat. Die Berechtigung ist angesichts der gesteigerten Wachstumsenergie, der Bildung von Schwärmkolonien durchaus zuzugeben.

Damit sind aber die Mitteilungen sicherer Allgemeininfektionen, bei denen die Erreger aus dem strömenden Blute gezüchtet wurden, meines Wissens erschöpft.

Weiter sind Allgemeinerkrankungen des Menschen, durch Proteusarten veranlaßt, von italienischen Autoren wie Guido Bordoni-Uffreduzzi¹, Foa und Bonome², Banti³, von deutschen und österreichischen Autoren wie H. Jaeger⁴, Conradi und Vogt⁵, Pfaundler⁶ beschrieben worden. In den älteren, italienischen Mitteilungen hat es sich meist um milzbrandähnliche Krankheiten, sogenannte Hadernkrankheiten gehandelt. Als deren Erreger wurden unbewegliche Kapselbazillen beschrieben. In den Fällen aber, bei denen andere Proteen isoliert wurden, dürften die Befunde moderner Kritik gegenüber nicht mehr einwandfrei erscheinen. Bei diesen, Ende der 80er Jahre entdeckten Stäbchen, ebenso wie bei dem *B. icterogenes capsulatus*, welchen Banti bei einem Falle von Icterus levis aus dem Milzsaft züchtete, wurde der Name „Proteus“ wegen der Pleomorphie des Einzelstäbchens gewählt, ohne daß die Stäbchen beweglich waren oder sonst eine gesteigerte Wachstumsenergie darboten. Diese Benennung also stammt aus einer Zeit, in der man noch nicht wußte, wie verbreitet die Pleomorphie der Einzelorganismen in den verschiedenen Klassen der Bakterienwelt ist. Heutzutage kann man die Pleomorphie nicht mehr als Gruppenmerkmal ansehen. Darum dürfen solche Arten auch nicht weiter zur Proteusgruppe (wenn man als deren unabänderliches Charakteristikum die Wachstumsenergie, die Fähigkeit des Ausschwärmens, wie oben proponiert, annimmt) gerechnet werden. Das geben

¹ Guido Bordoni-Uffreduzzi, a. a. O.

² Foa u. Bonome, Sur les maladies causées par les microorganismes du genre *Proteus* (Hauser). *Archiv ital. de biologie*. T. VII.

³ Banti, a. a. O.

⁴ H. Jaeger, a. a. O. — Der fieberhafte Ikterus eine Proteusinfektion. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1895. Nr. 10.

⁵ H. Conradi und Hans Vogt, Ein Beitrag zur Ätiologie der Weilschen Krankheit. *Diese Zeitschrift*. Bd. XXXVII.

⁶ Pfaundler, Eine neue Form der Serumreaktion auf Coli- u. Proteusbazillosten. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXIII.

neuere Lehrbücher zu, das betonte Banti¹ selbst gelegentlich einer Polemik mit H. Jaeger für den *Proteus hominis capsulatus* Bordoni und die von ihm isolierten Stämme. Bei dieser Sachlage freilich dürfte es auch am besten sein, den Namen *Proteus*, der nur Mißverständnisse erweckt hat und weiter hervorrufen kann, bei der Beschreibung dieser Kapselbazillen wegzulassen.

Wenn wir die Hadernerkrankungen, die Kapselbazillenkrankheiten als Proteuserkrankungen streichen, so wäre — außer den Casuisticis von Lenhartz² und Jochmann³ — die Weilsche Krankheit die einzige, sicher bekannte generalisierte Proteusinfektionskrankheit des Menschen. *Morbus Weillii* ist nach Jaeger⁴ eine ätiologische Einheit. Sie wird durch einen sehr charakteristischen, beweglichen, fluoreszierenden, peptonisierenden, Schwärmkolonien bildenden Kapselbacillus verursacht. Aus dieser summarischen Beschreibung erhellt, daß dieser Bacillus zwei der von Hauser für seine Bakterien charakteristischen Kardinealeigenschaften — die Fähigkeit, Schwärmkolonien zu bilden und Gelatine zu verflüssigen — besitzt und daß er dementsprechend mit besonderer Berechtigung zur *Proteus*-Gruppe gerechnet werden kann. Seit der Publikation von Jaeger⁴ aber sind nur zwei Mitteilungen von Pfaundler⁵ und Conradi, Vogt⁶ bekannt geworden, welche, und das auch nur in je einem Falle von *Morbus Weillii*, vermutlich die gleichen Bakterien wie Jaeger aus dem Harn hatten züchten können. In dem Falle von Pfaundler⁵ wurden sogar zwei verschiedene Proteusarten, ein verflüssigender (mit dem Jaegerschen *Proteus* wahrscheinlich identischer, durch das Krankenserum aber nicht agglutinierter Stamm) und ein nicht verflüssigender Stamm (der von dem homologen Stamm 1:100 agglutiniert wurde) isoliert. Während man bei den Jaegerschen Befunden gewisse Bedenken nicht verleugnen kann, weil die Leichenzüchtungen im Sommer 14, bzw. 23 Stunden post mortem stattfanden und die Urinkulturen aus dem nicht katheterisierten Harn angelegt wurden, ist die Methodik von Conradi und Vogt völlig einwandfrei. Trotzdem ist es wie bei Jaeger, so auch bei diesen Befunden auffallend, daß bei so schweren Allgemeinerkrankungen die Bakterien nur im Harn, dort sogar massenhaft, und gar nicht im Blute nachweisbar waren. Überhaupt erscheint es nicht unbedenklich, daß so viele Nachuntersucher bei *Morbus Weillii* die angeblich so leicht nachweisbaren Bakterien Jaegers

¹ G. Banti, Die Proteusarten und der infektiöse Ikterus. *Deutsche medizin. Wochenschrift*. 1895. Nr. 49.

² Lenhartz, a. a. O.

⁴ H. Jaeger, a. a. O.

⁶ Conradi und Vogt, a. a. O.

³ Jochmann, a. a. O.

⁵ Pfaundler, a. a. O.

nicht haben auffinden können. So berichtet Eckardt¹ bei zwei Fällen von Morbus Weillii nur über das Phänomen hoher Typhusagglutination, Zupnik² gar führt zehn Fälle Weilscher Krankheit mit absolut negativem Bakterienbefunde auf. Ich selbst habe in der Klinik in drei Fällen typhischer, schwerer Weilscher Krankheit vergeblich auf Bakterien gefahndet, und in einem vierten Falle eines ähnlichen Symptomenkomplexes, wo der Harn von Bakterien wimmelte, wurde statt des *Proteus fluorescens* ein *B. coli* isoliert (diese Fälle sind unter 1. bis 4. S. 95 u. 96 dieser Arbeit genauer beschrieben). Negative Fälle beweisen natürlich gegenüber positiven Befunden relativ wenig. Nun ist aber der Weilsche Symptomenkomplex — das erhellt auch aus meinen Fällen — durchaus keine klinische Einheit; leichte Fälle werden, wie Banti³ gezeigt hat, gelegentlich durch Kapselbazillen hervorgerufen. Ein Fall von Icterus gravis, allerdings durch Syphilis kompliziert, konnte von Bar und Rénon⁴ auf *Proteus vulgaris* zurückgeführt werden. Eine Krankheit aber, die nicht einmal klinisch durch eindeutige Symptome charakterisiert ist, durchaus zu einer ätiologischen Einheit stempeln zu wollen, scheint mir mindestens so lange verfrüht, bis die Befunde von Jaeger⁵, Conradi und Vogt⁶ usw., gegen die sich schwerwiegende Bedenken erheben lassen, mehr klargestellt sind. Dieser Auffassung, daß der infektiöse Ikterus durch verschiedene Mikroparasiten bedingt sei, geben auch Quincke und Hoppe-Seyler⁷ im Handbuch von Nothnagel präzisen Ausdruck.

Von der klinischen Bedeutung des Jaegerschen Parasiten aber abgesehen, ist er nach der Beschreibung zur *Proteus*-gruppe zu rechnen und völlig von den Hauserschen *Proteus*-arten verschieden.

1. K., 16jähriger Besitzerssohn: Am 27. II. 07 Fieber, Halsschmerzen, Schluckbeschwerden, Erbrechen. Seit 2 Tagen schwere Störung des Allgemeinbefindens.

¹ Th. Eckardt, Widalsche Serumreaktion bei Weilscher Krankheit. *Münch. med. Wochenschrift.* 1902. Nr. 27.

² L. Zupnik, Widalsche Serumreaktion bei Weilscher Krankheit. *Ebenda.* 1902. Nr. 31.

³ Banti, a. a. O.

⁴ Bar et Rénon, Ictère grave chez un nouveau-né atteint de syphilis hépatique paraissant dû au *Proteus vulgaris*. *La semaine médicale.* 1895. Nr. 27.

⁵ Jaeger, a. a. O.

⁶ Conradi und Vogt, a. a. O.

⁷ Quincke und Hoppe-Seyler, Icterus infectiosus. Nothnagels *Spezielle Pathologie und Therapie.* Bd. XVIII.

Bei der Aufnahme 2. III. 07 mäßige Benommenheit, schlechtes Allgemeinbefinden. T. = 40°, P. = 140. Intensiver Ikterus. Enorme Schwellung der Tonsillen, keine Beläge, im Abstrich Streptokokken. Mäßige Leber-, starke Milzschwellung. Im Harn $\frac{1}{4}$ Promille Albumen, starke Bilirubinreaktion. Im reichlichen Sediment viel hyaline und granul. Zylinder, mäßig zahlreiche Leukozyten, einzelne Erythrozyten und Epithelien. Diarrhoische, gallige Stühle mit B. coli. W. = 13000. Blutkultur, Urinkultur negativ.

In der Klinik unter zunehmender Benommenheit Exitus.

Autopsie: Nekrotis. Angina, beginnende retropharyng. Streptokokken-Phlegmone, Glottisödem, Blutungen auf den serösen Häuten; große, septische Milz. Kultur aus Milz und Galle negativ.

2. B., 18jähriger Metzger: Am 16. III. 07 Schnupfen, Husten, Kopfschmerzen, Schlingbeschwerden, seit dem 17. III. Fieber, Expektorat dunkeln Blutes.

Bei der Aufnahme 19. III. 07 schwer krank. T. 38.3°. Starker Ikterus, katarrhalische Angina. Expektorat von altem Blute. Milz- und Leberschwellung. Urin etwa $\frac{1}{4}$ Promille Albumen, starke Bilirubinreaktion, im Urinsediment zahlreiche Epithelien und Erythrozyten, spärliche Leukozyten und Zylinder. W. = 7200.

In der Klinik anfangs zunehmender Ikterus, blasse wie verschorft aussehende Plaques der Gaumenbögen und des Pharynx. Urin und Blut steril. Im Rachenabstrich keine Streptokokken. Im gefärbten Stuhl B. coli. — Allmähliche Genesung, Entlassung 15. IV. 07.

3. Bern., 20jähriger Faktor: Am 18. III. 07 Erkältung, seitdem Abgeschlagenheit, Husten, Kopfschmerz, Fieber.

Bei der Aufnahme 20. IV. 07 stark beeinträchtigt Allgemeinbefinden, Status catarrhalis. T. = 39.6°. Erheblich vergrößerte Leberdämpfung, fühlbare Milz. Urin $\frac{1}{16}$ Promille Albumen, spärliche Epithelien und Leukozyten. W. = 16800.

In der Klinik Expektorat von altem Blute. Bakteriologischer Sputumbefund ohne Bes. Lungen im Röntgenbilde frei, Lumbalpunktion ergebnislos. Nach einigen Tagen starker Ikterus mit Urobilinurie, mäßige Albuminurie (Sediment wie früher), Urin steril, Stuhl bakteriologisch ohne Bes. Blutkulturen steril. Im Pharynx und an den hinteren Gaumenbögen verschorfte weiße Plaques. — Allmähliche Genesung, Entlassung 19. IV. 07.

4. Schm., 28jähriger Monteur: Am 7. IV. 07 Schüttelfrost, Erbrechen, Durchfälle, Fieber, Druck in der Oberbauchgegend, seit 2 Tagen leichter Ikterus.

Bei der Aufnahme 10. IV. 07 etwas abgemagert, leichter Ikterus. Geringe katarrhalische Angina, Abdomen, insbesondere die Lebergegend druckempfindlich, Leber um 2^{cm} den Rippenbogen überragend, Milzdämpfung vergrößert. Urin etwa $\frac{1}{16}$ Promille Albumen, im reichlichen Sediment zahlreiche Leukozyten, einzelne Erythrozyten, massenhafte Bazillen (B. coli). W. = 20000.

In der Klinik rasche Besserung, im Stuhl B. coli.

Wesentlich reichhaltiger sind die Literaturangaben über lokalisierte, reine oder Mischinfektionen mit Proteusbakterien. Diese Berichte lassen

häufig nicht erkennen, um was für genauer spezialisierte Stämme es sich gehandelt hat. Sehr reichlich finden sich Angaben über das Vorkommen von Proteusarten im Stuhl, insbesondere bei Darmaffektionen (vgl. u. a. Meyerhof¹, Abeles², Kühnau³). Es dürfte sich dabei, wie auch ich bestätigen kann, meist um *Proteus vulgaris* handeln, der gerade bei Diarrhöen nicht selten überwuchert. Vielfach wurden Proteusarten — auch hierbei, soweit wenigstens ersichtlich, in der Regel *Proteus vulgaris* Hauseri — bei jauchigen Eiterungen gefunden. In solchen Fällen war der betreffende gemeine Proteus meist mit Staphylo-Streptokokken, *Pyocyaneus*, *B. coli*, Diphtheriebazillen vergesellschaftet.^{4,5,6} Nur ausnahmsweise sind aus Abszessen neue Arten gezüchtet worden, wie das von Stefansky⁷ (aus geruchlosem Eiter am Schienbein) kultivierte kokkenähnliche Gram positive Stäbchen, das in jungen Agarkulturen Yartige Verzweigungen bildet und wegen dieses auffälligen Wachstums zur Proteusgruppe gerechnet wurde. Abgesehen von solchen peripheren Eiterungen mit Beteiligung von Proteus, wurden Proteen bei Peritonitis (Flexner⁸), bei Darmdiphtherie und Peritonitis (Laitinen⁹), bei Ovarialabszeß (H. Robb und Alb. A. Ghriskey¹⁰), bei Meningitis und Hirnabszessen (Maleschini¹¹, Ohlmacher¹², Lannelongue und Achard¹³, Doering¹⁴) gefunden.

¹ Meyerhof, a. a. O. } *ebenda* und bei Kühnau, Grossmann genaue

² Abeles, a. a. O. } Literaturverzeichnisse.

³ Kühnau, Über Pathologie und Symptomatologie einiger Proteusaffektionen. *Kongreß für innere Medizin*. 1898 und a. a. O.

⁴ Horn über das Vorkommen des *Proteus vulgaris* bei jauchigen Eiterungen. *Inaug.-Dissertation*. 1897.

⁵ G. Hauser, Über das Vorkommen des *Proteus vulgaris* bei einer jauchig-phlegmonösen Eiterung. *Münchener med. Wochenschrift*. 1892. Nr. 7.

⁶ Conrad Brunner, Zur pathogenen Wirkung des *Proteus vulgaris* Hauser. *Ebenda*. 1895. Nr. 5.

⁷ W. R. Stefansky, Über ein neues, Eiterung hervorrufendes, verzweigtes Bacterium. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXI.

⁸ S. Flexner, Peritonitis caused by the *Proteus vulgaris*. *Bull. of the John Hopkins Hospital*. 1893.

⁹ Laitinen, Ein Fall von Proteusinfektion mit tödlichem Ausgang. *Centralblatt für allgem. Pathologie*. Bd. IX.

¹⁰ Hunter Robb and Alb. A. Ghriskey, The bacillus *Proteus Zenkeri* in an ovarian abscess. *Ebenda*. 1897.

¹¹ E. Maleschini, Contributo allo studio etiologica delle Meningitide. *Lo sperimentale*. 1894 (es fand sich *Proteus vulgaris* und Streptokokken).

¹² A. P. Ohlmacher, The bacterium *vulgare* in a case of cerebellar abscess... *Cincinnati Lancet Clin.* 1897.

¹³ Lannelongue et Achard, *Academie des sciences*. 28. IX. 1896 (gemeinsam mit Streptokokken).

¹⁴ Doering, Über Inf. mit Influenzabaz. u. B. Prot. *Mün. med. W.* 1900. Nr. 44. *Zeitschr. f. Hygiene*. LVIII.

Für die cerebralen Affektionen scheint als Eintrittsstelle in der Regel der äußere Gehörgang in Frage zu kommen (Lang, Lannelongue und Achard¹, Lubowski und Steinberg² usw.). Freilich ist gerade gegenüber Mitteilungen von Proteusbefunden im äußeren Ohr und dessen Nachbarschaft bei der Verbreitung des gemeinen *Proteus vulgaris* und seiner Wachstumsenergie besondere Skepsis geboten.

So ist gerade bei Mitteilungen der Otiatrie^{3,4,5}, die z. T. auf einem großen, klinischen Material aufgebaut sind und bis in die jüngste Zeit hineinreichen, zu bedauern, daß in der Regel genauere Angaben über den Befund des Originaleiters (mikroskopisch geprüfte Grampräparate) fehlen und daß meistens die ersten Einimpfungen in flüssige Nährböden stattfanden. Bei dieser Art des Verfahrens ist es schwierig, die nötige Übereinstimmung zwischen Original und Kultur festzustellen, ja es liegt die Gefahr vor, daß einzelne in Luft, Staub usw. vegetierende Proteusarten ein- und überwuchern oder daß im Originaleiter wirklich vorhandene, vielleicht sogar vereinzelte Proteusbazillen die überwiegend vorhandenen, anderen Bakterien verdrängen. Bei den vom Ohr ausgegangenen, meningitischen und cerebralen Eiterungen, die ich bisher zu untersuchen Gelegenheit hatte⁶, fiel es mir auf, wie reichhaltig und verschiedenartig die Bakterienflora im Originaleiter, wie dürftig einförmig aber die Kulturen ausfielen und **wie vor allem die massenhaft vorhandenen Grampositiven Bazillen in der Kultur gar nicht angingen.** Man muß sich doch in acht nehmen, ein in Reinkultur wachsendes, bzw. überwucherndes Stäbchen, das nicht auch im Originaleiter allein vorkommt, als den Erreger der betreffenden Affektion anzusprechen. Darum scheint es mir auch, daß man den Folgerungen, die Kobrak in seinen Fällen bezüglich der Entstehung otogener Pyämie anstellt, nicht ohne weiteres zustimmen darf. Wenn es weder gelingt, in den Metastasen, noch im strömenden Blute dieselben Mikroorganismen wie im Ohr- oder Hirneiter nachzuweisen, wenn diese Mikroben in Ohr- und Hirneiter nicht einmal

¹ Lanz, zitiert nach Kühnau.

² Lubowski und Steinberg, Über Agglutination von Typhusbazillen bei Proteus- u. Staphylokokkeninfektion. *Deutsches Archiv für klin. Medizin.* Bd. LXXIX.

³ Leutert, Bakteriologisch-klinische Studien über Komplikationen akuter und chronischer Mittelohreiterungen. *Archiv für Ohrenheilkunde.* Bd. XLVI u. XLVII.

⁴ Kobrak, Zur Pathologie der otogenen Pyämie. *Ebenda.* Bd. LX.

⁵ Lauffs, Über *Proteus vulgaris* bei Ohreiterungen. *Ebenda.* Bd. LXX.

⁶ Einige dieser Fälle sind in dem Krankengeschichtenanhang des ersten Hauptteils dieser Arbeit, soweit dabei Proteen isoliert wurden, aufgeführt.

die einzig vorhandenen sind, ist die Annahme der „Proteuspyämie“, welche sich im wesentlichen auf eine Agglutination des Blutserums von 1:176 (gegenüber einer Bouillonkultur) stützt, ohne daß Normalserumkontrollen usw. angegeben werden, bakteriologisch nicht unanfechtbar. Vom Ohre ausgehende Streptokokkenallgemeininfektionen wenigstens lassen, wie ich aus eigener Erfahrung bestätigen kann, die Streptokokken im Ohreiter, Antrumeiter, Venenthrombus — kulturell und in Schnitten — endlich im strömenden Blute nachweisen. Eine gewisse Skepsis ist auch gegenüber der fleißigen Arbeit von Lauffs, welcher über den Befund von *Proteus vulgaris* bei 11 Fällen der Leipziger Klinik (Mastoidabszesse, ihre cerebralen Komplikationen usw.) berichtet, am Platze. Auch hier ist es recht schade, daß keine Berichte über Untersuchung der gefärbten Originalpräparate, über Anlegung von Plattenkulturen aus dem Original-eiter usw. vorhanden sind, daß die morphologische Charakterisierung durch Färbung, Beobachtung des Wachstums und der Reaktion auf den verschiedenen Substraten nicht weiter getrieben wurde. Es gilt dies insbesondere für die von Bischoff übernommenen Fälle 7 bis 11. Im einzelnen ist auch aus der Charakteristik nicht zu entnehmen, warum die Fälle 1 und 10 mit Gelatine nicht verflüssigenden Arten überhaupt als *Proteus vulgaris*-Affektionen aufgefaßt wurden. Dagegen ist der Befund von *Proteus vulgaris* bei zwei Hirnabszessen in den außerordentlich exakten, bakteriologisch nicht anfechtbaren Untersuchungen von Leutert einwandfrei. Wenn ich hier abweichend von den übrigen Berichten auf Einzelheiten genauer eingegangen bin, so geschah es wegen der Aktualität dieser Arbeiten und weil es den Anschein hat, daß Proteusansiedelungen vom Ohr aus wirklich häufiger vorkommen, als man dies bisher angenommen hat. Gerade deshalb müssen genauere und kritischer angestellte bakteriologische Untersuchungen unsere Kenntnisse der Morphologie und Serologie pathogener und saprophytischer Proteusarten erweitern.

Vom Vorkommen der Proteusarten bei Ohr- und Schädelaffektionen abgesehen, sind des weiteren Mitteilungen über Proteusbefund bei Lungen-Pleuraaffektionen (Charrin¹, Reed², Kühnau³) und im appendizitischen Eiter erwähnenswert (Grossmann⁴).

Allerdings die klassische, bestgekannnte und eindeutig beschriebene Proteusaffektion, ist die Cystitis und Pyelitis (Krogius⁵, Schnitzler⁶,

¹ Charrin, *Semaine médicale*. 1895. Zitiert nach Kühnau.

² Reed, Association of *Proteus vulgaris* with *Diplococcus lanceolatus* . . . *Bull. of the John Hopkins Hospital*. 1894.

³ Kühnau, a. a. O.

⁴ Grossmann, a. a. O.

⁵ Krogius, *Recherches bactériologiques sur l'infection urinaire*.

⁶ Schnitzler, *Zur Ätiologie der Cystitis*. Wien und Leipzig 1892.

Hofmeister¹, Savor², Lannelongue und Achard³). Gerade hierbei sind nicht nur Mischinfektionen, sondern auch reine Proteusinfektionen beobachtet worden. Und solche Mitteilungen gaben auch die Veranlassung, die Einwirkung des *Proteus vulgaris* Hauseri auf Harnstoff⁴ so zu studieren.

Fragen wir uns nun, was für Arten bei diesen verschiedenartigen Krankheitstypen sicher bestimmbar, bzw. mit bekannten Typen identifizierbar sind, so ist der Befund von *Proteus* Zenkeri bei Hunter Robb und Ghriskey⁵ nicht einwandfrei, die Einbeziehung des *Bacillus pyogenes ramosus* Stefansky⁶ in die Proteusgruppe — beim Fehlen sämtlicher Kriterien von Hauser und beim einzigen Vorhandensein pleomorpher Wachstumsform der Einzelstäbchen in jungen Kulturen — durchaus anfechtbar. Alle übrigen Befunde beziehen sich auf den gemeinen *Proteus vulgaris* oder auf ihm außerordentlich ähnliche Bakterien, bzw. die Untersuchung geschah nicht derartig nach allen Richtungen, daß eine Differenzierung von dem Typus des *Proteus vulgaris* möglich ist.

Demnach kommen für Proteusintoxikationen und Proteusinfektionen des Menschen, sowie für Tierseuchen als sicher feststellbare, gut beschriebene Arten der *Proteus vulgaris* Hauseri (*Proteus* Schumburg?) mit gewissen, geringfügigen Varietäten im einzelnen, ferner die von H. Jaeger, N. Sieber, Wyss, Babes und Riegler, Jochmann gezüchteten Stämme in erster Linie in Betracht. Wie weit sich der von Doering bei Meningitis isolierte und als *Proteus* beschriebene Mikroparasit vom Typus *vulgaris* unterscheidet, habe ich aus der Beschreibung nicht ersehen können, zumal da die färberischen Eigenschaften (Gramfärbung) nicht eindeutig bezeichnet worden sind.

Bei diesen vorerwähnten Stämmen waren Nachuntersuchungen nicht möglich oder erschienen in Rücksicht auf die genaue Beschreibung in den einschlägigen Arbeiten, auf die ich verwiesen habe, überflüssig.

¹ Hofmeister, a. a. O.

² Savor, Zur Ätiologie der akuten Pyelo-Nephritis. *Wiener klin. Wochenschr.* 1894. Nr. 4 u. 5.

³ Lannelongue et Achard, *Comptes rendus.* 1896.

⁴ A. Brodmeier, Über die Beziehungen des *Proteus vulgaris* Hauser zur ammoniakalischen Harnstoffzersetzung. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVIII.

⁵ A. a. O.

⁶ A. a. O.

Die kritische Durchsicht der mir zugänglichen Literatur und mein eigenes Studium an 12 eigenen, sowie 12 mir von Instituten überlassenen Stämmen lassen es berechtigt erscheinen, für die Zugehörigkeit zur Proteusgruppe die im besonderen in der Fähigkeit des Schwärmens sich dokumentierende Wachstumsenergie zu verlangen und im einzelnen auf andere Hausersche Attribute zu verzichten. Die lebhaftere Beweglichkeit, durch Geißelanhänge vermittelt, und die Fähigkeit des Fortkriechens der Kolonienrandteile ist allen 24 Stämmen gemein. Teils werden feine, verzweigte Fortsätze über Agar und Gelatine fortgeschickt, teils findet ein dichotomisches Wachstum der konfluierenden Kolonien oder ein rasches, fließendes Überwuchern der ganzen Nährbodenoberfläche statt. Unter den von mir untersuchten Stämmen lassen sich zunächst — und im einzelnen muß ich auf die Übersichtstabelle verweisen — ein Typus Cöln (identisch mit meinen Stämmen Königsberg G. und Königsberg 11), und der *Proteus Zenkeri* als grampositive Arten von den übrigen gramnegativen Stämmen trennen. *Bacterium Zopfii* ist so wenig von dem *Proteus Zenkeri* unterschieden, daß es mir, ebenso wie anderen, zumal bei dem sehr ähnlichen Verhalten beider Stämme zu menschlichen Normalseris, scheint, daß eine Identität vorliegt. Der Stamm Cöln ist durch sein Verhalten zur Gelatine, durch Temperaturoptimum usw. gänzlich vom Typus Zenker different. Sodann läßt sich der gramnegative Typus Danzig als weitgehend differenzierter Stamm (Verhalten zur Milch, zur Lakmusmolke, zur Kartoffel, zum Löffler Serum, fehlende Indolbildung, fehlende Zuckervergärung) leicht von den restierenden Stämmen unterscheiden. Alle übrigen Stämme sind in drei wesentlichen Punkten, der Nichtannahme der Gramfärbung, der Peptonisierung von Gelatine, Löffler Serum, Milch (meist nach anfänglicher Gerinnung), sowie in der Erzeugung stinkender Fäulnis nahe miteinander verwandt. Trotzdem möchte ich in Anlehnung an Hausers alte Vorschläge die Teilung in *Proteus mirabilis* und *Proteus vulgaris*, eine Teilung, die ja auf nur graduellen Unterschieden der Wachstumsenergie beruht, beibehalten. Aus zwei Gründen, einmal weil so aus der Betrachtung junger Agarkulturen bereits die rasch konfluierenden, fließend überwuchernden *Proteus vulgaris*-Stämme und die zarteren, länger isoliert bleibenden, z. T. sich verzweigenden *Mirabilis*-Stämme leicht getrennt werden können, und weil diese Differenz des Agarwachstums häufig auch von erheblicheren Differenzen in dem Wachstum und Verhalten auf verschiedenen anderen Nährböden begleitet ist. Zweitens aber, — und das muß ich vorwegnehmen — weil die zarten, in getrennten Kolonien wachsenden *Mirabilis*-Stämme, soweit ich wenigstens bisher aus Untersuchungen an vier Stämmen ersehen konnte, in agglutinativer Hinsicht durchweg individuali-

siert sind. (D. h. *Mirabilis-Immusera* agglutinieren ausschließlich den zur Immunisierung verwendeten Stamm.)

Eine Durchsicht der Tabelle ergibt, daß von den sämtlichen *Proteus vulgaris* und *Proteus mirabilis*-Stämmen in Kultur und Präparat nicht zwei absolut identisch sind. Ein individuelles Verhalten, das durchaus an die Koligruppe erinnert. Auch die Schnelligkeit in der Gelatinepeptonisierung erscheint mir kein regelmäßiges und widerspruchslos geeignetes Merkmal, um die Varietäten *Mirabilis* und *Vulgaris* zu trennen. Es gibt Stämme, deren Einzelkolonien auf Agar durchaus isoliert wachsen, viel mehr als z. B. Berlin *mirabilis* und Erlangen *mirabilis*, und die doch ziemlich rasch Gelatine peptonisieren (J). Somit trenne ich die rasch konfluierenden und über die Agaroberfläche mehr weniger rasch hinfließenden, in der Regel rasch Gelatine verflüssigenden Stämme (Berlin *vulgaris*, Erlangen *vulgaris*, Wien, Hauser (Kräl), Frankfurt, F, K, P, S, O, Kr., Fleisch I, Fleisch II) von den langsamer oder gar nicht konfluierenden, gewöhnlich sehr langsam Gelatine verflüssigenden Stämmen (Berlin *mirabilis*, Erlangen *mirabilis*, J, R). Dabei gebe ich zu, daß diese Trennung gekünstelt erscheint, [denn einzelne zum Typus *vulgaris* gerechnete und zu rechnende Stämme konfluieren relativ langsam (Wien, Prag, Frankfurt)], hauptsächlich aus Zweckmäßigkeitsgründen geschieht, und daß in beiden Gruppen wieder die einzelnen Stämme kulturell variieren. Auf Grund der Morphologie also ist es nicht möglich, einen Typus *vulgaris* oder *mirabilis* in dem gleichen Sinne, wie etwa einen *Bacillus Typhi*, *Paratyphi A*, *Paratyphi B* aufzustellen. Die einzelnen *Proteus*-Stämme variieren teils nach der Seite des *Proteus vulgaris*, teils nach der des *Mirabilis* und die Beibehaltung dieser Namen dürfte sich aus Bequemlichkeit und historischer Ehrfurcht, sowie vielleicht auf Grund der Agglutinationsergebnisse weiter empfehlen. Es erübrigen einige klinische Angaben über die Art und Herkunft der von mir isolierten Stämme, ehe ich mich dem Kapitel der *Proteus*-agglutination zuwende.

Die Stämme Königsberg G und Königsberg 11, welche mit dem *Proteus Cöln*, den Czaplewski bei einer Fischvergiftung isolierte, identisch sind, wurden aus Rachensekret und aus cystitischem Harn als einzelne Kolonien, meines Erachtens als zufällige Verunreinigungen, isoliert. Fünf *Proteus-Vulgaris*-Stämme habe ich aus cystitischem Harn, bzw. aus Appendicitiseiter isoliert. (F, P, S, O aus dem Harn von Cystitis oder Cysto-Pyelitis), zwei weitere *Vulgaris*-Stämme (Fleisch I und II) aus faulendem Fleisch; Stamm Kr wurde aus Hirnabszeßeiter gezüchtet. Zwei *Mirabilis*-Stämme habe ich aus dem Harn, bzw. aus meningitischem Eiter (J aus dem Harn bei Cysto-Pyelitis, R aus dem Eiter bei otogener Meningitis purulenta) isoliert. Die Entnahme des Materials erfolgte

wiederholt, worauf ich besonderes Gewicht legen möchte, mit Katheter oder sterilen Tupfersonden. Die Kulturen waren ausschließlich Agarplatten-Oberflächenkulturen, und es bestand, wie aus den Protokollen zu entnehmen ist, völlige Übereinstimmung zwischen Original und Kultur, bzw. es erfolgte ein besonderer Hinweis auf eventuelle Abweichungen. Im Anfang war ich geneigt, eine größere kulturelle Übereinstimmung unter den aus pathologischen Produkten gezüchteten *Vulgaris*stämmen, wie das von anderer Seite behauptet worden ist und als differentielles Merkmal gegenüber den aus Faulflüssigkeiten gewonnenen *Proteus* angeführt wurde, anzunehmen. Mehrfache Umzüchtungen, wiederholte Prüfungen, die Isolierung des Stammes O aus cystitischem Harn, die des Stammes Kr. aus Hirnabszeßmaterial haben gezeigt, daß auch die *Vulgaris*stämmen pathologischer Produkte mehr oder weniger auf den Nährböden variieren, und daß diese individuellen Varietäten konstant bleiben.

Demnach konnte ich nicht nur, wie andere vor mir, aus pathologischen Produkten des Menschen *Proteus vulgaris*, sondern auch *Proteus mirabilis*-Stämme isolieren. Dabei sogar einen *Mirabilis*stamm, welcher weitgehende Übereinstimmung mit den Institutsstämmen (*Mirabilis* Erlangen und Berlin) zeigt, somit auch nach der Auffassung von Fachbakteriologen die Bezeichnung *Mirabilis* verdient (Stamm J). Neue bislang nicht beschriebene Arten habe ich bisher nicht angetroffen. Indessen scheint es mir, daß das von Czaplewski gezüchtete *Bacterium* Cöln, das mit zweien meiner Stämme (Königsberg H und Königsberg G) identisch sein dürfte, in der Literatur noch nicht eingehender beschrieben worden ist.

Aus meinen Untersuchungen ist es ersichtlich, wie sehr die einzelnen *Vulgaris*- und *Mirabilis*stämmen, die in den Hauptzügen (Verhalten zur Gramfärbung, Peptonisierungsvermögen, Erzeugung stinkender Fäulnis, Fähigkeit des Ausschwärmens usw.) gemeinsame Spezialgruppenmerkmale¹ darbieten, in ihrem Verhalten zu einzelnen Substraten differenziert sind. Um so mehr erscheint es in Zukunft geboten, bei *Proteus*affektionen des Menschen die isolierten Arten eingehend zu prüfen und je nach dieser Prüfung sie als neue Arten zu beschreiben oder in die alten Gruppen einzurangieren. Wenn das geschieht, wäre ein Hauptzweck dieser Arbeit erfüllt.

¹ Wenn man zur *Proteus*gruppe schlechthin alle Bakterien mit der Eigenschaft besonders gesteigerter Wachstumsenergie (vgl. oben) rechnet.

**Übersicht über die Herkunft der untersuchten pathogenen Proteus-
stämme mit summarischen Krankengeschichtsangaben.**

1. F., 48jährige Russin 18. VII. bis 20. VII. 1905. †. — Perityphlitis, Peritonitis purulenta. Seit 5 Wochen heftige stechende Schmerzen im Leib, Verstopfung, hier und da schneidende Schmerzen bei der Urinentleerung.

Bei der Aufnahme hochgradig elend, kachektisch. Abdomen aufgetrieben, empfindlich, Douglas ausgefüllt. Urin trübe, schwachalkalisch, 1014, enthält Spuren von Albumen, im dichten Sediment zahlreiche Leukozyten und massenhafte Bakterien (*Staphylococcus aureus* und *Proteus vulgaris*). — Rascher Exitus.

Autopsie: Peritonitis diffusa purulenta, mit Perforation des *Proc. vermiformis*. Jauchige Abszesse im hinteren Douglas. — Cysto-Pyelitis purulenta.

2. K., 32jähriger Kaufmann 25. XI. bis 28. XI. 1905. Perityphlitis, Peritonitis purulenta. Seit 2 Tagen Iliocoecalschmerz, Stuhlverhaltung, mehrmals Erbrechen.

Bei der Aufnahme schlechtes Allgemeinbefinden, kein Fieber. Singultus. Mäßiger Meteorismus. Mäßige Druckempfindlichkeit und Schallverkürzung in der Iliocoecalgegend.

In der Klinik Zunahme des Meteorismus, mehrmals Erbrechen stark salzsaurer, grüner Massen. Iliocoecalbefund unverändert. W = 14 900. An der vorderen Rektalwand stark druckempfindliche, vorgewölbte Stelle, in der die Schleimhaut stark ödematös ist.

Am nächsten Tage stärkere Vorwölbung, Verlegung in die chirurgische Klinik.

Am 28. XI. Operation, Eröffnung eines Abszesses in der Iliocoecalgegend, der bis ins kleine Becken reicht. Im Eiter *Proteus vulgaris* in Reinkultur.

Autopsie diffuse, eitrige Peritonitis.

3. S. 68jähriger Fischer. 24. X. 05 bis 10. I. 06. Spondylitis tuberc. Kompressionsmyelitis.

Seit 11 Wochen ausstrahlende Schmerzen in der rechten unteren Brustapertur, stetig zunehmend, in der letzten Zeit auch leichte Schmerzen in der linken Seite.

Bei der Aufnahme dürftiger Ernährungszustand, kein Fieber, mäßiges Lungenemphysem, lebhaftes Patellarsehnenreflexe. Sehr mühsamer Gang infolge heftiger Schmerzen, Wirbelsäule wenig druckempfindlich, kein Belastungsschmerz.

In der Klinik allmählich auftretende, leichte Thorakalkyphose, Ausbildung einer Kompressionsmyelitis auf der Basis tuberkulöser Caries des 7. bis 9. Brustwirbels. Nach Katheterisation Ausbildung einer Cystitis. Urin enthält $\frac{1}{4}$ ‰ Albumen, ist alkalisch. Im reichlichen Sediment zahlreiche Leukozyten, spärliche Erythrozyten. Zahlreiche Bakterien (*Proteus vulgaris* und Streptokokken). Ausbildung eines großen Abszesses unter der Fascie des linken Oberschenkels (*Proteus vulgaris* in Reinkultur). Tod im Marasmus.

Autopsie. Caries tuberculosa des VIII Br. W. D, Gibbusbildung; Pylonephritis, Ureteritis et Cystitis haemorrhagica et diphtherica.

4. P. 41jährige Wirtin. 23. VI. 05 bis 13. VIII. 06. Polyneuritis.

Seit Februar 1905 Parästhesien in den unteren Gliedmaßen, Schwächegefühl, zunehmender Muskelschwund. Vorübergehend Blasenbeschwerden (Katheterismus).

Bei der Aufnahme in gutem Ernährungszustand. Ausgedehnte Muskelatrophie an Armen und Beinen mit E. A. R., erloschenen Reflexen, stumpfförmigen Sensibilitätsstörungen; lichtstarre Pupillen.

In der Klinik anfangs Zunahme der motorischen und sensiblen Störungen; allmähliche, fortschreitende Besserung. Lumbalpunktion ergab normale Verhältnisse.

Ohne besondere Veranlassung (am 27. VIII. steriler Harn) seit dem 17. IX. Schmerzen beim Urinieren, starker Harndrang. Katheterharn trüb, amphoter, geringe Eiweißstrübung. Im dichten Sediment massenhafte Leukozyten, spärliche Erythrozyten und Leukozyten. Zahlreiche Gram — Bazillen (*Proteus vulgaris* in Reinkultur). 5. X. 06 Cystitis ausgeheilt, Harn steril.

5. O. 20jähriger Schneider. 10. VIII. 06 bis 28. II. 07 Tumor des Conus terminalis. Seit 2 Jahren in die linke Hüftgegend von der Wirbelsäule aus ausstrahlende Schmerzen, seit 6 Monaten lähmungsartige Schwäche der Beine, seit 2 Monaten Harndrang, Schneiden beim Urinieren, Inkontinenz.

Bei der Aufnahme in elendem Zustande. Paraparese mit hochgradigen Atrophien ohne E. A. R., Sensibilitätsstörungen in Form einer Reithose. Spasmen in den unteren Extremitäten mit fehlenden Haut- und Sehnenreflexen, Obstipation, Incontinentia urinae. Urin trübe, rotbraun, alkalisch. Im reichlichen Sediment zahlreiche Leukozyten und Erythrozyten, massenhafte Bakterien (*Proteus vulgaris* und Streptokokken).

In der Klinik Ausbildung von Ankylosen, E. A. R. im Peroneusgebiete, hier und da Fieberattacken mit Schmerzanfällen in den Renalgegenden, stärkerem Eiter- und Blutgehalt des Harns. Lumbalpunktion ergibt gelblich grüne, spektroskopisch normale Flüssigkeit $W = 12$ im ^{omm}. Starke Eiweiß- und Biuretreaktion, Moritzsche Probe und Gerinnung 0.

6. J. 22jähriger Tuchmacher. 2. I. bis 28. II. 07 Kompressionsmyelitis des Lumbo-Sakralmarks.

Am 12. XII. 05 Sturz auf den Rücken, seitdem Paraplegie der Beine, Anästhesie. Blasen- und Mastdarmlähmung, anschließende Cystitis.

Bei der Aufnahme in dürftigem Zustande. Kyphose der Thorakolumbalwirbelsäule, röntgenoskopisch Kompression des I. L. W. = Körpers. Paraparese der unteren Extremitäten, mit fast völliger Anästhesie und besonderer Beteiligung der vom Sakralmark versorgten Teile. Fehlen der Haut-, schwache Sehnenreflexe, E. A. R., Incontinentia urinae, Verstopfung. Katheterharn frei von Albumen, schwach sauer, im reichlichen Sediment wenig zahlreiche Leukozyten, einzelne Epithelien und Erythrozyten, zahlreiche Bakterien (*Proteus vulgaris* und *B. coli*).

In der Klinik von Zeit zu Zeit Fieberattacken von kurzer Dauer, mit allgemeinen Beschwerden.

7. R. Chron. Eiterung mit Durchbruch 18. III. bis 13. IV. 07 †.

Leptomeningitis diffusa purulenta in primis basalis, Encephalitis apostematosa lobi temporalis, pariet., occipit. sin. patefact., Haemorrhagia corpor. striat. sin. Pachymeningitis purulenta externa circumscripta. In der Kultur nur *Proteus mirabilis* (Orig. massenh. Gram — und + Bazillen, Gram + Kokken.)

Erste Untersuchung: Eiter-Schläfenlappenabszeß Ende März: *Proteus mirabilis*.

Zweite Untersuchung: Eiter-Schläfenlappenabszeß am 8. IV. 07.: *Proteus mirabilis* und Streptokokken.

8. August Kr. 2. IV. bis 24. IV. 07. †.

Rechts chronische Eiterung mit Polypen, Durchbruch, Cholesteatom, Facialisparese.

Am 19. IV. Rechts. Kleinhirnabszeß: Aus dem Eiterwuchs *Proteus vulgaris* allein (Orig. massenh. Gram + Stäbchen, Gram — Stäbchen, Gram + Kokken.)¹

Proteusagglutination beim Menschen.

Die Mitteilungen, welche sich in der Literatur über Proteusagglutination finden, sind nicht sehr zahlreich. Es liegen, abgesehen von Untersuchungen über die Wirkung von tierischen Proteus-Immunsereis auf verschiedenartige Proteusstämmen, Berichte über Agglutination von Proteusstämmen durch Sera von Proteuskranken, Angaben über Mitagglutination von Proteusstämmen durch mit anderen Stämmen erzeugte Immunsereis, endlich Berichte über die Agglutination von Proteusarten durch menschliche Normalsera vor. Demnach bespreche ich 1. die Wirkung von menschlichen Normalseris und von Typhusseris auf Proteusstämmen, 2. das Verhalten menschlicher und tierischer Immunsereis auf verschiedene Proteusarten und Proteusstämmen entsprechend den Angaben der Literatur, 3. meine eigenen Untersuchungen.

1. Bezüglich der Agglutination von Proteusstämmen durch das Blutserum von gesunden Menschen geben die meisten Autoren — und in diesen Angaben dürfte es sich um *Proteus vulgaris* Hauser handeln — an, daß dieser gar nicht oder höchstens 1:40 agglutiniert

¹ Bei Fall 7 und 8 bestand ein auffälliger Unterschied zwischen Original und Kultur. Dort massenhafte und verschiedene, hier anfänglich relativ wenige Bakterien und im Beginn nur einer Art. Ich habe seitdem zwei Fälle von Hirnabszeß und einen Fall eitriger Meningitis untersucht. In diesem Falle, sowie einem Fall von Kleinhirnabszeß im Original spärliche Gram + Kokken, in der Kultur *Streptococcus mucosus*. In dem restierenden Falle von Schläfenlappenabszeß nach Otitis im Original massenhafte Gram — und + Kokken und Bazillen, in der Kultur einige 30 Kolonien *Staphylococcus albus*.

werde.¹ Die Angabe von Lannelongue und Achard², nach der das Serum einer gesunden Person *Proteus vulgaris* stark agglutiniert habe, steht ziemlich allein. Etwas mehr im Widerspruch miteinander stehen die Mitteilungen über Agglutination von Proteusstämmen — gemeint ist anscheinend der *Proteus vulgaris*, wenn auch die genauere Beschreibung und Bezeichnung fehlt — durch Typhussera und zwar Sera von Typhuskranken und tierische Typhusimmunsera. Während Abeles es durchaus verneint, daß Typhusimmunsera Proteusbazillen agglutinieren (das gleiche stellt Abeles übrigens auch für Paratyphusimmunsera in Abrede), will Beco³ dieses beobachtet haben. Auch Rodella⁴ gibt an, daß das Serum von Typhuskranken Proteusbazillen agglutiniere.

Es hat ein gewisses Interesse, obschon es etwas abseits vom Wege liegt, der umgekehrten Frage zu gedenken, wie etwa Proteussera — tierische Immunsera und Sera von Proteuskranken — auf Typhus und Paratyphusbazillen einwirken. Auch hier differieren die Anschauungen verschiedener Autoren. So hält Abeles dafür, daß Proteusimmunsera (wohl *Proteus vulgaris*?) Typhus und Paratyphus gar nicht agglutinieren, während Lubowski und Steinberg⁵ sowie Jochmann⁶ feststellen, daß Proteussera Typhusbazillen mitagglutinieren. Bei Jochmann hat es sich bestimmt nicht um einen *Proteus vulgaris* gehandelt; diese Feststellung genügt allein, um den verschiedenartigen Ausfall der Reaktionen zu erklären. Die Differenz zwischen Abeles⁷ einerseits, Lubowski, Steinberg⁸ andererseits wäre, falls beide mit *Proteus vulgaris*-Stämmen gearbeitet haben, möglicherweise durch die verschiedene Methodik (bei Lubowski und Steinberg lange fortgesetzte, energische Immunisierungen, mikroskopische Prüfung usw.) zu erklären.

2. Hinsichtlich der Agglutination von aus dem Menschen gezüchteten Stämmen durch das betreffende menschliche Serum

¹ Abeles, Über die Beziehungen von Proteus- und Typhusagglutininen zu einander. *Deutsches Archiv für klin. Medizin.* 1898.

² Lannelongue u. Achard, a. a. O.

³ L. Beco, Note sur la valeur de l'agglutination par le sérum antityphique expérimental comme moyen de diagnostic entre le bacille Eberth et les races cœlifomes. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV.

⁴ Rodella, a. a. O.

⁵ Lubowski u. Steinberg, a. a. O.

⁶ Jochmann, a. a. O.

⁷ Abeles, a. a. O.

⁸ Lubowski u. Steinberg, a. a. O.

liegen Angaben von Grassberger¹, Pfaundler² (1:100), Sydney Wolf³ (Fall von Pyelonephritis 1:100; Fall von Cystitis 1:500). Lubowski und Steinberg⁴, Kobrak⁵ (1:176), Doering⁶ und Jochmann⁷ vor. Soweit es jetzt noch sich ermitteln läßt, betreffen diese Publikationen — den Fall Jochmann ausgenommen — den *Proteus vulgaris*. Der Fall von Doering (Gastroenteritis mit sehr rasch verschwindendem Agglutinationsphänomen), ist nicht ganz einwandfrei. Auffallend erscheint die durchweg — mit Ausnahme eines Falles von S. Wolf und eines anderen von Jochmann — bemerkenswert niedrige Agglutination, zumal wenn man in Anrechnung stellt, wie häufig die Reaktionen bei Ölimmersion geprüft wurden. Ein nach Kollé an sich nicht ganz unbedenkliches Verfahren.

Soweit die betreffenden Autoren das Krankenserum auch in seiner Agglutinationswirkung auf andere Stämme der *Proteus*-Gruppe geprüft haben, war der Agglutinationsausfall negativ. Immerhin haben einige es doch für erwünscht gehalten, mit ihren Stämmen dargestellte tierische Immunsera gegenüber verschiedenen, anscheinend gleichartigen *Proteus*-stämmen zu prüfen. Außer solchen Untersuchungen liegen Mitteilungen über das Verhalten von *Proteus*-Immunsereis gegenüber verschiedenen *Proteus*-arten vor.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen differieren. Einige, und zwar insbesondere Fachbakteriologen sind der Meinung, daß nicht nur Immunsere verschiedener *Proteus*-arten (*Vulgaris*, *Mirabilis*, *Zenker*) ausschließlich den zur Immunisierung verwendeten Stamm agglutinieren, nein, daß auch die einzelnen *Vulgaris*-stämmen individualisiert sind, indem jeder einzelne Stamm ein spezifisch auf ihn selbst eingestelltes Immunsereum erzeuge. Demgegenüber wollen andere beobachtet haben, daß ein *Proteus*-Immunsereum — und zwar scheint es sich dabei um *Vulgaris*-Immunsereum zu handeln — auf verschiedene *Vulgaris*-stämmen gleichmäßig einwirke. Derartige Stämme sollen sich kulturell sehr ähnlich verhalten und meist aus pathologischen Produkten (Grossmann) herkommen.

So geht aus den Untersuchungen von Grossmann⁸ und Rodella⁹

¹ Grassberger, zitiert nach R. Paltauf in Kollé-Wassermann, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*.

² Pfaundler, a. a. O.

³ S. Wolf, a. a. O.

⁴ Lubowski u. Steinberg, a. a. O.

⁵ Kobrak, a. a. O.

⁶ Doering, a. a. O.

⁷ Jochmann, a. a. O.

⁸ Grossmann, a. a. O.

⁹ Rodella, a. a. O.

im Gegensatz zu Lannelongue und Achard¹, welche durch wiederholte Immunisierungen mit demselben Stamm Agglutination bei verschiedenen Proteusarten erzielt haben wollen, eindeutig hervor, daß ein Vulgarisimmunserum Mirabilis-, Zenkerstämmen (Rodella²) und andere sonst gut differenzierte Arten (Pfaundler³) gar nicht beeinflußt. Dagegen besteht ein fundamentaler Gegensatz zwischen Sydney Wolf⁴, Weber⁵ und Grossmann⁶ einerseits, Rodella², Lubowski⁷, Steinberg⁷ andererseits. Alle letztangeführten Autoren haben sich mit der Wirkung von Vulgarisimmunseris auf Vulgarisstämmen beschäftigt. Jene aber betonen das individualistische Verhalten der verschiedenen Vulgarisstämmen und vergleichen es mit der analogen Eigenschaft des *B. coli*. Diese erzielten gleichmäßig hohe Agglutination verschiedener Vulgarisstämmen durch ein vermittelst Immunisierung mit einem dieser Stämme dargestelltes Immunserum.

Die einzig mögliche Erklärung so widersprechender Angaben, insbesondere über die Agglutination des *Proteus vulgaris*, wäre — auf Grund des Studiums der Literatur — nur in der meist verschiedenen Provenienz der Vulgarisstämmen zu suchen. Die weitgehend individualisierten Stämme stammten — die Stämme von Wolf übrigens ausgeschlossen — aus Faulfüßigkeiten, die gleichmäßig agglutinablen dagegen aus Krankheitsherden des Menschen.

Somit herrscht auch bezüglich der Frage der Proteusagglutination eine erhebliche Verwirrung in der Literatur. Es scheint neuerdings festzustehen, daß ein mittels einer Art dargestelltes Immunserum nicht auf differente Arten einwirkt. Dagegen bestehen recht weitgehende Meinungsdivergenzen bezüglich der Wirkung von menschlichen Normal- und Typhusseris auf Proteus-vulgarisstämmen. Ebenso divergent sind die Anschauungen über die Wirkungen eines Proteus vulgaris-Immunserums auf verschiedene Proteusvulgarisstämmen.

3. Für meine eigenen Agglutinationsprüfungen fallen zunächst die Stämme R und Kr — Stamm R steht dem Proteus mirabilis am nächsten, Kr nimmt eine Mittelstellung zwischen Proteus vulgaris und mirabilis ein und wurde als Vulgaris angesprochen, — welche in physiologischer

¹ Lannelongue u. Achard, a. a. O.

² Rodella, a. a. O.

³ Pfaundler, a. a. O.

⁴ S. Wolf, a. a. O.

⁵ Weber, a. a. O.

⁶ Grossmann, a. a. O.

⁷ Lubowski u. Steinberg, a. a. O.

Kochsalzlösung Pseudoagglutination (Spontanausflockung) zeigen, völlig aus. Sie sind durch diese Eigenschaft gegenüber allen anderen Stämmen differenziert. Den Stamm O, welcher versehentlich vernichtet wurde, habe ich nur in wenigen Versuchen prüfen können. Deshalb und weil Kontrolluntersuchungen mir nicht mehr möglich waren, berichte ich gar nicht über mir noch vorliegende erste Aufzeichnungen. Ich habe mit 4 Kaninchenimmuneris F, K, P und S (2 malige intravenöse Injektion von 1^{cem} Formolbouillon¹), weiter mit 4 Immuneris J, Berlin mirabilis, Fleisch I, Fleisch II (1 malige intravenöse Injektion von 1^{cem} Formolbouillon) Untersuchungen angestellt. Die Tiersera wurden in ihrer Agglutinationswirkung auf die sämtlichen, mir zur Verfügung stehenden Stämme und die Art der Agglutinine durch Ausfällungsversuche nach Castellani geprüft.^{2,3}

Die Beschränkung auf Versuche mit 8 Immuneris (F, K, P, S, J, Berlin mirabilis, Fleisch I, Fleisch II) wurde durch Versuche, welche auch für die Auswahl der Stämme maßgebend waren, ermöglicht. Die zu erledigenden Fragen waren folgende: Wie wirken Normalsera auf die geprüften Stämme ein? Wie verhalten sich diese zum Serum von Menschen, die an Proteusaffektionen leiden? Endlich: Wie werden sie durch die 8 Immunsera beeinflusst? Als sekundäre Fragestellung: Wie beeinflussen die Immunsera die Bakterien der Typhusgruppe?

Die Ergebnisse sind kurz und eindeutig: **Typhus und Paratyphusbazillen werden gar nicht durch *Vulgaris* oder *Mirabilis*immunsera** — bei der erwähnten einfachen Immunisierungsmethode — **agglutiniert**. Einige Normalsera des Menschen (Neugeborene und Erwachsene, je 6 Sera) haben unter meinen 22 Stämmen nur **B. Zopfi** und **B. Zenkeri** agglutiniert, einzelne Sera noch bei 320 sehr stark. Die obere Grenze wurde nicht aufgesucht. (Prüfung bei 40facher Vergrößerung in Blockschalen.) Und um dies gleich vorwegzunehmen — abgesehen von den für weitere Prüfungen nicht geeigneten Zenker- und Zopfstämmen — gelang es leicht, auch die übrigen grampositiven Arten (Cöln, Königsberg 11, Königsberg G), sowie den Typus Danzig von der weiteren Prüfung auszuschneiden. Diese Stämme wurden weder durch Normal-, noch durch Kranken-, noch

¹ Proescher, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1902.

² Carl Klieneberger, Typhusdiagnose mittels Vidaluntersuchungen in zentralisierten Stationen. *Ztschr. f. ärztl. Fortb.* 1905.

³ Carl Klieneberger, Studien über Coliagglutinine unter besonderer Berücksichtigung der klinischen Verwertung von Coliagglutination. *Deutsches Archiv f. klin. Med.* 1900.

In diesen Arbeiten sind Agglutinationsprüfungen, Ausfällungsversuche und Untersuchungen der ausgefällten Sera im Text und tabellarisch beschrieben. Die gleiche Methodik gilt für die vorliegende Arbeit.

durch Tierimmunsera agglutiniert. Somit erbrachte sich nur, die **Vulgaris- und Mirabilisstämme** a) durch Krankensera, soweit dazu die Menge ausreichte, b) durch die tierischen Immunsera auf Agglutination zu untersuchen.

a) Nur in 4 Fällen konnten die Sera von Kranken gegenüber den infizierenden Arten, noch seltener auch gegenüber anderen Stämmen ausgewertet werden.

Bei der Perityphlitis K fehlte jegliche Wirkung des Patientenserums auf den infizierenden Stamm, ebenso auf andere Vulgarisstämme. Bei 2 Fällen reiner Harnwegeinfektion P (*Proteus vulgaris*) und J (*Proteus mirabilis*) waren die Ergebnisse recht dürftige.

P: das eigene Serum 1:80 schwach +

J: „ „ „ 1:80 stark +, 160 bis 320 +

Während also die infizierenden Stämme bemerkenswert niedrig agglutiniert wurden, wurden die untersuchten fremden Vulgaris- und Mirabilisstämme überhaupt nicht beeinflusst.

Nur in dem Falle S, bei welchem freilich nicht nur eine Cysto-Pyelitis, durch *Proteus vulgaris* veranlaßt, vorlag, sondern bei dem sich auch große Abszesse, mit *Proteus vulgaris* in Reinkultur, gebildet hatten, wurde der infizierende Stamm und zwei weitere Vulgarisstämme, welche mituntersucht wurden, hochagglutiniert.

S: durch das eigene Serum 1:2560 +

F: durch das Serum S 1:2000 stark +

K: „ „ „ S 1:1280 +

Aus so wenigen Versuchen und Seris Schlußfolgerungen zu ziehen, hat gewisse Bedenken. Immerhin muß es auffällig erscheinen, daß bei reinen Harnwegeerkrankungen so geringe Agglutininbildung statthat, während bei dem Falle S, in dem, wie aus dem Auftreten peripherer Abszesse zu schließen ist, eine Allgemeininfektion eingetreten war, hoher agglutinativer Titre des Blutserums sich fand. Man könnte zu der Annahme gedrängt werden, daß die Proteusinfektionen meist saprophytische, bzw. Sekundärinfektionen sind, und daß eine Infektion des gesamten Organismus und als deren Ausdruck die biologische Reaktion der Agglutininbildung für gewöhnlich fehlt. Die andere Erklärung, den Mangel der Agglutininbildung aus den Bakterien abzuleiten, erscheint nicht zulässig, weil diese, wie aus den Immunisierungsversuchen erhellt, sowohl leicht agglutinabel als auch agglutinogen waren.

Wie dem auch sei, zur Entscheidung der aufgeworfenen Fragen bedarf es größerer Untersuchungsreihen als der von mir angeführten Daten und erst recht als des in der Literatur niedergelegten Materials.

b) Ich komme nunmehr zur biologischen Prüfung der 8 mit 6 *Vulgaris*- und 2 *Mirabilis*-stämmen erzeugten Kaninchen-*Proteus*immunsera (F, K, P, S, Fleisch I, Fleisch II, J, Berlin *mirabilis*).

Die Tierimmunsera zerfallen, wenn ich zunächst von der Art des zur Immunisierung verwandten Stammes absehe, nach ihrer Wirkung auf die verschiedenen Stämme in 2 Kategorien. In der ersten wurden eine größere Zahl von *Vulgaris*stämmen agglutinativ beeinflußt, in der zweiten im wesentlichen nur der zur Immunisierung verwendete Stamm.

Zur Kategorie I gehören die Immunsera F, K, P, S (aus pathologischen Produkten gezüchtete *Vulgaris*-Stämme). Diese Sera agglutinieren nicht nur den zur Immunisierung verwendeten Stamm auf 1280 bis 10240 stark, sondern beeinflussen ebenso oder fast ebenso Berlin *vulgaris*, Frankfurt, Wien, Hauser (Kräl), *Vulgaris* Erlangen. Fleisch I wird niedriger, Fleisch II gar nicht agglutiniert.

Beispiel:

Serum F. agglutiniert				
F.	S.	P.	K.	Frankfurt a/M.
1 : 2560++	1 : 2560+	1 : 2560+	1 : 2560+	1 : 2560+
5120+				
Fleisch I	Fleisch II	Wien	Hauser Kräl	<i>Vulgaris</i> Erlangen
1 : 640+	1 : 20 = 0	1 : 1280+	1 : 1280+	1 : 5120+
(später 1 : 320+)				

Im Gegensatz zu dieser starken Wirkung auf *Vulgaris*stämmen wurden die *Mirabilis*stämmen Berlin, Erlangen, J überhaupt nicht beeinflußt.

Die Ausfällungsversuche nun ergaben, daß ein einziges Agglutinin im Serum vorhanden war, das durch alle hoch agglutinierten Stämme quantitativ ausgefällt wurde, durch Fleisch I wenig und durch Fleisch II gar nicht beeinflußt wurde.

Demnach wurden (mit Ausnahme des pseudoagglutinierenden *Vulgaris*stammes Kr und des nicht geprüften Stammes O) die von mir isolierten pathogenen Stämme des Typus *vulgaris*, ebenso wie die Institutsstämmen, (welche mir als *Vulgaris* überlassen wurden), ziemlich gleichmäßig durch *Vulgaris*immunsera, welche durch Immunisierung mit pathogenen Stämmen gewonnen waren, agglutiniert. Sie verhalten sich also biologisch analog. Ich weiß nicht, ob meine Annahme, daß die betreffenden Instituts-

stämme auch aus pathologischen Produkten stammen, richtig ist.¹ Bejahenden Falles ist es nicht unwahrscheinlich, daß pathogene *Vulgaris*stämme biologisch gleichartig sind. Jedenfalls aber steht fest, daß eine große Zahl von *Vulgaris*stämmen eine biologische Einheit bildet, im Sinne von Typhus oder Paratyphus. Und es dürfte sich lohnen, beim Verdachte oder Nachweis menschlicher *Proteusvulgaris*-Infektionen (vorausgesetzt, daß Allgemeininfektionen vorliegen) das Blutserum gegenüber einem der erwähnten Instituts- oder der von mir isolierten pathogenen Stämme, vielleicht auch gegenüber einem beliebigen sonst gezüchteten pathogenen *Vulgaris*stamm auf sein agglutinatives Verhalten zu prüfen. Umgekehrt halte ich es auch für richtig, etwa isolierte Stämme mit einem *Proteus-Vulgaris*immunserum (mit einem der obigen Stämme erzeugt) zu prüfen. Beide Arten der Prüfung dürften von prinzipieller Bedeutung sein. Die Tatsache, daß verschiedene, aus Faulflüssigkeiten gezüchtete *Vulgaris*stämme in ihrer Beeinflussbarkeit durch *Vulgaris*immunsera weitgehend differieren, gibt zu denken. Ich habe die Frage, ob solche Faulflüssigkeiten-*Vulgaris*stämme durch mehrfache Tierpassagen in ihrem Verhalten zu andersartigen *Vulgaris*immunseris sich ändern, nicht geprüft. Längere Fortzucht (1 Jahr) beeinflußt weder die kulturellen noch die agglutinativen Eigentümlichkeiten. Ich habe mich übrigens nicht davon überzeugen können, daß die gleichmäßig agglutinierten Stämme in ihren Wuchseigentümlichkeiten sich näher stehen und weniger im einzelnen differieren, als die aus faulenden Substanzen gezüchteten Stämme.

Zur Kategorie II gehören die Sera der *Mirabilis*arten sowie der aus faulendem Fleisch isolierten Stämme Fleisch I und II.

Jene agglutinierten den zur Immunisierung verwendeten Stamm hoch, andere Stämme gar nicht oder ebenso minimal, wie etwa vor der Immunisierung.

Demnach muß ich einstweilen annehmen, daß die pathogenen *Mirabilis*stämme, soweit sie überhaupt vermittelt der Agglutinationsreaktion geprüft werden können und nicht spontan ausflocken, in agglutinativer Hinsicht streng individualisiert sind, verschiedene Rassen darstellen und sich so verhalten, wie *B. coli*-Arten.

¹ Wie ich in einer Mitteilung von M. Neisser entnehme, trifft diese Auffassung für den Stamm Frankfurt zu.

Morphologisch-kult. Verhalten	S.	K.	P.	F.	Wien	Berlin vulgaris
Größe u. Form	Stäbchen	=	=	=	=	=
Beweglichkeit	+	=	=	=	=	=
Sporen, Kapsel	0	=	=	=	=	=
Gram-Färbung	—	=	=	=	=	=
Temperatur (Optimum)	37 und 22°	=	=	=	=	=
Sauerstoffbedrf.	fakult. anäerob	=	=	=	=	=
Wachst. i. 10proz. Gelatinestich	Stich, v. obenher st. verfl.	=	=	=	=	=
5 proz. Gelatineplatten	Schwärmkol. verfl., stinkend	=	=	=	=	=
Peptonwasser	trübe, Bodens.	=	=	=	=	=
Bouillon	stark trübe, Bodensatz	= Häutchen auf d. Oberfläche	stark trübe Bodensatz	Kahmhaut, Bodensatz stark trübe	stark trübe Bodensatz	=
Nitritbild. (Nitrosoindolreakt.)	0	0	0	0	? in Peptonwasser	0
Indolbildung	Peptonw. +	ziemlich stark	Peptonwasser stark	schwach +	stark positiv	schw. ros tonw. > Be
Wachstum auf Agar-Agar	fließend, schwärmend, fluoreszierend	=	=	=	Platte nicht überw. weißl., wenig fluoresz. Belag, nach 24 ^h einzelne Kolon. noch erkennen lassend	fließend, schwärmend, fluoresz. von einer die ganze
Blutserum	stark peptonisierend	=	=	=	=	=
Kartoffel	weißl. Belag	schmierig braun	dick braun	dick weißbraun	weißlich	weiß-braun Belag
Milch	verändert, leicht bräunl. geringes Sediment	dicker Bodensatz, erhebliche Molkenb.	=	Bodensatz, gebräunt, dünne Mol.	verändert, Bodensatz	minim. Bodensatz, verfl.
Traubenzuckeragar (h. Schicht)	vergoren	=	=	=	=	=
Harn	trübe, alkal.	=	=	=	=	=
Lakmusmolke	Alkalibildung, Bodensatz, leichte Oberfl.-Haut	tief blau Bodensatz	alkalisch, Bodens., Oberfl.-Haut	= Kahmhaut	erst rötlich, dann blau, sp. zur Rosa-farb. entfärbend, trübe, Bodensatz	tiefblau Haut, Schw.
Drigalski	blau, spät. etw. aufgehellend	=	=	=	=	=
Endoagar	farblos	=	=	=	=	=
Fäulnisbildung stinkende Gase	stinkend	=	=	=	=	=

benzeigenschaften.

augenlgaris	Prag Hauser (Kral)	Frankfurt	Fleisch I	Fleisch II	O.
=	=	=	=	=	=
=	=	=	=	=	=
=	=	=	=	=	=
=	=	=	=	=	=
=	=	=	=	=	=
=	=	=	=	=	=
=	=	=	=	=	=
=	=	=	=	=	=
=	=	=	trübe	=	=
trübe, matsz, L-Haut	stark trübe	stark trübe geringer Bodensatz	stark trübe	=	=
0	0	0	0	Nitritbildung Peptonwasser	0
saillon krksten	ziemlich stark Bouillon > Peptonw.	ziemlich stark Peptonw. > Bouillon	Peptonwasser deutlich +	stark +	schwach rot
=	Platte n. überwuch. weißlicher, weniger fluoreszieren. Belag nach 24 ^h einzelne Kolon. nocherk. lass.	Platte n. überwuch. fließend, schwärzend; nach 24 ^h einzelne Kolonien nocherkenn. lassend fluoreszierend	fließend, schwärmend, fluoreszierend	=	nach 24 ^h noch einzelne Kolonien deutl. erkennen lass.
arplatte ichernd	schwach peptonisierend	stark peptonisierend	von einer Ecke der Agarplatte die ganze Platte überwuchernd	=	=
=	=	=	=	=	=
weiß. lag	fein-gelbl. Belag	feinster schleierartiger Belag	dick brauer Belag	feiner, weißgelblicher Belag	gelbbrauner Belag
sedim. Molkenung	geringer Bodensatz leichte Aufhellung und Bräunung	minim. Bodensatz, stark gebräunt und verändert	starker Bodensatz, dünne Molke	geringes Sedim. eben verändert, leicht braun	stark sedim., starke Molkenbildung
=	=	=	=	=	=
=	=	=	=	=	=
=	tiefblau ziemlich klar	tiefblau, trübe	stark blaue Kahlhaut	tiefblauviolett	trübe, rötlich, entfärbend
=	blau	blau, später aufhellend	= vorübergeh. leicht rot	blau	=
=	=	=	=	=	=
=	=	=	=	=	=

Morphologisch. kult. Verhalten	J.	Erlangen mirabilis	Berlin mirabilis	Cöln	Königsberg 11	Königsberg G
Größe u. Form	Stäbchen	=	=	=	=	=
Beweglichkeit	+	=	=	=	=	=
Sporen, Kapsel	0	=	=	=	=	=
Gramfärbung	—	=	=	+	+	+
Temp. (Optimum)	87 u. 22°	=	=	=	=	=
Sauerstoffbedrf.	fakultat. anaërob.	=	=	im wesentl. aërob	=	=
5 prozentige Gelatineplatten	Schwärmkolon., verfl., stinkend	Schwärm- kolonien, verflüssigend	=	=	=	=
Wachst. i. 10 prz. Gelatinestich	Stichwachstum, von oben her stark verfl.	Stichwachstum schwach v. oben her verflüssigend	=	aërob Mulde der Oberfläche	=	=
Peptonwasser	stark getrübt	=	trübe, Bodensatz	schwach trübe	=	=
Bouillon	Oberflächenhaut Bodensatz	dicke Kahnhaut, trübe, Bodensatz	stark trübe, Bodensatz	trübe, Oberflächen- haut	= und Bodensatz	stark trübe
Nitritbildung (Nitrosoindolreakt.)	0	0	0	0	0	0
Indolbildung	mäßig stark	schwach rosa	mäßig stark	0	0	0
Wachstum auf Agar-Agar	einzelne zarte, feine Kolonien, nicht den Nähr- boden über- wuchernd	einzelne feine, zarte Kolonien, mit Verästelun- gen, nicht über- wuchernd	zarte, feine fortsatz- bildende, isol. Kolon. nicht über- wuchernd	dicke, weiße, trübe Beläge, dichotomisch weiter wuchernd	=	=
Blutserum	peptonisierend	gering = später bräunlich	= weißlicher Belag	stark peptonisierend	=	=
Kartoffel	feiner, weißlicher Belag	= später bräunlich	weißlicher Belag	dicke, braun schmieriger Belag	weißgelb- brauner, schmierig. Belag	=
Milch	Bodensatz, Molke	gering. Sediment, darüb. stehende, feinst geronnene Milch	makro- skopisch nicht verändert	starke Gerin- nung, helle Molke	=	=
Traubenzucker- agar (h. Schicht)	vergärend	=	=	Oberflächen- wachstum	=	=
Harn	trübe, alkalig.	=	=	=	=	=
Lakmusmolke	trübe, tiefblau	tiefblaulila	tiefblau violett	erst trübe, tiefblau, später Kahnhaut u. rosa-entfärb.	schw. alkal.	= fast voll- entfärbt
Drigalski	blau	=	blau	=	=	=
Endoagar	farblos	=	=	=	=	=
Fäulnisbildung (stinkende Gase)	=	=	=	= gering	=	= fäulnis- gering

Eigenschaften.

Danzig	Zopf	Zenker Kral	Zenker Erlangen	R.	Kr.
=	Fädenbildg., Geflechte	= < Zopf	= < Zopf	Stäbchen	=
=	=	=	=	=	=
=	=	=	=	=	=
-	+	+	+	-	=
=	22° wächst b. 37° mäßig	bei 37° = 0, bei 37° schlecht		bei 22° u. 37°	=
dat. anaërob	aërob	=	=	anaërob fakultativ	=
=	Schwärmkolonien, nicht verflüssigend	=	=	sehr langsam verflüssigend, prachtvolle Schwärmkolonien	Schwärmkolonien, rasch verflüssigend
n wesentl. oberflächenwachstum, stark verflüssigend	Oberflächenwachstum, schwärmend	=	=	Stichwachstum, von oben her sehr langsam verflüssigend	Stichwachstum sehr rasch verflüssigend, (Beginn oben)
=	klar	=	=	wenig trübe	stark trübe
stark trübe, Bodensatz	trübe, starke Kahmhaut, starkes Sediment	trübe, Sediment	mäßig trübe, Sediment	trübe, Kahmhaut	stark trübe
0	0	0	0	0	0
schwach (in Peptonwasser)	schwache Rosafärbung in Bouillon	0	in Bouillon schwache Rosafärbg.	in Peptonwasser u. Bouillon ziemlich stark	in Bouillon stark
stark dichter, oberer Belag, Fäden und Fortsätzen (photomisch)	grauweißlicher unebener Belag, mit starker Schwärmung	=	=	zarte, feine, getrennt bleibende Kolonien, nach einigen Tagen gleichmäßig peripher fortgesendete dünne Beläge	fließend und rasch die Platte überwuchernd, fluoreszierend
geringe Peptonisierung, weißer, weißer Belag	Peptonisierung dick-braunschmieriger Belag	=	=	langsam peptonisierend unsichtbar	stark peptonisierend weißer Belag
0	0	0	0	leicht bräunend und dünnmachend, Bodensatz	Gerinnung, dann Peptonisierung m. starkem Sediment
stark vergärend (anaërob)	Oberflächenwachstum	=	=	geringe Vergärung	Vergärung
0	schwach trübe schwach alkalisch	=	=	alkal. wenig trübend, Oberflächenhaut	=
stark trübe	tiefblau-violett	=	=	tiefblau, Stich ins Violette, klar	alcaligenes, trübe, Kahmhaut
rot	blau	=	=	blau	blau, später leicht entfärb.
rot	farblos	=	=	=	schwach rosa
0	schwach	?	?	stinkend	stinkend

Die aus Faulflüssigkeiten¹ isolierten Proteusstämme, welche durch mit pathogenen Stämmen erzeugte Immunsera gar nicht oder wesentlich niedriger als pathogene Arten beeinflußt wurden, jedenfalls aber keine besondere ausfallende Affinität zu diesen Seris zeigten, ergaben bei einmaliger Immunisierung Sera von höherem Titre für den zur Immunisierung verwendeten Stamm, zeigten dabei aber auch eine deutliche Mitbeeinflussung einzelner pathogener Stämme. Danach stehen die morphologisch und kulturell einander so ähnlichen Vulgarisstämme auch in agglutinativer Hinsicht, einerlei welches ihre Provenienz ist, sich näher, und der Unterschied zwischen saprophytischen und pathogenen Vulgarisstämmen ist ein gradueller, vielleicht durch Adaption an den tierischen Nährboden bedingter.

Demnach verhält sich „die Gruppe des *Proteus vulgaris*“ nicht wie die des *Bact. coli*. Die einzelnen Stämme sind je nach ihrer Provenienz miteinander nahe verwandt oder sich mehr oder weniger ähnlich, [vielleicht dürfte sich auf Grund der agglutinativen Resultate eine Trennung in pathogene und saprophytische Vulgarisstämme empfehlen]. Jedenfalls erscheint die Prüfung der einzelnen isolierten Stämme durch ein *Proteusvulgaris*-Immunserum durchaus erwünscht. In der Klinik wenigstens sollte jede *Proteus*infektion (*Vulgaris* [und *Mirabilis*]) in den zwei Richtungen untersucht werden, daß man das Blutserum nicht nur gegenüber dem infizierenden Stamm, sondern auch in seinem Verhalten gegen andere pathogene Vulgarisstämme, den betreffenden Vulgarisstamm bezüglich seiner Agglutination durch ein *Vulgaris*immunserum (hergestellt durch Immunisierung mit einem pathogenen Stamm) prüft.

Ebenso werden weitere Untersuchungen zu zeigen haben, ob außer *Vulgaris*- und *Mirabilis*infektionen Infektionen mit anderen Proteen beim Menschen vorkommen, und wie die Reaktion des Körpers, am Verhalten des Blutserums gemessen, gegenüber solchen Infektionen ausfällt.

Serum-Fleisch II agglutiniert

Fleisch II	Fleisch I	S	F (andere Vulgarisstämme)
1 : 640	1 : 80	1 : 160	1 : 20 nicht geprüft).

Serum-Fleisch I agglutiniert

Fleisch I	Fleisch II	S	F (andere Vulgarisstämme)
1 : 2560	1 : 20	1 : 20	1 : 80 nicht geprüft).

¹ Abgesehen von den peptonisierenden Bakterien Fleisch I und II habe ich aus Faulflüssigkeiten Colibakterien, grampositive Stäbchen, nicht verflüssigende, unbewegliche, auf Gelatine roten Farbstoff bildende Bakterien gezüchtet, auf die ich, um nicht zu verwirren, weiter nicht eingehe.

Schlußsätze.

1. Die über Proteusinfektionen und Proteusagglutinationen vorliegenden Literaturberichte sind nicht erschöpfend und z. T. sich widersprechend, bzw. bakteriologisch nicht einwandfrei.

2. Es dürfte sich empfehlen, als differentielles Gruppencharakteristikum der Proteusgruppe die gesteigerte Wachstumsenergie (die Fähigkeit der Schwärmkolonienbildung) zu betrachten. Die Erzeugung stinkender Fäulnis, das Peptonisierungsvermögen usw., das Verhalten zur Gramfärbung sind Eigenschaften, welche es gestatten, größere Unterabteilungen in der Proteusgruppe zu schaffen und nach diesen Gesichtspunkten die verschiedenen Arten einzurangieren.

3. Als gut charakterisierte Erreger von Tierseuchen sind in der Literatur folgende Proteusarten beschrieben: *Proteus vulgaris*, *B. piscioides agilis* Sieber, *Proteus fluorescens* Jaeger, *B. Wyss*, *Proteus piscicidus versicolor* Babes und Riegler.

Dazu käme ein Stamm Cöln (Czaplewski), der zugleich saprophytische Verbreitung zeigt.

4. Proteus-Allgemeinerkrankungen sind außerordentlich selten; sicher sind die kasuistischen Mitteilungen von Jochmann, Bertelsmann und Mau, Lenhartz, Schottmüller wahrscheinlich mein Fall S. Die Menschenpathogenität des *Proteus fluorescens* als Erreger des Morbus Weillii ist nicht einwandfrei. Jedenfalls ist die sogenannte Weil'sche Krankheit keine ätiologische Einheit.

5. Als Erreger lokaler Proteuserkrankungen kommen nach der Literatur — bei kritischer Sichtung — nur *Vulgaris*stämmen in Betracht; ich habe neben *Proteus vulgaris* auch *Proteus mirabilis* angetroffen.

6. Die beim Menschen angetroffenen *Vulgaris*- und *Mirabilis*stämmen zeigen im einzelnen auf den verschiedenen Substraten mehr oder weniger geringfügige Differenzen.

7. Menschliche Normalsera agglutinieren *Proteus Zopfii* und *Zenkeri*, vermutlich identische Stämme, gelegentlich recht hoch. *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* und andere grampositive Proteen (vgl. Tabelle) werden bei Verdünnungen 1:20 und aufwärts durch das Blutserum gesunder Menschen nicht agglutiniert.

8. Bei den von mir untersuchten Proteuserkrankungen war die agglutinierende Fähigkeit des Blutserums in der Regel für den infizierenden und fremde Stämme verschwindend niedrig (lokale Infektion). In einem Falle wurden der infizierende und andere pathogene *Vulgaris*stämmen bemerkenswert hoch agglutiniert (Fall S, Allgemeininfektion).

9. *Proteus vulgaris*-Immunsera beeinflussen ausschließlich *Proteus vulgaris*-Stämme.

10. *Proteus mirabilis*-Immunsera agglutinieren ausschließlich den zur Immunisierung verwendeten Stamm.

11. Einzelne *Vulgaris*- und *Mirabilis*-Stämme flocken spontan aus.

12. *Proteus vulgaris*-Immunsera, vermitteltst Immunisierung mit pathogenen Stämmen gewonnen, agglutinierten gleichmäßig sämtliche geprüften *Vulgaris*-Institutsstämme und *Vulgaris*-Stämme aus Krankheitsprodukten; die Agglutinine der Sera wurden auch nur durch diese hochagglutinierten Stämme ausgefällt.

13. *Proteus vulgaris*-Immunsera, vermitteltst Immunisierung mit Faulflüssigkeits*vulgaris* gewonnen, agglutinieren am höchsten den zur Immunisierung verwandten Stamm, werden auch nur durch diesen ausgefällt. Solche Sera enthalten aber — geringfügiger und variierend — agglutinierende Substanzen für andere *Vulgaris*-Stämme.

14. Die *Proteus-Vulgaris*-Stämme sind — einerlei wie ihre Provenienz — miteinander nahe verwandt. Die geprüften Instituts- und pathogenen Stämme konnten durch ein einziges Testimmunserum agnosziert werden. Demnach nimmt vielleicht der pathogene *Proteus vulgaris* klinisch und biologisch eine Sonderstellung ein.

15. Die Trennung in *Proteus mirabilis* und *vulgaris* ist eine Trennung, die man aus Zweckmäßigkeitsgründen und aus historischer Pietät beibehalten sollte. Die Differenzen sind solche im agglutinativen Verhalten sowie im Grade der Wachstumsenergie.

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

Ein Fall von Flußverunreinigung durch die Abwässer einer Zellstofffabrik.

Von

Dr. med. **Artur Luerssen**,
Assistenten am Institut.

Nach unseren bisherigen Erfahrungen wird die Einleitung von Zellstofffabrikabwässern in Flußläufe für vollständig unschädlich gehalten. L. Gottstein, ein Kenner dieser Frage, meint sogar, daß „unter Umständen bei den vielfach alkalischen Eigenschaften und der Härte mancher Flußwässer durch Zuführung der Zelluloseabwässer in nicht vollständig neutralisiertem Zustande eine gewisse Verbesserung des Flußwassers für manche Zwecke erzielt werden könnte“.¹ Daß die Zellstoffkochlaugen trotz der in ihnen enthaltenen, als Lignosulfitsubstanzen bezeichneten Schwefelverbindungen bei richtiger Verdünnung harmlos seien, mußte man auch daraus entnehmen, daß sie unter gewöhnlichen Verhältnissen keine Fäulnis zeigen und daß Fische — z. B. Forellen — in ihnen leben können. Tatsächlich hat sich von den vielen Zellstofffabriken Deutschlands bisher nur eine durch ihre Abwässer unangenehm bemerkbar gemacht, nämlich die jetzt geschlossene Fabrik bei Wolfach in Baden. Diese Fabrik gab — nach einem in dankenswerter Weise vom Ministerium Badens zur Verfügung gestellten Bericht — ihre Abwässer in die kleine Kinzig ab, die an dieser Stelle nur 4.88 c^{bm} bei mittlerem Wasserstande führt. Es ist ohne weiteres klar,

¹ *Zeitschrift für angewandte Chemie.* 1905.

daß bei einem derartigen Mißverhältnis der Abwässermenge zum Vorfluter merkbare Übelstände besonders leicht hervortreten müssen.

Bei dieser Sachlage ist es um so auffälliger, daß die Abwässer, welche von einer Königsberger Fabrik nach richtiger Behandlung und unter günstigem Verdünnungsverhältnis in den verhältnismäßig Großen Pregel geleitet werden, unter allerdings ganz besonderen Umständen zu ganz charakteristischen und höchst unangenehmen Fäulniserscheinungen Veranlassung gegeben haben. Wegen der theoretischen und praktischen Wichtigkeit eines solchen Falles von Flußverunreinigung sollen im folgenden die Untersuchungen, welche zur Erforschung der betreffenden Übelstände angestellt wurden, mitgeteilt werden.

Nach den Berichten über die Beschaffenheit des Pregelwassers traten Fäulniserscheinungen erst nach dem Jahre 1872 bei ihm auf und wurden dann von Jahr zu Jahr lästiger. In den letzten Jahren ist nun eine weitere, sehr starke Verschlechterung eingetreten, die sich dadurch kundgibt, daß der Pregel sich — zumal in den Monaten Juli und August und bei westlichen Winden — braun bis tiefschwarz verfärbt und einen durchdringenden Geruch, den allgemein gefürchteten „Pregelgestank“, verbreitet. Dieser Geruch, der auf der Höhe der Entwicklung ein ausgesprochener Fäulnisgestank ist, bedeutet natürlich eine starke Belästigung der Anwohner, die oft wochenlang ihre Wohnungen nicht lüften können, und auch unzweifelhaft eine Gesundheitsschädigung, wenn dieselbe auch vorwiegend eine nur mittelbare ist. Die Verschlechterung des Pregelwassers hat aber auch praktisch ins Gewicht fallende Folgen: man beobachtet nämlich, daß beim Auftreten des Pregelgestankes vielfach matte oder tote Fische auf dem Wasser treiben. Auch die Haffischer klagen darüber, daß ihnen die zum Königsberger Markt gebrachten Fische in den Fischkästen schnell sterben, wenn sie sich im Bereich des stinkenden Pregelwassers aufhalten.

Es war ohne weiteres klar, daß diese Verschlechterung des Pregelwassers nur von einer Verschmutzung desselben herrühren könne, über die Ursache dieser Verunreinigung aber gingen die Ansichten weit auseinander und es wurden bei den Erörterungen über den Pregelgestank bald berechnigte, bald wenig stichhaltige Vermutungen laut.

Infolge des nachgerade unhaltbaren Zustandes wurde im Jahre 1905 vom Königsberger Magistrat eine Kommission mit der Anstellung von Erhebungen über die Ursache des Pregelgestankes beauftragt. Da eine Beisehung des Pregels durch diese Kommission kein unzweideutiges Ergebnis hatte, so wurde eine eingehende Untersuchung des Pregelwassers be-

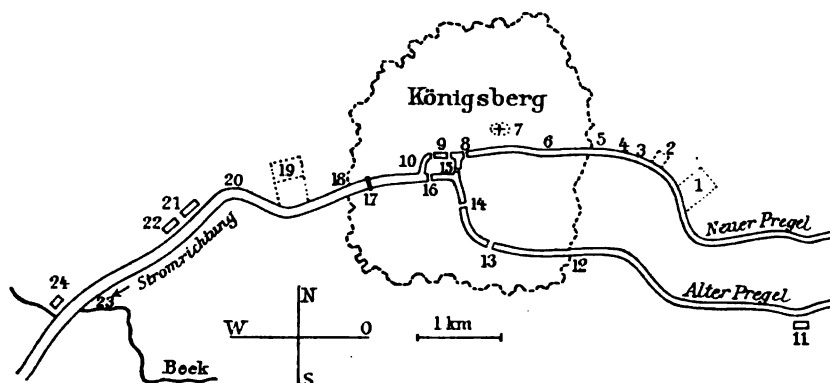
schlossen und dem hygienischen Institut übertragen, wo sie unter der Leitung des Herrn Geheimrat Professor R. Pfeiffer von mir ausgeführt wurde. Im Laufe dieser Untersuchungen und weiterer Besichtigungen des Pregels während eines ganzen Jahres stellte sich — wie schon erwähnt — das im Anfang überraschende Ergebnis heraus, daß der Gestank des Pregels durch seine Verschmutzung mit den Abwässern der oberhalb der Stadt am Neuen Pregel gelegenen Zellstofffabrik verursacht wird.

Bevor ich im folgenden die diese Verhältnisse aufdeckenden Untersuchungen und die sich darauf stützenden Folgerungen bespreche, muß ich aber noch zum näheren Verständnis die Stromverhältnisse des Pregels schildern, denn diese stehen zur Entwicklung des Pregelgestanks in naher Beziehung.

Der Pregel erhält sein Wasser durch seine Quellflüsse Inster, Pissa und Angerapp und seinen Nebenfluß Alle aus einem Niederschlagsgebiet von 13595 qkm und führt nach der Vereinigung dieser Zuflüsse oberhalb der Stadt Tapiau in 1 Sekunde bei

niedrigem Wasserstand	19 cbm,
mäßig niedrigem Wasserstand	24 cbm,
mäßigem Wasserstand	66 cbm,
mäßig hohem Wasserstand	400 cbm,
hohem Wasserstand	1265 cbm.

Bei Tapiau — etwa 45 km oberhalb von Königsberg — gibt der Pregel einen Mündungsarm ab. Während er selbst westwärts an Königsberg vorbei in das Frische Haff fließt, wendet sich dieser etwa 40 km lange Mündungsarm, die Deime, nordwärts dem Kurischen Haff zu. Beide Gewässer erhalten je nach den Umständen verschiedene Anteile der Gesamtwassermenge, gewöhnlich aber der Pregel drei Fünftel. Sie haben sehr wenig Gefälle und werden daher sehr leicht gestaut. Bei westlichen Winden wird das Wasser des Frischen Haffs gegen die Pregelmündung getrieben, das Wasser des Pregelunterlaufs staut sich an und infolgedessen nimmt mehr Wasser des Pregeloberlaufs seinen Weg durch die Deime, zumal, da zu gleicher Zeit das Kurische Haff zu fallen pflegt. Umgekehrt wird bei nördlichen Winden der Wasserabfluß in der Deime gehemmt und im Pregelunterlauf begünstigt. Dauern die westlichen, den Pregel stauenden Winde mehrere Tage lang an, so kann es dahin kommen, daß das Pregelwasser bei Königsberg nicht nur seinen Abfluß verzögert, sondern sogar festgehalten wird, so daß der Pregel einem stagnierenden See vergleichbar ist.



- | | | |
|----------------------|---------------------|-------------------------|
| 1 Zellstofffabrik | 9 Fischmark | 17 Eisenbahnbrücke |
| 2 Spundfabrik | 10 Hundegatt | 18 Holländer Baum |
| 3 Pionierbad | 11 Jerusalem | 19 Gasanstalt |
| 4 Pontons | 12 Südwall | 20 Restauration Assmann |
| 5 Nordwall | 13 Hohe Brücke | 21 Walzmühle |
| 6 Wollwäscherei | 14 Kaiserbrücke | 22 Silospeicher |
| 7 Katholische Kirche | 15 Kneiphof SO-Ecke | 23 Continer Beek |
| 8 Holzbrücke | 16 Grüne Brücke | 24 Union |

Wie aus der beigegebenen Lageskizze zu ersehen ist, erreicht der Pregel Königsberg in zwei Flußbetten, dem südlichen Alten Pregel und dem nördlichen Neuen Pregel, die an dem Inselstadtteil Kneiphof durch einen kurzen Arm miteinander in Verbindung treten und sich dann im Westen des Kneiphofs, bei der Grünen Brücke, ganz vereinigen.

Natürlich erhält der Pregel oberhalb, innerhalb und unterhalb der Stadt allerlei Zufüsse — z. B. Brauerei- und sonstige Fabrikabwässer, Schmutzgräben, Abfälle von den auf dem Flusse verkehrenden Schiffen, gelegentlich auch Straßenabwässer und Kanalüberlaufwässer. Doch diese führen, wie Erhebungen und Untersuchungen ergeben haben, entweder keine nachweisbare Verschmutzung des Pregels herbei oder kommen gegenüber der Masse der Zellstofffabrikabwässer nicht in Betracht, können also hier übergangen werden.

Bei der Untersuchung des Pregels wurde so vorgegangen, daß zu verschiedenen Jahreszeiten und unter verschiedenen Witterungsverhältnissen Wasser an verschiedenen, stets wieder wahrgenommenen Stellen entnommen wurde, um so Vergleiche zwischen den einzelnen Untersuchungsergebnissen im ganzen anstellen zu können. Zur Entnahme des Wassers wurde der Pregel in einem kleinen Dampfboot befahren. Aus den oberflächlichen Schichten wurde das Wasser in gereinigten Literflaschen unter Führung der Hand, aus der Tiefe auch in Literflaschen, aber mit dem

von Esmarchschen Schöpfapparat entnommen und bis zum Schluß der alsbald vorgenommenen Untersuchung in den Flaschen belassen. Die zur bakteriologischen Prüfung nötigen Proben wurden mit sterilisierten Röhrchen entnommen und in der warmen Jahreszeit bis zur Verarbeitung, die sofort nach Beendigung der Fahrt stattfand, in Eis verpackt, aufbewahrt. Bei der Untersuchung der Wasserproben, deren wesentliche Ergebnisse in den folgenden sechs Tabellen zusammengefaßt sind, wurden keine vollständigen Analysen des Wassers gemacht, sondern es wurde nur auf die Anzeichen der Verschmutzung hin geprüft, ja, es wurden sogar nicht einmal bei allen Untersuchungsreihen dieselben Proben angestellt, sondern nur diejenigen, welche jeweilig von Interesse waren und ein verwertbares Ergebnis versprachen.

Die Proben wurden jedesmal auf Farbe, Trübung und Geruch geprüft. Die Trübung des Wassers, die sonst nur durch schätzungsweisen Vergleich in Schaugläsern festgestellt wurde, wurde einmal — Tabelle V — nach Kiskalts Methode genau bestimmt und in Prozenten der Lichtdurchlässigkeit im Vergleich mit destilliertem Wasser ausgedrückt. Die Feststellung des Gehaltes an suspendierten Teilchen, an gelöster und an verbrennbarer Trockensubstanz wurde bald aufgegeben, da sich dabei keine nennenswerten und die Beurteilung beeinflussenden Unterschiede ergaben. Dagegen wurde als Hauptsache stets und bei allen Proben der Gehalt an gelöster organischer Substanz ermittelt und zwar nach der Methode von Kubel-Tiemann. Es ist demnach in den Tabellen durch die Menge des Sauerstoffs, der zur Oxydierung der organischen Substanz notwendig ist, ausgedrückt worden. Außerdem wurden die Wasserproben bei etwa 22° C, also Sommerwärme, längere Zeit stehen gelassen, um zu sehen, ob überhaupt und in welchen Proben Fäulnis verratende Veränderungen auftreten würden. Auch der Gehalt des Pregelwassers an gelöstem Sauerstoff wurde einige Male nach der Methode von Lehmann ermittelt, da die Erfahrung lehrt, daß Oberflächenwasser, wenn starke Zersetzungsvorgänge in ihm stattfinden, das sonst in ihm in bestimmter Menge gelöste Oxygen verliert. Die Bakterienflora des Pregels wurde nur insofern untersucht, als die Zahl der Keime ermittelt wurde. Auf die Feststellung der Arten mußte wegen der überaus großen Zahl und des Wechsels derselben verzichtet werden, sie kommt auch für die Beurteilung der Verhältnisse nicht in Betracht.

Vorbemerkungen.

Organische Substanz angegeben in x^{mg} Sauerstoffverbrauch für 1 Liter Wasser. — Keimzahl angegeben für 1^{ccm} Wasser. — Moder- bzw. Fäulnisgeruch: 0 = nichts, + = wenig, ++ = mäßig, +++ = stark, ++++ = sehr stark.

Tabelle I. Erste Pregeluntersuchung am 4. November 1905 vormittags.
 Seit 2 Tagen westliche Winde, Wetter des Untersuchungstages: leichter NW-Wind, Himmel trübe, etwas Regen,
 Wassertemperatur + 6.9° C. Wasserstand (gemessen am Pegel der grünen Brücke, mittlerer Stand 2.43) = 2.55 m
 (an den Tagen vorher 2.42—2.35—2.36).

Proben oberflächlich entnommen bei	Organische Substanz mg O ₂	Keimzahl	Durch- sichtig- keit	Fäulnis nach 1—2 Wochen langem Stehen- lassen bei 22° C.	Beschaffenheit des Wassers bei der Entnahme
Alter Pregel:					
Jerusalem	14.4	4 750		0	Wasser ziemlich klar, kein Bodensatz, kein Geruch.
Südwall	28.6	5 210		0	
Hohe Brücke	17.0	6 150		++	
Kneiphof SO-Ecke	11.6	5 450		+	
Neuer Pregel:					
1 km oberh. d. Zellstoffabr.	15.2	4 010		0	Aromat. kienartiger Geruch. Trübe, mit Pilzflocken, die haupt- sächlich aus Bakt. u. Cladotrich natans Migula bestehen.
Überlaufbecken d. Fabrik	—	—		Bleipapier etwa vom 2. bis 16. Tage gebräunt, also Entwicklung von Schwefelwasserstoff!	
Nordwall					
	24.4	3 400		+++	etwas dunkler als das übrige Wasser, kein Geruch
Unterhalb Nordwall	31.4	6 650		++	
Katholische Kirche	52.4	6 950		+++	} wenig ausgeprägte Braun- färbung
Holzbrücke	34.6	12 400		++	
Fischmarkt	37.6	21 800		+	
Vereinigter Pregel:					
Grüne Brücke	34.6	21 900		+	} deutliche Braunfärbung
Eisenbahnbrücke	19.2	12 400		0	
Restaurant Assmann	20.4	9 950		0	
Silospeicher	22.2	14 600		0	
Pregel bei Einmündung der Continer Beck	27.2	108 000		0	
Union	15.0	17 600		++	

Bei Prüfung in Schangläsern kein brauchbarer Unterschied!

Tabelle II. Zweite Pregeluntersuchung am 25. November 1905 vormittags.
Zwei Tage vorher südwestlicher Wind, trübes Wetter.

Am Untersuchungstag: Wetter unbeständig, frischer WNW, später W, Wassertemperatur + 1.75° C.
Wasserstand an der Grünen Brücke 2.52^m (vorher 2.22—2.53—2.19).

P r o b e n entnommen bei	Organische Substanz (mg O ₄)		Beschaffenheit des Wassers bei der Entnahme	F ä u l n i s nach 1—2 Wochen langem Stehenlassen bei 22°	
	oberflächlich	3 m tief		oberflächlich	3 m tief
Gabelung des Pregelunter- laufs bei Arnau im Alten und Neuen Pregel . . .	18.5		Kein Moder- oder Fäulnisgeruch! Wasser dunkler (bräunlich) gefärbt als bei den anderen Proben	0	0
Alter Pregel:					
Stüwall	28.5			0	0
Kneiphof SO-Ecke . . .	28.5	27.5		0	0
Neuer Pregel:					
Nordwall	37.0	34.0		0	+
Katholische Kirche . .	67.0	62.0		++	++
Holzbrücke	47.2	47.8		0	+
Fischmarkt	41.5	42.0		+	0
Vereinigter Pregel:					
Grüne Brücke	56.5	42.0	0	0	
Holländer Baum	32.0	38.5	0	0	

Tabelle III. Dritte Pregeluntersuchung am 4. Dezember 1905 vormittags.
 Seit 2 Tagen westliche Winde, bedeckt. Am Untersuchungstage: Nebliches Wetter, leiser WSW bis SW-Wind, Wassertemperatur $-1/2^{\circ}$ C, Lufttemperatur $-3-3^{\circ}$ C. Auf dem Pregel leichte Eisdecke oder dünne Eisschollen. Wasserstand an der Grünen Brücke 2.32^m (vorher 2.39—2.31—2.27).

P r o b e n entnommen bei	Organische Substanz mg O ₂		Beschaffenheit bei der Entnahme	F ä u l n i s nach 1—2 Wochen langem Stehenlassen bei 22° C	
	oberflächlich	1 1/2 bis 3 m tief entnommen		oberflächlich	tief
Alter Pregel:					
Hohe Brücke	18.25			0	0
Neuer Pregel:					
1 km oberhalb der Zellstoff- fabrik	14.75			++	++ ++
kurz unterhalb der Zell- stoffabrik	22.75	Diese Proben — oberflächlich u. tief — wurden dicht am Nordufer entnom- men, daher ist dies- mal das Wasser so verschieden!		0	0
oberhalb der Spundfabrik	17.25			++	++ ++
Spundfabrik	22.75			+	++
Pionierbad	21.5			+	++
Pontons	17.25			++	++
Nordwall	20.25			0	0
Wollwäscherei	25.75			0	0
Katholische Kirche	89.0			0	0
Holzbrücke	82.75			+	++
Fischmarkt	29.5			0	++
Vereinigter Pregel:					
Grüne Brücke	25.5		Kein deutlicher Unterschied wahrnehmbar, kein Geruch!	0	0
Eisenbahnbrücke	28.0			0	0

Tabelle IV.

Vierte Pregeluntersuchung am 28. April 1906 vormittags.

Seit 3 Tagen westliche Winde.

Am Untersuchungstag: Himmel bedeckt, schwacher NW-Wind, Wassertemperatur + 10.0° C, Lufttemperatur + 4.5° C.

Wasserstand an der Grünen Brücke 2.32^m (vorher 2.27—2.45—2.48).

Proben tief entnommen bei	Organische Substanz (mg O ₂)	Beschaffenheit bei der Entnahme	Fäulnis nach 1—2 Wochen langem Stehenlassen bei 22° C
Gabelung bei Arnau . .	16.5		+
Alter Pregel:			
Neuendorf (oberhalb Jerusalem)	14.5		0
Südwall	17.5		0
Hohe Brücke	16.0		+
Kaiserbrücke	14.5		0
Kneiphof SO-Ecke . . .	18.5		0—+
Neuer Pregel:			
1 1/2 km oberhalb der Zell- stoffabrik	18.0		0
400 m oberhalb der Zell- stoffabrik	11.0		0
Pontons	43.5		++
Unterhalb des Nordwalls	32.0		++
Wollwäscherei	27.5		0
Katholische Kirche . . .	32.5		++
Holzbrücke	36.5	Wasser etwas braun, wird später dunkler!	(nach schwefl. Säure) +
Fischmarkt	37.0		0
Hundegatt	49.5		++
Vereinigter Pregel			
Grüne Brücke	25.5		++
Eisenbahnbrücke	31.0		+
Holländer Baum	30.0		++

Sonst kein Unterschied wahrnehmbar, kein Geruch!

Tabelle V. Fünfte Pregeluntersuchung am 26. Mai 1906 vormittags.
 Am Tag vorher SW-Wind, heiter. Am Untersuchungstag: leichter WSW-Wind, heiter. Wassertemp. + 17.5° C,
 Lufttemp. + 13 bis 14° C. Wasserstand an der Grünen Brücke 2.27^m (vorher 2.84—2.25—2.80).

Proben 1 ^m tief entnommen bei	Organische Substanz (mg O ₂)	Keimzahl	Lichtdurchlässigkeit im Vergleich mit destill. Wasser (nach Kiskalt) ausgedrückt in Prozenten	Beschaffenheit bei der Entnahme	Fäulnis nach 1—2 Wochen langem Stehenlassen bei 22° C
Alter Pregel:					
Südwall	25.5	10 600	89.9		0
Hohe Brücke	16.2	14 600	89.9		+
Kneiphof SO-Ecke	25.5	57 600	87.4		+
Neuer Pregel:					
1 ^{km} oberhalb der Zellstoff- fabrik	20.1	2 800	89.9		0
Unterhalb d. Zellstofffabr. Pontons	48.5	11 800	87.4		0
Nordwall	49.0	4 400	87.4		+
Wollwäscherei	67.1	14 400	85.3		0
Katholische Kirche	48.1	23 400	85.3		+
Holzbrücke	48.6	51 200	85.3		+
Fischmarkt	49.0	148 000	85.3		+
Hundegatt	48.6	—	87.4		+
	82.5	1 152 800	89.9		+
Vereinigte Pregel:					
Grüne Brücke	47.1	843 000	87.4		+
Holländer Baum	44.9	1 142 400	87.4		+
Pregel oberhalb der Beck .. . Stromrichtg. d. Beck	86.8	827 600	87.4		0
	85.8	253 600	86.3		+
				Schwach braun, wird später dunkler	
				Sonst kein Unterschied, kein Geruch!	

Tabelle VI. Sechste Pregeluntersuchung am 19. Juli 1906 vormittags.

Seit 4 Tagen trübes Wetter, seit 7 Tagen westliche Winde, frisch bis schwach.

Am Untersuchungstag: leichter WSW-Wind, heiter. Wassertemp. 21.0° C, Lufttemp. 19.7° C. Typischer „Pregelgestank“! Wasserstand an der Grünen Brücke 2.48 m (vorher 2.57—2.55—2.56—2.66).

Proben 2 m tief entnommen bei	Organische Substanz (mg O ₂)	Keimzahl	Beschaffenheit bei der Entnahme	Weiteres Verhalten
Alter Pregel:				
Hohe Brücke	16.1	2 800	Auf dem Alten Pregel ist das Wasser graugrünlich, etwas trüber als das des Neuen Pregels. Kein Geruch nach schwefliger Säure, nur der Geruch, den alle offenen Gewässer im Sommer zeigen. An der SO-Ecke des Kneiphofs tritt ziemlich unvermittelt der Pregelgestank auf, das Wasser wird schwarz.	Kein Fäulnisgeruch.
Kaiserbrücke	16.5	5 600		
Neuer Pregel:				
1 km oberh. d. Zellstofffabr.	25.2	5 000.	Wasser grünlich, ziemlich klar, kein Geruch.	Bleipapier 3 Tage hindurch geschwärzt, also Entwicklung v. Schwefelwasserstoff.
Wasser vom Überlauf- becken der Zellstofffabrik	477.3	4 624 000	Wasser braun, trübe, mit flockigen Pilzmassen; scharfer, etwas kienartiger und säuerlicher Geruch.	
Nordwall	78.0	289 000	Von etwa 800 m unterhalb der Zellstofffabrik an trübt sich das Wasser zusehends und verfärbt sich grauschwarzbraun bis später grauschwarz. Am Ufer sieht man häufig Gasblasen. Der Geruch erinnert deutlich an den säuerlichen Geruch in der Zellstofffabrik, ist aber untermischt mit äußerst unangenehmem Fäulnisgeruch. Am stärksten ist er etwa zwischen Katholischer Kirche und Walzmühle. Kurze Zeit in das schwarze Wasser gehaltenes Silber läuft gelb an; diese offenbar durch Schwefelwasserstoff verursachte Verfärbung beginnt etwa in der Gegend des Hundegatt, ist am stärksten in der Höhe der Eisenbahnbrücke, läßt sich aber noch bis hinter der	
Katholische Kirche	89.4	245 000		
Holzbrücke	55.9	872 000		
Hundegatt	56.8	2 856 000		
Vereinigter Pregel:				
Holländer Baum	89.2	8 028 000		Wasser bei Walzmühle geschwärzt am 1. Tage Bleipapier.
Gasanstalt	90.8	678 000		
Walzmühle	48.6			
Oberhalb der Beek	78.5	281 000	Wasser immer noch trübe, grauschwarz. Der Geruch ist nicht mehr so stark, nimmt allmählich ab.	
Union	96.8	204 000		

Wenn man auf den Tabellen die Pregelwasserproben von den verschiedenen Entnahmestellen untereinander vergleicht, so fällt sofort auf, daß sich das Pregelwasser in einer gewissen und im wesentlichen stets wiederkehrenden Ausdehnung verschlechtert zeigt. Diese Flußverunreinigung zeigt hohe Grade, wie es besonders aus der sechsten Untersuchungsreihe — während der Zeit des Pregelgestankes — ersichtlich ist. Die Tabelle VI zeigt überhaupt die Verhältnisse am reinsten, so daß es notwendig ist, sie zunächst und ausführlich zu besprechen.

Das Wasser des nördlichen, Neuen Pregels, ist weit oberhalb der Stadt ziemlich rein, der in der Stadt wahrnehmbare typische Pregelgestank und die Mißfärbung fehlen hier und treten fast unvermittelt etwa 300^m unterhalb der Zellstofffabrik auf, also schon außerhalb der Stadt. Sie erreichen ihren Höhepunkt im westlichen Teile der Stadt und im vereinigten Pregelunterlauf, außerhalb der Stadt wird der Geruch allmählich schwächer und verschwindet, während die Verfärbung bis zur Einmündung in das Haff bleibt. Bei dem südlichen, Alten Pregel, ist oberhalb der Stadt ebenfalls weder Mißfärbung, noch Gestank festzustellen, ja, und das ist besonders bemerkenswert, auch nicht in der Stadt; erst an der Verbindungsstelle zwischen Altem und Neuem Pregel, an der Südostecke des Kneiphofs, treten die Pregelveränderungen auf und zwar scharf abgesetzt, beinahe plötzlich. Diese grobsinnlichen Anzeichen der Verschmutzung und Fäulnis des Pregelwassers, die durch den Gegensatz zu dem unter denselben Verhältnissen die Stadt durchfließenden südlichen Pregelarm bei dem nördlichen Arm um so aufdringlicher zur Wahrnehmung kommen, werden durch die chemische und bakteriologische Untersuchung vollkommen bestätigt. Während im Alten Pregel das Wasser fast unverändert an organischer Substanzmenge und Keimgehalt die Stadt durchfließt, schnellen die Werte hierfür bei dem Neuen Pregel kurz unterhalb der Zellstofffabrik — noch vor der Stadt — ganz beträchtlich in die Höhe, erreichen dann eine beinahe unglaubliche Größe an der Stelle des stärksten Pregelgestankes und der tiefsten Mißfärbung, um dann allmählich wieder geringer zu werden.

Aber auch die anderen Tabellen zeigen — wie schon erwähnt — ein gleiches, wenn auch nicht so auffälliges Ergebnis. Wenn man alle Untersuchungsergebnisse zusammenfaßt und vergleicht, nimmt man folgende grundlegenden Unterschiede wahr:

Das Wasser oberhalb der Stadt ist sowohl auf dem Alten, als auch auf dem Neuen Pregel stets verhältnismäßig rein, ohne Geruch und abnorme Färbung.

Innerhalb der Stadt wird das Wasser des Alten Pregels bis zur Südostecke des Kneiphofs — also der Verbindungsstelle zwischen Altem und Neuem Pregel — stets nur ganz wenig verunreinigt. Dagegen zeigt das Wasser des Neuen Pregels jedesmal eine ganz auffallende, fast plötzlich einsetzende Verschmutzung, die sich hauptsächlich in dem bei manchen Untersuchungsreihen auf das Drei- und Vierfache zunehmenden Gehalt an organischer Substanz, an der Mißfärbung und (Tabelle VI) dem üblen Geruch kundgibt. Wie stark der Unterschied ist, lehrt ein Vergleich zwischen entsprechend liegenden Punkten des Alten und Neuen Pregels, z. B. Nordwall und Südwall, katholischer Kirche und Kaiserbrücke.

Der untere, vereinigte Pregel, von der Grünen Brücke abwärts, zeigt die Verhältnisse des Neuen Pregels, wie es ja nicht anders zu erwarten ist, da ja in ihm sich Alter und Neuer Pregel mischen. Doch ist hervorzuheben, daß die Anzeichen der Verschmutzung flußabwärts wieder abnehmen.

Die Untersuchungen des Pregelwassers auf Keimzahl haben ein Ergebnis, das im wesentlichen mit denen der chemischen Untersuchungen übereinstimmt. Das an sich nicht sehr keimreiche Pregelwasser enthält an denjenigen Stellen, die sich auch durch die chemische Prüfung als stark verunreinigt erweisen, zum Teil geradezu enorme Massen von Bakterien.

Neben diesen Gruppenuntersuchungen wurden noch außer der Reihe einzelne Untersuchungen zu besonderen Zwecken angestellt. Von den betreffenden Ergebnissen ist als besonders wichtig hervorzuheben, daß das Pregelwasser in den am stärksten verunreinigten Bezirken seinen Sauerstoffgehalt in sehr erheblichem Maße verliert. In einem Versuche vom 20. VIII. 1906 wurde durch die Methode von Lehmann festgestellt, daß das Wasser des Alten Pregels in der Gegend des Südwalles in 1^m Tiefe 7·0^{ccm} Sauerstoff pro 1 Liter enthielt, also nahezu gesättigt war, während das Wasser aus derselben Tiefe in der Nähe des Holländer Baums nur 0·24^{ccm} in 1 Liter enthielt. Auf diesen Verlust des Sauerstoffgehalts dürfte das gelegentliche Fischsterben im Pregel zurückzuführen sein.

Als Quelle der bedeutenden Verunreinigung des Pregels mit organischen Abfallstoffen, deren Zersetzung der üble Geruch des Pregels zuzuschreiben ist, sind nach den vorliegenden Untersuchungen ganz unzweifelhaft die Abwässer der Zellstofffabrik anzusehen. Das beweist der Unterschied zwischen dem Wasser oberhalb und unterhalb der Fabrik, wie er besonders in den Tabellen IV bis VI hervortritt, und der schon erwähnte, in die Auge fallenden Unterschied zwischen dem verschmutzten Neuen Pregel, an dem die Fabrik

liegt, und dem reinen Alten Pregel. In der Tat führen die Abwässer der Zellstoffabrik dem Fluß eine Unsumme zersetzungsfähiger Substanzen zu. Die Fabrik arbeitet nach dem Tilghman-Mitscherlich'schen Verfahren, d. h. sie kocht das Holz mit einer Lösung von schweflig-saurem Kalk in wäßriger Lösung von schwefliger Säure. Dabei werden alle Substanzen des Holzes, die nicht Zellulose sind, die „inkrustierende Substanz“, gelöst und in „Lignosulfitkörper“ übergeführt. Es sind dies mindestens 30 Prozent des Holzes, also, da täglich 160 000^{kg} Holz verarbeitet werden, täglich 48 000^{kg} Trockengewicht. Diese Menge gelöster organischer Substanz kommt täglich in den träge fließenden Pregel und muß sich unter besonderen Umständen natürlich bemerkbar machen. Eine Kontrolluntersuchung der von dem Überlaufbecken der Fabrik in den Pregel abfließenden Abwässer, die zur Zurückhaltung der freien Säure mit Kalkmilch behandelt und außerdem durch die sämtlichen Waschwässer stark verdünnt werden, ergab (Tabelle VI) 477.3^{mg} Sauerstoffverbrauch zur Oxydierung der organischen Substanz in 1 Liter und 4 624 000 Keime in 1^{ccm}.

Wenn nun auch die Zellstoffabrikabwässer Eigenschaften haben, die die Verunreinigung eines Flusses von vornherein als möglich annehmen lassen, so ist ein solcher Fall, wie eingangs erwähnt, bei größeren Flüssen doch noch nicht eingetreten. Bei dem Pregel liegen eben ganz besondere Verhältnisse vor, er hat im Gegensatz zu anderen Flüssen ein so schwaches Gefälle, daß er zu gewissen Zeiten stagniert und so die in ihn hineingelangten Verunreinigungen nicht genügend verdünnen und verarbeiten kann, ja, die faulenden Massen noch dazu tagelang innerhalb der Stadt festhält.

War es durch die örtliche Verteilung der Pregelverschmutzung aufs Höchste wahrscheinlich geworden, daß nur die Zelluloseabwässer die Schuld daran haben könnten, so fehlte doch der unmittelbare Beweis, der nur experimentell durch die künstliche Erzeugung der so charakteristischen Fäulnisvorgänge, wie sie im Pregel beobachtet werden, geführt werden konnte. Auch dies gelang.

Daß die Lignosulfitstoffe Schwefelwasserstoff entwickeln können, zeigten zwei Proben von diesem Kochlaugenwasser aus dem Überlaufbecken der Fabrik, denn sie schwärzten Bleipapier. Auch die auffallende Gelbfärbung von Silber, die bei der sechsten Untersuchung in dem verunreinigten Wasser festgestellt wurde, zeigt, daß das mit Lignosulfitsubstanzen beladene Pregelwasser zu dieser Zeit reichlich Schwefelwasserstoff entwickelte.

Die Kochlauge der Zellstoffabrik ist auch die Ursache der Dunkel-färbung des Pregelwassers. Proben unverdünnter Kochlauge (aus

dem Kochkessel), die nach Neutralisierung mit Kalkmilch durch Leitungswasser auf 1:1000 und 1:10 000 verdünnt wurden, ließen anfangs ganz schwache, allmählich aber stärker werdende Braunfärbung erkennen.

Daß die in der Kochlauge enthaltenen organischen Substanzen zersetzungsfähig sind, zeigten Verdünnungen mit neutralisierter Kochlauge mit Leitungswasser von 1:10 000 und 1:100 000, die beim längeren Stehen in Zimmerwärme moderigen Geruch entwickelten, während Leitungswasser ohne Kochlauge geruchlos blieb. Dieses Experiment wurde bei geringer Wärme und unter aeroben Verhältnissen ausgeführt; es gelang aber auch, durch bestimmte Modifikation der Versuchsbedingungen den typischen Pregelgestank künstlich zu erzeugen.

Wir wurden auf die richtige Spur durch die Beobachtung geführt, daß der Pregel zu der Zeit, wo er den eigentümlichen Gestank zeigt, nur noch sehr geringe Mengen von freiem Sauerstoff enthält, und daraus schlossen wir, daß die Entstehung des Gestankes höchstwahrscheinlich mit diesen sich im Pregel spontan ausbildenden anaeroben Verhältnissen etwas zu tun haben müsse. Diese Auffassung wurde noch bestärkt durch oben besprochene Tatsache, daß Verdünnungen von Kochlauge mit Leitungswasser in Berührung mit der Luft trotz wochenlangen Stehens bei 22° nur einen eigentümlich moderigen Geruch, nie aber den gar nicht zu verkennenden Pregelgestank annahmen. Es wurde deshalb die folgende Versuchsanordnung gewählt:

Die frische unverdünnte Kochlauge wurde zunächst neutralisiert und dann im Verhältnis 1:100 mit gewöhnlichem Leitungswasser aus der städtischen Wasserleitung verdünnt. Es wurde absichtlich Leitungswasser genommen, nicht Pregelwasser, um die Möglichkeit auszuschließen, daß andere im Pregelwasser außer der Kochlauge enthaltenen organischen Stoffe als Ursachen des Pregelgestankes in Betracht kommen könnten. Diese Kochlaugeverdünnungen wurden dann in Flaschen gefüllt, die durch Gummistopfen mit Steigrohr fest verschlossen wurden, so daß die Flüssigkeit die untere Fläche des Stopfens benetzte. Vor dem Einstellen in den Brütschrank wurden die Wasserproben mit kleinsten Mengen Pregelschlamm, in dem man ja die den Pregelgestank erzeugenden Mikroorganismen vermuten mußte, geimpft. Die frischen, eben angesetzten Wasserproben enthielten natürlich noch den ursprünglich im Leitungswasser gelösten Sauerstoff. War die oben geäußerte Ansicht über die Entstehung des Pregelgestankes richtig, so mußte in den von der Luft abgeschlossen aufbewahrten Proben der darin gelöste freie Sauerstoff langsam verbraucht werden, bis anaerobe Bedingungen sich ausbilden

konnten, und dann erst der Gestank zutage treten. Die Versuchsergebnisse entsprachen dieser Annahme.

Die Proben entwickelten in den ersten Tagen bei 37° C ein geruchloses, nicht brennbares Gas, das wahrscheinlich aus dem Rest der ursprünglich im Wasser gelösten Luft bestand, dann aber — nach 4 bis 6 Tagen — Gas von dem eigentümlich fauligen Pregelgestank. Ebenso zubereitete Proben, die bei einer Wärme von 22° C gehalten wurden, entwickelten erst nach 6 bis 8 Tagen und in geringerem Maße den typischen Fäulnisgeruch. Eine Kontrollprobe von Leitungswasser ohne Kochlaugezusatz, aber mit Pregelschlamm, ließ keinen Fäulnisgeruch wahrnehmen, was ganz natürlich ist, da das Königsberger Leitungswasser nur geringe Mengen von fäulnisfähiger Substanz enthält. Bei anderen Kontrollproben, die zwar mit Kochlauge versetzt, aber nicht mit Pregelschlamm geimpft waren, ließ sich nur ein dumpfiger Geruch feststellen. Diese für unsere Auffassung von der Entstehung des Pregelgestankes grundlegenden Versuche wurden mehrfach wiederholt mit stets eindeutigem Ergebnis. Wichtig ist, daß die charakteristische Fäulnis der Kochlaugeverdünnungen auch durch Impfungen mit Kanaljauche oder Erde erreicht werden konnte.

Der fürs erste auffällig erscheinende Umstand, daß die während des ganzen Jahres erfolgende Verschmutzung des Pregels sich nur im Hochsommer durch Hervorrufung eines üblen Geruches bemerkbar macht, hat wohl, wie der eben geschilderte Versuch nahelegt, seinen Grund darin, daß die Urheber dieses Zersetzungsgeruches ganz bestimmte Mikrobenarten sein werden, welche nur unter bestimmten Verhältnissen — nur bei höherer Temperatur und unter Ausschluß von Sauerstoff — gedeihen oder zersetzend wirken können. Diese Mikrobenarten näher zu bestimmen, dürfte bei der überaus zahlreichen und bunten niederen Flora und Fauna des Pregelwassers sehr schwer sein, hat auch für die in Betracht kommenden praktischen Maßnahmen zur Verhütung der Pregelverunreinigung keine Bedeutung. — Daß die Verschmutzung des Pregelwassers durch die Bisulfitkochlauge sich nicht immer gleich unterhalb der Fabrik kenntlich macht, ist dadurch zu erklären, daß die Lauge, die vom Überlaufbecken aus auf den Grund des Pregels geleitet wird, sich erst nach einer gewissen Zeit und Strecke vollständig mit dem Pregelwasser mischt.

Wenn nun die Lignosulfitsubstanzen die Ursache der Verschmutzung und Fäulnis des Pregelwassers sind, so muß dieser Uebelstand aufhören, sobald sie nicht mehr in den Fluß geleitet werden. Da eine nutzbringende Verarbeitung der Kochlauge trotz aller Versuche bisher noch nicht geglückt und auch die Vernichtung noch zu teuer ist, so kommt unter den Königsberger Verhältnissen nur die Abführung der Abwässer in die

städtische Kanalisation in Betracht. — In diesem Sinne haben sich auch der Magistrat von Königsberg und die Fabrikleitung geeinigt und es ist infolgedessen der Fabrik der Anschluß an die Kanalisation unter folgenden Hauptbedingungen gewährt worden: „1. Die Abwässer müssen vor dem Eintritt in den Straßenkanal durch Zusatz von Kalk oder anderen Chemikalien geklärt und derartig neutralisiert werden, daß der Bestand der Kanalwandungen und des Kanaleisenwerks nicht gefährdet wird, und der Säuregehalt der eingeleiteten Abwässer darf 0.06 Prozent nicht übersteigen. 2. Die Temperatur der Abwässer muß in genügend großen Mischbehältern derart herabgemindert werden, daß sie an der Eintrittsstelle in den Straßenkanal nicht übersteigt vom 1. April bis 30. September 40° C, vom 1. Oktober bis 31. März 35° C. Die Menge der zum Ablauf gelangenden Abwässer muß durch eine geeignete Ablaufvorrichtung (Schwenkrohr) so reguliert werden, daß dem Straßenkanal nicht mehr als die durchschnittliche sekundliche Abflußmenge, die sich bei einer gleichmäßigen Verteilung des Tagesquantums auf 24 Stunden ergibt, zufließt.“

Die in den Stadtverordnetenversammlungen, welche über die Verhütung der Pregelverunreinigungen berieten, geäußerten Bedenken über diese Einleitung der Zellstofffabrikabwässer in die Kanalisation sind grundlos. Die Säuremenge von 0.06 Prozent ist der Erfahrung nach unschädlich, erlaubt doch der Berliner Magistrat eine Zuleitung von Abwässern mit 0.1 Prozent Säure in die Berliner Kanalisation. Auch eine Verschlammung der Leitungsrohre durch Holzfasern und Pilzwucherungen ist wohl kaum zu fürchten.

Mehr Berechtigung hat die Frage, ob die Beimengung der Lignosulfitsubstanzen zur Kanaljauche diese nicht für die Berieselung, zu der sie ja teilweise benutzt wird, unbrauchbar macht. Die bisherigen Berieselungsversuche verschiedener Autoren mit Zelluloseabwässern haben keine Schädigung der Rieselfelder ergeben, auch Vorversuche im hygienischen Institut — mit Schleien, Goldfischen und verschiedenen Zier- und Nutzpflanzen — brachten keine belastenden Ergebnisse, sie wurden jedoch eingestellt, da sie nicht zu dem Arbeitsgebiet des Instituts gehören und es Sache der landwirtschaftlichen Institute und Versuchsgüter wäre, diese wichtige Frage zu beantworten.

Die in dieser Arbeit berichteten Untersuchungen haben ein doppeltes praktisches Ergebnis gezeigt: Das geschilderte Auftreten lästiger Übelstände und das Auffinden ihrer Ursache bei Vorhandensein mehrerer mutmaßlicher Verunreinigungsquellen ergeben wohl eine interessante Vermehrung unserer bisher geringen Erfahrung über Flußverunreinigung

durch Lignosulfitaabwässer und ihren Nachweis. Vor allem aber gibt uns der Aufschluß über das Zustandekommen der geschilderten Übelstände auch neue wertvolle Anhaltspunkte für die bei der Anlage einer Zellstofffabrik zu berücksichtigenden Zustände.

Zum Schluß sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Hrn. Geheimrat Pfeiffer, für die Überlassung der Arbeit und die ständige Beratung bei ihrer Ausführung meinen ergebenen Dank auszusprechen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Helsingfors, Finnland.]

Über die Einwirkung der kleinsten Alkoholmengen auf die Widerstandsfähigkeit des tierischen Organismus mit besonderer Berücksichtigung der Nachkommenschaft.

Von

Prof. Taav. Laitinen.

Einleitung.

In mehreren Aufsätzen habe ich¹ früher mit manchen anderen Autoren durch zahlreiche Versuche gezeigt, daß der Alkohol die Widerstandsfähigkeit der Tiere herabsetzt und deren Nachkommenschaft schädigt. Die bei meinen früheren Versuchen angewendeten Alkoholgaben bezogen sich auf mindestens 0.5^o per Kilogramm Tier.

Jetzt ist es aber von allergrößter Bedeutung zu wissen, inwiefern auch die kleinsten Alkoholgaben die Widerstandsfähigkeit der Versuchstiere verändern und in welcher Richtung die Veränderungen sich äußern. Man hat ja oft behaupten wollen, daß die kleinsten Alkoholgaben überhaupt ziemlich unschädlich seien, ohne es wissenschaftlich genau konstatiert zu haben.

Um die Einwirkung der minimalen Alkoholmengen auf den tierischen Organismus zu erkennen, habe ich in den letzten 3 Jahren experimentelle Untersuchungen veranstaltet und dazu im ganzen ungefähr 600 Versuchstiere gebraucht. Die Alkoholmengen habe ich immer kleiner und kleiner (0.3; 0.2; 0.1^o per Kilogramm Tier) genommen. Bei meinen allerletzten Versuchen, deren Resultate hiermit veröffentlicht werden, habe ich nur die Dosis von 0.1^o per Tag und Kilogramm Tier ge-

¹ Diese Zeitschrift. 1900. Bd. XXXIV. — *Acta Societatis Scientiarum Fenniae*. T. XXIX. Nr. 7. — *Die Verhandlungen des X. Antialkoholkongresses*. Budapest 1904. *Wiener Therapeutische Wochenschrift*. 1904.

braucht. Die zuletzt genannte Dosis muß für sehr klein angesehen werden, sie entspricht kaum einem kleinen Glase (200 ^{ccm}) finnischem Bier für einen erwachsenen Menschen pro Tag. Diese Versuche sind natürlich mit großen Schwierigkeiten verbunden gewesen, da die Versuchstiere eine längere Zeit unter der Observation bleiben müssen und dadurch den interkurrenten Krankheiten oder anderen Störungen, die die Experimente sehr trüben, ausgesetzt sind. Schließlich habe ich die Gelegenheit gehabt, die Tiere unter sehr günstigen Bedingungen zu observieren, da die Universität mit großer Bereitwilligkeit einen sehr zweckmäßigen Tierstall im hiesigen hygienischen Institute (der Universität) eingerichtet hat. Die Experimente sind auch unerwartet gut gelungen, so daß die Versuchsserien sozusagen eine beliebige Zeit, hier bis 8 Monate lang, ohne nennenswerte Störungen fortgesetzt werden konnten.

Es sind gerade die Resultate der letztgenannten Versuchsserien, welche unter sehr günstigen Verhältnissen und in sehr langer Zeit beobachtet sind, die hiermit veröffentlicht werden. Die Resultate der übrigen Versuchsserien unterscheiden sich kaum von den hier veröffentlichten Ergebnissen; die Versuchsserien sind aber nicht so genau, unter so günstigen Verhältnissen und in so langer Zeit beobachtet worden, und werden die kasuistischen Daten hier der Kürze wegen weggelassen und nur die Resultate bei der Besprechung berücksichtigt.

1. Die Untersuchungsmethoden.

Den 14. September 1906 wurden in dem Tierstalle 40 Stück Kaninchen und 30 Stück Meerschweinchen von den unter längerer Zeit beobachteten kräftigen und vollkommen gesunden Versuchstieren in eine besondere Abteilung abgeschieden. Die 40 Kaninchen wurden in zwei verschiedene Kategorien, die in nebeneinanderstehende und ganz unter denselben Verhältnissen sich befindende Schranken gesetzt wurden, gleichmäßig à 20 geteilt. Ebenso wurden die Meerschweinchen in zwei Kategorien à 15 geteilt. Die Tiere in den beiden Kategorien waren möglichst von gleicher Größe und gleichem Alter und wurden auf eine und dieselbe Weise gefüttert. Die eine Kategorie von den beiden Tierarten diente als „Alkoholtiere“, und die andere — als „Kontrolltiere“. Ich muß noch hinzufügen, daß unter den 20 Alkoholkaninchen 13 weibliche und 7 männliche Individuen, und unter den 20 Kontrollkaninchen 12 weibliche und 8 männliche waren. Unter den 15 Alkoholmeerschweinchen dagegen waren 12 weibliche und 3 männliche, ebenso waren die Kontrollmeerschweinchen geteilt. Das Gewicht der Kaninchen wechselte anfangs zwischen 1000 bis 2000 ^{gramm}, und dasselbe der Meerschweinchen zwischen

400 bis 600 ^gmm. Das Gewicht der Tiere wurde einmal wöchentlich durch Abwiegen bestimmt. Jedes Alkoholtier bekam täglich — Sonntage ausgenommen — in einer 10prozentigen Lösung so viel reinen absoluten Alkohol, daß es 0.1 ^{ccm} per Kilogramm Tier entsprach. Die Kontrolltiere dagegen bekamen der 10prozentigen Alkohollösung entsprechende Menge reines Wasser. Die Flüssigkeit wurde mit einer graduierten Pipette in den Mund der Tiere geschöpft, und die Tiere lernten bald ohne scheinbaren Widerwillen, einige sogar gern, sowohl Alkohollösung als Wasser zu schlucken. Die Behandlungsmanipulationen waren also für Alkohol- und Kontrolltiere dieselben.

Die eventuelle Einwirkung dieser minimalen Alkoholmenge auf den tierischen Organismus wurde auf folgende fünf Untersuchungsmethoden festgestellt. Diese biologischen Reaktionen sind wohl die modernsten und genauesten, um die subtilsten Veränderungen in dem tierischen Organismus erkennen zu lassen.

Erstens wurde die Hämolyzierbarkeit der roten Blutkörperchen sowohl der Alkohol- wie Kontrolltiere in einem fremden Blutserum nach kürzerer und längerer Zeit geprüft. Zu diesem Zwecke wurde das Blut aus einer Ohrvene des Versuchstieres (hier des Kaninchens) genommen, defibriniert und nachher zweimal durch Zentrifugieren mit zehnfachem Volumen von 0.7 Prozent. physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Aus den so behandelten roten Blutkörperchen wurde nachher eine 5prozentige Mischung in physiologischer Kochsalzlösung bereitet und diese Mischung in kleine Reagenzgläser oder Probegläser verteilt — genau 1 ^{ccm} in jedes —, und nachher wurden in dieselben regelmäßig kleinere und kleinere Mengen normales Rinderblutserum zugefügt. Das Serum war nie mehr als 7 Tage alt. Zum Schluß wurde in die obengenannten Probegläser so viel physiologische Kochsalzlösung zugesetzt, daß die Flüssigkeitsvolumen in jedem Glase gleich waren. Die Probegläser wurden nachher in einen Thermostat von 37° C auf 6 Stunden gesetzt, oft geschüttelt, und nachher blieben sie in einer Temperatur von 0 bis 4° C auf 18 bis 24 Stunden stehen. Der Grad der Hämolyse wurde nachher erst notiert, außer der ersten Serie, wo die Hämolyse kurz nach der Thermostatbehandlung notiert wurde. Es sei hier bemerkt, daß die Blutnahme aus der Ohrvene auf folgende von unserem Assistenten K. F. Hirvisalo erfundene Methode geschah. Die die Blutgefäße bedeckenden, äußersten Lager wurden mit einer Schere weggeschnitten, und aus der bloßgelegten und deutlich sichtbaren Gefäßwand wurde nachher ein ungefähr $\frac{1}{2}$ ^{ccm} langes und 1 ^{mm} breites Stückchen weggeschnitten. Aus der so entstandenen Wunde konnte man die nötige Blutmenge ohne Schwierigkeit erhalten.

Zweitens wurde die bakterizide Fähigkeit des Blutes einiger (9) Alkohol- und Kontrollkaninchen untersucht. Das bakterizide Vermögen des Blutes wurde auf weniger als 24 Stunden alten Typhusbakterienkulturen aus einem und demselben Stamme geprüft. Dazu wurde auf die obenbeschriebene Weise aus der Ohrvene $\frac{1}{2}$ ^{oem} Blut genommen und mit ebensoviel ($\frac{1}{2}$ ^{oem}) 0.8 Prozent. Hirudinlösung, um die Gerinnung zu hindern, gemischt. Zu dieser Bluthirudinmischung wurde nachher eine Platinöse, immer mit einer und derselben Platinöse, aus der obengenannten Typhuskultur Bakterien zugefügt und sehr sorgfältig, möglichst gleichmäßig verteilt. Aus dieser Bluthirudin- und Bakterienmischung wurden wieder nach je 2, 5, 10, 15, 20, 40 Minuten eine Öse in Petrischalen übergeimpft, die jede ungefähr 6 ^{oem} Nährgelatine enthielt und deren Boden auf 62 Quadrate geteilt war, außer dem ersten Versuche, wo die Zahl nur 60 war. Die Zahl der Kolonien wurde nach 6 tägigem Wachstum in gewöhnlicher Zimmertemperatur gezählt. Das bakterizide Vermögen des Blutes der verschiedenen Versuchstiere wurde dadurch geschätzt, wieviel Prozent aus der ursprünglichen Kolonienzahl (die Zahl der Kolonien in den ersten Petrischalen) die Zahl der Bakterienkolonien bei jedem Versuche per Minute abgenommen hatte.

Drittens haben wir die Hydroxyl-Ionenkonzentration, d. i. die Alkaleszenz des Blutes der beiden Tierkategorien, zu bestimmen versucht. Zur Bestimmung der OH-Ionenkonzentration des Gesamtblutes habe ich eine, zu diesem Zwecke noch nicht angewendete, ganz neue Methode benutzt. Dieselbe ist gewissermaßen eine neue Applikation oder eine neue Modifikation der Methode, die von Koelichen (1900) für die Bestimmung der OH-Ionenkonzentration im allgemeinen vorgeschlagen ist. Mein Verfahren, das schon in der Festschrift für Olof Hammarsten 1906 publiziert ist und bald noch mehr vollständig veröffentlicht wird, werde ich hier nur sehr kurz referieren.

Die theoretische Erklärung der Methode ist folgende: Die Untersuchungen Koelichens und W. Bonsdorffs¹ betreffs der Gleichgewichtszustände zwischen Aceton und Diacetonalkohol haben bewiesen, daß OH-Ionen den Diacetonalkohol katalytisch in Aceton verwandeln. Da das spezifische Gewicht des Acetons bei 25° C 0.7863 und das des Diacetonalkohols 0.9306 ist, so ist also das Phänomen mit einer beträchtlichen Dilatation (ca. 16 Prozent) verbunden, die eben in verdünnten Wasserlösungen des Diacetonalkohols bemerkbar ist. Koelichen ist es weiter gelungen zu beweisen, daß die Spaltung des Diacetonalkohols durch die

¹ W. Bonsdorff, *Abhandlung*. Helsingfors 1905.

OH-Ionen in verdünnten wässrigen Lösungen eine Reaktion erster Ordnung ist. Wie bekannt, gilt für die Reaktionen erster Ordnung folgende Formel

$$\frac{dx}{dt} = K(a - x),$$

wo a die ursprüngliche Menge des verwandelbaren Stoffes darstellt, x die während der Zeit t verwandelte Menge und K den Geschwindigkeitskoeffizienten. Durch Integration der Gleichung erhält man

$$K = \frac{l}{t} \ln \frac{a}{a-x}.$$

Da das ursprüngliche Volumen des Diacetonalkohols und das Volumen x des verwandelten Stoffes nicht durch dieselbe Einheit gemessen werden können, so können wir nicht K aus der zuletzt genannten Gleichung berechnen. Da aber der Wert des Geschwindigkeitskoeffizienten K durchaus unveränderlich¹ ist, wenn wir die Berechnung der Zeit aus der ersten Observation anfangen, so bekommen wir durch Integration der Gleichung:

$$\frac{dx}{dt} = K(a - x) \text{ in Grenzen } t_0 \text{ und } t,$$

$$\int_{x_0}^x \frac{dx}{(a-x)} = \int_{t_0}^t K dt$$

und danach den Wert des Geschwindigkeitskoeffizienten

$$\frac{l}{t-t_0} \ln \frac{a-x_0}{a-x_t} = K.$$

In der Formel bedeuten t_0 und x_0 die entsprechenden Werte in der ersten Ablesung. Der Ausdruck unter dem Logarithmus stellt das Verhältnis der zur Zeit t_0 und t vorhandenen Stoffmengen dar. Wenn Proportionalität zwischen der verwandelten Stoffmenge und entsprechender Dilatation besteht, so können wir statt der Werte $a-x_0$ und $a-x_t$ die von dem Zeitpunkt t_0 und t bis zum Schlusse der Reaktion beobachteten Dilatationen einsetzen. Wenn Koelichen also eine Methode zur Bestimmung der Konzentration der aktiven OH-Ionen entdeckt hatte, so haben wir diese Methode, in bestimmter Weise modifiziert, zur Bestimmung der Konzentration der aktiven OH-Ionen im Blute anzuwenden versucht. Wir haben es mit um so größerem Interesse getan, als dieses Verfahren theoretisch die besten Voraussetzungen zu haben scheint, besonders weil die Bestimmung der Blutalkaleszenz meist durch Titrierungsmethoden ausgeführt worden ist, womit nicht nur die Konzentration der aktuellen, sondern auch die der potentiellen OH-Ionen bestimmt wird.

¹ Ostwald, *Lehrbuch der allgem. Chemie*. 2. Aufl. 2. S. 209.

Die Bestimmung der OH-Ionen des Gesamtblutes geschah nach unserer Methode folgendermaßen.

Was erstens den Dilatometer betrifft, so haben wir denselben viel kleiner konstruiert als Koelichen, weil die Blutmenge, welche aus verhältnismäßig kleinen Versuchstieren (Kaninchen) herstammten, auch verhältnismäßig klein waren. Es wäre auch natürlich sehr wünschenswert, die Bestimmungen mit kleinsten Blutmengen machen zu können, damit die Blutentnahme z. B. bei fortgesetzten vergleichenden Untersuchungen nicht zu beschwerlich würde. Der Dilatometer bestand aus einem Kügelchen (ungefähr von 2.5 ^{ccm}), dessen Oberteil mit einem feinen gleichmäßigen Kapillarröhrchen verbunden war. Die Oberspitze des Kapillarröhrchens war zur trichterartigen Erweiterung geblasen. Auf der Hinterseite des Kapillarröhrchens war eine fein gradierte Skala angebracht. Die Unterseite des Kügelchens lief in ein feines Röhrchen aus, das durch einen feineren Gummischlauch mit einem Quecksilberniveaugefäß vereinigt war; an einer gewissen Stelle war eine dicht haltende Klemme angebracht. Das Füllen des Gefäßes geschah folgendermaßen. Durch Öffnung der Klemme ließ man den Dilatometer, die Kugel und das Kapillarröhrchen bis zum Trichter sich mit Quecksilber füllen, und die zur Untersuchung genommene Flüssigkeit wurde in den Trichter gegossen. Beim Senken des Niveaugefäßes wurde die Flüssigkeit in den Dilatometer gesogen, und danach wurde der Kautschukschlauch mit der Klemme geschlossen und der Dilatometer in ein mit Filz bekleidetes gläsernes Gefäß gesetzt, wo die Temperatur mit Hilfe eines Thermoregulators immer konstant 25° C war. In die trichterförmige Erweiterung am oberen Ende des Kapillarröhrchens wurde ein leicht feuchtes Schwammstückchen gesetzt, um die Abdunstung aus dem Kapillarröhrchen zu verhindern. Das Quecksilberniveaugefäß befand sich immer auf derselben Höhe, so daß der Druck an der Klemmstelle derselbe war. Der bei den Experimenten angewendete Diacetonalkohol stammte von Merck in Darmstadt. Da der Diacetonalkohol wie auch die anderen Alkohole das Blut koagulierte, so wurde, um die Bestimmung der Blutalkaleszenz zu ermöglichen, der Blutprobe ebensoviel einer Kochsalzlösung von 0.7 Prozent zugesetzt. Der Versuch geschah folgendermaßen. Mit einem Melangeur für weiße Blutkörperchen, woran mit einem Gummischlauch ein Natronkalk und Calciumchlorid enthaltendes kleines Glasröhrchen angebracht war, um die Mischung der Kohlensäure und des Wassers mit Blutprobe bei dem Ausblasen zu verhindern, sog man den Melangeur voll Blut aus einer Ohrvene, die etwas angeschnitten war. Die Blutprobe wurde in ein kleines Reagenzröhrchen geblasen, worin ebensoviel von der obengenannten Kochsalzlösung und Diacetonalkohols zugesetzt wurde, obwohl wir aus den

Untersuchungen Koelichens wissen, daß der Kochsalzzusatz nicht ohne Einfluß auf die Reaktion ist; wir haben nämlich die Methode für vergleichende Untersuchungen versucht. Das Röhrchen wurde tüchtig geschüttelt, bis die Mischung klar und gleichmäßig war; dann wurde die genannte Mischung in den Dilatometertrichter gegossen und der Versuch, wie früher erwähnt, fortgesetzt. Die erste Ablesung beim Versuch geschah immer 10 Minuten, nachdem der Dilatometer in das obengenannte Thermostatgefäß eingesetzt war, wobei das Niveau der Flüssigkeit an einer an dem Dilatometerkapillar angebrachten beliebigen Meßskala annotiert wurde; später geschah dasselbe alle 5 Minuten oder nach längeren bestimmten Intervallen so lange (sogar bis 48 Stunden), bis die Flüssigkeit den höchsten Stehpunkt erreicht hatte. Zum Schluß wurde natürlich die höchste Einstellung der Flüssigkeit angemerkt.

Vor der ersten Ablesung wurden der Dilatometertrichter und der oberste Teil des Kapillarröhrchens sehr sorgfältig mit feinen Fließpapierstücken gereinigt, so daß die Flüssigkeitssäule nicht durch das Sinken der im Trichter gebliebenen Reste erhöht wurde. Da der Geschwindigkeitskoeffizient der Reaktion erster Ordnung nur von der „Maßeinheit der Zeit“¹ abhängt, so wurde bei der Berechnung von K in der oben angeführten Formel die Zahl der beliebigen Skala, welche das oberste Ende der Flüssigkeitssäule zurückgelegt hatte, zugesetzt. Bei der Kalkulation wurden die Briggschen Logarithmen statt der natürlichen angewendet, so daß also alle Konstante mit einem Proportionalitätsfaktor behaftet sind.

Bei der Berechnung der Konzentration der OH-Ionen hat Koelichen als Ausgangspunkt die Konstante $K = 0.02181$ für 0.0942 norm. NaOH gewählt und auf Grund der Zahlen Ostwalds betreffs der elektrischen Leitfähigkeit der 0.0942 norm. NaOH-Lösung die OH-Ionenkonzentration für 0.08762 berechnet. Später hat Kohlrausch² die Beweglichkeit der OH-Ionen bestimmt, und wenn wir auf Grund dieser bei 18° C erhaltenen Werte die Konzentration der OH-Ionen für 0.0942 norm. NaOH bei 25° C berechnen, so erhalten wir 0.08261, eine Zahl, die die Grundlage für die später beschriebenen Berechnungen abgibt.

Viertens. Die Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit gegen Infektionskrankheiten habe ich bei den Meerschweinchen durch Einspritzung von Diphtherietoxin bestimmt. In den ersten Versuchserien (siehe vorne) habe ich die Meerschweinchen erst nachher infiziert, als sie 4 Monate lang die in der Frage stehende Menge Alkohol bekommen hatten und nachher noch 35 Tage ohne Alkohol waren. In den zweiten Versuchs-

¹ Ostwald, *Lehrbuch der allgem. Chemie*. 2. Aufl. 2. S. 231.

² Vgl. Kohlrausch und Halborn, *Leitvermögen der Elektrolyte*. S. 200.

serien habe ich die Versuchstiere erst infiziert, nachdem sie 4 Monate lang Alkohol bekommen hatten und dazu noch 53 Tage ohne Alkohol waren. Der Titer des Diphtherietoxins war anfangs ziemlich genau 0.02^{cem} für Meerschweinchen von 250^{gram} , so daß das Tier binnen zwei Tagen starb. Die Toxininjektionen geschahen subkutan.

Die Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit gegen Infektionskrankheiten bei den Kaninchen dagegen wurde zufälligerweise durch Autoinfektion bestimmt. Die Kaninchen bekamen täglich die in der Frage stehende Alkoholmenge (0.1^{cem} per Kilogramm Tier), einige Tage über 8 Monate, vom 14. September 1906 bis 16. Mai 1907. Als die Versuchstiere ungefähr 7 Monate lang Alkohol bekommen hatten, wurden aus einem anderen Laboratorium zufälligerweise in unser Laboratorium einige Kaninchen, die an Kaninchenseuche (*Septicaemia cuniculi*) litten, herübergebracht. Dieselben kamen in Berührung mit den erwähnten Versuchskaninchen und infizierten dieselben (siehe weiter vorne).

Fünftens wurde die Einwirkung der Alkoholgaben der Versuchstiere auf deren Nachkommenschaft ganz besonders genau verfolgt. Dabei wurde erstens das Gewicht der neugeborenen Jungen sowohl der Alkohol- wie Kontrolltiere genau bestimmt. Das Gewicht der Meerschweinchenjungen wurde bald nach der Geburt annotiert, und dasselbe der Kaninchenjungen erst dann, als sie 3 Tage alt waren, weil sie in den ersten Tagen viel zu zart für irgendwelche Berührung sind. Natürlich wurden die Totgeborenen und in den ersten 3 Tagen Gestorbenen in die Observation mitgenommen. Die Jungen der beiden Tierarten wurden wieder nach je 10 Tagen gewogen, um die Wachstumsverhältnisse derselben kontrollieren zu können. Es sei noch hervorgehoben, daß nur die Muttertiere (die weiblichen und die männlichen Individuen) und nicht die Jungen Alkohol bekamen, ebenso wurden bei den Kontrolltieren nur die Muttertiere und nicht die Jungen mit Wasser behandelt.

Bei diesen viel Zeit raubenden und mühevollen Versuchen haben mir der Assistent des Institutes, Dr. K. F. Hirvisalo, der hauptsächlich die hämolytischen Versuche ausgeführt, mein Privatassistent cand. phil. K. O. Winter und cand. med. A. Sivola, der das bakterizide Vermögen des Blutes untersucht, geholfen.

2. Die Einwirkung der kleinen Alkoholgaben auf die Resistenz der roten Blutkörperchen gegen ein heterogenes Serum.

Es ist schon lange bekannt, daß der Alkohol eine gewisse Einwirkung auf das hämolytische Komplement des Blutes hat; so haben nämlich schon

im Jahre 1902 Abbot¹ und Bergey gezeigt, daß die täglichen Alkoholgaben die Verminderung des hämolytischen Komplements des Blutes bei den Kaninchen hervorrufen und daß die Menge der spezifisch hämolytischen Rezeptoren, die durch Immunisierung der Kaninchen mit fremdem Blute entstanden ist, kleiner wird, und dazu noch, daß die Verminderung des Komplements im Blute der mit Alkohol behandelten Kaninchen die Tiere für die toxische Einwirkung des fremden Blutes mehr empfänglich macht. Bei diesen Versuchen hatten die genannten Autoren verhältnismäßig sehr große Alkoholmengen gebraucht, sie haben nicht weniger als 3.5 bis 10^{ccm} Äthylalkohol auf einmal mit ebenso großen Teilen Wasser verdünnt gegeben. Die Zeit variierte zwischen 1 bis 27 Tagen. Also bekamen die Tiere unter dieser Zeit ca. 10 bis 380^{ccm} absoluten Äthylalkohol.

Die Menge des Komplements bei den Alkoholkaninchen wurde 20 bis 50 Prozent und die Menge der hämolytischen Rezeptoren (Immunkörper) bis 30 Prozent weniger, als die respektiven Mengen bei den Normalkaninchen.

So hat R. Trommsdorff² bei seinen Untersuchungen über die Einwirkung des Alkohols auf die Resistenz des Organismus gegen die Infektionskrankheiten gefunden, daß der Alkohol in großen oder in längerer Zeit fortgesetzten kleineren Gaben eine merkbar nachteilige Einwirkung auf die Bildung der spezifisch hämolytischen und bakteriziden Rezeptoren hatte, dagegen hatte eine kleine Gabe von Alkohol, einmal gegeben, eine günstige Einwirkung. Bei denselben Tieren (Meerschweinchen) hatte der Alkohol auch auf die Agglutininbildung eine hemmende Wirkung, dagegen wurden die Alexin- und Phagozytosevermögen kaum verändert. Was die zuletzt genannten Eigenschaften betrifft, so läßt er offen, da eine Menge von den Versuchstieren schnell starben, „vielleicht von der Alkoholintoxikation“, wie der Verfasser meint, und nicht genügend lange mit Alkohol behandelt wurden.

Trommsdorff gab für seine Versuchstiere (Meerschweinchen) ca. 10 bis 20^{ccm} einer 10- bis 20 prozent. Alkohollösung, also ziemlich große Gaben.

(Nahezu zu denselben Resultaten sind einige andere Autoren, P. Th. Müller³, Friedberger⁴ u. a., betreffs der Schutzstoffe im allgemeinen gekommen. Aus diesen Untersuchungen scheint eindeutig hervorzugehen, daß die Einwirkung des Alkohols auf das Blut in Verminderung der Schutzstoffe sich äußert.

¹ *Univ. of Pennsylvania Medical Bulletin.* Aug.—Sept. 1902.

² *Archiv für Hygiene.* Bd. LVIII.

³ *Wiener klin. Wochenschrift.* 1904. Nr. 11.

⁴ *Berliner klin. Wochenschrift.* 1904. S. 242.

C. Fraenkel¹ allein ist dagegen zu den entgegengesetzten Resultaten gekommen. Nach ihm wirken sowohl die großen als auch die lange Zeit fortgesetzten kleinen Alkoholgaben stimulierend auf die Bildung des spezifischen Immunkörpers.)

Bei diesen Untersuchungen haben wir die Frage, ob die Resistenz der roten Blutkörper durch die kleinsten Alkoholgaben weniger gegen die hämolytische Einwirkung eines heterogenen Serums wurde, beantworten wollen.

Zu diesem Zwecke haben wir nur Kaninchen von 1600 bis 2000 g^{mm} als Versuchstiere benutzt, und sowohl die Alkohol- wie die entsprechenden Kontrolltiere waren von einer und derselben Größe. Die Alkoholtiere bekamen, wie früher gesagt, 0·10^{cem} absoluten Alkohol in einer 10 prozent. Lösung per Kilogramm Tier. So bekam z. B. ein Tier von 2000 g^{mm} nur 0·2^{cem} absoluten Alkohol auf einmal (täglich), und die Kontrolltiere bekamen der 10 prozent. Alkohollösung entsprechende Menge reines Wasser.

Die erste Versuchsserie, deren Resultate in der Tabelle I zu ersehen sind, wurde angefangen, als die Tiere nur 18 Tage Alkohol bekommen hatten. Also im ganzen, wenn zwei Sonntage abgerechnet werden, nur 1·6^{cem} per Kilogramm Tier. Unter dem Versuche, der mehrere Tage, wie man aus der Tabelle sehen kann, dauerte, bekamen sie natürlich mehr. Das Alkoholgeben für diese Tiere fing nämlich den 24. IX. 1906 an. Bis zum Ende der zweiten Versuchsserie, deren Resultate in der Tabelle II zu ersehen sind, waren die Tiere in dem Versuche 89 Tage und bekamen im ganzen der Größe nach 13 bis 15^{cem} absoluten Äthylalkohol. Die Daten und die Mengen des hämolysierenden Rinderserums, ebenso die Resultate und andere Details sind in den Tabellen I und II zu ersehen.

Bei der Beobachtung der Resultate in den Tabellen sehen wir zuerst, daß die Veränderung des Komplementgehaltes des hämolysierenden Serums etwas von der Intensität der Reaktion eingewirkt hat. Dieser Umstand kann doch zur Lösung unserer Frage von keiner Bedeutung sein, da immer ein Versuch mit demselben Serum mit Alkohol- und Kontrolltieren gleichzeitig gemacht ist und wir im voraus schon wußten, daß die Hämolysierbarkeit der roten Blutkörperchen anfangs, vor dem Alkoholgeben bei den beiden Tierkategorien, so gut wie gleich war.

Erklärung der Tabellen:

+ = vollständige Hämolyse, — = deutliche Reaktion, ± = schwächere Reaktion.

¹ *Berliner klin. Wochenschrift.* 1905. S. 53.

Tabelle I.
Alkoholtiere.

Datum des Versuches	Nummer des Kaninchens	Nr. des Versuches	Rinderserum im Kubikzentimeter											
			1·0	0·8	0·6	0·4	0·2	0·1	0·08	0·06	0·04	0·02	0·01	
12. Okt. 06	10	1	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—		
13. „	11	2	+	+	+	+	+	+	—	—				
15. „	13	3	+	+	+	+	+	—	—	—				
16. „	16	4	+	+	+	+	—	—						
17. „	17	5	+	+	+	+	—	—	±					
18. „	18	6	+	+	+	+	—	—						
19. „	9	7	+	+	+	—	—							
26. „	14	8	+	+	+	+	+	—	—	—				
27. „	4	9	+	+	+	+	+	—	—	—	±			
30. „	6	10	+	+	+	+	+	—	—	—				
31. „	20	11	+	+	+	+	+	—	—	—				

Kontrolltiere.

12. Okt. 06	10	1	+	+	+	+	+	+	+	—	—			
13. „	1	2	+	+	+	+	+	+	—	—				
15. „	11	3	+	+	+	+	+	—	—	—				
16. „	2	4	+	+	+	—	—	±						
17. „	9	5	+	+	+	+	—	—						
18. „	7	6	+	+	+	+	—	—						
19. „	18	7	+	+	+	—	—							
26. „	6	8	+	+	+	+	+	—	—	±				
27. „	19	9	+	+	+	+	+	—	—	—				
30. „	8	10	+	+	+	+	+	—	—	—				
31. „	14	11	+	+	+	+	+	—	—	—				

Tabelle II.
Alkoholtiere.

Datum des Versuches	Nummer des Kaninchens	Nr. des Versuches	Rinderserum im Kubikzentimeter											
			1·0	0·8	0·6	0·4	0·2	0·1	0·08	0·06	0·04	0·02	0·01	
10. Dez. 06	12	1	+	+	+	+	+	+	—	—	±			
11. „	13	2	+	+	+	+	+	—	—	—	±			
12. „	16	3	+	+	+	+	+	—	—	—	±			
13. „	17	4	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—		
15. „	5	5	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
17. „	14	6	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
18. „	4	7	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
19. „	6	8	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	
20. „	20	9	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	
21. „	10	10	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	

Tabelle II. (Fortsetzung.)
Kontrolltiere.

Datum des Versuches	Nummer des Kaninchens	Nr. des Ver- suches	Rinderserum im Kubikzentimeter										
			1·0	0·8	0·6	0·4	0·2	0·1	0·08	0·06	0·04	0·02	0·01
10. Dez. 06	1	1	+	+	+	+	+	+	—	—	±		
11. „	11	2	+	+	+	+	+	—	—	—	±		
12. „	2	3	+	+	+	+	+	—	—	—	±		
13. „	9	4	+	+	+	+	+	—	—	±	±	±	
15. „	5	5	+	+	+	+	+	—	—	±	±	±	
17. „	6	6	+	+	+	+	+	—	—	±	±	±	±
18. „	19	7	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
19. „	8	8	+	+	+	+	+	—	—	±	±	±	±
20. „	14	9	+	+	+	+	+	—	—	—			
21. „	10	10	+	+	+	+	+	—	—	±	+	±	±

In der ersten Versuchsserie (Tabelle I), wie schon in der Beschreibung der Untersuchungsmethode gesagt, ist der Grad der Hämolyse bald nachdem die Reagensgläser aus dem Thermostaten herausgenommen wurden, bestimmt worden; in der zweiten Versuchsserie dagegen erst nachher, als die Reagensgläser nach der Thermostatbehandlung 18 bis 24 Stunden in 0 bis 4° C standen. Das hat natürlich eine Verschiebung der Grenze der Reaktion — die Stelle, wo die Hämolyse aufhört — in den einzelnen Versuchen verursacht; wir wissen ja, daß das zuletzt genannte Verfahren merkbar die Klarheit der feinsten Farbenreaktion befördert, und man kann dadurch dem Gange der Hämolyse weiter folgen. Die Schlußgrenze der Reaktion tritt in dem ersten Falle schärfer hervor, in beiden Fällen aber ist das Schlußresultat in Hinsicht auf Einzelversuch dasselbe. Dessenungeachtet können wir nicht die Resultate der beiden Versuchsserien direkt miteinander vergleichen, wir müssen den Unterschied der in den beiden Versuchen angewendeten Methoden berücksichtigen, insbesondere was die Intensität der Reaktion im Einzelversuche betrifft.

In den ersten Versuchsserien (Tabelle I) wurden die roten Blutkörperchen der mit Alkohol behandelten Kaninchen in vier Versuchen (Versuche 4, 5, 8, 9), d. h. 36·4 Prozent von den Versuchen, kräftiger als dieselben der Kontrolltiere hämolysiert. Keiner von den Versuchen hat ein widersprechendes Resultat gegeben. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß die kleinsten Alkoholmengen hier die Hämolysierbarkeit der roten Blutkörperchen, wenigstens teilweise, befördert haben, d. h. mit anderen Worten, die Widerstandsfähigkeit derselben herabgesetzt haben. Noch kräftiger scheinen die Resultate der zweiten Versuchsserie (Tabelle II) diese Meinung zu unterstützen. In fünf verschiedenen Versuchen (4, 5,

6, 8, 10), also in 50 Prozent der Versuche, der zweiten Versuchsserie ist die Hämolyse der roten Blutkörperchen der mit Alkohol behandelten Tiere, besonders mit den kleinen Rinderblutserummengen, viel kräftiger gewesen. Es sei jedoch hier hervorgehoben, daß das Resultat eines Versuches in dieser Versuchsserie (Versuch Nr. 3) leicht widersprechend ist. Die Resultate der oben nicht genannten Versuche sind einander gleich.

Wie schon früher hervorgehoben, sind die Resultate der einzelnen Versuche der ersten und zweiten Versuchsserien miteinander nicht vergleichbar, weil in denselben verschiedene Untersuchungsmethoden und verschiedene Rinderblutsera in Gebrauch gekommen sind. Im großen ganzen sprechen aber die beiden Versuchsserien entscheidend dafür, daß eben die minimalen Alkoholgaben, die hier in Anwendung gekommen sind, in manchen Fällen die normale Resistenz der roten Blutkörperchen der Kaninchen herabsetzen und dieselben leichter hämolysierbar für Rinderserum machen.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß eine noch längere Alkoholbehandlung in noch mehr Fällen dasselbe Resultat gegeben hätte, dafür spricht die Tatsache, daß der Unterschied in der zweiten Serie in mehr Versuchen und viel intensiver hervortrat, als in der ersten Versuchsserie. Ich kann nicht unterlassen das hervorzuheben, da ich ebensolche Versuche mit Menschenblut in einigen Fällen veranstaltet habe. Diese sind aber lange noch nicht reif zum Publizieren, obwohl sie auch nach derselben Richtung zu gehen scheinen.

3. Die Einwirkung der minimalen Alkoholmengen auf die bakterizide Eigenschaft des Blutes.

Wir wissen aus zahlreichen Untersuchungen¹, daß Blut und einige andere tierische Flüssigkeiten bakterientötende, bakterizide Eigenschaften besitzen. Man hat gewiß gegen diese Auffassung die Bemerkung gemacht, daß diese Eigenschaft nur ein scheinbares Phänomen sei und dadurch zustande komme, daß die betreffenden Bakterien plötzlich in ein ungewöhnliches Nährmedium gelangen und ihre Entwicklung anfangs hierdurch etwas verhindert bzw. gehemmt wird.

Nach dem jetzigen Standpunkte dieser Wissenschaft ist es jedoch sehr wahrscheinlich, ja sicher, daß das Blut und andere tierische Flüssigkeiten bzw. Gewebssäfte über bakterizide Eigenschaften verfügen.

¹ Siehe die Literaturangaben aus Taav. Laitinen, Über den Einfluß des Alkohols auf die Empfindlichkeit des tierischen Körpers für Infektionsstoffe. *Acta Societatis Scientiarum Fenniae*. 1900. T. XXIX. Nr. 7.

Bei der Untersuchung, wie die resistenzherabsetzende Wirkung des Alkohols zustande kommt, habe ich auch schon früher¹ die bakterizide Eigenschaft des Blutes bei Kaninchen beobachtet, ob dieselbe nämlich bei den alkoholisierten Tieren schwächer ist als bei den Kontrolltieren.

Bei meinen früheren Untersuchungen, wobei verhältnismäßig große Alkoholgaben in Anwendung kamen, habe ich kaum nennenswerte Herabsetzung des bakteriziden Vermögens des Blutes, wenigstens gegen die Milzbrandbazillen, gefunden. Die Frage habe ich nochmals, wenigstens in kleinem Maße, aufgenommen, obgleich die Alkoholgaben bei diesen Untersuchungen sehr klein waren. Diesmal habe ich die bakterizide Fähigkeit des Blutes sowohl der alkoholisierten, wie auch der Kontrollkaninchen gegen Typhusbazillen geprüft, wie schon aus der Beschreibung der Untersuchungsmethoden herausgeht. Die Versuche sind mit großer Sorgfalt ausgeführt.

Ohne genauer in die kasuistischen Daten dieser Versuche einzugehen, besonders, da diese Versuche nicht so auffallende Resultate gegeben haben, will ich nur mit einigen Beispielen aus den Versuchsprotokollen die Veränderungen der Kolonienzahlen nach kürzerer und längerer Einwirkung des Blutes der alkoholisierten und Kontrollkaninchen beleuchten.

Nummer des Versuchs- tieres	Die Einwirkungsdauer					
	2 Minuten	5 Minuten	10 Minuten	15 Minuten	20 Minuten	40 Minuten
Kolonienzahlen						
2. Alkoholtier	16511	12152	10558	9796	8345	7387
8. Wassertier	19530	11830	9027	7310	5258	3075
10. Wassertier	unzählige	25036	19084	14892	10807	8699
20. Alkoholtier	2984	1236	1038	966	888	ver- unglückt

Wenn ich die Resultate aus allen jetzigen diesbezüglichen Versuchen, so wie bei der Beschreibung der Untersuchungsmethoden angegeben, berechne, so wäre die bakterizide Prozentzahl des Blutes der alkoholisierten Kaninchen (mit drei Dezimalen angegeben) **1.975 Prozent** und dieselbe des Blutes der Kontrollkaninchen **2.050 Prozent**. Die Tiere wurden mit den minimalen Alkoholgaben bzw. Wasser 2 bis 6 Monate behandelt.

Wie man aus den oben angeführten Prozentzahlen sieht, ist kaum oder höchstens ein sehr kleiner Unterschied dabei vorhanden. Diese Resultate stimmen mit meinen früher erhaltenen Resultaten² sehr überein;

¹ A. a. O.

² A. a. O.

d. h. die bakterizide Fähigkeit des Blutes der Kaninchen scheint auch durch die kleinsten, eine längere Zeit einwirkenden Alkoholgaben etwas kleiner zu werden, obzwar die Verminderung nicht besonders auffallend und entscheidend ist. Die Resultate der Versuche sprechen wenigstens nicht gegen die Verminderung, eher dafür.

4. Über die Einwirkung der minimalen Alkoholgaben auf die Hydroxyl-Ionenkonzentration des Gesamtblutes.

Bei den Untersuchungen über die Einwirkung der kleinsten Alkoholgaben auf den tierischen Organismus habe ich doch die Einwirkung dieser minimalen Alkoholmengen auf die Hydroxyl-Ionenkonzentration, d. h. die Alkaleszenz des Gesamtblutes, berücksichtigen wollen, obwohl ich sehr gut weiß, daß man durch die mit physikalisch-chemischen, besonders mit elektro-chemischen Methoden neulich gemachten Experimente das Blut so gut wie neutral erkannt hat. Es ist nach mehreren diesbezüglichen Untersuchungen¹ noch fortwährend wenigstens sehr wahrscheinlich, daß die Reaktion des Blutes durch die Veränderungen der normalen Widerstandsfähigkeit des Organismus etwas, obzwar auch nur wenig, verändert wird.

Mit dem in der Beschreibung der Untersuchungsmethoden kürzlich angegebenen Verfahren, wonach das Gesamtblut des Kaninchens sich immer schwach alkalisch gezeigt hat, habe ich die Hydroxyl-Ionenkonzentration des Gesamtblutes sowohl der mit Alkohol, wie auch mit Wasser behandelten Kaninchen bestimmt. Die Resultate von einigen Untersuchungen sind in der Tabelle III zu ersehen.

Die Tiere in dem in der Tabelle III angegebenen Versuche waren so gewählt, daß die entsprechenden Tiere auf beiden Seiten von gleicher Größe und die Anzahl der männlichen und weiblichen Versuchstiere auf beiden Seiten gleichgroß war.

Wenn wir die Resultate in diesen beiden Versuchsserien betrachten, so sehen wir, daß die Mittelzahl der OH-Ionenkonzentrationen des Gesamtblutes der mit Alkohol behandelten Tiere, mit fünf Dezimalen gerechnet, 0.00197 und die der mit Wasser behandelten, auch mit fünf Dezimalen gerechnet, [statt 0.00169(5)] 0.00170 war. Die beiden Zahlen differieren nur um 0.00027, und diese Differenz ist viel zu klein, um

¹ Siehe die Literaturangaben und Besprechungen in meiner Arbeit: Über den Einfluß des Alkohols auf die Empfindlichkeit des tierischen Körpers für Infektionsstoffe. *Acta Societatis Scientiarum Fennicae*. T. XXIX. Nr. 7. S. 110.

uns Schlüsse in irgend welcher Richtung gestatten zu lassen, weil sie wohl zwischen die Fehlergrenzen oder irgend andere Variationen der OH-Ionenkonzentrationen des Gesamtblutes bei den verschiedenen Tieren fällt. Die Einwirkung der minimalen Alkoholgaben in dieser Hinsicht können wir nicht mit Sicherheit verspüren, angenommen auch, daß das Bestimmungsverfahren genügend genaue Resultate gebe.

Tabelle III.

Alkoholtiere		Kontrolltiere	
Nr. des Tieres	OH-Ionenkonzentration	Nr. des Tieres	OH-Ionenkonzentration
5	0·00155	2	0·00151
14	0·00201	8	0·00129
15	0·00159	9	0·00220
17	0·00155	11	0·00235
19	0·00315	15	0·00114
Mittelzahlen	0·00197	Mittelzahlen	0·00169(5)

5. Die Herabsetzung der normalen Widerstandsfähigkeit des tierischen Organismus gegen Infektionskrankheiten durch die minimalen Alkoholmengen.

Aus zahlreichen, miteinander übereinstimmenden Untersuchungen¹ wissen wir schon, daß die Versuchstiere durch nicht allzugroße Alkoholgaben weniger widerstandsfähig gegen die Infektionskrankheiten werden. Es ist von außerordentlich großer Bedeutung, ob die minimalen Alkoholgaben ebenso wie die größeren in dieser Hinsicht einwirken. Darum haben wir auch einige Versuche in dieser Beziehung mit den minimalen Alkoholgaben vorgenommen.

Wie schon bei der Besprechung der Untersuchungsmethode gesagt, haben wir erstens mit Diphtherietoxin sowohl die mit kleinen Alkoholgaben wie mit Wasser behandelten Meerschweinchen geimpft. Das Diphtherietoxin war so stark, daß 0·02^{ccm} genügten, um ein Meerschweinchen von 250^{gmm} in 48 Stunden abzutöten. In den ersten Versuchsserien (Tabelle IV) haben wir die Toxinmenge für alle Tiere gleichgroß — 0·10^{ccm} — genommen, weil das Toxin schon mehrere Monate alt

¹ Siehe die Literatur in meinen Arbeiten: Über den Einfluß des Alkohols auf die Empfindlichkeit usw. *Acta Societatis Scientiarum Fennicae*. T. XXIX. Nr. 7 und Über den Einfluß des Alkohols auf die Widerstandsfähigkeit des menschlichen und tierischen Organismus mit besonderer Berücksichtigung der Vererbung. *Verhandlungen des X. Antialkoholkongresses*. Budapest 1905.

Tabelle IV.

A. Die mit Alkohol behandelten Tiere.

Nummer des Tieres	Das Gewicht des Tieres in grm	Der Tag der Infektion	Die gebrauchte Toxinmenge in ccm	Nach wieviel Stunden gestorben
1	620	19. 19. II. 07	0·10	+ nach 110 Stunden
2	650	"	"	+ " 86 "
3	680	"	"	+ " 110 "
4	670	"	"	+ " 62 "
5	700	"	"	+ " 50 "
6	750	"	"	+ " 47 "
Mittelzahlen	678·33		0·10	+ nach 77·5 Stunden

B. Die mit Wasser behandelten Tiere.

7	570	19. 19. II. 07	0·10	+ nach 38 Stunden
8	580	"	"	+ " 57 "
9	610	"	"	+ " 50 "
10	630	"	"	+ " 80 "
11	700	"	"	+ " 122 "
12	720	"	"	+ " 127 "
Mittelzahlen	640		0·10	+ nach 79 Stunden

Tabelle V.

A. Die mit Alkohol behandelten Tiere.

Nummer des Tieres	Das Gewicht des Tieres in grm	Der Tag der Infektion	Die gebrauchte Toxinmenge in ccm	Nach wieviel Tagen gestorben
13	610	19. 7. III. 07	0·06	+ nach 27 Tagen
14	640	"	0·06	+ " 9·5 "
15	550	"	0·055	+ " 2 "
16	700	"	0·07	+ " 7 "
17	770	"	0·075	+ " 5·5 "
18	800	"	0·08	+ " 7 "
19	850	"	0·085	+ " 33 "
Mittelzahlen	702·85		0·01 per 100 grm Tier	+ nach 13 Tagen

B. Die mit Wasser behandelten Tiere.

20	480	19. 7. III 07	0·045	+ nach 11 Tagen
21	650	"	0·065	+ " 27 "
22	700	"	0·07	+ " 36 "
23	700	"	0·07	+ " 25 "
24	720	"	0·07	+ " 9·5 "
Mittelzahlen	650		0·01 per 100 grm Tier	+ nach 21·7 Tagen

war und die Größe der Meerschweinchen zwischen 570 bis 750 variierte. Die Toxinmenge wurde für jede Dosis von 0.10^{ccm} mit 0.90^{ccm} steriler Bouillon verdünnt; also bekam jedes Versuchstier 1^{ccm} der Toxinlösung.

Wenn wir jetzt die Resultate in der Tabelle IV betrachten, so sehen wir, daß die mit Alkohol behandelten Meerschweinchen durchschnittlich in 77.5 Stunden und die mit Wasser behandelten Meerschweinchen dagegen durchschnittlich in 79 Stunden starben. Flüchtig überblickt, findet man da kaum einen Unterschied. Wenn wir aber in Betracht ziehen, daß das Mittelgewicht der mit Alkohol behandelten Meerschweinchen, in vollen Grammen ausgedrückt, 678 und dasselbe der mit Wasser behandelten nur 640 war, oder mit anderen Worten, daß die mit derselben Toxinmenge 0.60^{ccm} infizierte Masse auf der Alkoholseite 4070^{gramm} und auf der Wasserseite 3860^{gramm}, und die Mittelsterbezeit der Alkoholmeerschweinchen unbedeutend kürzer war als die der Wassermeerschweinchen, so widerspricht diese Versuchsserie wenigstens nicht, spricht sogar eher dafür, daß die Alkoholbehandlung die normale Widerstandsfähigkeit gewissermaßen herabgesetzt hat.

Ich muß andererseits noch hinzufügen, daß die eingespritzte Toxinmenge doch etwas zu groß war (obwohl das Toxin so alt war), da die Tiere so schnell starben, und die Widerstandsfähigkeit der Tiere nicht in harte Prüfung durch einen längere Zeit währenden Kampf gegen die Diphtherietoxinintoxikation kam. Weiter war es nicht sehr ratsam, jedes Tier mit einer und derselben Toxinmenge zu infizieren; auch war die Toxinverdünnung zu gering und so die eingespritzte Menge zu klein, die dabei möglicherweise entstandenen Fehler werden dadurch zu groß.

Wie schon früher gesagt, bekamen die Tiere erst 4 Monate lang die minimalen Alkoholmengen, waren aber vor dem Infizieren 35 Tage ganz ohne Alkohol.

Betrachten wir aber die Resultate der zweiten Versuchsserie, Tabelle V, so sehen wir, daß die Mittelsterbezeit der mit Alkohol behandelten Meerschweinchen nur 13 Tage und dieselbe der mit Wasser behandelten Meerschweinchen nicht weniger als 21.7 Tage war, obwohl das Mittelgewicht der Alkoholmeerschweinchen in vollen Grammen 703 und dasselbe der Wassermerschweinchen 650 war. Dieser Umstand ist im Diagramme VI, Abt. B graphisch dargestellt. Hier haben wir die gebrauchte Diphtherietoxinmenge erstens viel kleiner als in den ersten Versuchsserien genommen, um die Widerstandsfähigkeit der Tiere in den beiden Kategorien unter längerer Zeit im Kampfe gegen die schon mehrfach genannte Intoxikation hervortreten zu lassen, und zweitens haben wir nicht eine und dieselbe Toxinmenge in jedes Versuchstier eingespritzt, sondern nur 0.01 per 100^{gramm} Tier, oder richtiger 0.005 per

50^{cm} Tier, so daß die ganze Masse dadurch mehr gleichmäßig infiziert wurde und die Toxinlösung war hier auch viel mehr verdünnt (1:19), so daß die bei der Einspritzung vielleicht entstandenen Fehler lange nicht so groß waren, wie in der ersten Versuchsserie, wo die Toxinverdünnung 1:9 war.

Es sei noch hervorgehoben, daß diese Tiere nach 4 monatlicher Alkoholbehandlung 53 Tage ganz ohne Alkohol waren. Wir sehen also, daß die durch Alkohol hervorgerufene Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit des tierischen Organismus gegen Infektion bestehend, wenigstens für eine lange Zeit nach der Alkoholbehandlung, geblieben ist.

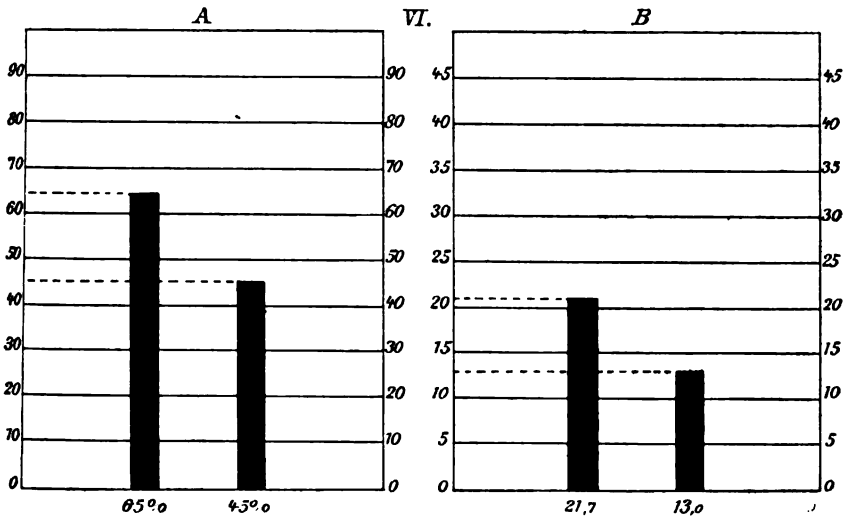


Diagramm VI.

Abteilung A. Von den mit Alkohol behandelten Kaninchen sind an einer Autoinfektion 65 Prozent und von den mit Wasser behandelten Kaninchen nur 45 Prozent gestorben.

Abteilung B. Von den mit derselben Diphtherietoxinmenge infizierten Meerschweinchen sind die früher mit Alkohol behandelten Tiere durchschnittlich in 13 Tagen und die mit Wasser behandelten Tiere erst in 21,7 Tagen gestorben.

Die Widerstandsfähigkeit bei den mit Alkohol behandelten Kaninchen wurde gewissermaßen durch eine zufällige Autoinfektion geprüft. Wir bekamen nämlich, ich kann den Tag nicht ganz genau angeben, aber so um den 1. April 1907, in unser Laboratorium einige Kaninchen aus einem anderen Laboratorium, wo die Kaninchenseuche außerordentlich intensiv herrschte. Unsere Kaninchen waren nämlich bis dahin mit Alkohol bzw. mit Wasser behandelt worden, vom 14. September 1906 an, und

wurden fortwährend bis zum 16. Mai 1907 mit Alkohol bzw. mit Wasser behandelt. Durch die neuen infizierten Kaninchen wurden unsere Versuchskaninchen sehr wahrscheinlich infiziert, die Symptome der Infektion äußerten sich wenigstens kurz nachher. Wir ließen jetzt der Infektion ungeachtet die kranken und gesunden Kaninchen zusammenleben, so daß alle Tiere der Autoinfektion in möglichst hohem Maße und gleichmäßig ausgesetzt waren. Die ersten Todesfälle bei den Versuchskaninchen traten um den 14. April 1907 ein. Von hier an bis zum 16. Mai, als die Versuchstiere aus dem Versuche kamen, starben an der genannten Krankheit mit sehr typischen Symptomen von den 20 mit Alkohol behandelten Tieren 13, d. i. 65 Prozent, und von den mit Wasser behandelten Tieren 9, d. i. 45 Prozent. Jetzt, wo ich das schreibe, im Anfange des Juli, ist der Unterschied noch größer, der Versuch ist aber schon beendet. Dieser Umstand ist in dem Diagramme VI, Abt. A graphisch dargestellt.

Inwieweit dieser Autoinfektionsversuch bei der Beurteilung der Herabsetzung des tierischen Organismus gegen Infektion durch Alkohol wissenschaftlich verwertet werden kann, ist ja wohl mehr oder weniger fraglich. Die Alkoholtiere könnten ja vielleicht mehr als die Versuchstiere der Autoinfektion ausgesetzt gewesen sein, oder vielleicht spielten dabei noch andere unbekannte Faktoren, die hier nicht mitgerechnet werden können, mit. Die beiden Tierkategorien scheinen doch, wenn man das aus Sterbefällen schätzen dürfte, recht stark infiziert gewesen zu sein.

Wie man über die Sache auch denken will, so bleibt eins doch immer sicher, daß nämlich von den mit Alkohol behandelten Tieren mehr (65 Prozent) als von den mit Wasser behandelten Tieren (nur 45 Prozent) zu derselben Zeit der Infektion unterlagen, und ich kann mich nicht von der Überzeugung losmachen, daß die Alkoholbehandlung den anderen Tieren ein beförderndes Moment gewesen ist. Die früheren Versuche sprechen zu deutlich dafür.

Betrachten wir jetzt alle die soeben referierten, die Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit gegen Infektion betreffenden Experimente, so müssen wir zugeben, daß sie alle einstimmig, wenigstens kein zuwider, die verderbliche Einwirkung des Alkohols in dieser Hinsicht beleuchten, so daß man diesen Versuchen zufolge gezwungen ist zu gestehen, daß die minimalen, hier in längerer Zeit gebrauchten Alkoholmengen den tierischen Organismus weniger widerstandsfähig gegen Infektion machen.

6. Die Einwirkung der minimalen Alkoholbehandlung der Muttertiere auf die Sterblichkeit, Größe und das Wachstum ihrer Jungen.

Ich wußte schon im voraus aus meinen früheren Untersuchungen¹, daß schon ziemlich kleine Alkoholgaben (0.5 und mehr ccm per Kilogr. Tier) auf die Nachkommenschaft der Versuchstiere einen sehr degenerierenden Einfluß ausüben. Nach diesen früheren Untersuchungen waren von den mit Alkohol behandelten Kaninchen geworfenen Jungen entweder totgeboren oder starben kurz nach der Geburt 61.36 Prozent und am Leben blieben 38.64 Prozent, wogegen die entsprechenden Zahlen der Kontrolltiere 76.92 und 23.08 Prozent waren. Noch mehr verderblich war die Alkoholbehandlung bei den Meerschweinchen. Von den von alkoholisierten Meerschweinchen geworfenen Jungen waren nämlich entweder totgeboren oder starben kurz nach der Geburt 89.29 Prozent und am Leben blieben nur 10.71 Proz., wogegen aus den von Kontrolltieren geworfenen Jungen totgeboren waren oder kurz nach der Geburt starben 18.75 Proz. und am Leben blieben 81.25 Prozent. Überdies kamen noch einige Mißbildungen unter der Nachkommenschaft der Alkoholtiere vor.

Um zu erfahren, inwiefern die Darreichung der minimalsten Alkoholmengen auf die Versuchstiere irgendwelche nachteilige Einflüsse mit sich bringt, habe ich die Einwirkung in oben angeführter Hinsicht bei den jetzigen Versuchen sehr genau beobachtet.

Erstens wurden die tragenden Versuchstiere kurz vor der Geburt von den anderen Tieren isoliert und jedes in einen besonderen bequemen Kasten gesetzt, damit sie dort ungestört die Jungen werfen konnten. Es geschah aber einige Male, daß wir die kritische Zeit nicht genügend genau schätzen konnten, und die Jungen wurden dann natürlich im allgemeinen Kasten geboren; dieselben wurden aber alsbald nebst dem Muttertiere in einen anderen Kasten vorsichtig gesetzt.

Es passierte auch in manchen seltenen Fällen, daß die Muttertiere die neugeborenen Jungen auffraßen, so daß man nur einen Kopf, ein Bein oder gewisse andere Reste von dem Tiere entdeckte. Ein mit Alkohol behandeltes Kaninchen hat das regelmäßig (dreimal nacheinander) getan. Dieser Umstand ist ziemlich schwer zu verstehen; ob er daraus entsteht, daß die Jungen, die entweder totgeboren waren oder bald nach der Geburt starben, nicht saugen konnten, und der Milchdrang die Mutter daher so reizbar machte, oder ob die Mutter wieder durch Alkoholbehandlung oder irgendwelche andere Ursache so irrsinnig und unnatürlich wurde. Es ist

¹ A. a. O.

natürlich von selbst klar, daß die aufgefressenen Jungen nicht in die Berechnung kommen konnten. Manchmal ist es auch geschehen daß die Kaninchen in allgemeinen Schranken, besonders die männlicher Individuen, einander ziemlich schwer gebissen haben. Da haben wir die ärgsten Friedenstörer von den anderen isoliert. Einige Male ist eine ziemlich langdauernde Infektion in den Bißwunden entstanden.

Unter der Zeit, wo die Versuchstiere mit Alkohol bzw. mit Wasser behandelt wurden (bevor die früher genannte Kaninchenseuche im Laboratorium ausbrach), haben die mit Alkohol behandelten Kaninchen 93 Junge geworfen, von denen entweder totgeboren waren oder kurz nach der Geburt (in drei ersten Tagen) starben: 57, d. i. 61·29 Prozent, und nur 36, d. i. 38·71 Prozent, am Leben blieben. Einige Tiere hatten unter der Zeit sogar zweimal geboren.

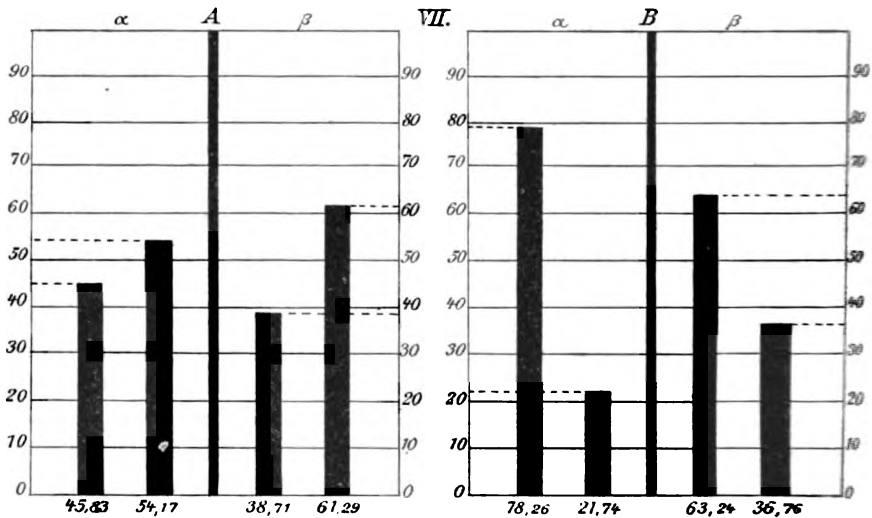


Diagramm VII.

Abteilung A. Die Prozentzahlen der entwicklungs-fähigen (45·83 u. 38·71 Proz.) und nichtentwicklungs-fähigen (54·17 u. 61·29 Proz.) Jungen alpha der mit Wasser, beta der mit Alkohol behandelten Kaninchen.

Abteilung B. Die Prozentzahlen der entwicklungs-fähigen (78·26 u. 63·24 Proz.) und nichtentwicklungs-fähigen Jungen alpha der mit Wasser, beta der mit Alkohol behandelten Meerschweinchen.

Die mit Wasser behandelten Kaninchen hatten unter derselben Zeit 48 Junge geboren, von denen entweder totgeboren waren oder kurz nach der Geburt starben 26, d. i. nämlich 54·17 Proz. und 22, d. i. 45·83 Prozent, am Leben blieben.

Wir sehen also, daß ein nennenswerter Prozentsatz 45.83 von den Jungen der mit Wasser behandelten Tiere entwicklungsfähig gewesen ist, da von denselben der mit Alkohol behandelten Tiere nämlich nur 38.71 Prozent es waren.

Dieser Umstand ist in dem Diagramm VII, Abteilung A graphisch dargestellt.

Noch viel größer ist der Unterschied der Sterblichkeit bei den Jungen der mit Alkohol bzw. mit Wasser behandelten Meerschweinchen. Die mit

Diagramm VIII.

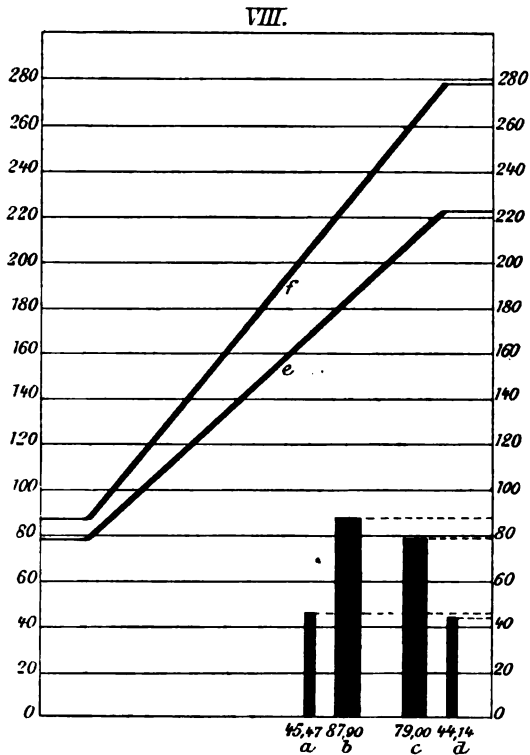
a) Das Mittelgewicht in Gramm der totgeborenen Jungen der mit Wasser behandelten Kaninchen.

b) Das Mittelgewicht der 3 Tage alten Jungen der mit Wasser behandelten Kaninchen.

c) Das Mittelgewicht der 3 Tage alten Jungen der mit Alkohol behandelten Kaninchen.

d) Das Mittelgewicht der totgeborenen Jungen der mit Alkohol behandelten Kaninchen.

e) Die Wachstumsenergie der Jungen der mit Alkohol behandelten und f dieselbe der Jungen der mit Wasser behandelten Kaninchen.



Alkohol behandelten Meerschweinchen haben nämlich unter der Observationszeit 68 Junge geworfen, von denen 25, d. i. 36.76 Prozent, entweder totgeboren oder kurz nach der Geburt starben, und 43, d. i. 63.24 Prozent, am Leben blieben. Die mit Wasser behandelten Meerschweinchen haben in derselben Zeit 69 Junge geworfen, von denen nur 15, d. i. 21.74 Prozent, entweder totgeboren oder kurz nach der Geburt starben und 54, d. i. 78.26 Prozent, am Leben blieben. Wir sehen hier wieder, daß

die Anzahl der entwicklungsfähigen Jungen bei den mit Alkohol behandelten Tieren bedeutend kleiner (63·24 Prozent) als dieselbe der mit Wasser behandelten Tiere (78·26 Prozent) war. Dieser Umstand ist auch aus dem Diagramm VII, Abteilung B zu ersehen.

Betrachten wir aber das durchschnittliche Gewicht der 3 Tage alten Jungen der sowohl mit Alkohol wie auch mit Wasser behandelten Kanin-

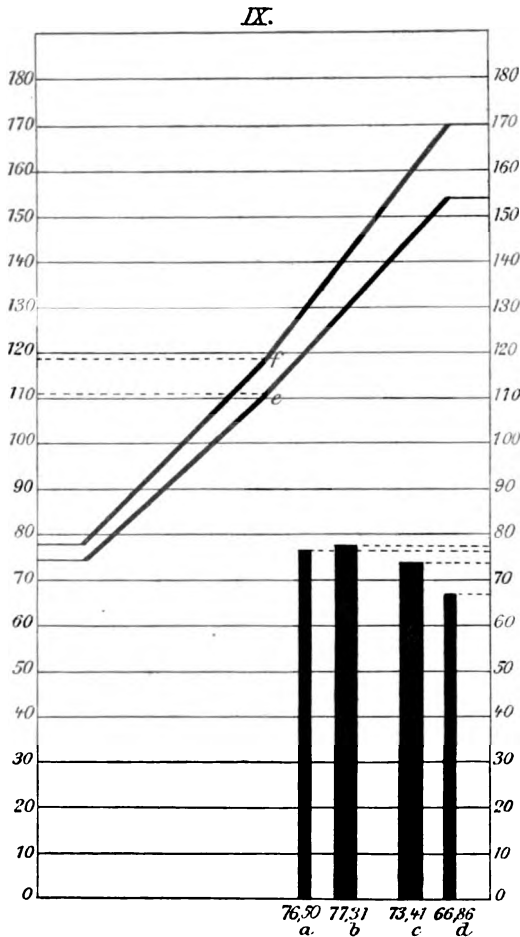


Diagramm IX.

a) Das Mittelgewicht der totgeborenen Jungen der mit Wasser behandelten Meerschweinchen.

b) Das Mittelgewicht der neugeborenen, lebensfähigen Jungen der mit Wasser behandelten Meerschweinchen.

c) Das Mittelgewicht der neugeborenen, lebensfähigen Jungen der mit Alkohol behandelten Meerschweinchen.

d) Das Mittelgewicht der totgeborenen Jungen der mit Alkohol behandelten Meerschweinchen.

e) Die Wachstumsenergie der Jungen der mit Alkohol und f dieselbe der Jungen der mit Wasser behandelten Meerschweinchen.

chen, so finden wir wieder einen deutlichen Beweis der nachteiligen Wirkung des Alkohols. Das Mittelgewicht der Jungen der alkoholisierten Kaninchen war nämlich, in vollen Grammen angegeben, 79 ^{grm} und das derjenigen mit Wasser behandelten Kaninchen 88 ^{grm}. Das Mittelgewicht der totgeborenen Alkoholkaninchen-

jungen 44 ^{gmm}, dasselbe der Wasserkaninchenjungen aber 46 ^{gmm}. (Siehe das Diagramm Nr. VIII.) Dasselbe Verhältnis finden wir auch bei den Meerschweinchenjungen. Das Mittelgewicht der Jungen der mit Alkohol behandelten Meerschweinchen kurz nach der Geburt war nämlich, in vollen Grammen ausgedrückt, 73 ^{gmm}, und das derjenigen der mit Wasser behandelten Meerschweinchen 77 ^{gmm}. Die totgeborenen Jungen der Alkoholmeerschweinchen wogen durchschnittlich (mit vollen Grammen ausgedrückt) 67 ^{gmm}, und dieselben der mit Wasser behandelten Meerschweinchen 77 ^{gmm}. (Siehe Diagramm IX.)

Betrachten wir die Wachstumsverhältnisse der beiden Tierkategorien, besonders während der Laktationszeit, so haben die Jungen der mit Alkohol behandelten Kaninchen in den ersten 20 Tagen im Durchschnitt täglich 7.13 ^{gmm} und dieselben der mit Wasser behandelten Kaninchen 9.46 ^{gmm} zugenommen (die verschiedenen Gewichte und Wachstumsverhältnisse sind aus dem Diagramm VIII zu ersehen). Das Mittelgewicht der Jungen der mit Alkohol behandelten Meerschweinchen hat dagegen täglich in den ersten 10 Tagen 3.76 ^{gmm} und in den ersten 20 Tagen 4.30 ^{gmm} und dasselbe der mit Wasser behandelten Meerschweinchen hat in den ersten 10 Tagen 4.12 ^{gmm} und in den ersten 20 Tagen 5.20 ^{gmm} zugenommen. (Siehe Diagramm IX.) Der Unterschied in der Wachstumsgeschwindigkeit hat sich besonders bei den Meerschweinchen binnen mehreren Monaten nach der Geburt verfolgen lassen. So war z. B. die tägliche Wachstumszunahme der mit Alkohol behandelten Meerschweinchen in den ersten 40 Tagen 4.86 und die der mit Wasser behandelten Meerschweinchen 5.30. In den ersten 110 Tagen war die tägliche Gewichtszunahme der Jungen der mit Alkohol behandelten Meerschweinchen 4.30, und dieselbe der Jungen der mit Wasser behandelten Meerschweinchen 5.50. Wenn wir nun die referierten Ergebnisse der die hereditären Verhältnisse betreffenden Observationen durchmustern, so müssen wir unbedingt zugeben, daß die minimalen, eine längere Zeit gegebenen Alkoholmengen einen deutlich nachteiligen Einfluß auf die Nachkommenschaft der mit Alkohol behandelten Tiere ausgeübt haben. Es kann kaum ein Zufall sein, daß die bei den zwei verschiedenen Tierarten erhaltenen Resultate ganz einstimmig dafür sprechen.

In diese ganze Versuchsserie, worauf die hier veröffentlichten Resultate basieren, haben wir anfangs nur 70 Versuchstiere mitgenommen, wenn wir deren Jungen aber auch mitrechnen, so haben wir schließlich mit nicht weniger als 348 Versuchstieren zu tun gehabt.

Es sei an dieser Stelle nur ganz kurz hervorgehoben, daß die mit früheren, hier nicht genau referierten Versuchsserien erhaltenen Resultate nahezu mit den jetzigen übereinstimmen.

Wenn man jetzt die in vorliegender Arbeit erhaltenen Resultate, um größere Übersichtlichkeit anzustreben, wissenschaftlich zusammenfassen will, so sehen wir, daß diese minimalen Alkoholgaben, 0.1 ^{cem} per Kilogramm Tier,

1. die Hämolysierbarkeit der roten Blutkörperchen des Kaninchens durch fremdes Serum befördert haben;

2. die normale Widerstandsfähigkeit des tierischen Organismus für Infektionsstoffe (der Meerschweinchen und Kaninchen) herabgesetzt haben;

3. einen bedeutend nachteiligen Einfluß auf die Nachkommenschaft der Versuchstiere ausgeübt haben.

Mit diesen eine lange Zeit fortgesetzten und mühevollen Versuchen glaube ich den sicheren wissenschaftlichen Beweis geliefert zu haben, daß die obengenannten minimalen Alkoholgaben für den tierischen Organismus nicht indifferent — ja schädlich sind.

Ich hüte mich hier vor weiteren Verallgemeinerungen und füge nur hinzu, daß ich diesbezügliche Observationen bei den Menschen begonnen habe und die Resultate dieser Untersuchungen späterhin veröffentlichen werde.

[Aus dem Statens Seruminstitut in Kopenhagen.]

Untersuchungen über aktive und passive Immunisierung mit Vibriolysin.

Von

T. W. Tallquist,

Dozent der inneren Medizin an der Universität in Helzingfors (Finland).

So vielseitig auch in allen Fragen der Immunität gearbeitet wird, hat man doch dem Verhalten der Antikörper innerhalb des Organismus bei den verschiedenen Formen der Immunisierung nur verhältnismäßig wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Die Untersuchungen über den Gang der Antitoxinbildung haben jedoch, ganz abgesehen von ihrer praktischen Bedeutung, auch ein großes theoretisches Interesse wegen der Beiträge, welche sie zur Erweiterung unserer Kenntnis von den sich im Körper abspielenden Prozessen leisten werden.

In den Immunisierungsversuchen mit Tetanustoxin haben Brieger und Ehrlich¹ als die ersten den Verlauf des Zu- und Abnehmens des Antitoxingehaltes näher studiert. Ähnliche Untersuchungen sind danach in größerem Umfange von Salomonsen und Madsen² mit Immunisierung von Pferden mit Diphtheriegift gemacht worden, sowie später von Dean.³ Morgenroth⁴ hat die Antikörperproduktion von Labenzym ver-

¹ Brieger u. Ehrlich, Beiträge zur Kenntnis der Milch immunisierter Tiere. *Diese Zeitschrift*. 1898. Bd. XIII.

² Salomonsen et Madsen, Recherches sur la marche de l'immunisation active contre la diphtérie. I. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1897. II. *Ebenda*. 1899.

³ Dean, Problems of Diphtheria immunity. *Transact. of the Pathol. Society of London*. 1900.

⁴ Morgenroth Über die Antikörper des Labenzyms. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1899. Bd. XXVI.

folgt, und ferner hat Bulloch¹ sich in ähnlicher Weise mit einigen Hämolytinen cytotoxischer Herkunft beschäftigt. Alle diese Untersuchungen zeigten, daß der Gang der Antikörperproduktion sich im allgemeinen nach bestimmten Gesetzen vollzieht, was sich in einer Kurve demonstrieren läßt. Diese Kurve hat z. B. bei den Diphtherie- und Tetanusantitoxinen ein ziemlich übereinstimmendes Aussehen. Auch bei Botulismusintoxikation fanden Forsmann und Lundström² bei ihren diesbezüglichen Untersuchungen, daß die Antikörperkurve derselben große Ähnlichkeit mit den letzten beiden darbietet.

Die Agglutinine des Typhus und der Cholera wurden vor einigen Jahren von Jörgensen und Madsen³ einem systematischen Experimentalstudium hinsichtlich ihres Verhaltens bei aktiver sowie passiver Immunisierung unterworfen. Hierbei ging es hervor, daß zwischen diesen beiden Immunisierungsformen tatsächlich Unterschiede bestehen, welche man früher nur wenig beachtet hatte, und deren Natur nicht ohne weiteres einleuchtend erschien. Jörgensen und Madsen konnten nämlich zeigen, daß unter gewissen Umständen eine passive Immunisierung die Wirkung einer nachfolgenden Injektion des entsprechenden Toxins in bezug auf eine Antikörperproduktion ganz aufzuheben vermochte. Die beiden Arten von Antikörpern, welche bezugsweise auf dem aktiven und passiven Wege im Organismus zum Vorschein kamen, müßten also voneinander abweichende Eigenschaften besitzen. Diese Beobachtung bildet den Ausgangspunkt von meinen eigenen später ausführlicher zu besprechenden Versuchen.

Dem Agglutinationsvermögen des Blutes bei Typhus hat Jörgensen⁴ noch ein eingehendes klinisch-experimentales Studium gewidmet, und er lenkt die Aufmerksamkeit auf die Schwankungen in dem Agglutinin-gehalte, welche hier während des Verlaufes der Krankheit zum Vorschein kommen.

In den letzten 3 bis 4 Jahren sind noch einzelne andere Abhandlungen erschienen, welche das Verhalten einiger Bakterienagglutinine (meistenteils des Typhus und der Coli-Gruppe) behandeln. Neulich hat

¹ Bulloch, On the nature of haemolysis and its relation to bacteriolysis. *Transact. of the Pathol. Soc. of London.* 1901.

² Forsmann et Lundström, Sur la marche de la courbe d'antitoxine dans l'immunisation active contre le botulisme. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1902.

³ Jörgensen and Madsen, The fate of typhoid and cholera-agglutinins during active and passive immunisation. *Festschrift zur Eröffnung des „Statens Seruminstitut“.* Kopenhagen 1902.

⁴ Jörgensen, Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes im Verlaufe des Typhus abdominalis. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1905. Abt. I. Bd. XXXVIII.

Forsmann¹ weitere Untersuchungen über Immunisierung gegen Botulismustoxin veröffentlicht, in welchen auch besonders auf die Abweichungen in der Antitoxinbildung bei Einführung des Giftes in den Organismus auf verschiedenen Wegen hingewiesen wird, was für die Auffassung der Frage über die Bildungsstätten der Antikörper eine große prinzipielle Bedeutung hat. Forsmann gelangt durch seine Beobachtungen zu der Überzeugung, daß die Wechselwirkung zwischen Toxin und Antitoxin innerhalb des Organismus tatsächlich in verschiedener Weise verläuft. Zur Erklärung dieser Tatsache ist man nach seiner Meinung zu der Annahme gezwungen, daß die Antikörper, welche sich in dem extravasalen Serum finden, mit dem im Blute kreisenden (auf aktivem Wege erzeugten) nicht identisch sind. Für einen solchen grundwesentlichen Unterschied zwischen diesen beiden Kategorien der Antikörper ist, wie gesagt, schon früher Salomonsen und Madsen und Madsen und Jörgensen eingetreten.

Es war besonders die obenerwähnte, sehr beachtungswürdige Gegenseitigkeit des aktiv und passiv immunisierten Organismus in bezug auf sein Reaktionsvermögen gegen neu eingeführte Giftdosen, welche zu fortgesetztem Versuche auffordern mußte. Auch ist es für das richtige Verständnis des ganzen Immunisierungsaktes überhaupt nur wünschenswert, daß möglichst viele Toxine hinsichtlich der Einzelheiten bei der Antikörperproduktion auf dem schon eingeschlagenen Wege systematisch geprüft werden. Es ist vielmehr zu erwarten, daß erst ein sehr großes Observationsmaterial uns die Auskunft über viele belangreiche Verhältnisse betreffs des Verhaltens der Immunkörper innerhalb des Organismus verschaffen kann.

Für die nachfolgende experimentelle Bearbeitung wurde ein hämolytisches Bakterientoxin, das Vibriolysin, vorgeschlagen. Es ist für alle Arbeiten, wo es sich um vergleichende Bestimmungen des Antikörpergehaltes dreht, ein unschätzbare Vorteil, dieselben in vitro ausführen zu können, und erst seit dem Erfinden dieser Methoden läßt ein planmäßiges Studium des Ganzen der Antikörperbildung durch Ausführung einer größeren Reihe von Versuchen sich eigentlich ermöglichen.

Dem für meine Arbeit entworfenen Plane gemäß zerfallen die Versuche in drei Gruppen. In der ersten wurde der Verlauf der aktiven Immunisierung studiert, und zwar unter Einführung des Toxins in den Organismus auf verschiedenen Wegen; in der zweiten wurde der Gang der passiven Immunisierung untersucht, wobei ebenso

¹ Forsmann, Studien über die Antitoxinbildung bei aktiver Immunisierung gegen Botulismus. *Ebenda*. 1905. Abt. I. Bd. XXXVIII.

den verschiedenen Wegen der Resorption Aufmerksamkeit geschenkt wurde; und endlich wurde drittens mit Kombinationen von aktiver und passiver Immunisierung in mehreren Formen experimentiert. Es war meine Absicht, auf dem Boden der hier ermittelten Resultate, welche die Reaktion des Körpers gegen das Gift unter sozusagen normalen Bedingungen demonstrieren, die Experimente fortzusetzen, um zu erfahren, ob etwaige accidentelle Momente verschiedener Art oder direkte Eingriffe in die Antitoxinproduktion und deren Verlauf von Bedeutung sein könnten. Vom klinischen Gesichtspunkte aus kann man solchen Bestrebungen ein gewisses Interesse nicht absprechen, und es sind z. B. in der Einwirkung von Blutentziehungen schon Anhaltspunkte hierfür gegeben. Ebenso ist es bei einigen experimentellen Injektionen gelungen, den Nachweis zu geben, daß z. B. eine chronische Alkoholisation auf das Auftreten und die Stärke der Immunität eine Einwirkung ausübt (Deléarde¹). Diesen Teil des Themas werde ich auf eine künftige Bearbeitung verschieben.

Methodik.

Das Vibriolysin, welches ich angewandt habe, war durch dreiwöchentliches Züchten der betreffenden Bakterie² in großen Kolben mit steriler Bouillon und nachfolgende Filtration und Sterilisation durch Toluolbehandlung gewonnen und wurde mir fertig hergestellt (ca. 1 Jahr alt) vom Institut überreicht. Es waren schon früher hierselbst von Herrn Dr. L. W. Famulener Immunisierungsversuche an Ziegen damit angestellt.³

Für meine Untersuchungen wurden Kaninchen angewandt, nachdem durch einige vorläufige Experimente ermittelt war, daß auch bei diesen, unter Anwendung von geeigneten Dosen des Toxins, eine Antikörperproduktion sich hervorrufen ließ. Es wurden für die Versuche immer wohlgewachsene Kaninchen von ca. 2000^g (1800 bis 2100) an Gewicht ausgewählt, um möglichst große Gleichförmigkeit anzustreben. Es stellte sich heraus, daß solche Kaninchen eine subkutane oder intraperitoneale Einzelinjektion von 5.0^{ccm} der Toxinbazillen durchgehends ziemlich gut vertrugen, und daß hiermit schon ein deutlicher Ausschlag zu bekommen war. Bei Injektion von 7.0 bis 10.0^{ccm} magerten die Tiere stark ab und gingen unter dem Bilde einer allgemeinen Kachexi meistens binnen 10 bis 17 Tagen zugrunde. 20^{ccm} führten innerhalb 2 bis 5 Tagen zum Tode.

¹ Deléarde, Contribution à l'étude de l'alcoolisme expérimental et de son influence sur l'immunité. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1897. T. XI.

² Den Vibrio Nasik verdankt das Institut der Liebenswürdigkeit von Hrn. Prof. Dr. R. Kraus in Wien.

³ Famulener, A report of immunization curves derived from goats treated with certain haemolytic bacterial toxins (Vibriolysin and Staphylolysin).

Bei intravenöser Injektion (in Randvene des Ohres) zeigte sich die Toxizität viel höher. 5^{cem} der Bouillon töteten regelmäßig die Tiere im Verlaufe von 1 bis 2 Stunden. 3 bis 4^{cem} geben eine stark progrediente Kachexi und erst 2^{cem} wurden ohne beträchtliche allgemeine Störungen toleriert.

Diese lebensschädigende Wirkung des Giftes hängt, wie auch aus dem Verhalten des Blutes bei den Versuchen zu ermitteln ist, nicht von dem hämolysischen Effekte desselben ab. Bei subkutaner oder intraperitonealer Applikation scheint das Blut überhaupt gar nicht oder wenigstens nur ganz minimal alteriert zu werden. Bei intravenöser Einführung kommt augenscheinlich eine Erythrolyse zustande; aber dieselbe erreicht nicht einen Grad, welcher die schweren Symptome, um nicht vom Tode zu sprechen, erklären konnte. Mit R. Kraus¹, welcher das fragliche Vibriengift zum ersten Male in Tierexperimenten näher studiert hat, muß man annehmen, daß die allgemeine toxische und die hämolysische Wirkung von zwei verschiedenen Komponenten abhängig sind.

Das Vibriolysin hämolysiert bei Versuchen in vitro mehrere Arten von roten Blutkörperchen. Da für die Messungen bei meinen Versuchen jedesmal beträchtliche Quantitäten von einer Blutkörperchenausschwemmung nötig waren, habe ich auf die Benutzung von Kaninchenblut als Reagens verzichten müssen, und statt dessen Ziegenblutkörperchen gebraucht. Diese wurden durch Zentrifugieren abgeschieden und einmal mit Salzwasserlösung ausgewaschen, und danach wurde mit einer 0.9 prozentigen Kochsalzlösung eine 2 prozentige Aufschwemmung von derselben hergestellt. Anfangs kamen auch Pferdeerythrozyten zur Anwendung, wurden aber wieder verlassen, da sich ergab, daß manchmal, wo etwas größere Dosen von Kaninchenserum (Antikörper) gebraucht wurden, durch diese allein eine Hämolyse hervorgerufen wurde.

Bei Ermittlung der hämolysischen Stärke meines Lysins wurde festgestellt, daß 0.1^{cem} desselben innerhalb 2 Stunden bei 37° C mit 8.0^{cem} von einer Ziegenblutaufschwemmung totale Hämolyse gab, weshalb diese Dosis als die einfach lösende bezeichnet wurde (für Pferdeblutkörperchen 0.075^{cem}). Dasselbe Toxin kam bei allen meinen Versuchsreihen zur Anwendung. In einer der Portionen aber trat während der Arbeit eine beträchtliche Schwächung ein, was erst nachher bemerkt wurde, weshalb eine volle Gleichmäßigkeit in allen Experimenten auch nicht besteht. Die relativen Werte der einzelnen Versuche werden doch selbstverständlich hierdurch nicht beeinflußt.

¹ R. Kraus, Über ein akut wirkendes Bakterientoxin. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1908. Bd. XXXIV.

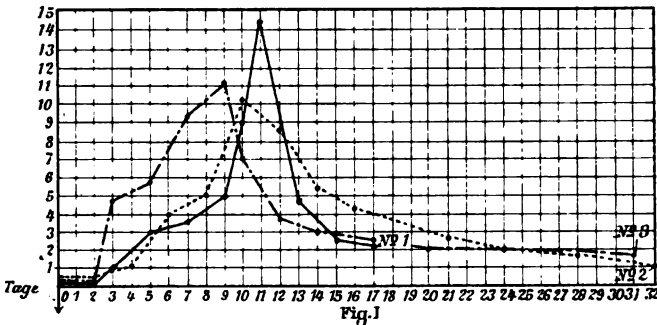
Die Serumproben wurden täglich oder alle zwei Tage, mitunter auch in größeren Zwischenzeiten genommen und nach Zutropfen einer minimalen Quantität Chloroform im Eisschrank aufbewahrt, bis der Versuch beendet war und die Bestimmung des Antitoxingehalts dann für den ganzen Versuch auf einmal ausgeführt werden konnte. Die Messung geschah in der am Institute üblichen Weise, daß in einer Reihe von Hämolyseprovetten (15 bis 20 Stück oder mehr) je 0.2^{ccm} Hämolytin (= die zweifach lösende Dosis) abgemessen, und darauf von der Serumprobe eines Tages eine sukzessiv abnehmende Menge jeder Röhre zugefügt wurde. Danach wurden alle Mischungen durch Zufügung von Chlornatriumlösung auf dasselbe Volumen, 2^{ccm}, gebracht und dann in Ostwalds Thermostat bei 37° C auf zwei Stunden zur Neutralisation gestellt. Hiernach wurden in schneller Folge jedem Rohre mit einer Spritze genau 8.0^{ccm} der 2 prozentigen Blutkörperchenaufschwemmung zugeführt und nach Umschütteln die Stative nochmals auf 2 Stunden im Thermostate gelassen, um dann nach wiederholtem Umschütteln auf Eis gestellt zu werden. Die Ablesung geschah am nächsten Morgen, und die Reihen wurden hierbei auf die Art verglichen, daß in jeder derselben das Rohr aufnotiert wurde, in welchem eine eben beginnende Hämolyse zu sehen war. Die Dosen, in welchen die einzelnen Sera gerade noch gegen die Hämolyse schützten, konnten somit genau ermittelt werden. In den graphischen Darstellungen sind diese Dosen (die reziproken Werte) als Ordinaten aufgetragen. Die Abszissen stellen die Tage der Versuche dar. Ich werde übrigens für das weitere Detail dieser am Institute gebräuchlichen Technik des Hämolyseverfahrens auf frühere vom Institute selbst hier veröffentlichte Berichte hinweisen.

Überhaupt ist es auf diesem Wege möglich, recht scharfe zahlenmäßige Ermittlungen zu bekommen. Da nun die Blutkörperaufschwemmung, welche bei den verschiedenen Bestimmungen benutzt wird, doch nicht dieselbe ist, und auch unter Benutzung desselben Tieres für die Blutentnahme von Tag zu Tag Variationen in der Reaktionsfähigkeit des Blutes bestehen, ist es einzusehen — auch vorausgesetzt, daß alle übrigen Faktoren konstant bleiben —, daß die Versuchsergebnisse nur eine approximative Vergleichung untereinander zugeben, die absolute Werte des Antikörpergehalts betreffen. Ich werde noch bemerken, daß mitunter auch ganz unkontrollierbare störende Einflüsse unbekannter Art sich geltend machen, welche die Ergebnisse der Hämolyseversuche verwischen können. Einige von meinen Versuchen sind aus dieser Ursache ganz vereitelt worden. Mitunter werden die Messungen dadurch beeinträchtigt, daß in einer Reihe mehrere Maxima und Minima zum Vorschein kommen. Bekanntlich ist dieses Phänomen bei Einwirkung von verschiedenen Toxinen

und deren Antitoxinen schon mehrmals konstatiert worden.¹ Doppelbestimmungen mit derselben Serumprobe habe ich aus dem Grunde nicht vornehmen können, weil die jedesmaligen kleinen Quantitäten (ca. 2.5 ccm) in Anbetracht der langen Versuchsreihen nicht ausreichten. Wo es möglich war, habe ich darum einen Parallelversuch an zwei oder mehreren Tieren ausgeführt.

Aktive Immunisierung.

Bei diesen Versuchen habe ich anfangs die Wirkung einer einfachen Injektion von Toxin versucht. Es ergab sich hierbei, daß keine Reaktion eintrat, oder jedenfalls zu gering war, um gemessen werden zu können, wenn die Dosen des Giftes unter 5.0 ccm waren, besonders bei intraperitonealer oder subkutaner Injektion. Mit 5.0 ccm war dagegen ein deutlicher Ausschlag zu bekommen. In Fig. I sind die Kurven von drei Kaninchen dargestellt, welche alle eine Injektion von 5.0 ccm intraperitoneal erhalten hatten.



Man findet hier wieder den allgemeinen Typus der meisten früher beobachteten Antikörperkurven, ganz ähnlich den von Famulener nach Immunisierung von Ziegen mit Vibriolysin observierten. Nach einer Latenzzeit, welche hier in der Regel 2 Tage umfaßt, fängt das Erscheinen des Antihämolytins im Blute an, und am 9. bis 11. Tage erreicht dieses Erscheinensein Maximum, wonach ein Sinken beginnt. Im Anfang ist diese letzte Bewegung sehr rasch, wird aber immer langsamer, und endet mit einem ganz allmählichen Verschwinden der Antitoxine aus dem Blute.

¹ Madsen u. Walbum, L'influence de la température sur la vitesse de réaction. *Bull. de l'Acad. Royale de Danemark*. 1904. — Madsen, Sur le poison du Botulisme et son antitoxine. *Ebenda*. 1905.

Die Reaktion nach einer solchen einzelnen Injektion ist in diesen Fällen nicht groß und am 15. bis 20. Tage ist die noch restierende Antitoxinmenge nur eine ganz minimale. Im normalen Kaninchenserum kommt übrigens schon eine antihämolytisch wirkende Substanz vor. Die Menge desselben habe ich jedoch immer so minimal gefunden, daß sie für diese Messungen gleich Null ist.

Das Ansteigen der Kurve geht nach den Hämolsininjektionen in meinen Versuchen weniger steil aufwärts, als z. B. die Kurve, welche man im allgemeinen bei den Agglutinationsversuchen darstellt. Die drei Versuche zeigen übrigens darin etwas Unterschied. Sowohl in dieser Hinsicht, als in bezug auf die Größe des Ausschlags spielen in den einzelnen Fällen die individuellen Verschiedenheiten eine Rolle.

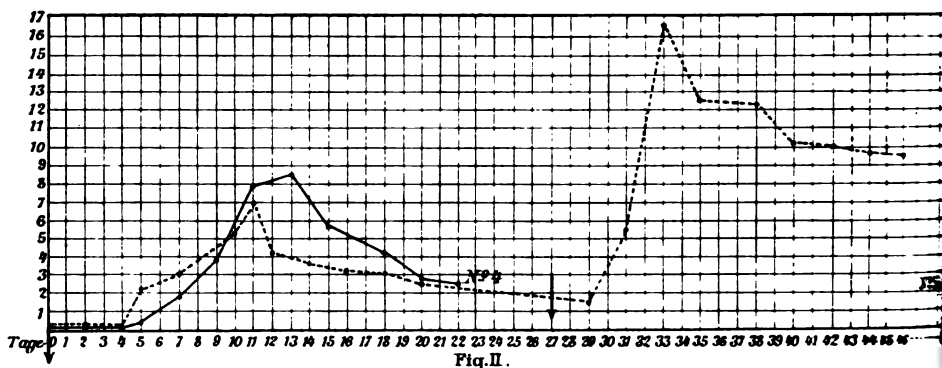


Fig. II.

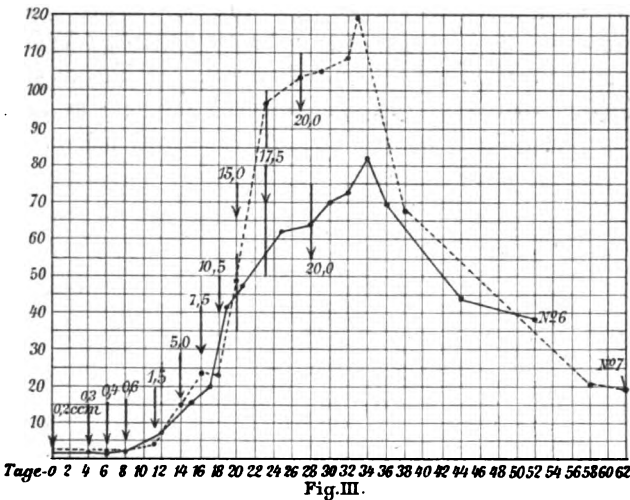
Die beiden Kurven in Fig. II stammen von zwei Kaninchen her, an denen je 5.0^{cem} des Toxins subkutan eingespritzt wurden. Wie ersichtlich ist, wiederholt sich auch hier die Form der ersten Kurven, nur ist zu beachten, daß die Latenzzeit bei der subkutanen Injektion anscheinend etwa doppelt so lang ist; das Maximum des Ausschlags tritt auch durchschnittlich ein paar Tage später ein.

Dem einen Kaninchen wurde 27 Tage nach der ersten Injektion eine neue subkutane Injektion gegeben. Aus der Kurve sieht man, daß die Reaktion an diesem Tiere, welches schon einmal immunisiert wurde, nach einer wiederholten gleich großen Dosis bedeutend größer ist und etwas schneller hervortritt als zum ersten Male. Die Immunität besteht auch nach diesem zweiten Steigen etwas länger. Ein analoges Verhältnis wird wohl auch bei aktiver Immunisierung mit anderen Substanzen beobachtet, doch scheint diese vermehrte Reaktionsfähigkeit mit der Zeit wieder zu verschwinden. Jörgensens Versuch mit Kulturen von *B. typh.* (Fig. 2) demonstriert z. B. den letztgenannten Umstand sehr deutlich.

Werden nun aber die Giftdosen mit Zwischenzeiten von nur einigen Tagen wiederholt, dann stellt sich ein anderes Verhältnis ein.

Salomonsen und Madsen zeigten bei Immunisierung von Pferden, daß wiederholte Injektionen derselben Dosis des Giftes schwächere Ausschläge geben. Hinsichtlich der Agglutinenen ist dasselbe Verhältnis auch konstatiert worden. Jörgensen und Madsen haben auch gefunden, daß beim stetigen Fortfahren in den Injektionen ein Punkt erreicht wird, wo die Menge der Antikörper im Blute statt zu steigen sich zu vermindern beginnt. Es gibt eine Grenze der Reaktionsfähigkeit der Zellen, nach deren Überschreitung das Produktionsvermögen zu versagen beginnt.

Auch wenn man die injizierte Toxinmenge gradweise vergrößert, gelingt es nicht bei wiederholten Einspritzungen die jedesmaligen Ausschläge fortwährend höher zu machen, obwohl es sonst als allgemeine Regel gilt, daß der Organismus innerhalb gewisser Grenzen auf größere Toxindosen auch mit einer entsprechend größeren Produktion von Antitoxin antwortet. Individuelle Verschiedenheiten machen sich jedoch auch hier oft geltend.



An den beiden Kaninchen, deren Kurven in Fig. III dargestellt sind, wurde die Immunisierung mit ganz kleinen Dosen angefangen und die subkutanen Injektionen nach 2 bis 3 Tagen immer wiederholt unter beständiger Vergrößerung der injizierten Dosen. Man findet, daß die Tiere hier schließlich eine Dosis (20.0 ccm) vertragen, welche sonst immer den Tod binnen 3 bis 4 Tagen sicher herbeiführt. Es ist offenbar, daß die erzeugte Immunität somit nicht nur die in vitro demonstrierbare antilytische Wirkung gegen die Vibriolysinlösung einschließt, sondern auch

dessen direkt toxischen Anteil umfaßt. Inwieweit doch diese beiden Eigenschaften des Serums parallel gehen, kann nicht aus diesen Versuchen beurteilt werden. Die Antikörperkurve ist auch bei diesem Immunisierungsverfahren der von Famulener bei Ziegen gewonnenen ganz ähnlich.

Die erste Periode der Antihämolytinkurve ist hier bei den sehr kleinen Initialdosen relativ lang (8 Tage). In den beiden Versuchen sind die Ausschläge am größten bei den mittelstarken Dosen, und die Kurve läuft hier steil in die Höhe. Die größten Dosen sind schon weniger wirksam. Wahrscheinlich ist doch in diesen Fällen der möglichst hohe Grad der Immunität noch nicht erreicht. Daß übrigens das Aussehen der Kurve von der Häufigkeit der Injektionen abhängig sein muß, ist einleuchtend. Ist die Zwischenzeit sehr lang, kann man erwarten, daß ein Abfall zum Vorschein kommt, bevor das Ansteigen wieder anfängt.

Salomonsen und Madsen beobachteten bei ihren Immunisierungsversuchen, daß die unmittelbare Folge jeder neuen Injektion ein vorübergehendes Sinken des Antitoxingehaltes war, was auch Ehrlichs und Briegers Versuch nachgewiesen hatte. Später ist dieselbe Erscheinung auch von anderen Beobachtern bei mehreren antikörperbildenden Substanzen bemerkt worden. Bei dem Vibriolysin scheint ein solches Phänomen, wie die Kurven in Fig. III darlegen, meistens nicht hervorzutreten, wenn auch Andeutungen hierauf nicht ganz fehlen.

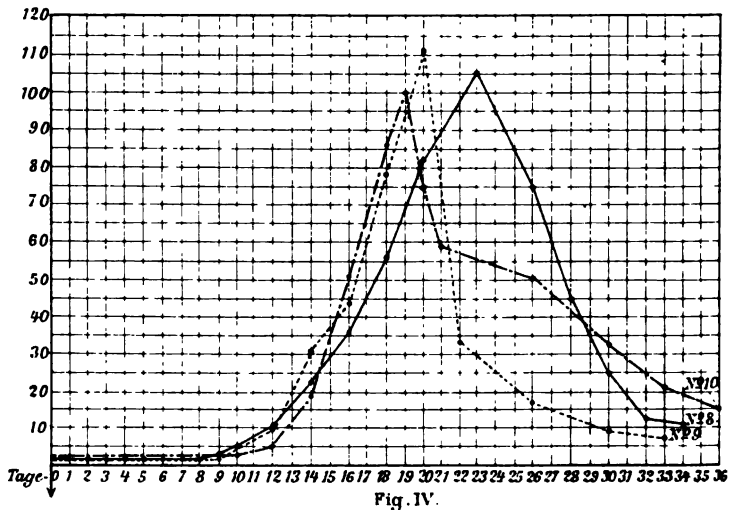


Fig. IV.

Sehr bemerkenswert sind die Ergebnisse, welche bei intravenöser Injektion des Toxins erhalten worden sind. An den drei Kaninchen in

Fig. IV wurden je 2.0^{ccm} des Vibriolysins in die Randvene des Ohres injiziert. Wie schon hervorgehoben, waren 2.0^{ccm} die annähernde Dosis, die, ohne lebenbedrohend zu wirken, in der angegebenen Weise noch appliziert werden konnte.

Die Kurven zeigen alle einen ziemlich übereinstimmenden Gang. Das Erscheinen des Antilylins im Serum fängt ganz ungewöhnlich spät — den 9. bis 10. Tag nach der Injektion — an, und der Ausschlag ist unerwartet groß, besonders in Anbetracht der kleinen Dosen des injizierten Toxins. Bei subkutaner oder intraperitonealer Applikation wurde mit einer Injektion von nur 2.0^{ccm} tatsächlich kein meßbarer Ausschlag erhalten. Das Maximum des Antilylinsgehaltes wird bei der intravasalen Injektion am 19. bis 23. Tag erreicht, also an einem Zeitpunkt, wo bei den extravasalen Injektionen einer einfach wirkenden Dosis beinahe alles Antitoxin aus dem Blute verschwunden ist. Sonst hat der fallende Zweig der Kurve bei diesen Versuchen annähernd ein ähnliches Aussehen wie bei den vorhergehenden.

Eine Zeitlang nahm man an, daß bei den Toxinen insgesamt das Einführen derselben direkt in die Blutbahn ungeeignet war, eine Antikörperbildung hervorzubringen. Es mögen wohl die Erfahrungen bei der Diphtheriserumproduktion¹ für diese Ansicht maßgebend gewesen sein. Dzierzowski² hat besonders seinen Standpunkt in ganz exakter Weise präzisiert. Später hat es sich doch herausgestellt, daß es hier wie so oft unrichtig gewesen ist, ohne eine allseitige Nachprobe generalisieren zu wollen. Mag es auch sein, daß bei einigen Toxinen eine diesbezügliche Wirkung ausbleibt, wenn sie direkt in die Blutbahn eingeführt werden, bei anderen ist es nicht der Fall.

Forsmann hat für das Botulismustoxin erst nachgewiesen, daß auch die intravenöse Injektion desselben eine Antikörperbildung hervorbringt. Er war, auf theoretische Erwägungen gestützt, schon im voraus anzunehmen geneigt, daß sich der Gang des Prozesses bei dem intravasalen Einführen des Giftes von dem Prozeßgange nach subkutaner Injektion verschieden herausstellen würde, und ein solches Verhältnis ergab sich in der Tat auch bei seinem Versuche. Die beiden Kurven unterscheiden sich beträchtlich voneinander in Form und Höhe des Ausschlages. Die intravenöse Applikationsweise zeigte sich bei dem Botulismustoxin — im Gegensatz zu den Ergebnissen meiner Versuche mit dem Vibriolysin — jedoch

¹ Madsen, Antitoxins and agglutinins. *Reports of the American Public Health Association*. XXVII.

² Dzierzowski, *Arch. des sciences biol. St. Petersbourg*. T. V u. IX.

von einer weit geringeren Reaktion begleitet als die extravasale. Forsmann neigt zu der Auffassung, daß in den beiden Fällen wesentlich verschiedene Zellengruppen im Organismus bei der Antikörperproduktion in Aktion treten, was auch einen verschiedenen Ausschlag bedingt. Maßgebend für die Betrachtungsweise, aus welcher diese Anschauung entspringt, ist die Theorie, daß bei der Erzeugung der Antikörper die lokale Tätigkeit des Gewebes an der Injektionsstelle eine hervorragende Rolle spielt. Durch Römers¹ Untersuchungen über die Abrinimmunität ist es ja auch sehr wahrscheinlich gemacht, daß eine lokale Antikörperbildung (Konjunktiva des Auges) tatsächlich existieren kann.

Unter den Immunkörpern ist auch bei den Präzipitinen bekannt, daß sie sich bei intravenöser Injektion der betreffenden Eiweißlösungen erzeugen lassen. Bei den Versuchen von Kraus und Schiffmann² wird z. B. Präzipitinbildung durch intravenöse Injektion von Pferdeserum an Kaninchen erzeugt.

Bei der Herstellung des Pestserums hat bekanntlich schon früh der intravenöse Injektionsweg bei der Immunisierung sich als der meist geeignete herausgestellt. Nach Besredka³ sollen durch intravenöse Injektion Antikörper auch gegen einige Bakterienendotoxine dargestellt werden können.

Nach dem, was jetzt bekannt ist, scheinen somit einige antikörperbildende Substanzen beim intravenösen Einführen in den Organismus eine solche Bildung hervorzurufen, andere aber nicht, und zugleich ist es wahrscheinlich gemacht worden, daß die Produktion überhaupt nach einem verschiedenen Schema verläuft in den Fällen, wo eine Einwirkung auf mehreren Wegen erzeugt wird, sei es, daß die Injektion intravasal oder z. B. subkutan gemacht wird. Welche Momente aber hier zu den Differenzen in dem Gange des Prozesses und zu der Intensität desselben beitragen mögen, ist zurzeit unmöglich zu beurteilen. Es muß auch dahingestellt bleiben, von welchen Ursachen die recht beträchtliche Umgestaltung des Verlaufes der Antilysinproduktion nach der intravenösen Injektion in meinen oben beschriebenen Versuchen herrühren mag.

Jedenfalls scheint es mir, daß auch die hier gewonnenen Resultate am einfachsten bei der Annahme erklärt werden können, daß die Zellengruppen, welche in dem einen und dem anderen Falle für die Produktion der Immunkörper in Beschlag genommen werden, nicht dieselben sind,

¹ Römer, Über Abrinimmunität. *Archiv für Ophthalmol.* 1901. Bd. LII.

² R. Kraus und Schiffmann, Sur l'origine des anticorps. *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1906. T. XX.

³ Besredka, De l'anti-endotoxine typhique et des anti-endotoxines, en général. *Ebenda.* 1906. T. XX.

und daß der Gang des Prozesses hiervon in hohem Grade abhängig ist. Möglicherweise ist das späte Eintreten der Reaktion bei der intravenösen Injektion des Vibriolysins auch zum Teil davon bedingt, daß das Blutserum auf die Verbindung des Toxins mit den betreffenden Zellen hemmend einwirkt. Was die intensivere antikörpererzeugende Wirkung des Giftes unter diesen Bedingungen betrifft, läßt sich auch ein Gesichtspunkt hervorziehen, welcher in Betracht zu kommen verdient. Intravasal eingeführt ruft das Vibriolysin — wie durch Messungen des Hämoglobingehaltes festgestellt werden kann — eine mehr oder minder beträchtliche Zerstörung von Erythrozyten hervor. Wir wissen nun, daß eine solche Blutdestruktion immer von einer nachfolgenden lebhaften regenerativen Tätigkeit begleitet wird, und man konnte darum die Frage stellen, ob nicht diese kompensatorisch verstärkte Funktion des hämatopoetischen Systems auch hier eine regere Antikörperbildung und Zufluß nach der Blutbahn veranlaßt. Vorausgesetzt, daß z. B. das Mark nach der intravenösen Injektion in der Immunkörperbildung mitbeteiligt ist, würde die obengenannte Annahme nicht gänzlich unannehmbar sein. Wir wissen ja, daß auch große Blutentziehungen die Antikörperproduktion beeinflussen (Dreyer und Schröder). Dieser Gesichtspunkt möchte vielleicht Anregung zu weiteren Nachuntersuchungen geben über die eventuelle Einwirkung anderer Blutgifte auf den Gang der Antikörperbildung bei der Injektion von mehreren Haptinen.

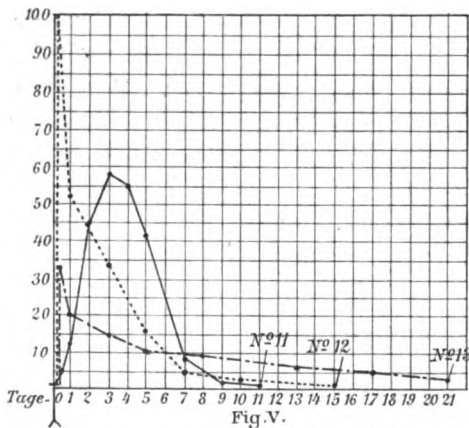
Passive Immunisierung.

Ich habe für diese Versuche Immunsera von einer Ziege, wie auch von mehreren Kaninchen benutzt. Von dem Ziegenserum war eine Dosis von 0.0075^{cem} genug, um 1.0^{cem} (= 10 mal die einfach hämolytische Dosis) des angewandten Hämolysins zu neutralisieren. Dasselbe Serum wurde bei meinen Versuchen, welche sich auf Ziegenserum beziehen, angewandt. Vom Kaninchenserum wurden jedesmal nur kleinere Quantitäten erhalten; auch konnte dasselbe nicht so hochwertig dargestellt werden wie das Ziegenserum. Zur Neutralisation von 1.0^{cem} Vibriolysin waren hier von den verschiedenen Portionen 0.02 bis 0.07^{cem} Serum nötig.

Von den 3 Kaninchen, deren Kurven in Fig. 5 wiedergegeben sind, bekamen Nr. 11 und Nr. 12 dieselbe Dosis des hochwertigen Ziegensersums (15^{cem}), dieses subkutan, jenes intravenös. Wie es durch die Ergebnisse von früheren ähnlichen Versuchen mit anderen Immunsera (Henderson-Smith¹) zu erwarten war, trat auch hier eine große Differenz in dem

¹ Henderson-Smith, On the absorption of antibodies from the subcutaneous tissues and peritoneal cavity. *The Journ. of Hygiene*. 1907. Vol. VII. p. 205.

erzeugten Effekte bei den beiden Applikationsweisen hervor. Bei intravenöser Injektion wird das Maximum des Antikörpergehaltes im zirkulierenden Blute fast momentan erreicht. Nach subkutaner Injektion sehen wir dagegen, daß die Konzentration der Antikörper nur ganz allmählich im Blute zunimmt, um erst ungefähr am 3. Tage nach der Injektion seinen höchsten Grad zu erreichen. Die Messung ergab, daß nach 6 Stunden nur ca. $\frac{1}{10}$, nach 24 Stunden nur ca. $\frac{1}{4}$ des Höhepunktes der Immunität noch erreicht war. Daneben zeigen die Kurven aber auch, daß dasselbe Quantum eines Immunserums nach subkutaner Injektion nur eine ca. halb so große immunisatorische Endwirkung hervorbringt als die an gleichgroßen Tieren nach intravenöser Injektion erreichte. Die Resorption aus dem subkutanen Gewebe geht ziemlich langsam vonstatten, und ein sehr beträchtlicher Teil der Immun-



körper kommt dabei in der Zirkulation nicht zum Vorschein, entweder weil sie, an der Injektionsstelle gebunden, unresorbiert bleiben oder zerfallen. Henderson-Smith und Madsen¹ haben am hiesigen Institute schon früher die Resorptionsverhältnisse nach Injektionen von Agglutininen und von Diphtherie- und Tetanusserum in Tierversuchen und in Versuchen an sich selbst untersucht.

Bei subkutaner Injektion wurde das Maximum der antitoxischen Stärke nach 55 Stunden erreicht. Nach dem Verlaufe von 5 Stunden war ca. $\frac{1}{10}$, nach 30 Stunden ca. $\frac{2}{3}$ des Maximumwertes im Blute vorhanden. Bei intraperitonealer Injektion (Kaninchen) ging die Resorption nur unbedeutend schneller. In beiden Fällen wurde nur $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{3}$ von dem Immunisierungsgrade erreicht, welche das gleiche Quantum des Serums hervorrief, wenn die Injektion in eine Vene gemacht wurde.

Meine Erfahrungen mit dem Vibriolysin stehen somit mit diesen früheren Resultaten im Einklang. Madsen lenkt auch stark die Aufmerksamkeit der Kliniker auf diese praktisch wichtigen Tatsachen. Durch

¹ Madsen, „XII. allgemeine Versammlung schwedischer Ärzte in Malmö.“ 1905. Diskussion über Diphtherieserumtherapie. *Hygiea*. 1905.

die direkte Injektion der immunisatorischen Sera in die Blutbahn erreicht man tatsächlich, nicht nur in bezug auf Schnelligkeit, sondern auch in bezug auf Erhöhung der immunisierenden Stärke des Blutes, so viel mehr, daß es in der Therapie manchmal erwägt werden muß, ob es nicht richtiger wäre, zu der intravenösen Applikation des Schutzmittels zu greifen.

In Übereinstimmung mit allen früheren diesbezüglichen Untersuchungen (auch mit den von Famulener über passive Immunisierung von Ziegen mit Vibriolysin) zeigen meine oben angeführten Versuche, daß das Verschwinden der in die Blutbahn (passiv) eingeführten Antikörper sich nach einem bestimmten Schema vollzieht.¹ Auf das Maximum folgt erst ein sehr rasches Sinken, welches nach und nach immer relativ weniger schnell verläuft, bis zuletzt nach einer Anzahl von Tagen keine Immunkörper mehr aufgefunden werden.

Aus Fig. V geht hervor, daß der letzte Teil der abfallenden Kurve sich etwas verschieden gestaltet, je nachdem Ziegen- oder Kaninchenimmunserum injiziert wurde. Obgleich in den beiden ersten Fällen (Kaninchen Nr. 11 und 12) der erreichte Immunitätsgrad anfangs höher war, ist die Elimination hier nicht unbedeutend schneller vollendet als beim Kaninchen Nr. 13, an dem Kaninchenserum (20^osm eines dreimal schwächeren Serums) injiziert wurde (intravenös). Ein ähnliches Verhältnis ist übrigens auch z. B. aus Fig. 11 zu ersehen. Es scheint also, als ob in diesen Fällen die Antikörper, welche aus dem homologen Serum stammen, länger im Blute bleiben als die heterologen. v. Behring hat früher dieselbe Observation gemacht. Es darf jedoch hiermit keine generelle Regel postuliert werden. Das Verschwinden der Antikörper aus dem Blute ist nach dem, was wir wissen, nicht oder wenigstens nur in sehr untergeordnetem Grade von einem Sekretions- oder Exkretionsvorgange bedingt², sondern von anderen Umständen abhängig, und es ist sehr leicht möglich, daß die Verhältnisse in dieser Hinsicht bei verschiedenen Antikörpern und bei verschiedenen Tiergattungen sich verschieden gestalten können. In der Tat zeigte Jörgensens und Madsens obenerwähnte Untersuchung, daß die Dinge nicht immer gleich liegen.

Kombinierte aktive und passive Immunität.

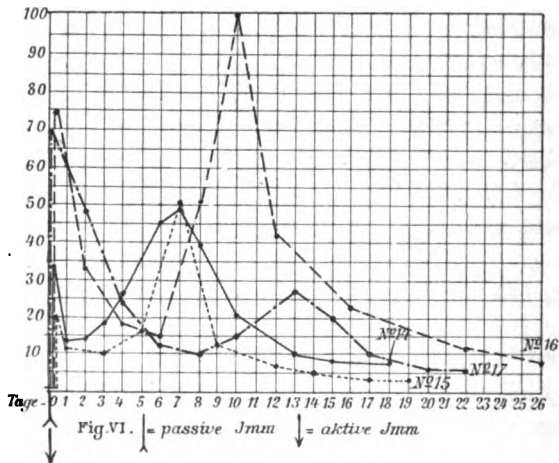
Der Hauptteil meiner Versuche fällt unter diesen Abschnitt, da es — wie schon oben hervorgehoben — ein besonderes Interesse hatte, die Umstände näher zu studieren, welche bei der passiven Immunisierung im

¹ Madsen, The decrease of antibodies in the organism indicated by a formula. *Festschrift. Statens Serum Institut. Kopenhagen 1902.*

² Salomonson et Madsen, Recherches sur la marche de l'immunisation active contre la diphtérie. *Annales de l'Institut Pasteur. 1899.*

Organismus hervortreten hinsichtlich des Verhältnisses desselben zu der Einwirkung von einer gleichzeitigen oder nachfolgenden Injektion des Toxins.

Wo in den nachfolgenden Versuchen die passive Immunisierung von dem subkutanen Gewebe aus hervorgebracht wurde, kam das hochwertige Ziegenserum zur Anwendung. Für die intravenösen Injektionen habe ich hier ausschließlich Kaninchenserum benutzt. Bei mehreren Versuchen gelang es nämlich nicht, der Mehrzahl der Kaninchen das Ziegenserum in Quantitäten von einigen Kubikzentimetern intravenös zu injizieren, ohne schwere Intoxikationssymptome bzw. den Tod der Tiere herbeizuführen. Durch eine Nachprüfung stellte es sich heraus, daß diese toxische Einwirkung des Ziegenblutes auf die Kaninchen schon dem ganz normalen, frischen Ziegenserum gehört, aber doch bei verschiedenen Tieren etwas variieren kann; bei subkutaner Injektion aber scheint die schädigende Wirkung nicht hervorzutreten. Übrigens ist nun auch die Toleranz der Kaninchen dem Ziegenserum gegenüber ziemlich ungleich. Wie aus den schon erwähnten Versuchen über passive Immunisierung ersichtlich ist, hat das Kaninchen im Versuche Nr. 12 (Fig. V) eine Quantität von 15^{cem} Ziegenserum vertragen können, ohne zugrunde zu gehen, wenn auch bedrohliche Symptome hier keineswegs fehlten. Es ist mir später niemals gelungen, nur annähernd dieselbe Quantität Ziegenserum in eine Vene des Kaninchens zu injizieren, ohne den Tod desselben zu veranlassen..

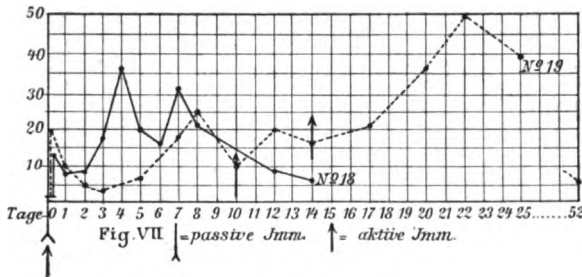


Ich lasse hier der Übersichtlichkeit wegen erst die Versuche folgen, wo die Injektion des Immunserums und des Toxins etwa gleichzeitig, aber an verschiedenen Orten gemacht wurden. Die

passive Immunisierung wurde intravenös ausgeführt, die Injektion des Toxins geschah intraperitoneal.

Kaninchen Nr. 14 (Fig. VI) bekam erst das Antilysin (15^{cem} intravenös) und unmittelbar danach das Toxin (5^{cem} intraperitoneal). An Nr. 15 wurde erst das Toxin injiziert und gleich danach das Immunserum, beides in gleichen Mengen wie bei dem vorigen Versuch. Die Reihenfolge ist dieselbe wie in dem Versuch bei Nr. 16, nur ist die passive Immunisierung hier stärker (20^{cem} eines etwas kräftigen Serums). Schließlich wurde im Versuch Nr. 17 die passive Immunisierung erst zwei Stunden nach der intraperitonealen Toxininjektion ausgeführt.

Wie aus den Kurven in Fig. VI ersichtlich, ist bei dieser Versuchsanordnung das Ergebnis immer dasselbe. Ob nun die Toxininjektion zuerst gemacht wird und die passive Immunisierung unmittelbar nachfolgt, oder die Reihenfolge die umgekehrte ist, kommen die beiden Wirkungen jede für sich zum Vorschein. Auch wenn die passive Injektion zwei Stunden später als die aktive geschieht, wird das obengenannte Verhältnis nicht verändert.

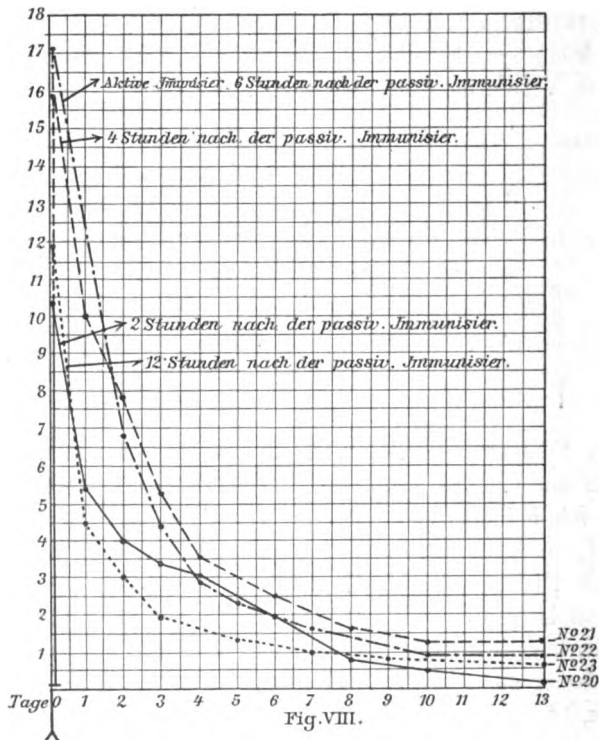


In den Versuchen Nr. 14 und 15 tritt das Maximum der aktiven Kurve schon am 7. Tage nach der Toxininjektion hervor. Ich bemerke dieses, weil ich bei mehreren anderen Versuchen, die alle hier nicht angeführt sind, dasselbe Ergebnis konstatiert habe, nämlich ein relativ schnelleres Eintreten der Reaktion nach der Toxininjektion (der aktiven Immunisierung), wenn diese gleichzeitig mit einer passiven Immunisierung ausgeführt wurde. Daß dies doch nicht unbedingt immer zu erwarten ist, zeigen die beiden anderen Versuche (Fig. VI, Nr. 16 u. 17). Es kann sogar, wie im Versuche Nr. 17, eher von einer Verzögerung der Reaktion die Rede sein. Wahrscheinlich können sich auch in dieser Hinsicht individuelle Ungleichheiten bei den Tieren geltend machen.

In den Experimenten Nr. 18 u. 19 (Fig. VII) ist, wie in den letzterwähnten, eine intravenöse, passive Immunisierung mit einer gleichzeitigen

intraperitonealen Toxininjektion kombiniert; nur sind die passiven Dosen absichtlich kleiner gemacht. In den beiden Fällen sind die Ergebnisse auch hier der Hauptsache nach den früheren ganz gleich. Der Versuch Nr. 18 zeigt darin eine Abweichung, daß die aktive Kurve hier einen wellenförmigen Verlauf mit zwei Maxima hat. Auch in einigen anderen Experimenten ist mir bei den Messungen ein ähnliches Ergebnis vorgekommen, ohne daß ich das Vorliegen eines Versuchsfehlers entdecken konnte.

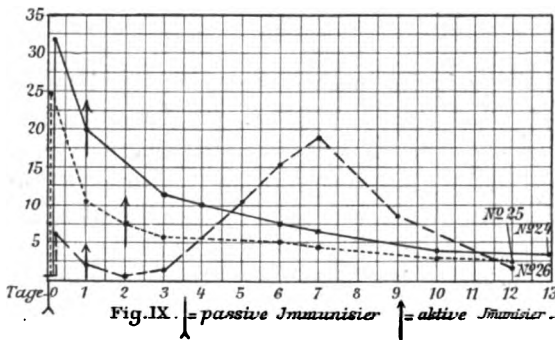
Kaninchen Nr. 19 (Fig. VII) hat am 10. bzw. 14. Tage nach der ersten Injektion zwei neue ähnliche à 5.0^{cem} bekommen. Die passive Immunisierung im Anfange des Versuchs übt unter den betreffenden Bedingungen, wie es aus der Kurve ersichtlich ist, auf den weiteren Gang der aktiven Immunisierung auch keine Einwirkung.



Wesentlich abweichend hiervon gestalten sich aber die Verhältnisse, wenn an einem vorher passiv immunisierten Organismus, wo die fremden Antikörper schon eine Zeitlang im Blute zirkuliert haben, die Toxininjektion erst nach Ablauf einer gewissen Zeit

gemacht wird, namentlich extravasal, wie in allen den letzterwähnten Fällen. Fig. VIII stellt die Ergebnisse von vier solchen Experimenten dar. An sämtlichen Kaninchen wurde erst gleichzeitig durch eine intravenöse Serumapplikation eine nicht sehr hohe, passive Immunität hervorgerufen, wonach an ihnen nach dem Verlaufe von 2, 4, 6 und 12 Stunden 5.0^{00m} Vibriolysin intraperitoneal injiziert wurden.

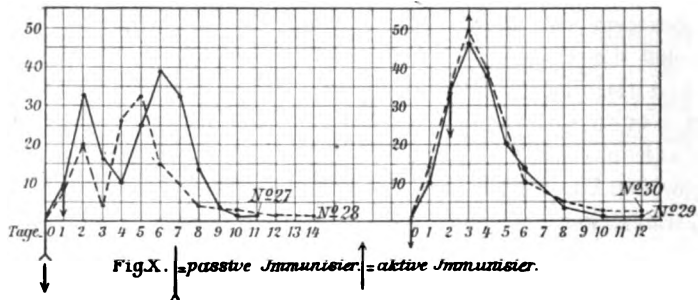
Wie die Kurven darlegen, bleibt unter diesen Bedingungen jede Wirkung der Toxininjektion aus, das heißt, es kommt hier die aktiv erzeugte Reaktion gar nicht zum Vorschein. Es darf somit festgestellt werden, daß die eventuelle Auslösung oder Nichtauslösung einer aktiven Antikörperproduktion im vorher immunisierten Organismus davon abhängig ist, ob die fremden (exogenen) Antikörper schon eine Zeit im Körper zirkuliert haben oder nicht. Unter gewissen Umständen scheinen schon zwei Stunden dazu zu genügen, um den Effekt der nachfolgenden Toxininjektion zu vereiteln.



In Figur IX sind einige weitere, hierher gehörige Versuche wiedergegeben. Im Versuche Nr. 24 wurde die intraperitoneale Toxininjektion (auch hier 5.0^{00m}) 24 Stunden, im Versuche Nr. 25 48 Stunden nach der passiven (intravenösen) Immunisierung gemacht. Der passiv erzeugte Immunitätsgrad war hier ein wenig stärker. Die beiden Versuche sind mit den letzterwähnten ganz analog. Es ist an dem abfallenden Verlaufe der passiven Kurve keine Einwirkung zu konstatieren.

Der Versuch Nr. 26 (Fig. IX) zeigt uns nun, daß die Menge der auf dem passiven Wege in den Organismus eingeführten Antikörper jedoch für das fragliche Phänomen von einiger Bedeutung ist. Es wurde absichtlich in diesem Versuche eine sehr schwache, passive Immunisierung hervorgerufen (5.0^{00m} eines relativ schwachen Kaninchenserums intravenös). Die aktive Injektion (5.0^{00m} Vibriolysin, intraperitoneal) folgte 24 Stunden

später, zu einem Zeitpunkt, wo das Blut nur noch einen sehr geringen Antikörpergehalt aufwies. Das injizierte Toxin rief hier eine aktive Kurve hervor, deren Maximum am 6. Tage nach der Injektion war. Bei relativ niedriger Konzentration der Antikörper (passiver Herkunft) im Blute kommt eine hemmende Einwirkung auf den immunitäts-erzeugenden Effekt einer nachfolgenden Injektion des Toxins nicht zum Vorschein.



Im Einklange mit dem oben gewonnenen Resultate stehen auch die Ergebnisse einer Serie von Versuchen, wo die vorausgehende passive Immunisierung der Tiere von dem subkutanen Gewebe aus ausgeführt wurde (Fig. X), und wo eine intraperitoneale Toxininjektion nach dem Verlaufe von verschiedenen Zeitintervallen nachfolgte. An 4 Kaninchen wurden gleichzeitig 10.0^{cem} des Ziegenserums subkutan eingespritzt (am Rücken). Das erste (Nr. 27) bekam unmittelbar danach eine Injektion von 5.0^{cem} Vibriolysin intraperitoneal. An den drei übrigen (Nr. 28, 29 und 30) wurden in derselben Weise bzw. 1, 2 und 3 Tage später Injektionen gemacht.

Aus den bezüglichen Kurven (Fig. X) sieht man, daß die Toxininjektion in den Versuchen Nr. 27 und 28 eine Einwirkung ausübt, wo also am Zeitpunkte der Einführung des Toxins gar keine oder nur kleine Mengen der Antikörper noch in die Blutbahn resorbiert sind. In den Versuchen Nr. 29 und 30 dagegen, wo schon die Konzentration der von außen eingeführten Immunkörper einen beträchtlichen Grad oder, wie im letzten Falle, das Maximum erreicht hat, bleibt jede Wirkung aus. Eine Analyse der Kurven, welche sich auf die Versuche Nr. 27 und 28 beziehen, zeigt übrigens, daß die schon früher beobachteten Abweichungen in dem Gange und dem Aussehen der aktiven Kurve bei der gleichzeitigen, kombinierten aktiven und passiven Immunisierung auch hier vorkommen. Die zweite Steigerung ist viel größer und tritt relativ früher ein, als bei einfacher Injektion der betreffenden Toxinquantität allein.

Auch sind sämtliche Antitoxine alle sehr schnell wieder aus dem Blute verschwunden. In den vier Versuchen ist am 10. Tage nach dem Anfange hier wie da kein Unterschied mehr zu konstatieren. Man empfängt tatsächlich beim Vergleichen dieser Resultate immer mehr den Eindruck, als ob die Toxininjektion nur ein anfängliches Sinken mit nachfolgender neuer, vorübergehender Steigerung der passiven Kurven in den Fällen bewirkt, wo sie einen Effekt überhaupt ausübt.

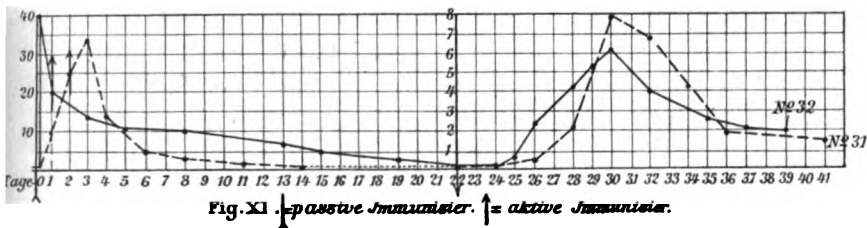


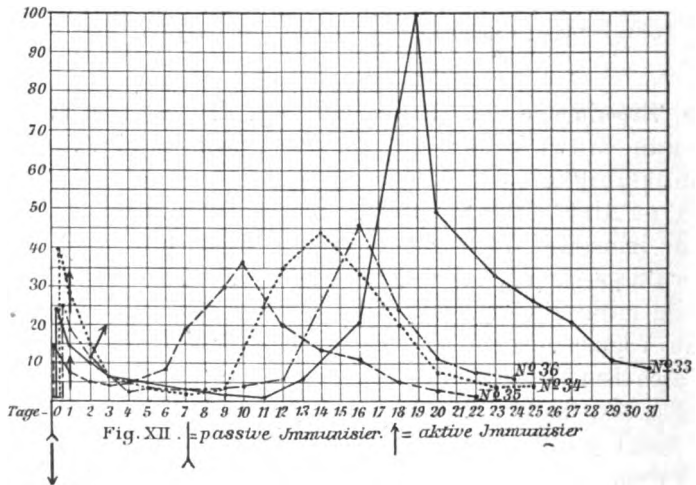
Fig. XI ↓ passive Immunisierung. ↑ aktive Immunisierung.

Die Experimente Nr. 31 und 32 (Fig. XI) legen dar, daß die hemmende Einwirkung der passiven Immunisierung auf die Reaktionsfähigkeit des Körpers gegen eine nachfolgende Dosis des Toxins nicht dauerhaft ist. Die betreffenden Kaninchen wurden erst passiv immunisiert, das eine intravenös (Kaninchenserum), das andere subkutan (Ziegenserum), und bekamen 24 bzw. 48 Stunden später 5.0^{com} Vibriolysin intraperitoneal, ohne daß der Gang der Kurve hierdurch eine merkbare Veränderung erlitt. Als dieselbe Toxindosis einige Wochen später, nach dem Verschwinden aller Immunkörper aus dem Blute, wiederholt wurde, trat die gewöhnliche aktive Kurve in typischer Weise hervor. Es sind somit gewiß nicht individuelle Verschiedenheiten, welche daran Schuld haben, daß die Toxininjektion das eine Mal keine Reaktion hervorruft, das zweite Mal aber einen positiven Erfolg hat.

Jørgensen und Madsen fanden bei ihren obenerwähnten Untersuchungen über Typhus- und Choleraagglutinine, daß die Einführung in die Blutbahn von einer gewissen Quantität eines agglutininhaltigen Serums die Wirkung einer nachfolgenden extravasalen Injektion von der betreffenden Bakterienkultur aufhebt, obschon dieselbe Menge der Kultur am frischen Tiere sonst immer eine ausgeprägte Antikörperproduktion hervorrief. Erst nachdem der Gehalt des Blutes von den (exogenen) Antikörpern zu einem gewissen Punkte gesunken war, trat eine Wirkung nach der Bakterienkultur (der aktiven Immunisierung) wieder ein.

Meine obigen Ermittlungen mit dem Vibriolysin und mit der Einwirkung seines Antilynsins auf den Organismus hinsichtlich der Reaktionsfähigkeit desselben gegen das Toxin bestätigen somit genau die Obser-

vationen der genannten Autoren, und gleichzeitig legen sie dar, daß eine ganz bestimmte Verschiedenheit zwischen dem aktiv und passiv immunisierten Organismus in der fraglichen Beziehung wahrscheinlich generell besteht. Gewissermaßen bieten diese Versuche auch eine Ergänzung der erwähnten früheren Versuche dar. Jörgensen und Madsen sind auch bestrebt gewesen, die Ursache dieser merkwürdigen Gegenseitigkeit in der Wirkungsweise der beiden fraglichen, verschiedenen Kategorien von Antikörpern innerhalb des Organismus möglicherweise aufzufinden, und haben in dieser Absicht eine Reihe von Versuchen angestellt. Bevor ich zur Besprechung dieser Tatsachen übergehe, werde ich doch hier noch einige weitere, eigene Versuche kurz mitteilen, welche sich ebenfalls auf die Verhältnisse in dem aktiv und passiv immunisierten Organismus beziehen.



In Anbetracht der obengenannten Resultate bei der kombinierten Immunisierung war es von Interesse zu erfahren, wie sich die Verhältnisse gestalten, wenn sowohl das Immunserum als auch das Toxin direkt in die Blutbahn eingeführt werden. Fig. XII enthält die Darlegung von vier solchen Versuchen. In Nr. 33 wurden die Injektionen der beiden Stoffe (Immunserum 10.0 ^{ccm}, Vibriolysin 5.0 ^{ccm}) unmittelbar nacheinander getrennt in die Randvenen der beiden Ohren gemacht. Sowohl die passive als auch die aktive Kurve treten in diesen Experimenten in ganz typischer Weise hervor, ohne scheinbaren Einfluß aufeinander zu haben. Obschon die injizierte Serumquantität ca. 70 mal größer ist als die zur Neutralisierung der nachfolgenden Vibriolysininjektion nötige, hindert dieses offenbar nicht, daß der letztgenannte Stoff sich mit den Zellen ver-

bindet, um eine Antikörperproduktion hervorzurufen. Ist dies nicht der Fall, so ist man gezwungen, der neutralen Mischung die Antikörperproduktion beizulegen.

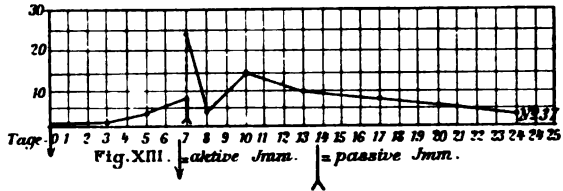
In den Versuchen Nr. 34 und 35 ist die Toxininjektion in beiden Fällen erst 24 Stunden nach der passiven Immunisierung gemacht worden. Im Versuche Nr. 36 sind 48 Stunden zwischen der Einführung des Immuserums und des Vibriolysins in die Blutbahn verlaufen.

In diesen sämtlichen Versuchen zeigte es sich nun, daß eine vorhergehende passive Immunisierung die Auslösung einer Antikörperproduktion nicht verhindert, wenn die nachfolgende Toxininjektion intravenös gemacht wird. Ein gewisser Einfluß wird doch vielleicht auch hier verspürt; besonders der Ausschlag fällt etwas kleiner aus als gewöhnlich und tritt auch früher hervor. In dieser Hinsicht zeigen die drei Versuche einen nicht unbeträchtlichen Unterschied. Vielleicht übt die Stärke der passiven Immunisierung hier ihren Einfluß aus, obgleich eine volle Regelmäßigkeit in dieser Richtung noch nicht konstatiert werden kann.

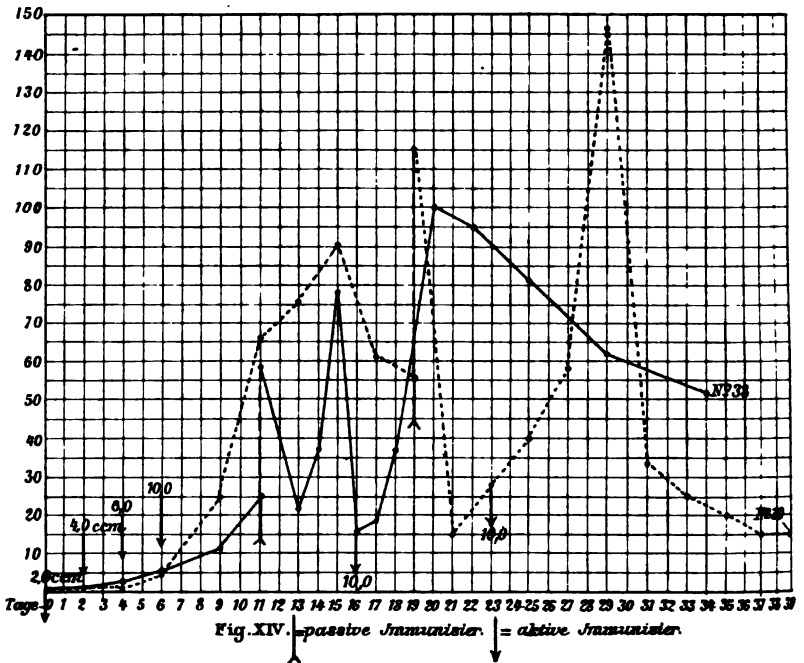
Bei welchen Umständen nun die Ursache dieser Nichtübereinstimmung mit den oben angeführten Versuchen (wo also die passive Immunisierung mit einer nachfolgenden extravasalen Toxininjektion kombiniert wurde, und in welchen wir den antikörpererregenden Effekt des Toxins durch die erste Immunisierung ganz aufgehoben sahen) gesucht werden muß — auf diese Fragen können wir bei unserem jetzigen Wissen keine Antwort geben. Dazu fehlt uns überhaupt jede genauere Auskunft über die Frage, wie sich das weitere Schicksal der in den Organismus eingeführten Toxine und der Antikörper derselben sich gestaltet. Nur so viel ist ersichtlich, daß die Dinge in vieler Hinsicht hier weit komplizierter liegen, als eine oberflächliche Beobachtung vielleicht vermuten läßt. Es kann ja in Betracht gezogen werden, daß die Reaktion nach der intravasalen Injektion des Vibriolysins normal sehr spät folgt, warum die Konzentration der (passiv eingeführten) Antikörper an diesem Zeitpunkte bis zu einem Minimum gesunken ist, und die Wirkung derselben somit weniger ausgeprägt sein kann. Unklar ist es jedenfalls, warum die Folge hiervon, wie die Kurven darlegen, ein relativ schnelleres Hervortreten der Reaktion wird. Ist das letzterwähnte Verhältnis vielleicht so zu verstehen, daß die fremden Antikörper durch ihre zeitweilige Anwesenheit im Körper eine solche Wirkung üben, daß das nachfolgende Toxin sich nicht mehr mit denselben Zellen wie sonst verbindet, sondern andere Zellengruppen in Mitleidenschaft ziehen, wodurch auch das Schema dieser Produktion eine Veränderung erleidet? Vielleicht dürfen wir hoffen, daß künftige Ver-

suche mit mehreren Immunkörpererregern und deren Antikörpern um mehr Klarheit hierin verschaffen werden.

In einigen weiteren Experimenten habe ich ferner untersucht, welchen Einfluß eine passive Immunisierung auf den Gang der aktiven Kurve ausübt (Fig. XIII und XIV). Kaninchen Nr. 37 (Fig. XIII) hatte eine einfache



interperitoneale Injektion von 5.0^{cem} Vibriolysin bekommen. Am 7. Tage des Versuches wurde ein Quantum (7.5^{cem}) Kaninchenserum intravenös in-



jiziert. In den Versuchen Nr. 88 u. 89 (Fig. XIV) war durch intraperitoneale Injektionen von sukzessiv steigenden Dosen des Vibriolysins ein höherer Antikörpergehalt hervorgebracht. Nr. 88 wurde am aufsteigenden Zweige der aktiven Kurve (am 11. Versuchstage) in ähnlicher Weise durch eine intravenöse Injektion passiv immunisiert. An Nr. 89 wurde die passive

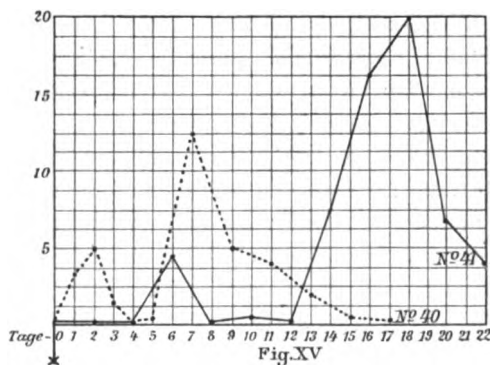
Injektion am abfallenden Zweige der Kurve (am 19. Versuchstage) gemacht. In den beiden letzten Versuchen wurde später (am 16. bzw. 23. Versuchstage) noch eine größere ($10 \cdot 0^{cem}$) Toxininjektion intraperitoneal ausgeführt.

Die Ergebnisse sind in allen drei Versuchen ganz gleich. Wir sehen, daß die unmittelbare Folge der intravenösen Injektion des Immunserums, wie es auch kaum anders zu erwarten ist, eine Steigerung des schon bestehenden Immunitätsgrad es bewirkt. Auf diese Steigerung folgt jedoch schnell ein sehr rasches Abfallen, welches meistens am folgenden Tage vollendet ist, und der Gesamtgehalt des Blutes an Antikörpern sinkt hierbei etwas unter den Gehalt vor der passiven Immunisierung. Der weitere Gang der aktiven Kurve scheint nun hiernach nicht merkbar beeinflußt zu werden, und neue Injektionen des Vibriolysins rufen auch die übliche Reaktion hervor. In kurzen Worten läßt sich das Phänomen vielleicht folgendermaßen erklären.

Bei einer Einführung von (exogenen) Antikörpern in die Blutbahn eines Tieres, an dem schon vorher auf dem aktiven Wege ein gewisser Grad von (endogener) Antikörpergehalt hervor gebracht ist, addieren sich diese beiden Mengen von Antikörpern anfänglich zueinander. Wie bei passiver Immunisierung eines frischen Organismus fängt jedoch auch hier, gleich nachdem das Maximum erreicht ist, ein Abfallen an, welches hier schleuniger einzusetzen scheint als dort. Das Endresultat wird eher ein Herabsetzen als eine Erhöhung des vorher bestehenden Antikörpergehaltes.

Ähnliche Erfahrungen hat auch Famulener gemacht.

Schließlich teile ich hier noch die Ergebnisse zweier Experimente mit, in denen Immunisierungsversuche mit neutralen Mischungen gemacht worden sind. Kaninchen Nr. 40 (Fig. XV) bekam eine solche Mischung von $5 \cdot 0^{cem}$ Vibriolysin und $0 \cdot 42$ Antilysin intraperitoneal.



Nr. 41 bekam $2 \cdot 0^{cem}$ Vibriolysin und $0 \cdot 17^{cem}$ Antilysin in die Randvene des Ohres. In beiden Fällen hatten die bezüglichen Quantitäten des Toxins und des Antitoxins vor der Injektion 2 Stunden bei $37^{\circ} C$ aufeinander eingewirkt und zeigten sich bei der Probe in vitro vollständig ohne hämolytische Eigenschaften.

Wie aus Fig. XV ersichtlich, gab auch dieses Verfahren einen Ausschlag sowohl bei der intraperitonealen als auch bei der intravenösen Applikationsweise. Die Kurven zeigen beide zwei Steigerungen, von denen die erste nur unbedeutend und durch eine freie Zwischenperiode von der zweiten getrennt ist. Was nun den letzten Teil des Ausschlages betrifft, kann dieser wohl ohne weiteres als der Ausdruck der Toxinwirkung aufgefaßt werden. Schwieriger ist die Frage, wo man die Ursache der kleinen vorangehenden Schwingungen suchen muß. Auch wenn man die Annahme aufstellen würde, daß die Mischung innerhalb der Blutbahn in ihre beiden Komponenten wieder zerfällt, sind die Mengen des Antilynsins, von denen die kleinen Initialsteigerungen herrühren möchten, allzuklein, um überhaupt einen meßbaren Ausschlag im Blute hervorzurufen zu können. Der Versuch, hier auf eine weitere Analyse einzugehen, muß vorläufig dahingestellt bleiben. Wie sich die Verhältnisse in der betreffenden Beziehung gestalten, wenn die zwei Komponenten eine längere Zeit bei geeigneter Temperatur in Berührung miteinander gewesen sind, habe ich diesmal auch nicht untersucht. Die Versuche von Otto und Sachs¹ zeigen ja, daß eine kürzere oder längere Neutralisationszeit unter Umständen (Böbulismustoxin und Antitoxin) für die Wirkung neutraler Mischungen innerhalb des Körpers ausschlaggebend sein kann. Auf etwaige theoretische Auslegungen hinsichtlich der Natur der chemischen Verbindung dieser Körper, wozu diese Versuche die Veranlassung geben könnten, will ich hier nicht eingehen. Das Faktum, daß eine in vitro vorher neutralisierte Mischung von Vibriolysin und dessen Antitoxin, in den Organismus injiziert, unter Umständen eine Antitoxinbildung veranlaßt, beansprucht jedenfalls ein gewisses Interesse. Ich will hinzufügen, daß die in ähnlicher Weise dargestellten Mischungen auch toxisch wirken, besonders bei intravenöser Injektion. Wird das Gemenge so gemacht, daß die Toxinquantität 4 bis 5^{oem} ausmacht, wirkt sie, in die Ohrvene injiziert, schnell tödend. Kraus lenkt in seiner obenerwähnten Untersuchung über das Vibriolysin übrigens die Aufmerksamkeit darauf, daß das Immuneserum beim Aufbewahren einen Verlust an Avidität erleidet. Es muß somit auch dieser Umstand bei den Versuchen über die Wirkung innerhalb des Organismus von Mischungen der beiden fraglichen Körper in Betracht gezogen werden.

¹ Otto und Sachs, Über Dissoziationserscheinungen bei der Toxin-Antitoxin-Verbindung. *Zeitschrift für experim. Pathologie und Therapie*. 1906. Bd. III.

Überblicken wir nun die Ergebnisse dieser Versuche, dann gehen aus denselben einige Tatsachen hervor, welche in der Beziehung eine größere Tragweite besitzen, da sie die früheren Erfahrungen mit einigen anderen antikörperbildenden Substanzen bestätigen und somit eine, vielleicht doch nur für besondere Kategorien dieser Körper geltende, Gesetzmäßigkeit erkennen lassen.

Erstens finden wir, daß der Organismus in ganz verschiedener Weise reagiert, je nachdem das Vibriolysin subkutan, intraperitoneal oder intravenös in den Körper eingeführt wird. Besonders zeigte die letzte Art des Einverleibens den extravasalen Wegen gegenüber große Unterschiede. Dies stimmt im Prinzip gut mit dem Resultate überein, welches Forsmann bei der Immunisierung gegen den Botulismus gewonnen hat. Die Auffassung, welche Forsmann zur Erklärung seines Befundes geltend macht, gibt auch nach meiner Meinung in jeder Hinsicht den besten Beitrag zum Verständnis der Abweichungen in der Antikörperproduktion beim Einverleiben des Giftes auf verschiedenen Wegen. Er sagt: „Diese durchgehende Verschiedenheit zwischen den Antitoxinkurven der subkutanen und der intravasalen Injektion rührt wahrscheinlich daher, daß verschiedene Zellengruppen mit verschiedenem Sekretionsvermögen in Wirksamkeit treten, oder daß wenigstens die Beiträge der Zellen in den beiden Fällen verschieden ausgiebig werden. Wenn man voraussetzt, daß Rezeptoren für ein bestimmtes Gift in mehreren ungleichwertigen Geweben des Organismus zu finden sind, so ist es auch sehr plausibel, daß man ebensoviele verschiedene Antitoxinkurven bekommt, wie solche rezeptorenhaltige Gewebe existieren.“

Der zweite Fund gilt der von Jörgensen und Madsen nachgewiesenen Verschiedenheit des aktiv und passiv immunisierten Organismus in bezug auf seine Reaktionsfähigkeit gegen das Gift. Jörgensen und Madsen fanden in ihren Untersuchungen über Typhus- und Choleraagglutinine, daß tatsächlich ein grundwesentlicher Unterschied in dieser Beziehung besteht. Der passiv immunisierte Organismus verhinderte ganz das Hervortreten einer Antikörperkurve nach der subkutanen Injektion einer Bakterienkultur, obgleich eine solche bei derselben Dose am frischen Tiere immer hervortrat. Bei dem Vibriolysin finden wir in meinen Versuchen das Phänomen bestätigt. Wird aber nun die nachfolgende Toxininjektion intravenös gemacht, so kommt zwar keine volle Aufhebung der Reaktion zustande, aber die aktive Kurve ändert in wesentlichem Grade ihre Form und der Ausschlag fällt viel kleiner aus. Es zeigt sich somit in ganz evidenter Weise auch hier, daß der Körper in dem einen und dem anderen Falle sich nicht unter denselben Bedingungen befindet. Daß in dem passiv immunisierten Orga-

nismus durch eine nachfolgende Injektion des betreffenden Giftes keine Immunkörperbildung hervorgerufen wird, scheint ja eigentlich nicht auffallend. Die vorhandenen Immunkörper neutralisieren das Gift und verhindern dadurch jeden reaktiven Effekt desselben. Warum aber wiederholt sich dasselbe Phänomen nicht, wenn eine neue Giftdose in den aktiv immunisierten Organismus eingeführt wird? Auch hier zirkulieren im Blute mehr oder weniger große Mengen von Antikörpern, welche eine schnelle Neutralisation des Giftes herbeiführen könnten. In dieser Hinsicht zeigen aber die beiden Kategorien der Antikörper, wie wir gesehen haben, einen wesentlichen Unterschied.¹ Man könnte hier die Frage aufwerfen, ob nicht die Antikörper, welche im freien, von dem Körper getrennten und dem Fibrin befreiten Serum vorkommen, irgendeine erweisbare Veränderung erlitten haben. Jørgensen und Madsen haben eine Untersuchung angestellt, ob die Koagulation des Blutes für das Phänomen maßgebend sei. Wurde eine Quantität Blut durch direkte Transfusion von einem aktiv immunisierten Tiere in die Blutbahn eines anderen normalen Tieres gebracht, so verhinderte dies in letzterem Tiere in ganz erheblicher Weise das Hervortreten einer Agglutinincurve bei einer darauf folgenden Injektion von Bakterienkulturen, obschon dieselbe Quantität der Kultur im ersten Tiere eine Reaktion hervorrief. Die Ursache ist somit ziemlich sicher nicht in dem Koagulationsprozeß zu suchen und wird auch nicht, wie die genannten Verfasser dargelegt haben, davon bedingt, daß das Blut z. B. der Einwirkung der Luft oder den sonstigen Manipulationen bei der Herstellung eines Immunserums ausgesetzt wird.

Es hat also die charakteristische Verschiedenheit, welche zwischen dem aktiv und dem passiv immunisierten Organismus in der fraglichen Beziehung besteht, aller Wahrscheinlichkeit nach ihren Grund in anderen Umständen, aber welche diese sind, darauf kann bei unserem jetzigen Standpunkte noch keine exakte Antwort gegeben werden. Daß die Neutralisation zwischen dem Toxin und den im produzierenden Organismus noch zirkulierenden (endogenen) Antikörpern einerseits, sowie den freigemachten (exogenen) Antikörpern andererseits — entweder diese Neutralisation *in vitro* oder in einem fremden Organismus sich vollzieht — nicht denselben Gesetzen folgen, geht aus den früher erwähnten Untersuchungen von Salomonsen und Madsen sowie auch aus meinen Untersuchungen

¹ Der Kürze wegen habe ich oben die Benennungen „exogene“ und „endogene“ Antikörper einigemal angewandt; jene geht auf die passiv, diese auf die aktiv eingeführten Antikörper. Die Benennungen scheinen nicht zum Irrtum verleiten zu können und bieten praktische Vorteile bei der Besprechung dar.

hervor. Die obigen Experimente über Kombinationen des doppelten Immunisierungsverfahrens scheinen mir darzulegen, daß bei der Beurteilung von allen hierher gehörenden Umständen gleichzeitig auch die maßgebende Bedeutung der Verteilung der betreffenden Stoffe innerhalb des Körpers und der lokalen Reaktion in Betracht gezogen werden müssen.

Wir haben gefunden, daß eine aktive Kurve hervortritt, wenn die Toxininjektion intraperitoneal oder subkutan gemacht wird, unmittelbar, nachdem die fremden Antikörper in die Blutbahn eingeführt worden sind. Man muß annehmen, daß die positive Reaktion in diesem Falle dadurch erklärt wird, daß das peritoneale oder subkutane Gewebe noch keine Antikörper enthält, und daß das Toxin darum ohne weiteres sich mit den sezernierenden Zellen verbinden kann. Sind aber schon zwei oder mehrere Stunden nach der passiven Immunisation verlaufen, so ist schon eine Menge von Antikörpern in den betreffenden Gewebeabschnitten abgelagert, und diese verhindern nun die Verbindungen des Toxins mit den geeigneten Zellen, weshalb auch jede reaktive Kurve hier ausbleibt. Viel komplizierter gestalten sich aber die Verhältnisse, wenn die aktive (Toxin-)Injektion direkt in die Blutbahn gemacht wird. Das Toxin sucht hier wahrscheinlich unter normalen Verhältnissen immer vorzugsweise die Zellengebiete auf, nach denen es die größte Avidität besitzt, kann vielleicht aber unter Umständen auch an mehreren Stellen gebunden werden. Sind nun schon früher Antikörper in die Blutbahn injiziert, so haben diese Zeit gehabt, sich in die Gewebe des Körpers zu verteilen und konzentrieren sich vielleicht besonders in gewissen Abschnitten, wogegen andere relativ frei bleiben. Bei nachfolgender Toxininjektion sind die normal sonst vorgezogenen Zellengruppen oder Organe von Antikörpern besetzt, und ein Teil des Toxins wird hier neutralisiert. Der übrige Teil des Toxins bildet nun hauptsächlich seine Verbindungen an anderen Stellen und die Antitoxinkurve bekommt unter diesen Verhältnissen nun auch ein anderes Aussehen.

Maßgebend für die obige Betrachtungsweise ist die Annahme, daß das Gift eine verschiedene Avidität für die verschiedenen Zellen oder Zellengruppen besitzt (Ehrlich). Solange uns noch jede exakte Kenntnis davon fehlt, welchen Prozessen die in den Organismus eingeführten Toxine und deren Antikörper unterworfen sind, wird es uns unmöglich sein, eine Menge der beobachteten Erscheinungen in das rechte Licht zu stellen.

Zum Schlusse bitte ich Herrn Dr. Th. Madsen, der mir das Thema vorgeschlagen hat, meinen aufrichtigen Dank für seine Ratschläge entgegenzunehmen.

[Aus dem pathologischen Institut
des Augusta Viktoria-Krankenhauses Schöneberg-Berlin.]
(Prosektor: Dr. Hart.)

Die Stellung der Bronchiallymphdrüsen im lymphatischen System und ihre Beziehung zum Gang der tuberkulösen Infektion.

Von

Dr. S. Kitamura
in Japan.

Im Juni 1905 veröffentlichte Weleminsky seine auf mehr als tausend Meerschweinchenimpfungen basierenden Untersuchungen über die lymphogene Ausbreitung der Tuberkulose, welche geeignet waren, ein gewisses Aufsehen zu erregen. Kam doch Weleminsky zu dem Schlusse, man müsse den Bronchialdrüsen eine Ausnahmestellung unter den Drüsen der oberen Körperhälfte einräumen, da sie — mindestens bei Infektionen — nicht etwa nur für die Lungenlymphe, sondern für die gesamte Lymphe des Körpers eine Art Endreservoir vor der Einmündung in das Blutgefäßsystem darstellen. Er verglich also die Bronchialdrüsen mit den ebenfalls paarigen Lymphherzen der Amphibien, nach denen von allen Seiten die Infektionserreger zugeschwemmt werden, um erst dann den Weg in die Blutbahn zu nehmen. Die Bedeutung dieser Ausführungen war, falls sie sich als richtig erwiesen, klar, denn es wurde damit sowohl auf die tuberkulöse Infektion vom Darm aus, als auch von den höher gelegenen Abschnitten des Digestionstraktus (Mundhöhle, Tonsille) neues Licht geworfen und die lymphogene Entstehung der Lungentuberkulose sehr wahrscheinlich gemacht. Obwohl es nun zweifelhaft erschien, daß eine so markante Bedeutung der Bronchialdrüse für das Lymphgefäßsystem bisher entgangen sein sollte, wurden sofort Weleminskys Ausführungen ohne eine

Prüfung ihres Wertes oder Unwertes von einer Reihe Autoren aufgenommen und direkt zum Fundament ihrer Anschauung über den Weg der tuberkulösen Infektion gemacht.

Meines Wissens hat allein Beitzke auf Grund eigener sorgfältiger Untersuchungen über die Lymphbahnen, besonders über die Zuflüsse der oberen Körperhälfte zu den Bronchialdrüsen entschiedenen Widerspruch gegen die Ergebnisse Weleminskys erhoben und dabei auf die Fehlerquellen hingewiesen, welche dessen Untersuchungen anhaften. Ich führe den Schlußsatz Beitzkes wörtlich an, weil er scharf zum Ausdruck bringt, wie wohl berechtigt Zweifel an der Richtigkeit der Weleminskyschen Ausführungen sind, und wie unvorsichtig es ist, sie kritiklos hinzunehmen. Beitzke sagt: „Zusammenfassend läßt sich demnach sagen, daß Weleminskys Versuche weder unsere Kenntnis von der normalen Anatomie des Lymphgefäßsystems umstoßen, noch die ausschließlich lymphogene Entstehung der Bronchialdrüsentuberkulose bewiesen haben. Wenn die Tuberkelbazillen vom Ort der Infektion aus, wie das gewöhnlich der Fall ist, in die Lymphbahn geraten und auf dieser weiter-schreiten, so gelangen sie allemal durch den Ductus thoracicus bzw. die Trunci lymphatici und das Blut in Lungen und Bronchialdrüsen, sofern nicht die Bronchialdrüsen selbst etwa der erste Angriffspunkt sind.“

Der scharfe Gegensatz zwischen Weleminsky und Beitzke war die Veranlassung, meinerseits unter Vermeidung allzu offenkundiger Fehlerquellen die Stellung der Bronchialdrüsen im Lymphgefäßsystem zu untersuchen. Dies geschah auf zweierlei Weise, einmal durch Prüfung des Infektionsweges bei subkutaner tuberkulöser Impfung, zum anderen der Ausbreitungsweise subkutan beigebrachter Aufschwemmung von chinesischer Tusche. Zum ersten Versuche dienten Meerschweinchen, zum letzteren junge Katzen, welche ich mir zur Sommerzeit in großer Anzahl verschaffen konnte.

Da man sicher den Gang der Infektion auf dem Wege der Lymphbahn am besten wieder an der Hand von Infektionen führen kann, so bediente ich mich zunächst der subkutanen tuberkulösen Infektion an Meerschweinchen, wie sie von zahlreichen Autoren schon früher und auch von Weleminsky und Beitzke gebraucht worden ist. Ich habe dabei der Gefahr, bei gewöhnlicher subkutaner Infektion einer Tuberkelbazillenaufschwemmung gewaltsam neue Bahnen zu öffnen, Rechnung getragen und meine Versuche in der Weise vorgenommen, daß ich in eine Hauttasche möglichst tief die beschickte Öse einführte und die Wunde mit Kollodium schloß. Neben dieser Vorsichtsmaßregel, welche mir eine reine Ausbreitung des Tuberkulosevirus auf dem Lymphwege möglichst zu sichern schien, richtete ich vor allem mein Augenmerk auf zwei Punkte.

Einmal wollte ich die Infektion so leicht als möglich gestalten, um den Gang der Infektion möglichst langsam und einwandfrei verfolgen zu können. Ich benutzte daher eine wenig virulente Tuberkelbazillenkultur auf Glycerinagar und stellte davon in fraktionierter Aufschwemmung in destilliertem Wasser eine derartige Verdünnung her, daß man in einem Ausstrich lange nach Tuberkelbazillen unter dem Mikroskope suchen mußte. Bei allen infizierten Meerschweinchen verlief die Infektion außerordentlich schleichend, so daß ich bei der zu verschiedenen Zeiten erfolgten Tötung der Tiere genau den Weg der Tuberkelbazillen verfolgen konnte. Weiterhin aber lag mir vor allem daran, eine sehr wichtige Fehlerquelle, nämlich eine offene Hauttuberkulose, zu vermeiden. Wie Beitzke angibt, kommt diese bei fast 75 Prozent aller subkutanen Infektionen vor, und es ist ja klar, daß, da das Tier dabei große Mengen von Bazillen in seiner nächsten Umgebung ausstreut, einer Infektion sowohl durch Inhalation in den Respirationstraktus, als auch Aufnahme in den Digestionstraktus Tür und Tor geöffnet ist. Die Vermeidung dieser Fehlerquelle ist mir so vorzüglich gelungen, daß ich nicht einen einzigen Fall von offener Tuberkulose zu verzeichnen hatte bei Infektion an den verschiedensten Stellen des Körpers.

Ich will nun zunächst das Resultat dieser Impfungen aufführen, mich dabei aber auf eine resumierende Zusammenfassung beschränken, um nicht durch die Wiedergabe zahlreicher eintöniger Sektionsprotokolle zu ermüden. Die Resultate sind meines Erachtens durchaus eindeutig und bestätigen im allgemeinen das, was man bisher über lymphogene Ausbreitung der Tuberkulose weiß. Von der Infektionsstelle aus erkrankt nach und nach die ganze Kette der Lymphdrüsen in zentripetaler Richtung, ein Überspringen einer wichtigen Drüsengruppe kommt, wie ja auch von zahlreichen Forschern bereits erwähnt worden ist, nicht vor. Auch ich habe feststellen können, daß der Grad der tuberkulösen Drüsenveränderung nicht immer mit der Zeit der Erkrankung übereinstimmt, mit anderen Worten: von der Infektionspforte aus nimmt nicht unbedingt die Schwere der Veränderung in zentripetaler Richtung ab. Es ist bekannt, daß erfahrungsgemäß aus der Schwere lokaler tuberkulöser Gewebsveränderungen kein absolut sicherer Schluß gezogen werden kann auf frühere oder spätere Infektion gegenüber einem oder mehreren anderen gleichartigen Erkrankungsherden, aber meine Versuchsanordnung gestattete, genau die sukzessive Erkrankung der Drüsen zu verfolgen.

In der ersten Zeit nach der Infektion ließ sich neben den fortschreitenden Drüsenerkrankungen nirgends im Körper des Versuchstieres eine anderweitige tuberkulöse Erkrankung feststellen, die Tuberkulose breitete sich streng auf dem Lymphwege aus. Wie sich die Tuberkulose

weiter ausbreitet, war schon bei der Sektion eines Tieres am 21. Tage nach der Infektion, regelmäßig vom 38. Tage an zu erkennen. Die Drüsen des Halses waren beispielsweise bei Submentalinfektion bis zu den unteren tiefen Halsdrüsen verändert, bei Infektion der Kniegegend bis zu den unteren Lumbaldrüsen und doch fanden sich, obwohl die Bronchialdrüsen makroskopisch und mikroskopisch, zuweilen, wenn es nötig schien, auch tierexperimentell absolut gesund waren, tuberkulöse Eruptionen in der Milz von so frischem Charakter, daß eine Bazilleneinschwemmung von der primären Infektionsstelle aus sicher auszuschließen war.

Diese tuberkulöse Infektion der Milz kann demnach keine andere Erklärung finden, als daß Tuberkelbazillen vermittelt der großen Lymphbahnen in das Blut gelangten und auf dem Wege durch die Lunge mit dem Aortenblute in die Milz geschwemmt wurden.

Selbst noch bei einem Meerschweinchen, welches am 77. Tage nach Submentalinfektion getötet wurde, fanden sich die Halslymphdrüsen tuberkulös verändert, Lunge und Bronchialdrüse gesund und trotzdem in der Milz drei typische frische Tuberkel.

Es hat danach fast den Anschein, als passierten anfangs die Tuberkelbazillen die Lungen, ohne sich festzusetzen und eine entsprechende Gewebsläsion hervorzurufen. Jedenfalls aber ist mit dem Nachweis der tuberkulösen Eruptionen in der Milz die Möglichkeit gegeben sowohl einer sekundären hämatogenen Erkrankung der Lungen als auch der Bronchialdrüsen, und vom Augenblick der tuberkulösen Milzerkrankung an eine tuberkulöse Erkrankung der Bronchialdrüse nicht mehr absolut eindeutig. Die Erklärung Weleminskys, daß bei hämatogener Infektion die Bronchialdrüsen überhaupt nicht tuberkulös erkranken, scheint mir ganz unverständlich, ich verweise in dieser Hinsicht besonders auf die Untersuchungen von Baumgarten, Kovács und Beitzke.

In den späteren Stadien der Infektion konnte ich auch tuberkulöse Herde in den Lungen feststellen, ohne daß eine gleichsinnige Erkrankung der Bronchialdrüsen nachzuweisen war. Im allgemeinen aber muß ich — wenigstens für das Versuchstier — zugeben, daß die tuberkulöse Erkrankung der Lunge mit der der Bronchialdrüsen zeitlich oft nahe zusammenzufallen scheint. Für die Feststellung des Weges der tuberkulösen Infektion sind daher die Frühstadien wertvoller, weil eindeutig, während die Beziehung der Bronchialdrüsenkrankung zu der der Lungen einer verschiedenen Auffassung Raum geben.

Im Anschluß an diese Infektionsversuche bei Meerschweinchen habe ich nun auch den von Beitzke angegebenen Untersuchungsweg beschritten. Beitzke legte durch vorsichtige Präparation die Submentallymphdrüse an narkotisierte Meerschweinchen frei und injizierte eine Aufschwemmung

chinesischer Tusche, um den Weg der Tusche an der Schwarzfärbung der zentripetal gelegenen Lymphdrüsen zu verfolgen. Die Kontrolle dafür, daß der Farbstoff auch wirklich ins Blut gelangt war, bildete der Nachweis von Farbstoffkörnchen in der Milz. In dieser von Beitzke angegebenen Weise habe ich leider ganz erfolglos experimentiert, weil wegen der Kleinheit der Drüse eine streng auf das Drüsengewebe lokalisierte Tuscheinjektion unmöglich war und der Farbstoff vorwiegend ins perilymphatische Gewebe gelangte und hier liegen blieb. Beitzke selbst berichtet übrigens, daß ihm der Versuch nur ein einziges Mal geglückt sei. Die Versuchsanordnung erscheint mir schon deshalb nicht exakt genug, weil bei der Präparation der Lymphdrüsen die Eröffnung abnormer Bahnen für die Tusche nicht zu vermeiden ist. Ich hatte keinen besseren Erfolg, als ich durch Injektion reizender Stoffe die Lymphdrüse vorher hyperplastisch machte, um dadurch die Tuscheinjektion zu erleichtern und zu vervollkommen. Ich bin daher von dieser Versuchsanordnung ganz abgekommen und wählte dafür eine andere, welche sich meines Erachtens sehr bewährt hat. Ich experimentiere an jungen Katzen, deren Fell auf der Unterlage außerordentlich leicht abhebbar und verschieblich ist, so daß sich in das lockere Gewebe leicht eine Tuscheaufschwemmung injizieren läßt, ohne daß man befürchten muß, allzu gewaltsam neue Bahnen zu öffnen und in sie die Injektionsflüssigkeit hineinzupressen. Im folgenden gebe ich eine summarische Übersicht über die Resultate der Versuche.

Gruppe 1. Injektion eines variablen Quantums einer dünnflüssigen Tuscheaufschwemmung unter das Schwanzfell nahe der Spitze. Tötung der Tiere nach verschiedener Zeit bis zu 8 Tagen. Der Transport der Tusche läßt sich leicht verfolgen. Zunächst färben sich die Lymphdrüsen der Schwanzwurzel tiefschwarz, weiterhin die Iliacal-, Retroperitoneal- und Lumbaldrüsen. In jedem Falle lassen sich Tuscheartikel sowohl in Lungen und Milz nachweisen, obwohl die Bronchialdrüsen absolut frei sind. Bei langer Lebensdauer finden sich auch in den Bronchialdrüsen spärliche Mengen von Tusche, welche von mir zurückgeführt wurde auf einen sekundären Transport aus den Lungen (Blut und Lymphe). Dabei habe ich noch einer besonderen Beobachtung zu gedenken. Ich fand sich nämlich regelmäßig, sofern nur die Versuchstiere lang genug am Leben blieben, eine dunkel-schwarz gefärbte Lymphdrüse isoliert zunächst der Einmündungsstelle des Ductus thoracicus in die Vena subclavia sinistra gelegen. Das Freisein der Bronchialdrüsen oder aber die dunklere Färbung der Drüse im Vergleich zu den Bronchialdrüsen, falls diese gefärbt waren, weist mit absoluter Bestimmtheit daraufhin, daß diese Drüse nicht auf dem Wege über die Bronchialdrüsen, sondern direkt vom Ductus thoracicus ans die Tusche

aufgenommen haben mußte. Ich möchte auch noch einer zweiten kleinen Drüsengruppe gedenken, welche für gewöhnlich dem Nachweis entgeht und immerhin in ihrer Bedeutung nicht vernachlässigt werden darf. Die obersten paraaortalen Lymphdrüsen in der Bauchhöhle liegen unmittelbar unterhalb des Zwerchfelles auf den Zwerchfellschenkeln zwischen den Nebennieren und sind beiläufig von einer Größe, daß man sie bei sorgfältiger Untersuchung nicht übersehen kann. Mit diesen Drüsen nun stehen scheinbar zwei winzig kleine dicht oberhalb des Zwerchfells symmetrisch zu beiden Seiten des Ösophagus bzw. der Aorta gelegene Lymphdrüsen in Verbindung, welche ich wiederholt tiefschwarz gefärbt fand. Eine Verbindung dieser kleinen Drüsen mit den Bronchialdrüsen ist wohl ausgeschlossen, weil trotz starker Imprägnation mit Tusche ein Transport nach der Bronchialdrüse nicht nachweisbar war.

Über die Bedeutung sowohl der obenerwähnten Lymphdrüse an der Mündungsstelle des Ductus thoracicus, wie auch der zuletzt erwähnten supradiaphragmatischen Lymphdrüsen will ich hier zunächst noch kein abschließendes Urteil abgeben, weil die Untersuchungen darüber noch nicht abgeschlossen sind.

Als Schlußfolgerung ergibt sich aus diesen Untersuchungen folgendes: Die Tusche wird aus den Gewebemaschen an der Injektionsstelle auf dem Lymphwege forttransportiert, der sie offenbar dem Ductus thoracicus und damit der Blutbahn zuführt, von wo aus Lunge und Milz überschwemmt werden. Die Bronchialdrüsen sind bei diesem Transporte durchaus unbeteiligt und empfangen erst spät und sekundär die Tuscheartikel auf dem Wege über die Blutbahn.

Gruppe 2. Injektion der Tuscheaufschwemmung unter das Fell der Kopfhaut bzw. der Ohrbasis. Die Tusche wird von hier aus nachweislich sowohl in den oberflächlichen als auch in den tief gelegenen Lymphbahnen des Halses nach abwärts geführt und beiderseits durch den Truncus lymphaticus superior dem Venenblut zugeführt. Eine Schwarzfärbung der Bronchialdrüse ist nicht nachweisbar, während schon lange Zeit Lunge und Milz Tusche enthalten, erst nach längerer Zeit wird der Bronchialdrüse Tusche auf dem Wege über die Lungen zugeführt. Auch bei diesen Versuchen beteiligt sich eine Gruppe kleiner Drüsen an der Tuscheaufnahme, welche paratracheal und innerhalb des Thorax gelegen, doch keine Verbindung mit den Bronchialdrüsen aufweist. Auch über diese Drüsengruppe behalte ich mir weitere Ausführungen vor.

Als Resultat dieser Versuche ergibt sich, daß die Tusche auf dem Lymphwege dem Blute zugeführt wird und in Lunge und Milz sich absetzt, ohne jede Beteiligung der Bronchialdrüsen, welche auch hier wieder

erst sekundär die Tusche zugeführt erhalten. Ich brauche wohl nicht besonders zu erwähnen, daß ich mich auf den Tuschenachweis in der Milz beschränkte als sicherstes Argument des Zirkulierens des Farbstoffes im großen Kreislauf.

Gruppe 3. Injektion einer Tuscheaufschwemmung unter die Bauchhaut. Diese Versuche bestätigen vollständig das, was Beitzke über die Infektionswege von den Bauchdecken aus geschrieben hat. Die Tusche wurde auf drei Wegen forttransportiert: 1. über Inguinal-, Iliacal-retroperitoneale Lymphdrüsen; 2. über die retrosternalen mit den vasa mammaria interna verlaufenden Bahnen nach den hinter dem Manubrium sterni gelegenen Drüsen; 3. auf den Bahnen nach den Lymphdrüsen der Achselhöhle. Den ersten und zweiten Weg fand ich stets kombiniert, den dritten Weg weder regelmäßig noch auch in besonders starkem Maße beschritten. Über die Äußerung Beitzkes, daß der zweite Weg der kürzeste, für gewöhnlich am raschesten durchlaufene ist, kann wohl kein Zweifel bestehen. In allen meinen Versuchen konnte ich Tusche sowohl in Lungen als auch Milz nachweisen zu einer Zeit, wo die Bronchialdrüsen entweder ganz frei waren oder die in ihnen enthaltene Tusche in keiner Weise der in die Blutbahn überführten Menge entsprach. Auch hier kam ich wieder zu der Ansicht, daß den Bronchialdrüsen selbst die Tusche erst auf dem Wege über die Blutbahn zugeführt wird.

Gruppe 4. Laparotomie. Einführung einer Tuscheaufschwemmung in die Bauchhöhle. Die Tusche wird auf zwei Bahnen abgeführt. Erstens auf dem Wege der Retroperitonealdrüsen an der Radix des Mesenteriums, zweitens auf dem bereits oben erwähnten Wege über die retrosternalen Bahnen und zwar scheinen mir die letzteren ganz besonders beteiligt zu sein. Auffallend ist die geringe Inanspruchnahme der Mesenterialdrüsen. Besonders hervorheben muß ich bei diesen Versuchen die Beteiligung der Lymphbahnen des Zwerchfells, welche sich mehrfach geradezu injiziert fanden und über deren Abflußbahnen ich interessante Beobachtungen machen konnte. Auch hierüber aber muß ich mir abschließende Mitteilungen noch vorbehalten. Für meinen Zweck war es wichtig festzustellen, daß auch bei dieser Versuchsanordnung, bei welcher doch die Peritonealhöhle einen ausgesuchten Rezeptorenapparat für das Tuschematerial darstellt, die Bronchialdrüsen in keiner Weise sich als ein End- und Sammelreservoir für die tuscheführende Lymphe darstellten. Sie fanden sich stets später gefärbt, als Lunge und Milz und haben demnach ihren Farbstoff erst auf dem Wege über die Blutbahn erhalten.

Wenn wir nun die Ergebnisse unserer Untersuchungen zusammenfassen, so kommen wir zu folgendem Resultat.

Die Behauptung Weleminskys, die Bronchialdrüsen stellten ein Sammelreservoir für die gesamte Körperlymphe, gewissermaßen eine Art Lymphherz dar, ist in keiner Weise bewiesen. Im Gegenteil ist festzustellen, daß allem Anschein nach die Bronchialdrüsen nichts anderes darstellen, als den lokalen regionären Drüsenapparat für die Lunge, von denen und über welche ihnen allein korpuskuläres blandes oder infektiöses Material zugeführt wird. Es hat daraus den Anschein, als ob zuführende Lymphbahnen zu den Bronchiallymphdrüsen weder von dem Lymphbezirke des Halses noch denen der unteren Körperhälfte beständen. Die Möglichkeit ist nicht völlig auszuschließen, daß von gewissen Grenzbezirken des Lymphabflusses aus (ähnlich einer Wasserscheide) unter gewissen Umständen kleine präformierte Bahnen einen schwachen kollateralen Lymphstrom zuführen können, allein wenn dem so ist, kommt ihnen eine völlig untergeordnete Bedeutung zu.

Überträgt man nun dieses Untersuchungsergebnis speziell auf die Tuberkulose, so geht daraus hervor, daß es nicht statthaft ist, eine Bronchialdrüsentuberkulose nur durch eine Infektion auf dem Wege der Lymphbahn entweder von den Halsdrüsen aus oder den Drüsenrezeptoren der unteren Körperhälfte zu erklären. Für die meisten Fälle einer Bronchialdrüsentuberkulose kann man eine lymphogene Entstehung (auch hämatogene, Ribbert) gemäß ihrer Bedeutung als regionären Drüsenapparates von den Lungen aus annehmen (Inhalationstuberkulose). Oder aber man erklärt sich die Bronchialdrüsentuberkulose als auf dem hämatogenen Wege entstanden von tuberkulösen Lymphbezirken aus, von denen das infektiöse Virus über die großen Lymphstämme dem Blute zugeführt wurde.

Nach alledem glaube ich den oben zitierten Ausspruch Beitzkes über die Untersuchung Weleminskys nur voll und ganz unterschreiben zu können und darauf hinweisen zu müssen, wie schwankend die auf diesen Untersuchungen beruhende Grundlage einiger neuerer Publikationen über den Infektionsmodus der Tuberkulose ist.

Zum Schluß spreche ich dem Herrn Prosektor Dr. Hart für die Anregung zu dieser Arbeit und seine lebenswürdige Unterstützung meinen verbindlichsten Dank aus.

Literatur-Verzeichnis.

F. Weleminsky, Zur Pathogenese der Lungentuberkulose. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1905. Nr. 24.

Derselbe, Zur Pathogenese der Lungentuberkulose. *Ebenda.* 1908. Nr. 37.

H. Beitzke, Über den Verlauf der Impftuberkulose beim Meerschweinchen. *Ebenda.* 1907. Nr. 2.

Derselbe, Über den Weg der Tuberkelbazillen von der Mund- und Rachenhöhle zu den Lungen, mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse beim Kinde. *Virchows Archiv.* 1906. Bd. CLXXXIV.

[Aus der I. deutschen medicin. Universitätsklinik in Prag.]
(Vorstand: Hofrat Prof. Dr. Alfred Pfibram.)

Über die Agglutinationskraft menschlicher Blutsera für Arten der Typhusgattung und der Coligattung.

Von

Dr. Peter Paul Klemens und Philipp Mahler.

In einer im Bd. II dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit¹ hat Zupnik gezeigt, daß die heute bekannten Immunitätsreaktionen, richtiger gesagt Antigenreaktionen, in keinem Fall artspezifisch sind, sondern daß sich die Spezifitätsbreite bei den einen auf die natürliche Gattung, bei den anderen auf die natürliche Familie ausdehnt. Als die kleinste spezifische Einheit hat Zupnik in einer vor kurzem erschienenen Publikation², die eine knappe Zusammenfassung aller von der Bakteriologie und der Immunitätslehre bis dahin ermittelten gattungsspezifischen Phänomene liefert, die Gattung bezeichnet: „Jegliche einer Infektionskrankheit sui generis spezifische Erscheinung entspringt der Gattung. Spezifische Erreger von Infektionskrankheiten, — von eigenartigen klinischen Krankheitsbildern, — von eigentümlichen pathologischen Veränderungen sind nur Mikrobengattungen und nicht Mikrobenarten.“

Eine besondere Aufmerksamkeit hat der genannte Verfasser der Agglutination gewidmet und dieselbe als eine gattungsspezifische Reaktion erwiesen. In eingehender Weise wurde dabei das Verhalten der Agglutination vieler Arten der Typhus- und Coligattung untersucht; während

¹ „Über gattungsspezifische Immunitätsreaktionen“.

² „Die Beziehungen der Meningokokken zu den Gonokokken.“ *Berliner klin. Wochenschrift.* 1906. Nr. 58.

bis dahin allgemein angenommen wurde, daß Typhussera ein erhöhtes Agglutinationsvermögen für Colibakterien besitzen und daraus der gleichartige agglutinogene Apparat für beide Bakterienarten gefolgert wurde, konnte die ersterwähnte Publikation beweisen, daß nicht allein den Typhusseris, sondern auch vielen anderen Immunseris der Typhusgattung diese Fähigkeit, Colibakterien in höherem Grade zu agglutinieren, nicht zukommt.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit ist, die einzelnen Beweise, die der zu Anfang zitierte Autor gebracht, zu ergänzen bzw. zu erweitern.

Eine erhöhte Agglutinationskraft von Typhusseris für Colibakterien wird logischerweise ein reziprokes Verhältnis bei Coliseris ergeben. Es hatte nun Zupnik Gelegenheit, die Agglutinationswirkung eines Blutserrums, das einer menschlichen Colisepsis entstammte, auf Arten der Typhusgattung zu untersuchen. Es wurden 18 verschiedene Stämme dieser Gattung geprüft und zwar hauptsächlich Fleischvergiftungs- und Epizootierreger. Für keinen einzigen dieser Stämme wies dieses Serum auch nur eine Agglutinationseinheit¹ auf. Von 24 Colistämmen hingegen hat dasselbe 14 agglutiniert und es bewegten sich die Agglutinationswerte zwischen 3 und mehr als 100 Agglutinationseinheiten.² (Vgl. Tabelle: Serum „Hulin“.)

In der letzten Zeit wurden zur Klinik zwei weitere Fälle dieser seltenen Erkrankung aufgenommen. Das Wesentliche aus den Krankengeschichten derselben wollen wir hier in Kürze anführen:

Fall II (Brabec, Anna, 37 Jahre alt, Pr.-N. 11 810). Die Kranke wurde mit starkem Ikterus, bedeutend vergrößerter Leber, einer geringen Milzvergrößerung und hohem Fieber (Continua) aufgenommen. Anfälle, die auf Cholelithiasis zu schließen erlaubt hätten, waren niemals aufgetreten. Die Dauer ihres Ikterus weiß die Kranke nicht anzugeben; aus der übrigen Anamnese ist nur das eine bemerkenswert, daß sie vor ca. 10 Tagen einen Schüttelfrost hatte und seither wegen Schwäche im Bette bleiben mußte. Auf Grund des Angeführten wurde die Diagnose gestellt: Cholelithiasis, Cholecystitis et Cholangitis. Da außerdem eine Sepsis anzunehmen war, wurde am 4. Beobachtungstage (15. Krankheitstage) Blut per venaepunctionem zu diagnostischen Zwecken entnommen. In allen beschickten Bouillonkölbcchen fand sich am nächsten Tage eine Reinkultur von Stäbchen, die sich als typische Colibazillen erwiesen. Bei einer 2 Tage später vorgenommenen Venaepunktion war das Blut steril. Nach einigen Tagen wich die Continua einem intermittierenden Fieber, das unter Saloldarreichung geringer wurde und schließlich in der 4. Woche nur noch subfebrile Grade aufwies. Zurzeit befindet sich die Kranke noch immer in der Behandlung der Klinik. Der Ikterus ist völlig geschwunden; die Leber hat sich bedeutend verkleinert, ist jedoch noch immer vergrößert und derb; die subfebrilen Temperaturen halten an. Die vorgeschlagene Operation hat die Kranke abgelehnt.

¹ Eine Ag.-E. entspricht dem positiven Werte von 1 : 40.

² Vgl. Agglutinationsbefund auf S. 521 und 523 beim Serum „Hulin“.

Die aus der Tabelle ersichtlichen Agglutinationswerte wurden mit dem Serum der ersten Blutentnahme gewonnen. Dasselbe war damals stark ikterisch.

Fall III. (Synáček, Anna, 53 Jahre alt, Pr.-Nr. 11 865.) Sie erkrankte vor 8 Tagen unter Fieber und Erscheinungen einer Gallensteinkolik. Bei der Aufnahme bestand Ikterus mittleren Grades, bedeutende Vergrößerung der Leber mit Schmerzhaftigkeit derselben und hohe Fiebertemperaturen. Klinisch wurde bei dieser Kranken die nämliche Diagnose wie bei der vorigen gestellt. In dem am 4. Beobachtungstage (12. Krankheitstage) entnommenen Blute fand sich, wie im vorigen Falle, eine Reinkultur von typischen Colibakterien. Derselbe Befund wurde 2 Tage später ermittelt. In wenigen Tagen erreichte der Ikterus einen selten hohen Grad — die Haut war fast kupferbraun —, der dann ebenso rasch fast völlig verschwand. Am 10. Beobachtungstage sank die bis dahin hohe Temperatur kritisch zur Norm. Es stellte sich Benommenheit und leichte Nackenstarre ein und 4 Tage später erfolgte der Tod.

Bei der Sektion fand sich außer einer Cholelithias, Cholangitis und einer Colisepsis noch eine Colimeningitis.

Für Agglutinationen wurde das Blutserum von beiden Venaepunktionen und postmortal aus dem Herzen entnommenes Blut verwendet. Die dabei erhobenen Befunde sind in drei gesonderten Rubriken in der Tabelle angeführt.

Was die hierbei erzielten Resultate anbelangt (vgl. Tabelle), so hat das Blutserum dieser Kranken bei jeder der drei Untersuchungen nur jene Agglutinationswerte aufgewiesen, die, wie sofort gezeigt werden soll, normalen menschlichen Seris eigen sind.

Sehr hohe Agglutinationswerte hat demnach außer dem von Zupnik publizierten Falle „Hulin“ nur die erstgenannte unserer Kranken (Brabec) ergeben.

Diese beiden Blutsera waren hochgradig ikterisch. Aus diesem Grunde können bezüglich der Spezifität der erlangten Agglutinationswerte Zweifel entstehen. Ikterische Sera des Menschen zeichnen sich nämlich, wie bekannt, von vornherein durch eine größere Agglutinationskraft aus als nicht ikterische.

Die genannten Befunde können danach nur dann ihre volle Beweiskraft erlangen, wenn es uns gelingen würde zu beweisen, daß die bei diesen Seris gewonnenen Agglutinationswerte für verschiedene Stämme der Coligattung tatsächlich spezifisch, d. h. nicht durch ihren Gehalt an Gallenbestandteilen bedingt waren.

Wir haben nun stark ikterische Sera verschiedener menschlicher Erkrankungen, unter Vermeidung von Typhoid- und Coliaffektionen auf ihre Agglutinationskraft für Colibakterien untersucht. Diese Versuche schienen uns um so mehr geboten, als die meisten allgemeinen Coliaffektionen beim

		Ikterische Sera des Meuse									
Serum des Kranken, bzw. des Immuntieres:		Siebert, A.	K., R.	Jezek, F.	Mahler, A. vom 12. II.	Mahler, A. vom 22. II.	Pokorny, J. vom 6. II.	Pokorny, J. vom 28. II.	Novak, A.	Podan, F.	
Protokollnummer:		2108	2569	1459	2069	2069	1840	1840	8266	11848	
Diagnose:		Icterus catarrhalis	Syphilis hereditaria. Hepatitis interstitialis	Icterus catarrhalis	Icterus catarrhalis	Icterus catarrhalis	Oclusio duct. chol.	Pancreatitis interstitialis	Icterus catarrhalis	Fractum bil. Maligna	
Aus dem Blute gezüchtet:		Blut steril	Blut steril	Blut steril	Blut steril	Blut steril	Blut steril	Blut steril	Blut steril	Blut steril	
Artspezifischer Titer:		—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Colistämme.	Dörner	0	0	0	0	0	2	2	0	0	
	Fritsche	1	5	0	0	0	0	0	2	0	
	Štěpanek	0	5	0	0	0	0	0	0	0	
	Kaninchen I.	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Kaninchen II.	0	10	0	0	0	0	0	0	0	
	Suchanek, blau	0	0	0	0	0	0	0	2	0	
	Mustelae septicus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Grouse disease	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Longcope 5207	0	0	0	0	2	1	20	2	0	
	Hume L	5	10	0	5	5	0	0	1	0	
	Fischer „Grünthal“	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Rattenbacillus „Danzsz“	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Coli „Weleminsky“	0	0	0	0	10	0	0	0	0	
	Louda	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Svoboda	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Brabenec	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Burger	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Nitsche	0	20	0	2	2	0	0	0	0	
	Kalfaf	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Teply	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Hulin	0	0	0	0	0	0	40	20	0	
	Abeles	1	0	0	0	1	0	0	0	0	
	Lactis Aërogenes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Wagner	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Bulan	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Prochazka	5	5	0	0	1	2	40	2	0	
Bilek	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Heidenreich	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Diphtheriae columbarum	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
Žaba	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
Brabec	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
Synaček	—	—	—	—	—	—	—	—	—		

Nicht ikterische Sera vom Menschen													Tierische Immunsera, nichtikterisch	
10000	11810	11865	11865	11865	3187	2580	2187	3223	4676	4807	3061	14498	—	—
Ernum, F.	Brabeo, A.	Synaček, A. vom 18. VII.	Synaček, A. vom 19. VII.	Synaček, A. vom 29. VII.	Justian, F.	Gramman, Th.	Pocol, F.	Jakesch, A.	Kobosil, G.	Olmer, M.	Svoboda	Žaba	„Kaensche lb“	„Günther“
Colisepsis					Nepbritis tuberculosis pulmonum	Carzinoma glandulae thyreoidae	Tuberculosis pulmonum	Carzin. pharyngis. Enkephalomalacia	Bronchitis acuta. Angina catarrhalis	Tuberculosis miliaris praec. pulm.	Paratyphus Schottmülleri	Paratyphus Schottmülleri	—	—
Colibakterien					Blut steril	Blut steril	Blut steril	Blut steril	Blut steril	Blut steril	Blut steril	Blut steril	—	—
100	+400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	300	+4000	3200	700
20	2	—	2	2	2	2	sp	sp	sp	sp	1	1	2	—
40	2	—	2	2	2	2	sp	sp	sp	sp	1	1	2	—
+400	—	5	—	5	5	5	2	2	2	2	2	2	2	—
10	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	2	—	2	2	2	2	sp	sp	sp	sp	sp	sp	0	1
240	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—
240	5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	5	—	5	5	5	5	10	10	10	10	10	10	10	10
40	5	—	5	5	5	5	10	10	10	10	10	10	10	10
10	5	—	5	5	5	5	10	10	10	10	10	10	10	10
10	spont.	spont.	spont.	spont.	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	2
10	spont.	spont.	spont.	spont.	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	2
10	spont.	spont.	spont.	spont.	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	2
320	10	2	10	10	10	10	1	1	1	1	1	1	1	—
3	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—
3	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—
3	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—
3	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—
3	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—
3	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—
50	+400	10	20	10	2	10	2	10	2	10	2	10	2	—
30	spont.	1	2	20	sp	sp	1	2	2	2	10	10	2	1
160	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—
2	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—
2	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	—
—	+400	40	20	—	2	20	sp	sp	sp	sp	sp	sp	—	2
—	2	—	2	—	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—
—	80	5	1	5	2	20	sp	sp	sp	sp	sp	sp	—	—
—	160	2	—	spont.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	2	2	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	80	2	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	40	5	10	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Menschen mit Ikterus einhergehen, das Agglutinationsverhalten solcher Sera für Colibakterien in größerem Maßstabe noch nicht geprüft wurde, und die Kenntnis der hier herrschenden Verhältnisse sich von diagnostischer Bedeutung für Fälle von Coliinfektionen gestalten könnte.

Wir haben 32 verschiedene Stämme von Colibakterien geprüft. Von den in den „gattungsspezifische Immunitätsreaktionen“ angeführten Colistämmen haben wir alle, mit Ausnahme von „Abeles 2“ und „Wagner 2“ benützt. Außerdem haben wir 4 weitere Colistämme hinzugezogen, die im Laufe unserer Untersuchungen aus Stühlen von Kranken gezüchtet wurden. Es sind das die Stämme: „Bulan“, „Procházka“, „Bilek“ und „Heidenreich“ (vgl. die Tabelle). Die zwei übrigen neuen Stämme: „Brabec“ und „Synáček“ entstammen der Blutbahn der genannten Kranken.

Die zur Untersuchung herangezogenen sonstigen ikterischen Sera wurden — wie gesagt, von Kranken, die weder an einer typhoiden, noch durch Colibakterien erregten oder komplizierten Erkrankung litten — steril per venaepunctionem entnommen. Von den sieben ikterischen Seris, die wir untersucht haben, entstammten vier Fällen von Icterus catarrhalis. Alle vier Patienten waren und blieben fieberfrei und wurden gesund entlassen. Von den drei übrigen Patienten lautet die Sektionsdiagnose bei K. R.: Syphilis cutanea bullosa, Ozaena, Parulis, Hepatitis interstitialis, Ascites, Icterus, Cholaemia. Die Temperaturkurve dieses Kranken überstieg nur einmal die Norm (38.2°), um sich dann bis zum letalen Ausgange in normalen Grenzen zu halten. Der Patient Pokorny Franz war 20 Tage an unserer Klinik und wurde nach dieser Zeit, in der niemals Fieber bestand, zur chirurgischen Klinik transferiert. Hier wurde per laparotomiam eine diffuse entzündliche Verdickung des Pankreas und eine Geschwulst am Ductus choledochus gefunden; der Inhalt der Gallenblase erwies sich kulturell als steril. Im dritten Falle schließlich (Pačes) handelte es sich um eine biliöse Pneumonie mit positivem Pneumokokkenbefund in der Blutbahn.

Die Resultate, die wir durch Beschickung unserer Colistämme mit den sieben aufgezählten Krankenseris gewannen, sind in der Tabelle unter „Ikterische Sera“ angeführt. Es finden sich hier 15 Colistämme, die von diesen Seris verschiedener Provenienz überhaupt nicht — d. h. nicht in einer Verdünnung von 1:40 bei 8stündiger makroskopischer Beobachtung — agglutiniert worden sind. Bei vier Stämmen bewegen sich die Agglutinationswerte zwischen 1 und 3 Agglutinationseinheiten. Bei zwei weiteren Stämmen war der höchste Titer 5, bei drei anderen 10, bei zwei 20, und schließlich bei ebenfalls zwei 40 Agglutinationseinheiten. Bei den Kranken Mahler und Pokorny wurde 2 mal Blut entnommen, um den höchsten Agglu-

tinationswert, bei Stämmen, die beim ersten Versuch positiv beeinflußt worden waren, zu ermitteln. Zwischen den beiden Blutentnahmen waren bei Mahler 10, bei Pokorny 20 Tage verlaufen. In beiden Fällen finden sich Unterschiede in dem Agglutinationsbefunde, indem beim zweiten Male mehr Stämme agglutiniert wurden und sich im allgemeinen eine Erhöhung der Agglutinationswerte feststellen ließ. So beim Falle Mahler: Colistamm „Longcope 5207“, das erste Mal 8, das zweite Mal 2 A.-E., Stamm „Hume L“ behält beide Male den Wert von 5 Ag.-E., Stamm „Weleminsky“ das erste Mal 8, das zweite Mal 10 Ag.-E., Stamm „Nitsche“ beide Male 2 Ag.-E., Stamm „Prochazka“ das erste Mal 8, das zweite Mal 1 Ag.-E. Bei dem Serum des Kranken Pokorny, das im ganzen nur fünf Stämme agglutinierte, zeigen sich ähnliche Verhältnisse, nur tritt die Differenz deutlicher hervor: Der Stamm Dörner gibt beide Male 2 Ag.-E., dagegen zeigen sich bei „Longcope 5207“ das erste Mal 1 Ag.-E., gegen 40 A.-E. beim zweiten Male, Stamm „Hulin“ 8 Ag.-E. gegen 40 Ag.-E., Stamm „Prochazka“ 2 Ag.-E. gegen 40 Ag.-E.

Bei den eben besprochenen Versuchen mit den sieben ikterischen Seris konnten demnach keine nur annähernd so hohen Agglutinationswerte erreicht werden, wie den in der Tabelle nun folgenden Seris der Kranken „Hulin“ und „Brabec“. Die Sektionsdiagnose des ersteren Falles, — was wir hier ergänzungshalber anführen wollen, — lautete Cholangitis suppurativa, Cholelithiasis, Peritonitis diffusa, Nephritis acuta, Cystitis, Abscessus pulmonum, Pleuropneumonia. Aus dem Blute dieses Patienten wurden Colibakterien in Reinkultur gezüchtet und noch *intra vitam* die Diagnose: Colisepsis gestellt. Wie aus der Agglutinationstabelle ersichtlich, beeinflußte auch dieses Serum Colibakterien in viel höherem Maße, als alle zum Vergleiche herangezogenen ikterischen Sera.

Daraus, daß keines der ikterischen Sera den Durchschnittstiter der Sera „Hulin“ und „Brabec“ erreicht, geht hervor, daß es nicht die ikterische Beschaffenheit war, welcher diese Sera ihre starke Agglutinationskraft verdanken, sondern daß in dem Colisepsisseris spezifische Agglutinine enthalten waren. Mit diesem Beweise allein haben wir uns nicht begnügt, sondern haben noch 10 andere, durchweg nicht ikterische Sera vergleichsweise geprüft. Hiervon entstammen 6 verschiedenen Erkrankungen des Menschen unter Ausschluß von typhoiden und Coliaffektionen; 2 wurden von Paratyphuskranken gewonnen; die 2 letzten entstammen Immuntieren, die mit Fleischvergiftungserregern behandelt worden waren.

Eine Vergleichung der Titer bei den ikterischen und nicht ikterischen (Normal-)Seris ergibt, daß jene Colistämme, welche in stärkerem Maße von den ikterischen Seris agglutiniert worden sind, wie „Hume L“, „Prochazka“, „Hulin“, auch von nicht ikterischen Seris stärker als alle übrigen

beeinflußt wurden. Wenn auch diese Übereinstimmung keine vollständige ist, so ist sie deutlich genug, um annehmen zu können, daß bei Heranziehung eines größeren Vergleichsmaterials ein durchaus ähnliches Verhalten resultieren würde.

Aus dem Voranstehenden geht hervor, daß ikterische Sera des Menschen in allen Fällen, wo keine Coliinfektion vorliegt, dieselbe Agglutinationskraft besitzen, wie sie sonstigen, von Coliinfektionen freien, menschlichen Seris zukommt. Eine ikterische Beschaffenheit würde demnach keinem Serum bei der diagnostischen Verwertung von Agglutinationsbefunden in Fällen von Coliinfektionen Abbruch tun.

Durch diesen Befund erscheint auch die Frage nach der Spezifität beantwortet. Es waren die bei den Colisepsisseris gefundenen Titer spezifischer Natur, und da diese Sera keinen einzigen von den Stämmen der Typhusgattung zu agglutinieren vermochten¹, ist der agglutinogene Apparat von Arten der Coligattung von demjenigen der Typhusgattung verschieden.

Unter den Beweismomenten Zupniks für die Gattungsspezifität der Agglutinine innerhalb der Typhusgattung einerseits und der Coligattung andererseits befinden sich auch bei Fällen von Paratyphus erhobene Befunde.

Paratyphuserreger stehen den Colibakterien kulturell viel näher als Typhusbazillen, und es muß, falls sich Typhussera tatsächlich den Colibakterien gegenüber durch eine erhöhte Agglutinationskraft auszeichnen, dieses Verhalten in noch viel deutlicher ausgeprägter Weise bei Paratyphusseris zutage treten.

Zwei von Zupnik mit Hilfe von menschlichen Typhus- und Paratyphusseris² geprüfte Colistämme wurden von diesen in derselben Stärke agglutiniert wie von normalen menschlichen Seris. Auch diese Frage haben wir in größerem Maßstabe einer Prüfung unterworfen, indem wir 28 unserer Colistämme der Wirkung von 2 weiteren menschlichen Paratyphusseris und 2 tierischen Fleischvergiftungseris aussetzten. Der artspezifische Titer ist bei diesen 4 Seris in der Tabelle in einer eigenen (horizontalen) Kolonne angegeben. Die bei Prüfung der Colistämme erhaltenen Werte sind aus der Tabelle ersichtlich. Es geht bei

¹ Vgl. ad Fall „Hulin“ die genannte Publikation Zupniks S. 520—523. Mit dem Serum „Brabec“ haben wir eine größere Anzahl von Stämmen differenter Arten der Typhusgattung beschickt und bei allen, von hie und da gefundener 1 Ag.-E. abgesehen, völlig negative Resultate erhalten. Wir verzichten darum auf eine spezialisierende Wiedergabe der diesbezüglichen Protokolle.

² Vgl. S. 513—516.

Beurteilung dieser Titer auf den ersten Blick hervor, daß hochwertige Immunsera der Typhusgattung Colibakterien nur in dem Grade agglutinieren, wie dies bei den übrigen ikterischen und nicht ikterischen Seris bei Vermeidung von Coliinfektionen und typhoiden Erkrankungen der Fall war.

Unsere Befunde bringen für eine weitere vom obengenannten Autor gefundene und der Gattungsspezifität scheinbar widersprechende Tatsache eine Erklärung. Unter 27 von demselben Verfasser angeführten Colistämmen befanden sich 8 „Grenzstämme“.¹ Letztere wurden im Gegensatz zu den 19 übrigen von menschlichen Seris der Typhusgattung bis zur Höhe von 10 Ag.-E. beeinflußt. Bei der Erörterung dieses Befundes weist Zupnik darauf hin, daß ein Teil dieser positiven gattungsfremden Agglutinationswerte nicht spezifisch ist, sondern durch die schon normalen Seris innewohnende Agglutinationskraft für diese Stämme zu erklären wäre. Auch diese Annahme Zupniks findet in unseren Untersuchungen eine Bestätigung, indem die 8 von Zupnik als Grenzarten geführten Colistämme, die eine geringe Beeinflußbarkeit von seiten der Typhussera zeigten, auch von sonstigen menschlichen und tierischen Seris in fast denselben positiven Werten beeinflußt wurden.

Unsere Ausführungen führen zu folgenden Schlüssen:

I. Ikterische Blutsera von Kranken, die an keiner Coliinfektion leiden, besitzen für Arten der Coligattung keine höhere Agglutinationskraft, als nicht ikterische.

Diese Tatsache ermöglicht eine diagnostische Verwertung der Agglutination für Coliinfektionen. Daß hierbei die Kenntnis des Agglutinationsverhaltens von in dieser Richtung geprüften Colistämmen gegenüber normalen Seris eine Vorbedingung für jede diagnostische Schlußfolgerung darstellt, wurde bereits zur Genüge betont. Unsere Versuche beweisen nämlich, daß manche Colistämme normalerweise sowohl von nicht ikterischen als auch von ikterischen Seris bis zu einer Höhe von 40 Ag.-E. beeinflußt werden können.

Das absolut gleiche Verhalten von ikterischen und nicht ikterischen Seris zu Colibakterien steht in einem bemerkenswerten Gegensatz zur Wirkungsweise ikterischer Sera für Eberth'sche Bazillen. Wie allgemein bekannt, besitzen ikterische Sera von verschiedenen Erkrankungen für Typhusbakterien manchmal eine viel höhere Agglutinationskraft als nicht ikterische. Die in dieser Richtung in unserem Laboratorium gepflogenen Untersuchungen haben gezeigt, daß agglutinierende ikterische Blutsera

¹ Vgl. diese Zeitschrift. Bd. II. S. 522.

nebst Typhusbazillen noch verschiedene andere Arten der Typhusgattung agglutinieren und zwar viel stärker als normale Sera. Arten der Coligattung werden hingegen von ikterischen Seris, wie wir zeigen konnten, nur in gleichem Maße agglutiniert, wie von normalen Blutseris. Dieses gegensätzliche Verhalten könnte eine Erklärung darin finden, daß nicht allein Eberthsche und Schottmüllersche Bazillen, wie dies von verschiedenen Forschern nachgewiesen wurde, sondern überhaupt alle für Menschen pathogene Arten der Typhusgattung auch Dezennien nach der von ihnen gesetzten Erkrankung in der Gallenblase weiterbestehen und in einer Anzahl von Fällen eine Veranlassung zu einer mit Ikterus einhergehenden Erkrankung der Gallenwege geben. Diese Annahme würde ohne weiteres erklären, warum ein und dasselbe ikterische Serum verschiedene Arten der Typhusgattung zugleich agglutiniert — die Agglutination ist eben gattungsspezifisch — und ferner, warum diese Eigenschaft einer Anzahl von ikterischen Seris zukommt, anderen wieder nicht. Sie würde ferner auch das gleiche Verhalten von nicht ikterischen und ikterischen Seris zu Colibakterien erklären. Beide erlangen nämlich ihre Agglutinationskraft im Verlaufe des extrauterinen Lebens durch die Tätigkeit der normalerweise im menschlichen Darne vorkommenden Colibakterien. Liegt demnach zur Zeit der Untersuchung keine Coliinfektion vor, dann besitzen ikterische und nicht ikterische Sera bei Prüfung gleicher Colistämme dieselben Agglutinationswerte.

Daß mitunter trotz vorhandener schwerer Coliinfektion spezifische Agglutinine für Colibakterien fehlen können, beweist unser Fall III.

II. Typhoiden Erkrankungen entstammende Blutsera des Menschen und die mittels der Arten der Typhusgattung erzeugten tierischen Immunsera besitzen spezifische Agglutinine ausschließlich für die Arten dieser Gattung.

III. Von menschlichen und tierischen¹ Coliinfektionen herführende Sera agglutinieren spezifisch ausschließlich Arten der Coligattung.

Die Spezifitätsbreite der Agglutination innerhalb dieser beider Gattungen überschreitet demnach die Grenzen der Gattung nicht.

Zum Schlusse sei uns gestattet, unserem hochverehrten Chef, Hrn. Hofrat Prof. Dr. Alfred Pflüger, für das uns zur Ermöglichung dieser Arbeit bewiesene vielseitige Entgegenkommen unseren aufrichtigsten Dank zu sagen.

¹ Vgl. ad hoc *Diese Zeitschrift*. Bd. XLIX. S. 520—523.

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

Über den Immunisierungsprozeß.¹

Von

Dr. Karl Landsteiner und Dr. Mathias Reich.

In einer vorhergehenden Mitteilung² haben wir am Beispiele der Hämagglutinine Unterschiede zwischen den ähnlich wirkenden und gewöhnlich für identisch gehaltenen Stoffen des normalen und des Immunsersums nachgewiesen. Es zeigte sich, daß die Verbindungen der Immungglutinine schwerer durch Erwärmen spaltbar sind und daß die Kurven des Agglutinationseffektes in den beiden Fällen deutlich voneinander abweichen. In der erwähnten Mitteilung wurden schon einzelne frühere Erfahrungen angeführt (Gruber, Shibayama, Eisenberg und Volk, Kraus), die für die erörterte Frage in Betracht kommen. Es sei hier außerdem an die Zweifel erinnert, die Bordet³ und wir⁴ bezüglich der Gleichsetzung der genannten Stoffe geäußert haben. Auch ist nachzutragen, daß nach einigen vor längerer Zeit gemachten Beobachtungen⁵ die Aussalzungsbedingungen der beiden Arten von Substanzen nicht die gleichen sind.

Seit unserer ersten Mitteilung erschienen die Arbeiten von Eisenberg⁶ und Lüdke⁷, die unser Thema berühren. Es wurden ferner

¹ Im Auszuge mitgeteilt auf der Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Berlin 1906. *Centralbl. f. Bakt.* 1906. Bd. XXXVIII. Refer. Beiheft.

² *Centralblatt für Bakteriologie.* 1905. Bd. XXXIX. S. 712.

³ Vgl. *Annales de l'Institut Pasteur* 1904 und frühere Arbeiten.

⁴ *Münchener med. Wochenschrift.* 1902. S. 1905.

⁵ Landsteiner und Calvo, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1902. Bd. XXXI. S. 785; Pick, Hofmeisters *Beiträge.* Bd. I; (Eisenberg, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XLI. S. 102).

⁶ *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XLI.

⁷ *Ebenda.* Bd. XLII.

neuerdings Differenzen der Absättigungsgeschwindigkeit eines Bakterienhämolytins durch normales und Immuneserum¹ und Unterschiede in dem Verhalten von hämolytischem Normal- und Immuneserum gegen Lipide² aufgefunden. Auch die in letzter Zeit eifrig studierten bakteriotropen Stoffe scheinen sich im normalen und Immuneserum nicht gleich zu verhalten. Beobachtungen von Pick und Schwoner³ über Unterschiede in dem Verhalten geringwertiger und hochwertiger antitoxischer Sera sprechen ferner dafür, daß die Änderung der Antikörper während der Dauer der Immunisierung fortschreitet und hochwertige Immunesera von geringwertigen qualitativ verschieden sind.

Da die prinzipielle Entscheidung der aufgeworfenen Frage für die Auffassung der Immunisierungsprozesse bedeutungsvoll ist, da außerdem unsere Meinung der fast allgemein angenommenen widerspricht, haben wir es für nötig gehalten, die vergleichende Untersuchung der normalen und der Immunagglutinine nach mehreren Richtungen fortzusetzen.

I. Absorption der Agglutinine durch Eiweißkörper.

Die folgenden Versuche haben die quantitative Prüfung einer Erscheinung zum Gegenstande, über die wir schon kurz berichtet haben⁴, nämlich die Absorption der Agglutinine durch Eiweißkörper. Als besonders geeignet zu diesen Untersuchungen hatte sich das Kasein erwiesen. Es wurde damals bemerkt, daß Normalagglutinine (N.-A.) beträchtlich leichter von Eiweiß absorbiert werden als Immunagglutinine (I.-A.).

Die verwendeten Sera waren normale Sera mehrerer Kaninchen und Immunesera von Kaninchen, die mit verschiedenen Blutarten (Ziege, Gans, Meerschweinchen) vorbehandelt waren. Die Sera waren durch halbstündiges Erhitzen auf 55° inaktiviert. Zur Absorption wurden je 5^omm mit NaCl-Lösung verdünntes Serum mit 0.5 Kasein zusammengebracht und 1/3 Stunde unter mehrmaligem Durchschütteln bei Zimmertemperatur gehalten.⁵ Die Auswertung des Agglutinintiters geschah wie in allen folgenden Versuchen durch Herstellung einer Reihe von Verdünnungen und Zusatz von 1 prozentigen Blutaufschwemmungen.⁶ Die in allen folgenden Tabellen an-

¹ Landsteiner und Heyrovsky, *Centralbl. f. Bakteriologie*. 1907. Bd. XLIV. S. 150.

² Dautwitz und Landsteiner, Hofmeisters *Beiträge*. Bd. IX. S. 431.

³ *Zeitschrift für experimentelle Pathologie und Therapie*. Bd. I.

⁴ Landsteiner und Stankovics, *Centralbl. f. Bakt.* 1906. Bd. XLI. S. 111.

⁵ Es ist darauf zu achten, daß das nach Hammarstens Verfahren hergestellte Kasein möglichst wenig blutlösende fettartige Stoffe enthalte.

⁶ Quantitäten und Ausführung wie in der zitierten Mitteilung. *Centralblatt f. Bakteriologie*. Bd. XXXIX. S. 714.

geführten ganzen Zahlen geben die letzten noch wirksamen Verdünnungen an und können als Zahl der in den Lösungen vorhandenen Agglutinin-einheiten bezeichnet werden.

Normale Kaninchensera.

	Blut:			
	Gans	Meer-schweinchen	Schaf	Ziege
I. $\frac{1}{5}$ Ser.	4	2	—	16
Nach Absorption.	2	1	—	8
II. $\frac{1}{2}$ Ser.	32	16	64	—
Nach Absorption.	16	8	32	—
III. $\frac{1}{4}$ Ser.	8	8	4	—
Nach Absorption.	4	4	2	—
IV. $\frac{1}{3}$ Ser.	16	16	8	—
Nach Absorption.	8	8	4	—
V. $\frac{1}{2}$ Ser.	32	32	32	—
Nach Absorption.	16	8	8	—

Immunkaninchensera.

	Blut: Gans
I. $\frac{1}{150}$ Gansimmunserum (1).	64
Nach Absorption	64
II. $\frac{1}{300}$ Gansimmunserum (2).	16
Nach Absorption	16
	Blut: Meerschweinchen
III. $\frac{1}{250}$ Meerschweinchenimmunserum (1.)	8
Nach Absorption	8
III. $\frac{1}{250}$ Meerschweinchenimmunserum (2.)	16
Nach Absorption	16

In anderen Versuchen wurde die Behandlung der Sera mit Kasein mehrmals wiederholt und zwar unter Beibehaltung der relativen Verhältnisse von Flüssigkeit und Kasein. Es wurde von größeren absoluten Mengen ausgegangen und nach jeder Behandlung mit Kasein filtriert.

Normale Kaninchensera.

	Blut:			
	Gans	Meer-schweinchen	Schaf	Taube
I. $\frac{1}{4}$ Ser.	8	8	4	—
Nach dreimaliger Absorption	0	0	0	—
II. $\frac{1}{5}$ Ser.	4	—	—	8
Nach zweimaliger Absorption	0	—	—	0

Immunkaninchensera.

	Blut:			
	Gans	Meer- schweinchen	Schaf	Taube
I. $\frac{1}{5}$ Gansimmunserum	1024	—	8	64
Nach dreimaliger Absorption	1024	—	0	4
II. $\frac{1}{5}$ Merschweinchenimmunserum	64	16	512	—
Nach dreimaliger Absorption	0	1	512	—

Die Zahlen lehren, daß die Agglutinine der normalen Sera beträchtlich leichter von Kasein aufgenommen werden als die homologen Agglutinine der Immunsera. Es fällt auch auf, daß in den Immunseren die Agglutinine sich Kasein gegenüber verschieden verhalten und daß dieser Umstand zu einer Trennung der homologen und heterologen Hämagglutinine des Immunserums zu benutzen sein könnte. Wenigstens ließ sich in den mitgeteilten Versuchen die Spezifität der Immunsera durch Kaseinbehandlung steigern.

II. Hitzebeständigkeit der Agglutinine.

Eine zweite Versuchsreihe galt dem Verhalten der N.-A. und I.-A. beim Erwärmen. Auch darüber haben wir vor längerer Zeit einige Versuche angestellt, die wegen ihrer geringen Zahl nicht zu einem abschließenden Urteil berechtigten.¹ Eisenberg² fand eine höhere Empfindlichkeit der normalen Bakterienagglutinine im Vergleich zu den Immunagglutininen, ohne aber allgemeine Schlüsse daraus abzuleiten. Die früheren Versuche von Rodet³ sind, wie Eisenberg hervorhebt, nicht quantitativ und nicht mit genügenden Kautelen durchgeführt, und ähnliche Schwierigkeiten bietet die Beurteilung der Versuche von Lüdke,⁴ der eine geringere Hitzeresistenz der N.-A. gegenüber den I.-A. fand, aber nicht gleichwertige Lösungen verglich.

In den von uns angestellten Versuchen wurde namentlich darauf geachtet, gleich stark wirkende Verdünnungen der zu vergleichenden Sera anzuwenden. Da bei diesem Verfahren naturgemäß die Immunsera stärker verdünnt werden müssen und der geringere Eiweißgehalt der Lösungen von I.-A. einen Fehler verursachen könnte, haben wir außer mit verdünntem Serum auch mit gereinigten Agglutininlösungen gearbeitet, die

¹ *Münchener med. Wochenschrift.* 1902. Nr. 46. (Die betreffende Stelle gibt den Sachverhalt nicht ganz sinngemäß wieder.)

² *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XII.

³ *Ebenda.* Bd. XXXVII. S. 714.

⁴ A. a. O.

auf gleiche agglutinierende Wirkung eingestellt waren und wegen ihres geringen Gehaltes an fremden Stoffen einen exakten Vergleich gestatten. Die gereinigten Lösungen waren nach unseren früheren Angaben¹ durch Abspalten der Agglutinine aus ihrer Verbindung mit Blutkörperchen hergestellt.

Die frischen von verschiedenen Kaninchen stammenden Sera wurden zunächst eine halbe Stunde bei 55° inaktiviert, dann weiter auf 60° erwärmt.²

	Agglutininwerte			Blut
	Vor der Erwärmung	Nach 6 stünd. Erwärmung	Nach 12 stünd. Erwärmung	
Vers. I. $\frac{1}{8}$ N.S.	4	1	1	Meer- schweinchen
$\frac{1}{1000}$ I.S. (Meersch. III)	4	2	2	
N.R.A.	2	0	0	
I.R.A. (Meersch. III) . .	4	2	2	
Vers. II. $\frac{1}{4}$ N.S.	8	0	0	Meer- schweinchen
$\frac{1}{1000}$ I.S. (Meersch. II)	8	4	4	
N.R.A.	8	0	0	
I.R.A. (Meersch. II) . .	8	4	8	
Vers. III. $\frac{1}{4}$ N.S.	8	2	1	Meer- schweinchen
$\frac{1}{100}$ I.S. (Meersch. II)	4	4	4	
N.R.A.	4	1	1	
I.R.A. (Meersch. II) . .	4	4	4	
Vers. IV. $\frac{1}{4}$ N.S.	16	4	4	Gans
$\frac{1}{256}$ I.S. (Gans II)	16	16	16	
N.R.A.	16	8	4	
I.R.A. (Gans II)	16	16	16	
Vers. V. $\frac{1}{4}$ N.S.	16	4	4	Gans
$\frac{1}{256}$ I.S. (Gans III)	32	32	32	
N.R.A.	16	8	4	
I.R.A. (Gans III)	32	32	32	

Eine Übersicht der als Beispiele angeführten Versuche führt zu dem in Anbetracht der gebrauchten Vorsichtsmaßregeln völlig sicheren Ergebnis, daß die I.-A. erheblich hitzebeständiger sind als die N.-A. Die Größe des Unterschiedes schwankte bei den verschiedenen untersuchten Serumproben.

¹ *Münchener med. Wochenschrift.* 1902, 1903.

² Auf die Erwärmung bei 60° beziehen sich die Zeitangaben der Tabelle. N.S. = Normalserum. I.S. = Immunserum. N.R.A. = Gereinigtes Normalagglutinin. I.R.A. = Gereinigtes Immunagglutinin.

III. Spezifizität der N.- und I.-Agglutinine.

Bekanntlich ist nach der zumeist angenommenen Hypothese Ehrlichs die Spezifität der nach Immunisierungen im Serum erscheinenden Antikörper nicht als der Erfolg der Bildung neuer Stoffe anzusehen. Der Ehrlichschen Hypothese zufolge sind vielmehr die spezifischen Antistoffe in der Regel schon im normalen Serum vorhanden. Als experimentelle Stütze dieser Annahme werden Versuche von Bordet¹, Malkoff², Ehrlich u. a. angegeben, aus denen sich anscheinend die Existenz in hohem Grade spezifischer Antistoffe im normalen Serum folgern läßt. Diese Autoren ließen ein normales, agglutinierendes oder lytisches Serum auf eine Art von Zellen, z. B. Blutkörperchen, einwirken und fanden nachher die Wirksamkeit des Serums für diese Blutart aufgehoben, für Blutkörperchen anderer Tierspezies erhalten. Da die Absorption mit mehreren Zellarten (z. B. Blutkörperchen) A, B, C, D . . . hintereinander ausgeführt werden kann und nachher immer noch Agglutinine oder Lysine für andere Zellarten M, N, O, P . . . übrig bleiben, so glaubten einige Autoren, namentlich Malkoff, den Schluß ziehen zu können, es seien im normalen Serum ebensoviele verschiedene wirksame Stoffe vorhanden, als Zellarten von dem Serum beeinflußt worden. Bordet und wir haben schon auf die Unzulänglichkeit der Gründe für die a priori unwahrscheinliche Annahme aufmerksam gemacht und wir konnten am Beispiele der Hämagglutinine einen bisher allerdings kaum berücksichtigten sehr einfachen Gegenbeweis erbringen.³

Absorbierten wir Agglutinine aus einem Serum z. B. mit der Blutkörperchenart A, so ließen sich die aufgenommenen Agglutinine durch Erwärmen leicht zum Teil abspalten und wirkten nun nicht nur auf die Blutart A, sondern, wenn auch meist schwächer, auf viele andere Blutarten. Es scheint hier ein Widerspruch gegen die erwähnten Absorptionsversuche vorzuliegen, doch ist zu beachten, daß die Absorptionsversuche zum Teil nicht messend durchgeführt wurden und zur Entscheidung der erörterten Frage offenbar überhaupt weniger geeignet sind als unsere Methode, da bei dem Absorptionsverfahren eine Differenz bestimmt wird, die nicht ganz gering sein darf, um überhaupt sicher nachgewiesen werden zu können. Ofters ist immerhin auch durch die Messung der absorbierten Menge festzustellen, daß bei der Behandlung des normalen Serums mit einer Zellart auch ein Teil der auf andere Zellen wirkenden Agglutinine verschwindet.

¹ *Annales de l'Institut Pasteur*. 1899.

² *Deutsche med. Wochenschrift*. 1900.

³ A. a. O. *Münchener med. Wochenschrift*. 1902.

Versuche: 10^{oem} auf das 10fache verdünnten inakt. Serums werden mit 1^{oem} Brei von gewaschenen Blutkörperchen versetzt, mehrere Stunden damit in Berührung gelassen, dann zentrifugiert. In einer Kontrollprobe wird 10^{oem} derselben Serumverdünnung 1^{oem} 1prozentige NaCl-Lösung zugefügt. Der agglutinierende Effekt der Kontrolllösung und der Abgüsse für verschiedene Blutarten ist in den folgenden Protokollen wiedergegeben.

I. Rinderserum. Absorption mit Kaninchenblut.

	Blut:			
	Kaninchen	Frosch	Pferd	Taube
Kontrolle . . .	16	64	64	4
Abguß	4	48	32	4

II. Rinderserum. Absorption mit Kaninchenblut.

	Blut:			
	Kaninchen	Frosch	Pferd	Taube
Kontrolle . . .	64	32	32	8
Abguß	16	16	8	8

In anderen Versuchen konnte eine Abnahme des Agglutininwertes nur für die zur Absorption verwendete Blutart aufgefunden werden.

III. Hühnerserum. Absorption mit Schweineblut.

	Blut:		
	Schwein	Pferd	Taube
Kontrolle . . .	64	64	8
Abguß	2	64	8

IV. Hühnerserum. Absorption mit Schweineblut.

	Blut:		
	Schwein	Frosch	Taube
Kontrolle . . .	64	16	16
Abguß	2	16	16

Bei der Betrachtung dieser Resultate muß bedacht werden, daß die angewendete Methode einen Agglutininverlust nur dann zu erkennen gestattet, wenn er den Titerverlust durch die¹ etwas zu starke Verdünnung der Kontrollprobe übersteigt und außerdem noch einen erheblichen Bruchteil des Gesamtwertes ausmacht. Abgesehen davon können auch andere

¹ Wegen Vernachlässigung des Blutkörperchenvolumens.

Momente das Resultat in dem Sinne beeinflussen, daß eine Verminderung des Agglutiningehaltes verdeckt wird. Es wäre z. B. möglich, daß die verschiedenen in einem Serum vorhandenen Agglutinine sich bezüglich ihrer Wirkung auf eine Blutart nicht einfach addieren, so daß der Titer nicht entsprechend dem wirklichen Verlust abnimmt und ein Gleiches könnte durch eine Wechselwirkung der Agglutinine und anderer Serumbestandteile bewirkt werden.¹ Auf solche Verhältnisse deuten vielleicht die Resultate von Posselt und Sagasser² hin, die bei antibakteriellem Immunserum nach Absorption der Agglutinine durch eine Bakterienart den Agglutinintiter für andere Arten öfters erhöht fanden. Posselt und Sagasser führen als mögliche Erklärung ihre Beobachtung an, daß die verschiedenen Agglutinine einander in ihrer Wirkung beeinflussen oder daß bei der Absorption Stoffe aus dem Serum aufgenommen werden, die hemmend auf die Agglutination einwirken.

Diese Erscheinungen bedürfen noch eingehender Untersuchungen, um ganz aufgeklärt zu werden, aber es ist schon jetzt sicher, daß die Absorptionsversuche nicht so einfach zu deuten sind als man meistens meinte. In jedem Falle ist durch die referierten Abspaltungsversuche völlig bewiesen, daß jede Blutart Agglutinine aus dem normalen Serum absorbiert, die in nicht geringem Maße auf sehr viele, bei genügender Konzentration wahrscheinlich auf die allermeisten Blutarten wirken. Dadurch ist aber die Hypothese vom Vorhandensein hochgradig spezifischer Antistoffe im normalen Blute jeder experimentellen Stütze beraubt.

Es ist hier dem Einwande zu begegnen, daß die in unseren gereinigten Lösungen enthaltenen Agglutinine nicht wirklich aus dem Serum stammen, sondern zum Teil aus den Blutkörperchen in die Lösungen gelangt seien. Der Einwand hat keine Wahrscheinlichkeit für sich, da aus nicht mit Agglutinin behandelten Blutkörperchen deutlich wirkende Lösungen beim Erwärmen nicht zu erhalten sind; er konnte außerdem experimentell noch weiter entkräftet werden.

Es wurden in einem ersten Versuche A je 0.5^{ccm} gewaschenen Bries von Meerschweinchen- bzw. Gansblutkörperchen mit je 4^{ccm} eine halbe Stunde auf 60° erhitzt gewesenenes Pferdeserums durch mehrere Stunden bei niedriger Temperatur behandelt, die stark agglutinierten Blutkörperchen

¹ Eine Komplikation der Beurteilung der Absorptions- und Spaltungsversuche kann auch dadurch vielleicht herbeigeführt werden, daß die Blutkörperchen bei diesen Prozessen die Agglutinine verändernde Stoffe abgeben, die nicht notwendig identisch mit den bindenden Stoffen der Körperchen selbst sind. Hemmende Stoffe, die anscheinend in gewissem Grade spezifisch wirken, sind durch Erwärmen von Blutkörperchen in 1 prozent. NaCl-Lösung (z. B. auf 50°) zu erhalten.

² *Wiener klin. Wochenschrift.* 1908. Nr. 24.

mit 1prozentiger NaCl-Lösung auf der Zentrifuge mehrmals gewaschen und dann mit je 4^{ccm} NaCl-Lösung unter mehrmaligem Aufschütteln eine halbe Stunde bei 45° gehalten. Die warm abzentrifugierten Lösungen (R.A. I Meerschweinchen und R.A. I Gans) wurden titriert. In einem Gegenversuche B behandelten wir das gleiche inaktivierte Pferdeserum in zwei Portionen von 4.5^{ccm} mit je 3^{ccm} dicken Breies von gewaschenem Gans- bzw. Meerschweinchenblut durch einige Stunden bei niedriger Temperatur, so daß nach dem Abzentrifugieren die zwei Serumproben ihre Wirksamkeit für Gans- bzw. Meerschweinchenblut verloren hatten. Nun wurde weiter so verfahren wie im ersten Versuche, und zwar die zuerst mit Gansblut behandelte Probe jetzt mit Meerschweinchenblut versetzt (4^{ccm} Serum + 0.5^{ccm} Blutbrei), die zweite Probe mit Gansblut. Wie im ersten Versuche wurden zwei agglutinierende Lösungen erhalten (aus der ersten Probe die Lösung R.A. II Meerschweinchen, aus der zweiten Probe die Lösung R.A. II Gans).

Die Titrationsen ergaben:

		Blut:	
		Meerschw.	Gans
Versuch A.	{ R.A. I. Meerschweinchen .	8	2
	{ R.A. I. Gans	4	12
Versuch B.	{ R.A. II. Meerschweinchen.	8	0
	{ R.A. II. Gans	0	10

Ein anderer in ganz analoger Weise mit Pferdeserum, Gans- und Taubenblut angestellter Versuch ergab (Bezeichnung wie oben):

		Blut:	
		Taube	Gans
Versuch A.	{ R.A. I. Taube	64	16
	{ R.A. I. Gans	6	16
Versuch B.	{ R.A. II. Taube	64	0
	{ R.A. II. Gans	0	8

Der Versuch zeigt zunächst, wie in den meisten Fällen bei dieser Anordnung, daß die gereinigten Agglutininlösungen auf diejenige Blutart besonders stark wirken, die zur Herstellung der Lösung dienten. Die spezifische Wirkung der Lösungen kann, wie z. B. der Versuch III auf S. 223 zeigt, selbst eine recht auffällige sein. Es ist das, wie wir schon darlegten, leicht begreiflich, da jede Blutart natürlich solche Agglutinine

aufnehmen und bei der Spaltung der Verbindung wieder abgeben wird, die zu dieser Blutart erhebliche Affinität besitzen. So lassen sich aus dem natürlichen Gemisch der Agglutinine des normalen Serums beliebig viele Mischungen durch die elektive Absorption der Agglutinine und deren Abspaltung herstellen.

In dem ersten mitgeteilten Versuche B wurden aus dem natürlichen Agglutiningemenge des Serums zunächst einmal alle für Gansblut, das andere Mal alle für Meerschweinchenblut wirksamen Agglutinine absorbiert. Wurden aus den so veränderten Proben wieder in der gewöhnlichen Weise gereinigte Agglutininlösungen hergestellt, so mußten in den Lösungen alle jene Stoffe fehlen, die vorher aus dem Serum entfernt waren, wie das die Tabellen zeigen. Diese Übereinstimmung beweist die Richtigkeit der Voraussetzung, daß die Agglutinine der Lösungen wirklich aus dem Serum stammen. In ähnlicher Weise wurde eine Anzahl anderer Versuche angestellt, alle mit dem gleichen Ergebnis.

Wenn man in der beschriebenen Weise aus normalem Serum Agglutininlösungen herstellt, so sind diese nach unserer Annahme wieder Gemenge, aus denen durch Absorption einzelne Bestandteile entfernt werden können.

Versuch: Gereinigte Agglutininlösung aus Rinderserum, mit Gansblut hergestellt (R.A. Gans). Die Lösung wird als solche und nach erfolgter Behandlung mit verschiedenen Blutarten (4^{com} Lösung + 2.5^{com} gewaschenen Blutbreies) titriert.

Es resultieren die folgenden Agglutininwerte:

	Blut:			
	Frosch	Gans	Kaninchen	Taube
I.				
Ursprüngl. Rinderserum	192	64	128	96
R.A. Gans	96	96	48	24
„ „ abs. mit Gansblut	12	0	8	0
„ „ „ „ Taubenblut	96	48	48	0

	Blut:	
	Gans	Taube
II.		
Ursprüngl. Rinderserum	64	96
R.A. Gans	64	16
„ „ abs. m. Gansblut	0	0
„ „ „ „ Taubenblut	16	0

	Blut:				
	Frosch	Gans	Kaninchen	Meerschw.	Taube
III.					
Ursprüngl. Rinderserum	384	64	128	8	128
R.A. Gans	6	96	6	4	12
„ „ abs. m. Gansblut	0	0	6	0	0
„ „ „ „ Kaninchenblut	2	96	1	2	12
„ „ „ „ Meerschweinchenblut	1	48	2	0	6
„ „ „ „ Taubenblut	4	48	6	2	0

	Blut:				
	Frosch	Gans	Kaninchen	Meerschw.	Taube
IV.					
R.A. Gans	128	128	96	24	16
„ „ abs. m. Meerschweinchenblut	6	48	2	0	12

Die erhaltenen Zahlen zeigen, daß aus den gereinigten Agglutininlösungen durch Absorption Agglutinine für einzelne Blutarten sich ebenso entfernen lassen, wie aus dem Serum selbst, daß also auch mit diesen Lösungen Versuche ähnlich wie die zitierten von Bordet und Malkoff gelingen können. So wurde z. B. im Versuch III durch Behandeln mit Tauben-, Kaninchen- und Meerschweinchenblut das Agglutinationsvermögen für diese Blutarten ganz oder nahezu aufgehoben, blieb hingegen für andere Blutarten zum Teil oder selbst vollständig erhalten. Man käme so bei der gewöhnlichen Betrachtungsweise zu dem paradoxen Resultat, daß die gereinigten Lösungen wieder aus einer großen Zahl spezifischer Stoffe zusammengesetzt sind. Immerhin ist unter diesen Bedingungen nach unseren Versuchen die Abnahme der Agglutininwerte für andere als die absorbierenden Blutarten größer als im Falle des Serums. Es ist möglich, daß bei dem Versuch mit den Agglutininlösungen jene Faktoren zum Teil wegfallen, die oben für die Serumversuche in Betracht gezogen wurden. Auch dieser Punkt bedarf noch einer experimentellen Untersuchung.

Werden die Lösungen mit den zur Herstellung benutzten Blutarten behandelt, so waren nachher die Agglutininwirkungen für andere Blutarten entweder ganz aufgehoben oder doch sehr stark herabgesetzt, wie es auch nach unserer Auffassung zu erwarten ist. Daß doch noch Reste von wirksamer Substanz für einzelne Blutarten übrig bleiben, obwohl nach der Methode der Bereitung in den Lösungen doch nur solche Stoffe vorhanden sind, die sich ursprünglich mit der absorbierenden Blutart verbanden, zeigt, wie wir meinen, wieder, daß die Agglutininabsorption von anderen

Vorgängen begleitet ist, die die genaue quantitative Beurteilung stören können¹ (man vgl. später angeführte ähnliche Ergebnisse bei Immunsorum).

Das Gesagte läßt sich nochmals dahin zusammenfassen, daß die Agglutinine eines normalen Serums ein Gemenge von Substanzen darstellen, die auf verschiedene Blutarten ungleich stark wirken, deren jede einzelne aber im allgemeinen nicht auf irgendeine Blutart besonders stark wirkt.² Bei der Behandlung des Serums mit einer bestimmten Blutart wird wieder ein Gemenge von Stoffen absorbiert, das insofern besonders beschaffen ist, als es vorwiegend aus jenen unter allen im Serum vorhandenen Agglutininen zusammengesetzt ist, die zu der Blutart beträchtliche Verwandtschaft haben.³ Im Serum bleibt nach der Absorption ein großer Teil der ursprünglichen Agglutinine zurück, nämlich alle, die zu der absorbierenden Blutart keine erhebliche Affinität haben. Es werden daher die zurückbleibenden Agglutinine im allgemeinen und in gewissem Grade noch alle Blutarten beeinflussen können, auf die das ursprüngliche Serum wirkte, mit Ausnahme des zur Absorption verwendeten Blutes (Versuch von Bordet und Malkoff).

Ganz analoge Verhältnisse sind offenbar für die anderen den Häm-agglutininen bezüglich der Spezifizität ähnlichen Bestandteile der normalen Sera, wie Bakterienagglutinine, Lysine, hämo- und bakteriotrope Stoffe zu erwarten.

¹ Vgl. ähnliche Annahmen bei Mauwaring, *Centralblatt für Bakteriologie*. 1907, bezüglich der Absorption von Hämolytinen.

² Vgl. Landsteiner, *Münchener med. Wochenschrift*. 1902. A. a. O.

³ Anmerkung. Um es gegenüber uns gemachten Einwänden zu veranschaulichen, daß einem bestimmten Gemenge größere Spezifizität zukommen kann, als den einzelnen Komponenten, sei das folgende einfache willkürliche Beispiel angeführt.

Man betrachte eine Mischung von vier Agglutininen und ihre Wirkung auf vier Blutkörperchenarten. Die in der folgenden Tabelle angegebenen Zahlen mögen den durch die Verdünnungsgrenze bestimmten Wirkungswert bezüglich der Blutarten A—D bezeichnen (unter der Voraussetzung gleicher Mengen der einzelnen Agglutinine).

		Blutarten			
		A	B	C	D
Agglutinine	{	1	10	1	10
		2	10	1	1
		3	1	10	1
		4	1	1	10

Der Tabelle zufolge würde jedes einzelne Agglutinin auf je zwei der Blutarten, das ganze Gemenge auf alle vier Blutarten gleich stark wirken.

Eine durch Absorption und Abspaltung mit einer Blutart aus der Mischung hergestellte Lösung würde aber auf dieses Blut beträchtlich stärker wirken als auf die anderen Arten wenn das Bindungsvermögen dem gemessenen Agglutininwert parallel geht und Aufnahme wie Abspaltung des Agglutinins in gleichem Verhältnisse erfolgen.

Unserer Ansicht nach hat jedes einzelne Agglutinin des Normalserum Affinität für eine sehr große Zahl von Blutarten, und zwar eine Affinität verschiedener Grade, bis zu so geringen, daß sie beim Versuch unter den gewöhnlichen Bedingungen untermerklich sind.¹ Es ist also die Wirksamkeit der normalen Agglutinine gegenüber verschiedenen Blutarten als quantitativ abgestuft anzusehen, wie die Verbindungsfähigkeit der pflanzlichen Agglutinine für differente Blutarten oder das Färbungsvermögen von Farbstoffen für verschiedene färbbare Substrate.² Diese Auffassung ist um so natürlicher als, wie schon berichtet wurde, die normalen Agglutinine sich auch mit Eiweißkörpern verschiedener Art verbinden und eine prinzipielle Trennung dieser Vorgänge und der Reaktionen zwischen Blutkörperchen und Agglutininen vorläufig nicht begründet ist.³

Im Gegensatz zu dieser Betrachtungsweise meinen Hetsch und Lentz⁴, daß im normalen Serum neben spezifischen Bakterienagglutininen andere vorkommen, die auf verschiedene Bakterienarten (der Vibrionengruppe) gleichmäßig wirken. Dementsprechend supponieren sie in den einzelnen Vibrionenarten neben spezifischen Stoffen, andere, die allen Vibrionen gemeinsam sind. Es ist aber weder a priori wahrscheinlich, daß viele verschiedene Vibrionenspezies völlig identische Eiweißstoffe enthalten, noch ist diese Annahme nötig, um es zu erklären, daß beim Behandeln von Serum mit einer Vibrionenart auch Agglutinine für andere Arten absorbiert werden (s. o.). Für die Anwesenheit spezifischer Stoffe im Serum haben aber Hetsch und Lentz keinen anderen Beweis, als die Absorptionsversuche, deren Deutung in diesem Sinne von uns widerlegt wurde.

¹ Anmerkung. In diesem Sinne und im Gegensatz zu Malkoff u. a. waren in unserer früheren Mitteilung (*Münchener med. Wochenschr.* 1902) die Agglutinine des Normalserums als nicht spezifisch bezeichnet, insofern sie eben nicht vorwiegend auf eine Zellart wirken. Wenn man unter Spezifität die Tatsache ungleicher Wirkungen auf verschiedene Blutarten verstünde, so würde dieser Fall bei den Agglutininen des normalen Serums vorliegen. Man kann sich deren Beschaffenheit ähnlich vorstellen, wie etwa ein Gemisch der agglutinierenden Stoffe Abrin, Ricin usw., die auch verschiedenes Blut ungleich beeinflussen, ohne auf ein bestimmtes spezifisch zu wirken.

² Anmerkung. In die Sprache der Ehrlichschen Theorie übersetzt, hieße das, daß die haptophoren Gruppen der N.-Agglutinine so beschaffen sind, daß sie mit den verschiedenen Rezeptoren sehr vieler Blutkörperchen, aber in ungleichem Maße reagieren. Nach der Ehrlichschen Theorie sollte aber jede haptophore Gruppe nur mit einer bestimmten Art von Rezeptoren reagieren.

³ Nach Beobachtungen von uns befinden sich unter den Substanzen, die von Blutkörperchen bei der Agglutination aus dem Serum aufgenommen werden, selbst solche, die eine allerdings geringe Agglutinationswirkung auf Bakterien ausüben.

⁴ *Festschrift* für Robert Koch. Jena. G. Fischer. 1908. S. 17.

Abgesehen von der Bedeutung, die der Kenntnis der normalen Konstitution des Blutserums in physiologischer Richtung zukommt, ist besonders für den Zweck dieser Mitteilung ihr Verhältnis zu jenen Stoffen, die bei der Immunisierung im Serum nachweisbar werden, von Belang. Um den Vergleich bezüglich der Spezifität der Agglutinine durchzuführen, haben wir die Sera einer Anzahl von Tieren vor und nach immunisierenden Eingriffen untersucht und zwar mit Hilfe der Absorptions- und der Spaltungsmethode. Zur Immunisierung nahmen wir Kaninchen und injizierten diesen Tieren Gans- bzw. Ziegen- und Meerschweinchenblut in Intervallen von Wochen intraperitoneal. Die folgenden Tabellen geben die Agglutininwerte der Sera für verschiedene Blutarten vor, während und nach den Injektionen wieder und ebenso die Agglutininwerte von gereinigten Agglutininlösungen, die mit Hilfe der zur Immunisierung verwendeten Blutart in der bekannten Weise (mit ziemlich konzentriertem Serum) bereitet waren. Zur Titration wurde, um möglichst vergleichbare Werte zu haben, wo es anging (nämlich bei Gans, Schaf, Ziege), das Blut eines Tierindividuums für die aufeinanderfolgenden Untersuchungen desselben Serums verwendet. (Vgl. Tabellen S. 227 u. 228).

Betrachtet man zunächst die Ergebnisse der Serumauswertungen, so zeigt es sich, daß in der Mehrzahl der Fälle der Titer nicht nur für die immunisierende Blutart, sondern in geringerem Grade auch für andere Arten zunimmt. Es entspricht das den Resultaten von Posselt und Sagasser.¹ Auch Hetsch und Lentz hatten bei der Immunisierung mit Choleravibrionen mehrmals ähnliche Befunde. In selteneren Fällen war in unseren Versuchen ein Gleichbleiben oder selbst ein Absinken des Titres für heterologe Blutarten während der Immunisierung zu beobachten. Ein starkes Absinken des Wertes fand in zwei Fällen statt, wo der Titre des normalen Serums ein auffallend hoher war (Kan. IV, V Gansblut).

Sehr gleichmäßig waren die Ergebnisse bei der Auswertung der gereinigten Agglutininlösungen. Bei diesen Bestimmungen ist der absolute Wert, der von der Quantität und Stärke des verwendeten Serums, der Menge des Blutes und der Kochsalzlösung abhängt, ohne Wichtigkeit. Von Bedeutung ist vielmehr das Verhältnis zwischen den Werten der Lösungen für die homologen und für die anderen Blutarten.

Dieses Verhältnis nahm nun mit Ausnahme zweier Beobachtungen immer, und zwar meist sehr beträchtlich zu. Die Ausnahme betrifft zwei Fälle (Kan. I, IV, Schafblut), in denen während der Immunisierung auch der betreffende heterologe Agglutininwert im Serum ausnahmsweise hoch gestiegen war, merkwürdigerweise relativ stärker als der homologe Wert.

¹ *Wiener klin. Wochenschrift.* 1903. Nr. 24.

	Blut				
	Gans	Meerschweinchen	Schaf	Taube	Ziege
Kaninchen I.					
Mit Gansblut behandelt.					
Serum vor der Injektion 8. XI.	1024	96	4	256	48
„ nach 3 Injektionen 22. XII.	16384	64	96	1536	192
„ „ 5 „ 16. II.	32768	128	384	2048	256
Kaninchen II.					
Mit Gansblut behandelt.					
Serum vor der Injektion 24. VI.	128	96	32	192	
„ nach 3 Injektionen 25. VII.	4096	64	96	768	
Kaninchen III.					
Mit Gansblut behandelt.					
Serum vor der Injektion 27. VI.	48	32	64	64	
„ nach 3 Injektionen 25. VII.	3072	24	32	256	
Kaninchen IV.					
Mit Ziegenblut behandelt.					
Serum vor der Injektion 11. XI.	1024	64	8	64	48
„ nach 4 Injektionen 29. XII.	64	24	768	192	1024
„ „ 5 „ 22. II.	48	64	512	128	1536
Kaninchen V.					
Mit Meerschweinchenblut behandelt.					
Serum vor der Injektion 15. XI.	1024	32	24	96	16
„ nach 4 Injektionen 5. I.	32	512	128	192	128
„ „ 6 „ 16. III.	48	4096	64	96	48
Kaninchen VI.					
Mit Meerschweinchenblut behandelt.					
Serum vor der Injektion 12. IV.	32	48	24	32	
„ nach 5 Injektionen 18. V.	256	4096	192	256	
Kaninchen VII.					
Mit Meerschweinchenblut behandelt.					
Serum vor der Injektion 14. IV.	48	48	64	128	
„ nach 5 Injektionen 16. V.	128	4096	384	384	

Die gereinigten Agglutininlösungen ergaben folgende Werte:

	B l u t				
	Gans	Meerschweinchen	Schaf	Taube	Ziege
Kaninchen I.					
Mit Gansblut behandelt.					
Vor der Injektion	48	4	0	16	1
Nach 3 Injektionen	192	8	0	16	0
„ 5 „	256	0	32	8	0
Kaninchen II.					
Mit Gansblut behandelt.					
Vor der Injektion	24	8	2	16	
Nach 3 Injektionen	48	4	0	8	
Kaninchen III.					
Mit Gansblut behandelt.					
Vor der Injektion	12	4	8	8	
Nach 3 Injektionen	32	1	2	4	
Kaninchen IV.					
Mit Ziegenblut behandelt.					
Vor der Injektion	16	8	1	1	24
Nach 4 Injektionen	1	1	32	0	32
„ 5 „	0	1	16	0	64
Kaninchen V.					
Mit Meerschweinchenblut behandelt.					
Vor der Injektion	8	6	4	2	4
Nach 4 Injektionen	4	32	8	2	8
„ 6 „	1	32	8	2	8
Kaninchen VI.					
Mit Meerschweinchenblut behandelt.					
Vor der Injektion	1	12	2	2	
Nach 5 Injektionen	0	192	4	1	
Kaninchen VII.					
Mit Meerschweinchenblut behandelt.					
Vor der Injektion	8	24	8	48	
Nach 5 Injektionen	2	192	4	8	

Da die Untersuchung der gereinigten Agglutininlösungen ein Bild der Spezifität der von den Blutkörperchen aufgenommenen Stoffe gibt, so folgt aus unserem Befund, daß durch die Immunisierung die Spezifität der Agglutinine stark zunimmt, im Gegensatz zu der üblichen Meinung, derzufolge die normalen Antistoffe ebenso spezifisch sind als die durch Immunisierung entstandenen.

Durch die Behandlung der aus Immunseren hergestellten Reinagglutinine mit verschiedenen Blutarten läßt sich wieder zeigen, daß, wie es vielfach angenommen wird, auch die Immunagglutinine Gemische einer Anzahl Substanzen sind.¹ Jedes einzelne der Agglutinine wirkt auf die homologe Blutart und daneben noch auf eine Anzahl anderer Arten. Da auch beim Immunserum ein Partialagglutinin mit zahlreichen Blutarten reagiert, wenngleich die Spezifität in diesem Falle eine viel hochgradigere ist als beim Normalserum, so geht es offenbar auch hier nicht an, jedem Agglutinin Angriffspunkte (Rezeptoren) von ganz besonderer Beschaffenheit zuzuordnen, sondern man hat wieder mit Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß die Affinitäten der I.-Agglutinine je nach der Beschaffenheit der mit ihnen reagierenden Stoffe quantitativ abgestuft sind. Die Verwandtschaften sehr geringen Grades werden der Beobachtung natürlich in der Regel entgehen. (Man könnte die Spezifität durch eine Kurve veranschaulichen, die bei den I.-Agglutininen ein sehr ausgesprochenes Maximum hat.)

Versuchsbeispiele:

	Blut:				
	Gans	Meerschw.	Schaf	Taube	
I.					
Gereinigte Lös. ² aus Meerschw.-Immunser.	6	384	12	12	
Abguß nach Absorption ³ mit	Gansblut	0	128	4	0
	Meerschweinchenblut	1	0	0	0
	Taubenblut	1	192	1	0
II.					
Gereinigte Lös. ² aus Gansimmunserum .	192	64	12	24	
Abguß nach Absorption ³ mit	Gansblut	0	48	0	0
	Taubenblut	192	64	0	0

IV.

Wie zu Anfang erwähnt wurde, sind schon mehrfache Beobachtungen über Unterschiede zwischen normalen und Immunantikörpern gelegentlich gemacht worden, ohne aber den Gegenstand einer prinzipiellen Untersuchung oder Beurteilung zu bilden.

¹ Ehrlich u. Morgenroth, *Berliner klin. Wochenschrift*. 1901. — Wassermann, *Diese Zeitschrift*. 1908. Bd. XLII. S. 286.

² Lösungen mit homologem Blut hergestellt, bei II. durch Behandeln der agglutinierten Blutzellen mit verdünnter HCl.

³ Ein Volumen Lösung wurde mit einem halben Volumen scharf abzentrifugierten Blutbreies versetzt.

Die nun von uns in mehreren Versuchsreihen an einer bestimmten, dem Studium leicht zugänglichen Art von Antikörpern aufgefundenen Differenzen genügen, um zu dem sicheren Schlusse zu führen, daß die Immuntantikörper beim Immunisierungsprozeß neu entstehen und als solche im normalen Organismus nicht vorgebildet sind, wenn sie auch mit den normalen Stoffen nach Beschaffenheit und Entstehung sehr wahrscheinlich Verwandtschaft haben. Hervorzuheben ist, daß der Beweis für die Verschiedenheit gerade an solchen Stoffen geführt wurde, deren Existenz bisher der entgegengesetzten Ansicht als Stütze diente.

Am meisten fallen für eine grundsätzliche Betrachtung die Differenzen der Affinität zu den Antigenen, zu Eiweißkörpern im allgemeinen, ferner die Unterschiede der Spezifität ins Gewicht, da sie offenbar für die Funktion der Immunkörper bedeutungsvoll sind.

Es ist klar, daß eine höhere Affinität der Antikörper zu den Antigenen, wie sie in der schwereren Zerlegbarkeit ihrer Verbindungen¹ und in höherer Reaktionsgeschwindigkeit² zum Ausdruck kommt, den Schutzeffekt der Immunkörper steigert. Nicht minder wichtig ist wohl die hochgradige Spezifität der Immunstoffe, die möglicherweise eine Bedingung für die hohen Wirkungswerte dieser Körper ist. Wir halten es auch für wahrscheinlich, daß für den Fall der Agglutinine die Ausbildung der spezifischen Affinität und die Abnahme der Verbindungsfähigkeit mit Eiweißkörpern im allgemeinen kausal verknüpfte Erscheinungen sind^{3,4}.

Da nach unseren Darlegungen das Auftreten spezifischer Substanzen bei der Immunisierung nicht mehr auf das Vorhandensein merklicher Mengen solcher Stoffe im normalen Organismus zurückgeführt werden kann, so muß die Erklärung der so merkwürdigen Bildung spezifischer Antikörper auf andere Weise versucht werden. Es erscheint nun möglich, die Ehrlichsche Ansicht zum Teil beizubehalten und anzunehmen, daß die Immunsustanzen unter dem Einflusse der Bindung der Antigene entstehen, wenn man weiterhin nicht denkt, daß die Immunstoffe gewissermaßen als

¹ *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXIX. S. 712 a. a. O.

² Kraus, Landsteiner und Heyrovsky a. a. O.

³ Vgl. Landsteiner und Stankovic, a. a. O. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. LXL.

⁴ Anmerkung. Die Anhäufung von Substanzen mit wenig spezifischen Affinitäten dürfte wohl leicht zu autotoxischen Effekten führen können. Es leuchtet das um so mehr ein, wenn bedacht wird, daß es sich in diesem Falle um eine übermäßige Anhäufung physiologisch vorkommender, also bestimmte Funktionen erfüllender Substanzen handeln würde. (Vgl. Landsteiner, *Münch. med. Wochenschr.* 1903. Nr. 42.)

solche zur Abstoßung bereit liegen, sondern daß durch die Bindung der Antigene an gewissen Stellen des Organismus die Produktion der genau adaptierten Substanzen erst angeregt wird. Der Prozeß muß wohl als eine Summe von Reaktionen aufgefaßt werden, deren Endeffekt die Bildung der spezifisch adäquaten Stoffe ist.¹

Wenn nun die Möglichkeit, daß in dieser Weise spezifische Substanzen entstehen, nicht bezweifelt werden kann, diese Fassung vielmehr der einfache Ausdruck der beobachteten Tatsachen ist, so gewährt die Vorstellung insofern keine Befriedigung, als zunächst nicht einzusehen ist, warum die durch die Bindung der immunisierenden Substanzen (Antigene) eingeleiteten Prozesse immer zu einem bestimmten Ziel, nämlich der exakten Neutralisierung der Antigene durch Antikörper konvergieren.

Wir haben, um die Existenz eines solchen scheinbar zweckmäßig arbeitenden Apparates verständlich zu machen, schon früher in hypothetischer Weise darauf hingewiesen², daß vergleichbare Vorgänge in (z. B. chemischen) Systemen stattfinden, die sich im Gleichgewicht befinden, dann, wenn das Gleichgewicht durch äußere Einflüsse verändert wird.³ Insofern nun die Prozesse, die durch die Immunisierung angeregt werden und zur Entstehung der Antikörper führen, umkehrbar sind — für eine solche Annahme spricht die Nachbildung der Antikörper, wenn sie aus dem Serum durch Aderlässe entfernt werden — erscheint es nicht unbegreiflich, daß von jenen Stoffen, die überhaupt entstehen können, unter dem das Gleichgewicht störenden Einfluß der Antigene gerade die sich bilden, die die Antigene maximal neutralisieren.⁴ Die Neutralisierung

¹ Es ist uns schwer verständlich, wenn Sachs (*Ergebnisse der allgemeinen Pathologie*, Lubarsch-Ostertag, Bd. XI. 1907. S. 568) diese von uns schon geäußerte Ansicht als eine komplizierende bezeichnet. Die entgegengesetzte Hypothese, daß alle möglichen spezifischen Stoffe in merklichen Mengen im normalen Organismus schon vorgebildet seien, erscheint uns, abgesehen von der fehlenden experimentellen Begründung, vielmehr ungleich komplizierter und etwa einer Theorie des Farbensinnes vergleichbar, die für jede mögliche Nuance ein besonderes empfindendes Element im Sinnesorgan verlangen würde. Man kann sich hingegen unschwer vorstellen, daß aus einer nicht großen Zahl von Elementen, die im Körper vorhanden sind, durch synthetische Prozesse sehr zahlreiche Substanzen entstehen.

² A. a. O. *Münchener med. Wochenschrift*. 1903. Nr. 18.

³ Es reagieren dann diese Systeme so, daß sie dem die Verschiebung bewirkenden Einfluß entgegenwirken. Vgl. van't Hoff, *Vorlesungen*. 1901. 2. Aufl. I. S. 155. — Über eine nähere Bestimmung der Bedingungen dieses Gesetzes vgl. van't Hoff, *Festschrift für Boltzmann*. Leipzig. Barth. 1904. S. 233.

⁴ Es ist möglicherweise eine ähnliche Betrachtung nicht nur für den hier besprochenen Fall von Anpassung — den Immunisierungsprozeß — sondern auch für andere Anpassungen am Platze, die z. B. bei Änderung der Temperatur, des Druckes erfolgen, ferner für einige eigentümliche Adaptationsprozesse des Organismus, die

durch die gebildeten Stoffe würde eine um so genauere sein können, je größer die Mannigfaltigkeit der Substanzen ist, die gebildet werden können.

zum Teil ebenfalls einen auffallend spezifischen Charakter haben. Als solche wären die Immunisierungen von Trypanosomen gegen Farbstoffe (Ehrlich) anzuführen, ferner die Pigmentbildungen unter Lichtwirkung z. B. der Oscillarineen zu erwähnen, bei denen Engelmann und Gaidukow fanden, daß sie die Komplementfarbe jener Strahlen annehmen, mit denen sie belichtet wurden. Ähnliche Vorgänge wären wohl auch in reversibeln Systemen zu erwarten, wenn die Entstehung der Pigmente überhaupt möglich, und ihre Bildung mit Absorption der komplementären Strahlenart verbunden ist. Beispiele, die für die Anwendbarkeit des herangezogenen Prinzipes von van't Hoff für physiologische Prozesse sprechen, zitiert Hoerber. (*Physikal. Chemie der Zelle und der Gewebe*. Leipzig 1906. 2. Aufl. S. 444.

[Aus dem hygienischen Institut der königl. Universität Sassari.]

Über die Immunisierung gegen Wutkrankheit.¹

Von

Prof. Claudio Fermi.

I. Teil. Kritik.

Die Frage über die Immunisierung der gewöhnlichen Versuchstiere (Hunde, Kaninchen usw.) gegen subdurale, intraokulare, intratracheale und subkutane Infektion mit fixem oder mit Straßenvirus kann, angesichts der geringen Anzahl von Tieren, an welchen der Versuch vorgenommen worden ist, und der Ungewißheit der erhaltenen Resultate, noch nicht als endgültig gelöst betrachtet werden.

Es genügt, einen Blick auf die Resultate der bedeutendsten in dieser Hinsicht angestellten Versuche zu werfen, um sich hiervon vollständig zu überzeugen.

I. Pasteursche Schutzimpfung und nachfolgende subdurale Infektion durch Straßenvirus.

a) Versuch Pasteurs.²

Von den fünf Hunden, die vorher von Pasteur immunisiert und dann sub dura mit Straßenvirus geimpft worden waren, ging kein einziger zugrunde, während die fünf Kontrollhunde sämtlich zugrunde gingen.

¹ Eine sehr kurze vorläufige Mitteilung wurde im Jahre 1905 in der *Riforma medica*, Jahrg. XXI, Nr. 36, veröffentlicht.

² Pasteur, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1887/88.

b) Versuche von Frisch¹:

Versuch 1 (Seite 71). 16 Kaninchen wurden sub dura mit Straßenvirus der dritten Passage (Inkubation von 16 Tagen) geimpft.

15 derselben wurden mittels Einspritzungen von M. 15 bis M. 1 immunisiert, indem man bei einem Kaninchen nach 24 Stunden, bei den anderen nach 2 Tagen begann. Eins der Tiere blieb zur Kontrolle.

Resultat. Das Kontrolltier erkrankte nach 18 Tagen und verendete 21 Tage nach der Einimpfung. Die Immunisierten gingen alle, ohne irgendwelche Verspätung, an der Tollwut zugrunde.

Versuch 2. 14 Kaninchen werden sub dura mit Straßenvirus geimpft. Zwei derselben bleiben zur Kontrolle, die anderen zwölf werden nach 24 Stunden mit M. 12 bis M. 1 geimpft.

Resultat. Die beiden Kontrolltiere verenden nach 19 bis 21 Tagen. Sämtliche immunisierten Tiere, mit Ausnahme eines einzigen, verenden innerhalb 9 bis 19 Tagen. Das überlebende ging später, infolge einer zweiten Injektion, zugrunde.

Versuch 9 (Seite 87). Fünf Kaninchen werden mit M. 15 bis M. 1 geimpft. Hierauf werden sie mit frischem Straßenvirus sub dura inokuliert.

Resultat. Sämtliche Tiere gehen zugrunde. Eins jedoch nicht an der Tollwut. Die vier übrigen verendeten an Tollwut, und zwar zwei in 16 Tagen, eines in 11 und ein anderes in 17 Tagen.

II. Subdurale Infektion durch Straßenvirus und nachfolgende Immunisierung.

a) Versuche von Frisch:

1. Kaninchen und Hunde werden sub dura mit Straßenvirus geimpft. Hierauf werden sie 10 Tage hindurch mit Emulsion M. 15 bis M. 1 geimpft. Alle gingen zugrunde.

2. Der Versuch wurde wiederholt, so jedoch, daß die Impfungen in kürzerer Zeit (nur etwas Mark) vollzogen wurden. Sämtliche Tiere gingen an der Tollwut zugrunde.

3. Sowohl beim Impfen der Tiere, sub dura, mit Straßenvirus und nachfolgender Impfung nach der Pasteurschen Methode, als auch beim Inokulieren auf subduralem Wege, und durch je zweistündiges Impfen, um die Einspritzungen in 24 Stunden zu vollenden, so daß zwei bis drei-

¹ Frisch, *Die Behandlung der Wutkrankheit*. Wien 1887.

mal die Serie wiederholt wurde, gingen die Tiere nicht nur sämtlich zugrunde, sondern die Virulenz des Markes nahm noch zu.

b) Versuche von Celli und Luigi De Blasi¹:

Die Kaninchen wurden mittels Trepanation mit Straßenvirus geimpft; trotz der Schutzimpfung wurden sie mit den nicht behandelten gleichzeitig oder mit einer Verzögerung von 1 bis 2 Tagen von der Wut befallen.

c) Versuche von Högyes²:

Versuch 1 (Seite 41). Subdurale Infektion mit Straßen- und schwachem Passagevirus; methodische Immunisierung durch trocknes Mark in 10 Tagen von M. 10 bis M. 1; 1^{cem} Emulsion subkutan. Von 16 Kaninchen und acht Hunden blieb nur ein einziges Kaninchen am Leben.

Versuch 2 (Seite 48). Subdurale Infektion mit Straßenvirus und 6tägige Impfung mit verdünntem fixen Virus. Sechs Hunde wurden immunisiert, zwei Hunde und ein Kaninchen blieben zur Kontrolle. Sämtliche Tiere verendeten in 14 Tagen.

Versuch 3 (Seite 49). Subdurale Infektion mit Straßenvirus, intratracheale Impfung mit fixem Virus, 6 Tage hindurch. Das Kontrolltier ging zugrunde und von den drei Behandelten verendeten zwei an der Tollwut, das dritte ohne dieselbe.

Versuch 4 (Seite 50). Subdurale Infektion von Straßenvirus und einmalige Impfung subkutan, mit großer Menge fixem Virus (0.5^{gramm}). Sowohl die acht geimpften Tiere wie die beiden Kontrolltiere gingen an der Tollwut zugrunde (siehe Versuch 13, wo er die Immunisierung von 5:7 erlangt haben will [Seite 28]).

Versuch 5 (Seite 31). Schutzimpfung innerhalb 3 Tagen bewirkte die Immunisierung zweier sub dura mit Straßenvirus geimpfter Hunde. Ein mit verdünntem fixen Virus in die Trachea geimpfter Hund (im ganzen 0.351^{gramm}) geht infolge der subduralen Einspritzung von Straßenvirus zugrunde.

Versuch 6 (Seite 32). Sechstägige Impfung mit verdünntem fixen Virus immunisierte acht Hunde auf 12 gegen eine subdurale und intrakuläre Infektion durch Straßenvirus. Drei Hunde gingen mit Verspätung an rasender und einer zur rechten Zeit an stiller Wut zugrunde.

¹ Celli e Luigi De Blasi, *Stazione di vaccin. antirabiche*. Palermo 1887/88.

² Högyes, *Die experimentelle Basis der antirabischen Schutzimpfungen Pasteurs*. 1889.

III. Subdurale Infektion mit Passagevirus und nachfolgende Impfung.

a) Versuch von Frisch (Seite 75):

Fünf Hunde werden mit Passagevirus von der vierten Generation sub dura geimpft (14 Tage Inkubation). Drei derselben beginnt man nach 24 Stunden zu impfen.

Resultat. Die immunisierten Tiere gingen nach 12 bis 13 Tagen zugrunde. Auch die Kontrolltiere verendeten an Rabies furiosa nach 12 bis 13 Tagen.

b) Versuche von Högyes:

Versuch 1 (Seite 30). Subkutane an 3 Tagen wiederholte Impfungen mit verdünntem fixen Virus immunisierten zweimal auf sechsmal gegen subdurale Infektion mit schwachem und starkem Passagevirus.

Versuch 2 (Seite 33). An sieben Tagen wiederholte Impfung mit verdünntem fixen Virus immunisierte in drei Fällen gegen eine subdurale Infektion mit starkem Passagevirus. Die Tiere widerstanden auch der Infektion durch Biß (Straßenvirus).

IV. Immunisierung durch geschwächtes fixes Virus und nachfolgende Impfung sub dura mit fixem Virus.

a) Versuche von Frisch.

Versuch VII (Seite 85). Drei Kaninchen werden zunächst mit M. 15 bis M. 1 immunisiert; sodann wird eines sub dura mit fixem Virus, die anderen mit Straßenvirus geimpft.

Resultat: Alle gehen an Tollwut zugrunde, eines jedoch erst nach 110 Tagen.

Versuch X (Seite 88). Drei Hunde werden intensiv, nach der Pasteurschen Methode, immunisiert, indem ihnen alle zwei Stunden Einspritzungen von M. 15 bis M. 1 verabreicht werden, so daß die Serie in zwei Tagen beendet ist. Hierauf wird einer sub dura, und zwei sub cute inokuliert.

Resultat: Das sub dura geimpfte Tier geht an der Rabies furiosa zugrunde. Von den beiden sub cute inokulierten wird eins gerettet, das andere verendet an paralytischer Wut.

Versuch VIII (Seite 86). Man beginnt drei Hunde mit den M. 15 bis M. 1 zu immunisieren; darauf werden sie, sub dura, mit fixem Virus geimpft.

Resultat: Sämtliche Tiere gehen zugrunde. Bei einem jedoch ist es unbestimmt, ob an Tollwut oder nicht.

b) Versuch von Högyes (Seite 30).

Schutzimpfung mit verdünntem fixem Virus (1:1000, 1:500, 1:250, 1:100, 1:10) brachte bei sechs Hunden keine Immunisierung gegen subdurale Injektionen von fixem Virus zustande.

Seite 35: Schutzimpfungen während neun Tagen mit verdünntem fixem Virus (im ganzen 1·053^{em}) erzielten die Immunisierung bei sieben von acht Hunden gegen subdurale Injektion mit fixem Virus.

c) Versuche von Kraus, Keller und Clairmont.¹

Schutzimpfung nach der Pasteurschen Methode oder nach Högyes brachte selbst nach 20 Tagen den sub dura mit fixem Virus geimpften Kaninchen keine Immunität bei.

V. Subdurale, intraokulare und endovenöse Infektion mit fixem Virus und nachfolgende Immunisierung mit frischem fixen (verdünnten) Virus.

a) Versuch von Pasteur.

Von acht vorher immunisierten und dann in die Venen inokulierten Hunden verendete kein einziger, von den anderen acht Kontrollhunden jedoch bleiben drei, d. h. 38 Proz. am Leben.

b) Versuche von Högyes (Seite 49).

Versuch 1. Subdurale Infektion mit fixem Virus, dreitägige Schutzimpfung in die Trachea mit verdünntem fixem Virus. Die zwei behandelten Hunde gehen innerhalb 6 bis 8 Tagen, die beiden Kontrollhunde in 10 Tagen zugrunde.

Versuch 2. Acht Hunde erhalten $\frac{1}{2}$ ^{em} Emulsion unter die beiden Ohren. Vier erhielten 0·552^{em} sub cute. Nach $4\frac{1}{2}$ Monat wurden die Hunde im Auge geimpft. Von den vier immunisierten überlebten zwei; die vier Kontrolltiere gingen sämtlich zugrunde.

Versuch 3 (Seite 51). Intraokulare Infektion mit Straßenvirus und intravenöse Immunisierung mit fixem Virus. 1^{em} Emulsion von fixem Virus in die Vena cruralis, zweimal in 24 Stunden. Sieben auf diese Weise behandelte Schafe gehen mit anderen sieben Kontrolltieren an Tollwut zugrunde.

¹ R. Kraus, Keller und P. Clairmont, *Diese Zeitschrift*. 1902. Bd. XLI.

VI. Infektion mit Straßenvirus, sub cute, und nachfolgende Immunisierung mit fixem Virus.

a) Versuche von Frisch:

Versuch 1. Hunde und Kaninchen werden sub cute mit Straßenvirus ($1/2$ bis $1/20$ ^{oem}) geimpft. Hierauf werden sie mit den gewöhnlichen Marksorten geimpft. Wurde die Schutzimpfung nach 24 Stunden vorgenommen, so wurden sie teilweise gerettet; wurde dieselbe aber nach fünf Tagen vorgenommen, so gingen die Tiere zugrunde.

Versuch 2 (Seite 79). Sechs Kaninchen werden sub cute mit $2/10$ bis $1/2$ ^{oem} Straßenvirus, der dritten Passage, geimpft (24 Tage Inkubation). Drei derselben werden nach 24 Stunden immunisiert; drei bleiben zur Kontrolle.

Resultat: Sämtliche immunisierten Tiere bleiben gesund. Von den Kontrolltieren verendet nur eins an Tollwut.

Versuch 3 (Seite 89). Zwanzig Kaninchen werden mit $1/10$ ^{oem} Straßenvirus, von der zehnten Passage, sub cute geimpft (8 bis 9 Tage Inkubation). Zehn dieser Tiere bleiben zur Kontrolle, zehn werden immunisiert.

Resultat: Neun geimpfte und sieben Kontrolltiere verenden, nachweisbar an Tollwut, die anderen vier, d. h. drei Kontrolltiere und ein geimpftes, gehen ebenfalls zugrunde; es bleibt aber zweifelhaft ob an Tollwut oder nicht.

Versuch 4 (Seite 83). Zwölf Kaninchen werden sub cute mit Straßenvirus von der 11. Passage geimpft. (Inkubation 9 Tage.) Nach 24 Stunden beginnt man sechs derselben zu impfen; die anderen bleiben zur Kontrolle.

Resultat: Die Kontrolltiere verendeten, eins in 13 Tagen, eins in 15, eins in 16, eins in 17, eins in 43, und eins in 95 Tagen an Tollwut. Von den geimpften verendete eins, aber nicht an Tollwut; eins nach 9 Tagen an Tollwut, zwei nach 15 bis 16 Tagen ebenfalls an Tollwut, und zwei blieben gesund.

b) Versuche von Högyes.

Versuch 1 (Seite 42). Subkutane Infektion mit Straßenvirus; methodische Immunisierung mittels trockenem, fixem Virus. Sowohl zwei immunisierte, wie zwei Kontrollhunde wurden gerettet und gingen nur infolge subduraler Injektion von Straßenvirus zugrunde.

Versuch 2 (Seite 45). Skarifikation mit fixem Virus auf die Stirnhaut, sowie endermische Einspritzung einiger Tropfen. Von acht Hunden wurden vier mit verdünntem fixem Virus immunisiert; vier blieben zur Kontrolle.

Alle, selbst die vier Kontrollhunde blieben am Leben. Nach 50 Tagen wurden alle acht wieder eingespritzt, sub dura, mit fixem Virus. Ein Kontrolltier ging zugrunde, die immunisierten wurden gerettet.

VII. Infektion durch Biß und nachfolgende Immunisierung.

a) Versuche nach Pasteur¹:

Versuch 1. Von vier Hunden, die man von einem, von rasender Wut befallenem Hunde hatte beißen lassen und die dann immunisiert wurden, wurden zwei gerettet, und zwei gingen nach 31 Tagen zugrunde. Von den drei Kontrollhunden verendete der eine nach 70 Tagen wahrscheinlich an Tollwut, die beiden anderen verendeten nach 6 Monaten ohne Wuterscheinungen. Von den geimpften Hunden blieben also nur 50 Prozent am Leben, von den nicht geimpften 33 Prozent.

Versuch 2. Von sechs Hunden, die zwar immunisiert und dann von Hunden, die von rasender Tollwut befallen waren, gebissen wurden, ging kein einziger zugrunde, von den übrigen sechs Kontrollhunden hingegen drei, d. i. 50 Prozent.

b) Versuche von Högyes:

Versuch 1 (Seite 47). Vier gebissene und vier Tage hindurch mit verdünntem, fixen Virus geimpfte Hunde blieben am Leben. Von drei Kontrollhunden ging einer an Wut zugrunde, ein anderer ohne dieselbe und der dritte wurde gelähmt, genas aber wieder.

Die vier Geimpften ertrugen auch später die intraokulare Infektion.

Bei acht Hunden, die von wutkranken Hunden gebissen und dann mit verdünntem, fixen Virus behandelt worden waren, zeigte sich bei keinem eine Spur von Tollwut, während von anderen acht Hunden, die von denselben Tieren gebissen, aber nicht behandelt worden waren, fünf an Tollwut, drei nicht erkrankten.

Versuch 2 (Seite 47). Drei gebissene und dann 9 Tage hindurch mit verdünntem, fixen Virus (1:0.59^{emm}) behandelte Hunde blieben am Leben. Von den drei Kontrolltieren gingen zwei zugrunde, aber nicht an Tollwut.

Versuch 3 (Seite 46). Zwei Hunde, die von anderen wutkranken Hunden auf den geschorenen Kopf gebissen und dann 9 Tage hindurch mit verdünntem Virus (1:0.53^{emm}) geimpft worden waren, wurden gerettet; ebenso wurde aber auch ein Kontrollhund gerettet.

¹ *Annales de l'Institut Pasteur*. 1887/88.

Prozentzahlen der immunisierten und nichtimmunisierten Tiere, welche
virus und Virus für

Subdurale Infektion von					
Straßenvirus	Geimpfte Tiere	Kontroll-Tiere	Passagevirus	Geimpfte Tiere	Kontroll-Tiere
Pasteur 5:5 (100%)	Hunde	0:5 (0%)	Frisch 0:3 (0%)	Hunde	0:2 (0%)
Frisch 0:15 (0%)	Kaninchen	0:1 (0%)	Högyes 2:6 (33%)		
Frisch 1:12 (8%)	Kaninchen	0:2 (0%)			
Frisch 1:10 (10%)	Kaninchen				
Högyes 1:24 (4%)	16 Kaninchen 8 Hunde				
Högyes 0:6 (0%)		0:3 (0%)			
Högyes 1:3 (33%)		0:1 (0%)			
Högyes 0:8 (0%)		0:2 (0%)			
Högyes 2:2 (100%)	Hunde				
Högyes 8:12 (66%)	Hunde				
Mittelzahl der					
Pasteur 5:5 (100%)		0:5 (0%)	Frisch 0:3 (0%)		0:2 (0%)
Frisch 2:37 (5.4%)		0:3 (0%)	Högyes 2:6 (33%)		
Högyes 12:45 (26%)		0:6 (6%)			

Endovenöse Infektion			Infektion durch Biß		
Straßenvirus	Geimpfte Tiere	Kontroll-Tiere	Straßenvirus	Geimpfte Tiere	Kontroll-Tiere
Pasteur 8:8 (100%)	Hunde	3:8 (37%)	Pasteur 2:4 (50%)	Hunde	2:3 (66%)
			Pasteur 6:6 (100%)	Hunde	3:6 (50%)
			Högyes 4:4 (100%)	Hunde	2:3 (66%)
			Högyes 8:8 (100%)	Hunde	3:8 (37%)
			Högyes 3:3 (100%)	Hunde	3:3 (100%)
			Högyes 2:2 (100%)	Hunde	1:2 (50%)
Mittelzahl der					
Pasteur 8:8 (100%)		3:8 (37%)	Pasteur 8:10 (80%)		5:9 (55%)
			Högyes 17:17 (100%)		9:16 (56%)

subduralen, intraokularen, subkutanen Infektion von Straßen- oder Passage- nicht erlagen.

			Intraokuläre Infektion		
Virus fixe	Geimpfte Tiere	Kontroll-Tiere	Straßenvirus	Geimpfte Tiere	Kontroll-Tiere
Frisch 0:3 (0%)	Kaninchen		Högyes 2:4 (50%)	Hunde	0:4 (0%)
Frisch 0:3 (0%)	Hunde		Högyes 0:7 (0%)	Schafe	0:7 (0%)
Högyes 0:6 (0%)	Hunde				
Högyes 0:2 (0%)	Hunde	0:2 (0%)			

chiedenen Prozentzahlen

Frisch 0:6 (0%)		Högyes 2:11 (17%)	0:11 (0%)
Högyes 0:8 (0%)	0:2 (0%)		

Subkutane Infektion von

Straßenvirus	Geimpfte Tiere	Kontroll-Tiere	Virus fixe	Geimpfte Tiere	Kontroll-Tiere
Frisch 3:3 (100%)	Hunde	2:3 (66%)	Högyes 4:4 (100%)	Hunde	4:4 (100%)
Frisch 3:3 (100%)	Kaninchen	2:3 (66%)			
Frisch 1:10 (10%)	Kaninchen	3:10 (30%)			
Frisch 1:2 (50%)	Hunde				
Högyes 2:2 (100%)	Hunde	2:2 (100%)			

chiedenen Prozentzahlen.

Frisch 8:18 (44%)	7:16 (44%)	Högyes 4:4 (100%)	4:4 (100%)
Högyes 2:2 (100%)	2:2 (100%)		

Um die Resultate der von obengenannten Autoren angestellten Versuche besser studieren und beurteilen zu können, habe ich es für zweckmäßig gehalten, vorstehende Tabelle zusammenzustellen.

Aus dieser Tabelle entnimmt man folgendes:

1. In bezug auf die Immunisierung gegen die subdurale Infektion mit Straßenvirus:

Pasteur erzielte ausschließlich positive Resultate, indem er die 5 Versuchshunde rettete, während die 5 Kontrollhunde alle starben.

Wie man sieht, würden diese Ergebnisse von äußerst hohem Werte sein, wenn sie von anderen wiederholt, nicht entgegengesetzte Resultate gegeben hätte, und wenn die Zahl der Tiere im Verhältnis zur Wichtigkeit der Frage nicht so gering gewesen wäre.

Frisch konnte nur zwei von 37 infizierten Tieren, d. h. 5.4 Prozent, retten. Sein Ergebnis war also fast vollständig negativ, wenn man bedenkt, daß von 15 Kontrolltieren, die von Högyes infiziert und nicht geimpft worden waren, 6 = 40 Prozent am Leben blieben.

Högyes erzielte ein wenig bessere Resultate, indem er 12 von 45 Versuchstieren, d. h. 26 Prozent, rettete.

Während also Pasteur bei Versuchen mit nur 5 Hunden ein vollständig positives Resultat erzielte, indem er alle rettete, erzielte Högyes bei Versuchen mit einer zehnmal größeren Anzahl von Tieren ein positives Resultat nur bei 26 Prozent, ein negatives in nicht weniger als 70 Prozent der Fälle.

Beachtet man außerdem, daß Högyes den 45 geimpften Tieren nur 6 Kontrolltiere gegenübersetzt, und ferner, daß von den 15, von Högyes infizierten und nicht immunisierten Tieren 6, d. h. 40 Prozent am Leben blieben, so müssen die Zweifel, die über die von Pasteur an seinem 5 Hunden erhaltenen Resultate entstehen könnten, gerechtfertigt erscheinen.

Ich komme daher zu dem Schlusse, daß die Immunisierung gegen die subdurale Infektion mit Straßenvirus mit Sicherheit noch nicht erreicht ist.

2. Immunisierungsversuche gegen subdurale Infektion mit Passagevirus sind sehr spärlich. Immerhin kann man sehen, daß, während Frisch vollständig negative Resultate bei 3 Hunden erhalten haben soll, Högyes 2:6, d. h. 33 Prozent derselben gerettet hat. Da aber, wie schon gesagt wurde, Högyes bei anderen Versuchen 40 Prozent negative Resultate bei Kontrolltieren hatte, und er bei diesen Versuchen vollständig unterließ, Kontrollversuche anzustellen, so kann man sagen.

daß die Möglichkeit, Tiere, die sub dura mit Passagevirus infiziert wurden, zu immunisieren, nicht bewiesen ist.

3. Was die Immunisierung gegen die subdurale Infektion mit fixem Virus betrifft, so kann man, auf Grund der übereinstimmenden Resultate der Versuche von Frisch, dem es nicht gelang, ein einziges der 6 durch fixes Virus infizierten und dann geimpften Tiere zu retten, sowie jener von Högyes, der ebenfalls vollständig negative Resultate bei seinen 8 Tieren erlangte, sowie jener von De Renzi, Celli und Luigi De Blasi schließen, daß es noch nicht gelungen ist, mit Straßenvirus sub dura infizierte Tiere zu retten.

4. Auch in bezug auf die intraokulare Infektion mit Straßenvirus ist der Beweis noch nicht geliefert, daß man die Tiere retten könne. Högyes hat nur 2 von 11 Tieren, d. i. 17 Prozent gerettet.

5. Viel wichtiger für uns, als die Immunisierung gegen die subdurale oder intraokulare oder endovenöse Infektion, die negative oder sehr zweifelhafte Ergebnisse gegeben hat, ist die subkutane Infektion, die durch Bisse von wutkranken Tieren oder direkt durch Einspritzung erzielt wurde.

Was die Immunisierung gegen die subkutane Infektion mit Straßenvirus, die man durch Biß wutkranker Tiere bewirkte, betrifft, so rettete Pasteur von 10 Hunden 8, d. h. 80 Prozent der infizierten Tiere. Es blieben aber auch von den Kontrolltieren 55 Prozent am Leben.

Berücksichtigt man nun die geringe Anzahl von Tieren, die von Pasteur immunisiert wurden¹, sowie den hohen Prozentsatz der Kontrolltiere, die am Leben blieben, so sind die Zweifel, die man über diese Resultate haben kann, gewiß berechtigt.

Auch Högyes gelang es, seine 17 Versuchstiere zu retten, aber auch 50 Prozent der infizierten Kontrolltiere blieben gesund.

Frisch endlich erlangte in seinen Versuchen an Kaninchen und Hunden ein positives Resultat bei 8 Tieren von 18, d. h. bei 44 Prozent. Doch macht die Tatsache, daß 44 Prozent der subkutan infizierten Kontrolltiere nicht krank wurden, dieses Resultat ganz hinfällig.

Gleichzeitig mit meiner ersten, in der *Riforma medica* veröffentlichten Mitteilung erschien eine Arbeit Schnürers², nach welcher der Verfasser 25 subkutane mit seinem Impfstoffe inokulierte Hunde behandelt hatte. Von diesen 25 Hunden wurden 3 intramuskulär infiziert und 2 durch

¹ Im ganzen hat Pasteur nicht mehr als 20 Hunde gerettet, wie er Frisch am 8. Mai 1885 brieflich mitteilte.

² J. Schnürer, Über die Schutzimpfung des Hundes gegen Tollwut. I. Mitteilung. *Diese Zeitschrift*. 1905. Bd. LI.

Bisse von wutkranken Hunden; beide Infektionsmodi sind wenig sicher, besonders da die Kontrolltiere fehlen.

Von 8, sub dura mit fixem Virus infizierten Hunden starben 6 an Tollwut; von 6 anderen, die ebenfalls sub dura, jedoch mit Straßenvirus infiziert wurden, starb 1, 5 blieben am Leben.

Es können sich also günstige Schlußfolgerungen, die man aus dieser Arbeit ziehen möchte, nur auf die sechs, sub dura mit Straßenvirus geimpften Hunde stützen.

Obwohl die Anzahl dieser geretteten Tiere gering ist (5:6) und der Verfasser zur Kontrolle eine andere Art von Tieren, nämlich Kaninchen anstatt Hunde gewählt habe, und auch dies noch nur in geringer Anzahl (jedesmal eins), würden doch die Resultate, falls sie bestätigt würden, von hohem Werte sein.

II. Experimenteller Teil.

Angesichts der geringen Anzahl von Tieren, die von den verschiedenen Autoren verwendet wurden, und des starken Prozentsatzes der infizierten Kontrolltiere, die ohne jede Schutzimpfung von Tollwut verschont blieben, hielt ich es für nicht überflüssig, die Frage nochmals experimentell in Angriff zu nehmen.

Die Untersuchungen wurden mir in besonderer Weise dadurch erleichtert, daß ich in den Muriden Versuchstiere gefunden hatte, die infolge ihrer Empfindlichkeit der subkutanen Wutinfektion gegenüber sich besonders gut für derartige Forschungen eignen.

Die Versuche, die eine mehrjährige Arbeit in Anspruch nahmen, und 352 Tiere (14 Hunde und 338 Ratten) erforderten, sind angestellt nach folgendem

Versuchsplan.

I. Schutzimpfung nach Pasteurscher Methode mit nachfolgender subduraler Infektion mit fixem Virus.

II. Schutzimpfung mittels abgeschwächtem, fixem Virus und nachfolgender Infektion sub cute mit frischem, fixem Virus.

III. Vorhergehende Infektion sub cute, mit fixem Virus und nachfolgende Immunisierung durch subkutane Injektionen von fixer Virusemulsion nach Pasteur.

IV. Infektion mit Straßenvirus sub cute und nachfolgende Immunisierung durch subkutane Injektionen von geschwächtem, fixem Virus, nach Pasteur.

V. Schutzimpfung durch subkutane Einspritzungen von nach Pasteurscher Methode geschwächter Emulsion von fixem Virus und nachfolgende subkutane Infektion durch Straßenvirus.

VI. Pasteurs Impfmethode gegen Tollwut in ihrer Anwendung beim Menschen und ihre Übelstände.

VII. Neue Vaccinationsmethoden.

VIII. Infektion mit Straßenvirus sub cute und nachfolgende Immunisierung durch subkutane Einspritzungen von Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent, mit Zusatz von Sublimat, Hermophenyl, Argentum colloidal, Protargol, Aktol, Methylenblau, Thymol.

IX. Subkutane Infektion mit Straßenvirus mit nachfolgender Immunisierung durch Injektionen von fixem Virus, mit Zusatz von Thymol, einige Zeit nach der Infektion begonnen.

X. Subdurale Infektion mit Straßenvirus und nachfolgende Immunisierung durch Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent, mit Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent.

XI. Vorhergehende Infektion mit Straßenvirus sub cute und nachfolgende Immunisierung mittels Emulsion von frischem fixem Virus, aufbewahrt mit Karbolsäure zu 1 Prozent.

XII. Immunisierung der Muriden durch Genuß von Wutmaterial gegen nachfolgende, subkutane Infektion mit Straßenvirus.

Nach meiner oben angedeuteten Mitteilung ist eine Arbeit über die Immunisierung gegen Lyssa erschienen.¹

Diese Arbeit² behandelt die Zubereitung eines Impfstoffes mittels einer neuen Methode und Immunisierungsversuche mit demselben.

Der Verfasser bereitet seinen Impfstoff durch Zerreibung des mittels flüssiger Luft gefrorenen Wutmaterials, mit dem Macfadyenschen Apparate.

¹ Offenbar ist meine erste Arbeit, die eine große Reihe von Immunisierungsversuchen gegen die Tollwut zusammenfaßte, nicht zur Kenntnis des Verfs. gelangt; denn er erwähnt dieselbe weder in seiner Arbeit noch in der Bibliographie.

² O. Heller, *Die Schutzimpfung gegen Lyssa*. Jena 1906.

Das so bereitete Material ist nicht mehr infektiös.

Der Verfasser inokuliert den Kaninchen sub cute ungefähr 15 bis 18^{ccm} seines Impfstoffes, mittels 6 bis 10 Einspritzungen, sodann infiziert er das Tier sub cute (!) mit Straßenvirus oder mit Passagevirus.

Leider führen die vom Verfasser angestellten Versuche fast zu keinem Schlusse, denn eine Epidemie tötete ihm den größten Teil seiner Versuchstiere (die ganze Immunisierungsarbeit bezieht sich auf acht Kaninehen), ferner wurden die Tiere sub cute infiziert, d. h. auf einem Wege, der in den meisten Fällen nicht zum Tode durch die Tollwut führt.

Der Verfasser impfte zwar auch vier Tiere zur Kontrolle, aber, anstatt sie sub cute zu impfen, wie er es hätte tun sollen, tat er dies auf subduralem Wege.

Betreff der passiven Immunisierung mittels antirabischer Sera ist nicht hier die Stelle zu sprechen.

Bedenkt man nun den hohen Prozentsatz der negativen Resultate, auch bei den Kontrolltieren und im Gegensatz dazu die geringe Anzahl von Tieren (Frisch 44 Prozent, Högyes 40 Prozent, Kraïouchkine 53 Prozent, Remlinger sogar 87 Prozent), an denen die Versuche vorgenommen wurden (Frisch 18), so bleiben die, bei der Impfung gegen die subkutane Infektion durch Straßenvirus erhaltenen positiven Resultate, immer von einem zweifelhaften Werte; und der endgültige Beweis für die Möglichkeit einer Immunisierung gegen die subkutane Infektion mit Straßenvirus bedarf noch weiterer Versuche und Bestätigungen.¹

I. Schutzimpfung nach Pasteurscher Methode und nachfolgender subduraler Infektion von fixem Virus.

Frisch, Högyes und de Renzi zeigten, daß es nicht möglich ist, Hunde, die sub dura mit fixem oder Straßenvirus geimpft waren, dadurch zu retten, daß sie der Pasteurschen Kur unterworfen wurden, und zwar weder bei einfacher noch bei intensiver Behandlung.

¹ Die Autoren, die sich mit der Zubereitung eines Serums gegen die Tollwut beschäftigt haben, sind ziemlich zahlreich (Tizzoni, Centanni, Kraus, Keller und Clairmont, Babes, Marie, Germano, Remlinger). Die hauptsächlichsten Tatsachen, die aus diesen Arbeiten hervorgehen, sind: 1. daß Tiere (Hunde, Kaninchen, Lämmer), die sehr stark immunisiert waren (sogar 30 bis 40 Kaninchengehirne auf ein Lamm), ein Serum geben können, welches fähig ist: a) das Wutvirus in vitro zu zerstören; b) mit einem gleichen Volumen von Virus fixe Emulsion verbunden, gegen die Tollwut zu immunisieren.

Ich habe auch einige Versuche über diesen Gegenstand angestellt, die ich hier erwähnen möchte.

Versuche an Hunden.

Versuch 1. 30. IV. 1902. Man impft einen Hund nach der Pasteurschen Methode, wie es beim Menschen der Brauch ist, und zwar 30 Tage lang und zuletzt wird sub dura fixer Virus inokuliert.

Resultat: 6 Tage nach der subduralen Infektion geht das Tier an Tollwut zugrunde.

Versuch 2. 4. VI. 1902. Man impft einen Hund nach der Methode Pasteur, wie man es beim Menschen tut und zwar 30 Tage hindurch, zuletzt wird sub dura fixes Virus inokuliert.

Resultat: 7 Tage nach der subduralen Infektion geht das Tier an der Tollwut zugrunde.

Versuch 3. 20. VII. 1903. Man impft in derselben Weise, wie dies bei dem Menschen der Fall ist, zwei Hunde, nach der Pasteurschen Methode, und zwar 25 Tage hindurch.

Am 14. VIII. wird fixes Virus sub dura eingeführt.

Resultat: Nach 7 Tagen gehen die Tiere an der Tollwut zugrunde.

Versuch 4. 4. VIII. 1903. Man impft in derselben Weise, wie dies bei dem Menschen der Fall ist, zwei Hunde nach der Pasteurschen Methode und zwar 30 Tage hindurch; dann werden sie subdural mit fixem Virus infiziert.

Resultat: Nach 7 Tagen gehen die Tiere an der Tollwut zugrunde.

Versuch 5. 24. V. 1905. Ein Hund wird derselben Behandlung, wie die Menschen unterworfen. Am 14. Tage zeigt sich Lähmung, die 6 bis 7 Stunden dauert, dann erholt er sich wieder. Nach 3 Tagen wird er mit frischem, fixem Virus geimpft (sub dura).

Resultat: Das Tier verendet nach 8 Tagen an der Tollwut.

Versuch 6. 24. V. 1905. Ein Hund wird derselben Behandlung wie ein Mensch unterworfen und ihm dann sub dura frisches, fixes Virus eingeimpft.

Resultat: Das Tier verendet in 7 Tagen an stiller Tollwut.

Versuch 7. 10. VI. 1905. Zwei Hunde werden 20 Tage lang derselben Behandlung wie die Menschen unterworfen, sodann wird ihnen sub dura fixer Virus eingeimpft.

Resultat: Die Tiere starben an der Tollwut in 7 Tagen.

Versuch 8. 10. VI. 1905. Man behandelt einen Hund wie einen Menschen, impft ihn dann mit frischem fixen Virus.

Resultat: Das Tier stirbt an der Tollwut in 7 Tagen.

Versuch 9. 19. VI. 1905. Man behandelt einen Hund wie einen Menschen, einen Monat lang, impft ihn dann mit frischem fixen Virus.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben. Nach 3 Monaten wird es wieder geimpft und stirbt nach 8 Tagen an der Tollwut.

Versuch 10. 20. VI. 1905. Man inokuliert einem Hunde, sub dura, fixes Virus und beginnt am selben Tage ihn mit vier Einspritzungen täglich zu immunisieren.

Resultat: Das Tier stirbt nach 8 Tagen.

Versuch 11. 21. VI. 1905. Man behandelt einen Hund 7 Tage lang wie einen Menschen, impft ihn dann mit frischem fixen Virus, sub dura, und setzt die Immunisierung weitere 7 Tage fort.

Resultat: Das Tier stirbt nach 7 Tagen.

Versuche an Ratten.

Versuch 12. 14. VI. 1903. Einer weißen Ratte werden 15 Tage hindurch täglich zwei Injektionen Emulsion von M. 12 bis M. 3 von 1^{cem} verabreicht, im ganzen 30^{cem} Impfstoff. Hierauf wird sie sub dura mit fixem Virus okuliert.

Resultat: Das Tier stirbt an der Tollwut innerhalb 7 Tagen.

Versuch 13. 14. VI. 1903. An einer schwarzen Ratte werden 15 Tage hindurch täglich zwei Injektionen von Emulsion M. 16 bis M. 3 von 2^{cem} vorgenommen. Im ganzen wurden ihr 60^{cem} verabreicht, sodann wird sie sub dura mit fixem Virus geimpft.

Resultat: Das Tier geht in 7 Tagen an der Tollwut zugrunde.

Versuch 14. 14. VI. 1903. An zwei weißen Ratten werden 15 Tage hindurch zwei Injektionen je 2^{cem} Emulsion M. von M. 6 bis M. 3 vorgenommen, sodann werden sie sub dura mit fixem Virus geimpft.

Resultat: Die Tiere sterben in 7 Tagen an der Tollwut.

Schlußfolgerung: In Übereinstimmung mit den Versuchen von Frisch, Högyes, de Renzi usw. mit der Pasteurschen Methode ist es mir nicht gelungen, von 20 subdural mit fixem Virus infizierten Tieren ein einziges zu retten, ja nicht einmal die Inkubationsperiode zu verlängern.

II. Immunisierung mittels abgeschwächtem fixen Virus und folgende subkutane Infektion mit frischem fixen Virus.

Pasteur, Högyes und anderen ist es gelungen, mittels der Pasteurschen Behandlung nur solche Hunde zu retten, die auf subkutanem Wege oder durch Biß infiziert wurden.

Da einerseits die experimentelle subkutane Infektion der Tollwut bei den Hunden nicht immer sicher ist und da ich andererseits über Tiere verfügte, die äußerst geeignet sind zu diesen Versuchen, so hielt ich es für nicht unnütz, das Studium dieser Frage wieder aufzunehmen.

Zu diesem Zweck habe ich folgende Versuche angestellt, zu denen 55 Muriden verwendet wurden:

Versuch 1. 31. IV. 1904. An vier weißen Ratten werden zehn Injektionen Mark von Nr. 6 bis Nr. 3 vorgenommen, indem ihnen 10 Tage hindurch, täglich 1^{ccm}, also im ganzen 10^{ccm}, Emulsion eingespritzt werden. Hierauf wurde den Ratten $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion von fixem Virus inokuliert.

Resultat: Die Tiere starben gelähmt am 7. Tage.

Versuch 2. 8. VI. 1903. An einer weißen Ratte werden 20 Injektionen mit Markemulsion von M. 12 bis M. 3 gemacht, indem ihr 10 Tage hindurch täglich 2^{ccm} zugeführt werden. Hierauf wird der Ratte $\frac{1}{2}$ ^{ccm} frisches, fixes Virus zu 1:3, eingimpft.

Resultat: Das Tier stirbt an der Tollwut in 7 Tagen.

Versuch 3. 31. IV. 1904. An zwei weißen Ratten werden 20 Einspritzungen von Mark von Nr. 6 bis Nr. 3 vorgenommen, indem ihnen 10 Tage hindurch täglich 3^{ccm}, im ganzen 30^{ccm}, eingimpft werden. Hierauf wird ihnen $\frac{1}{2}$ ^{ccm} fixer Virus inokuliert.

Resultat: Sie sterben an der Tollwut am 7. Tage.

Versuch 4. 31. IV. 1904. Zwei weiße Ratten bekommen 20 Einspritzungen von Emulsion von Mark, von Nr. 8 bis Nr. 3, nämlich 3^{ccm} täglich und dies 10 Tage hindurch im ganzen 30^{ccm}. Hierauf wird den Ratten $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion 1:3 von frischem fixen Virus inokuliert.

Resultat: Die Tiere starben gelähmt am 7. Tage.

Versuch 5. 15. IV. 1904. An fünf weißen Ratten werden 40 Einspritzungen von M. 12 bis M. 3 vorgenommen, indem ihnen 10 Tage hindurch, täglich 4^{ccm}, im ganzen 40^{ccm}, eingimpft werden. Hierauf wird ihnen $\frac{1}{2}$ ^{ccm} fixes Virus injiziert.

Resultat: Zwei Tiere starben an Wut in 16 Tagen und drei überlebten. Nach 2 Monaten waren sie noch am Leben.

Versuch 6. 29. IV. 1904. An zwei weißen Ratten werden 20 Einspritzungen von M. 12 bis M. 3 vorgenommen, indem ihnen 10 Tage hindurch, 4^{ccm} täglich, im ganzen 40^{ccm}, eingimpft werden. Hierauf wird ihnen $\frac{1}{2}$ ^{ccm} fixes Virus subkutan injiziert.

Resultat: Die Tiere sterben den 10. V., d. h. nach 21 Tagen an Wut mit einer Verspätung von 14 Tagen.

Versuch 7. 1. III. 1904. An drei weißen Ratten werden 30 Einspritzungen von M. 7 bis M. 3 vorgenommen, indem ihnen 15 Tage hindurch, täglich 3^{ccm}, im ganzen 45^{ccm}, eingimpft werden. Hierauf wird ihnen $\frac{1}{2}$ ^{ccm} fixes Virus subkutan injiziert.

Resultat: Die Tiere starben den 3. V., d. h. nach 16 Tagen an Wut.

Versuch 8. 17. IV. 1904. An zwei weißen Ratten werden 30 Einspritzungen von M. 12 bis M. 3, indem ihnen 15 Tage hindurch, 3^{ccm} täglich, im ganzen 45^{ccm}, eingimpft werden. Hierauf wird ihnen $\frac{1}{2}$ ^{ccm} fixe Virusemulsion subkutan injiziert.

Resultat: Die Tiere starben den 3. V., d. h. nach 16 Tagen an Wut, mit ungefähr 8 Tagen Verspätung.

Versuch 9. 31. IV. 1904. An zwei weißen Ratten werden 30 Markeinspritzungen von Nr. 12 bis Nr. 3 vorgenommen, indem man ihnen täglich,

15 Tage lang, 3^{ccm} einimpft, im ganzen 45^{ccm}. Hierauf wird ihnen $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion 1:3 von frischem fixen Virus inokuliert.

Versuch 10. 8. VI. 1903. An einer schwarzen Ratte werden 56 Einspritzungen vorgenommen von M. 12 bis M. 3, indem ihr 28 Tage hindurch 2^{ccm} täglich, im ganzen 48^{ccm}, eingeimpft werden. Hierauf wird ihr $\frac{1}{2}$ ^{ccm} fixe Virusemulsion 1:3 injiziert.

Resultat: Das Tier starb in 7 Tagen an Wut.

Versuch 11. 31. IV. 1904. An vier weißen Ratten werden 56 Markinjektionen von Nr. 12 bis Nr. 3 vorgenommen, indem man ihnen 28 Tage hindurch, täglich 2^{ccm} einimpft, im ganzen 56^{ccm}. Hierauf wird ihnen $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion von fixem Virus 1:3 inokuliert.

Resultat: Die Tiere sterben gelähmt am 7. Tage.

Versuch 12. 31. IV. 1904. An zwei schwarzen Ratten werden 60 Markinjektionen von Nr. 6 bis Nr. 3 gemacht, nämlich 2^{ccm} täglich, 30 Tage hindurch. Hierauf werden sie mit $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion von frischem fixen Virus 1:3 geimpft.

Resultat: Die Tiere sterben gelähmt am 7. Tage.

Versuch 13. 21. IV. 1904. An vier weißen Ratten werden 40 Einspritzungen von M. 12 bis M. 3 vorgenommen, indem ihnen 20 Tage hindurch 3^{ccm} täglich, im ganzen 60^{ccm} Emulsion, eingeimpft werden. Hierauf wird ihnen subkutan $\frac{1}{2}$ ^{ccm} fixe Virusemulsion injiziert.

Resultat: Die Tiere überleben. Sie waren noch am 21. VII am Leben, d. h. nach 3 Monaten.

Versuch 14. 31. IV. 1904. An zwei weißen Ratten werden 64 Markinjektionen an Nr. 6 bis Nr. 3 vorgenommen, indem man ihnen täglich, 32 Tage hindurch, 2^{ccm} injizierte.

Resultat: Die Tiere sterben am 7. Tage.

Versuch 15. 12. XII. 1904. An acht weißen Ratten werden 40 Injektionen vorgenommen mit Mark von Nr. 6 bis Nr. 3, indem man ihnen 20 Tage hindurch, täglich 4^{ccm} Emulsion, injiziert, also im ganzen 80^{ccm}. Hierauf wird ihnen $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion 1:3 von fixem Virus inokuliert.

Resultat: Nur eine Ratte verendet nach einem Monat, aber nicht an der Tollwut, die anderen sieben bleiben am Leben. Nach einem Monat werden die anderen sieben mit fixem Virus geimpft, alle bleiben am Leben. Am 16. III. wurde ihnen Straßenvirus eingeimpft. Zwei sterben an der Tollwut, die anderen fünf bleiben am Leben. Sie bleiben auch am Leben, nachdem sie von neuem sub dura geimpft worden waren.

Versuch 16. 12. XII. 1904. An drei weißen Ratten werden 60 Einspritzungen mit Mark von Nr. 7 bis Nr. 3 vorgenommen, indem ihnen 30 Tage lang, täglich 3^{ccm}, im ganzen 90^{ccm} eingeimpft werden. Hierauf wird ihnen $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion von fixem Virus inokuliert.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben. Nach 2 Monaten lebten die Tiere noch.

Versuch 17. 12. XII. 1904. An vier weißen Ratten werden 60 Einspritzungen von Emulsion von Mark Nr. 12 bis Nr. 3 vorgenommen, indem ihnen 30 Tage lang, täglich 3^{ccm}, im ganzen 90^{ccm}, eingeimpft werden. Hierauf wird ihnen $\frac{1}{2}$ ^{ccm} fixes Virus inokuliert.

Resultat: Keine der Ratten stirbt an der Tollwut. Nach drei Monaten wieder geimpft mit fixem Virus sterben sie gelähmt, am 7. Tage. Die Immunsierung war also vor Verlauf von 3 Monaten verschwunden.

Versuch 18. 4. III. 1904. An vier weißen Ratten werden 48 Markinjektionen von Nr. 12 bis Nr. 3 vorgenommen, indem ihnen 24 Tage hindurch, täglich 4^{ccm}, im ganzen 96^{ccm}, Emulsion eingeimpft werden. Hierauf wird ihnen 1/2^{ccm} fixer Virus inokuliert.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 19. Ratten, ähnlich vorbehandelt wie in Versuch 17, wird 1/2^{ccm} Emulsion von frischem fixen Virus 1:3 inokuliert.

Resultat: Die Tiere sterben gelähmt am 7. Tage.

Schlußfolgerung: Ich schließe hieraus auf die Immunisierung mit geschwächtem fixen Virus gegen eine spätere subkutane Infektion durch fixes Virus und es zeigt sich

1. daß beim Einimpfen von 10 bis 64^{ccm} Impfstoff auf 36 Tiere alle zugrunde gingen,

2. daß beim Impfen von 19 Tieren, mit 80 bis 90^{ccm} Impfstoff, sämtliche Tiere, d. h. 100 Prozent, am Leben blieben. Zum ersten Male wurde so die Immunisierung gegen eine nachfolgende subkutane Infektion mit fixem Virus erreicht.

III. Subkutane Infektion mit fixem Virus und nachfolgende Immunisierung mittels subkutaner Einspritzungen von Emulsion von abgeschwächtem fixen Virus.

Diese Versuche wurden an 25 Muriden dargestellt.

Versuch 1. 4. III. 1904. Zwei weißen Ratten, denen subkutan 1/2^{ccm} Emulsion von frischem fixen Virus 1:3 eingeimpft worden, werden sofort, täglich, 2 Tage hindurch, zwei Einspritzungen einer Markemulsion von Nr. 6 bis Nr. 3, (im ganzen vier Einspritzungen) gemacht, indem ihnen jedesmal 3^{ccm}, im ganzen 12^{ccm} Emulsion injiziert werden.

Resultat: Die Tiere starben gelähmt am 7. Tage.

Versuch 2. 4. III. 1904. Zwei weiße Ratten, denen man subkutan 1/2^{ccm} Emulsion von frischem fixen Virus 1:3 eingeimpft hat, werden sofort 3 Tage hindurch, täglich zwei Injektionen (total sechs) von Markemulsion von Nr. 6 bis Nr. 3 gemacht, nämlich 3^{ccm} jedesmal, im ganzen 18^{ccm}.

Resultat: Die Tiere sterben gelähmt am 7. Tage.

Versuch 3. 4. III. 1904. Zwei weiße Ratten, denen subkutan 1/2^{ccm} Emulsion von frischem fixen Virus 1:3 eingeimpft wurde, werden sofort zwei Einspritzungen täglich, 4 Tage hindurch (acht im ganzen) mit Markemulsion von Nr. 6 bis Nr. 3 gemacht, indem ihnen jedesmal 3^{ccm} Emulsion, im ganzen 24^{ccm}, eingeimpft werden.

Resultat: Die Tiere sterben gelähmt am 7. Tage.

Versuch 4. 26. IV. 1904. Zwei weißen Ratten, denen subkutan $\frac{1}{2}$ ccm Emulsion von fixem Virus 1:3 eingespritzt worden war, werden sofort 10 Tage hindurch mit 1 ccm täglich, einer Emulsion von Nr. 6 bis Nr. 3 injiziert, zusammen bekommen sie also 10 ccm Emulsion.

Resultat: Die Tiere starben in 7 Tagen an Wut.

Versuch 5. 4. III. 1904. An zwei weißen Ratten, denen subkutan $\frac{1}{2}$ ccm Emulsion von frischem fixen Virus 1:3 eingepflegt worden war, werden sofort zwei Markinjektionen von Nr. 6 bis Nr. 3, 5 Tage hindurch (im ganzen 10) vorgenommen, indem man ihnen jedesmal 3 ccm (im ganzen 30 ccm) Emulsion injizierte.

Resultat: Die Tiere sterben gelähmt am 7. Tage.

Versuch 6. 4. III. 1904. An zwei weißen Ratten, denen subkutan $\frac{1}{2}$ ccm Emulsion von frischem fixen Virus 1:3 eingeführt worden war, werden sogleich zwei Injektionen täglich, 6 Tage hindurch (total 12) einer Markemulsion von Nr. 6 bis Nr. 3 vorgenommen, indem man ihnen jedesmal 3 ccm, (total 36 ccm) Emulsion einimpft.

Resultat: Die Tiere sterben gelähmt am 7. Tage.

Versuch 7. 4. IV. 1904. An zwei weißen Ratten, denen subkutan $\frac{1}{2}$ ccm Emulsion von frischem fixen Virus 1:3 injiziert wurde, werden sofort, 14 Tage hindurch, täglich zwei Einspritzungen gemacht, (total 14) mit Markemulsion von Nr. 6 bis Nr. 3, indem jedesmal 3 ccm, im ganzen 42 ccm, eingepflegt werden.

Resultat: Die Tiere sterben gelähmt am 19. Tage. Um mich zu überzeugen, daß sie wirklich an der Tollwut verendet waren, impfte ich mit ihrem Gehirn zwei andere Ratten sub cute, die am 7. Tage gelähmt starben.

Versuch 8. 15. IV. 1904. Sechs weißen Mäusen, denen vorher fixes Virus eingespritzt worden war, werden 13 Einspritzungen von Markemulsionen von Nr. 12 bis Nr. 3 (12—11—10—9—8—7—6—5—5—4—4—3—3) gemacht, indem ihnen $\frac{1}{4}$ ccm Emulsion jedesmal eingepflegt wurde, im ganzen $3\frac{1}{2}$ ccm Emulsion.

Resultat: Alle sechs Mäuse sterben gelähmt nach der 14. Injektion, d. h. nach 7 Tagen.

Versuch 9. 6. II. 1904. Drei mit frischem fixen Virus subkutan geimpften weißen Ratten werden sofort 18 Markeinspritzungen, von Nr. 6 bis Nr. 3 gemacht, indem jedesmal 3 ccm Emulsion, im ganzen 54 ccm injiziert werden.

Resultat: Die Tiere überleben, sie sterben erst 2 Monate später ohne Erscheinungen der Wutkrankheit. Andere mit dem Gehirn derselben geimpfte Ratten bleiben am Leben.

Versuch 10. 22. I. 1904. Zwei mit frischem fixen Virus geimpften weißen Ratten werden sogleich 30 Markeinspritzungen von Nr. 2 bis Nr. 6 gemacht, indem jedesmal 3 ccm Emulsion, zusammen 90 ccm, injiziert werden.

Resultat: Die Tiere leben und sterben dann ohne Wuterscheinungen nach 2 Monaten. Andere Ratten mit dem Gehirn infiziert, bleiben am Leben.

Schlußfolgerung: Bei der Immunisierung mit abgeschwächtem fixen Virus gegen subkutane Infektion mit fixem Virus ergab sich:

1. Von 14 weißen, mit 12 bis 42^{ccm} Impfstoff behandelten Ratten wurden alle krank.

Bei den letzten, mit 42^{ccm}, zeigte sich jedoch eine Verspätung von 16 Tagen.

Auch sechs mit 3 1/2^{ccm} geimpfte Mäuse starben in 7 Tagen an der Wut.

2. Wurden hingegen die Tiere mit 54 bis 90^{ccm} geimpft, so wurden alle, d. h. 100 Prozent, gerettet.

3. In dieser Weise haben wir zum ersten Male die Immunisierung auch gegen die vorhergehende subkutane Infektion von fixem Virus erreicht.

IV. Infektion mit Straßenvirus sub cute und nachfolgende Immunisierung mittels subkutanen Einspritzungen von abgeschwächtem fixen Virus.

Diese Versuche wurden mit 59 Muriden angestellt:

Versuch 1. 25.III. 1905. An zwei mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sogleich 15 Einspritzungen von abgeschwächter fixer Virus-emulsion vorgenommen, indem ihnen 5 Tage hindurch, täglich 4^{ccm}, im ganzen 20^{ccm}, eingeimpft werden.

Resultat: Die Tiere starben in 20 Tagen an der Tollwut.

Versuch 2. 25.III. 1905. An zwei mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sogleich 15 Emulsionsimpfungen von abgeschwächtem fixen Virus vorgenommen, indem man ihnen täglich 3^{ccm} einimpft, im ganzen 30^{ccm}.

Resultat: Die Tiere starben an der Tollwut in 20 Tagen.

Versuch 3. 8.II. 1905. An zwei mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sogleich 30 Emulsionseinspritzungen von Nr. 10 bis Nr. 9 vorgenommen, indem man ihnen 30 Tage hindurch täglich 1^{ccm}, d. h. im ganzen 30^{ccm} einimpft.

Resultat: Die Tiere sterben an der Tollwut in 24 Tagen. Zwei zur Kontrolle mit Straßenvirus geimpfte Ratten sterben gelähmt in 15 Tagen.

Versuch 4. 22.III. 1906. Zwei schwarze, sub cute mit Straßenvirus geimpfte Ratten werden mit folgendem Mark immunisiert. Nr. 12—11—10—9—8—7—6—6—5—5—4—4—6—6—5—5—4—4—3—3—3—3—3—3—6—6—5—5—4—4—3—3—3—3—3—3—3—5—5—4—4—3—3—3—3—3—3—3—6—6—5—5—4—4.

Resultat: Die Tiere lebten noch am 26.IV.

Kontrollversuch. 22.III.1906. Zwei schwarze Ratten werden mit Straßenvirus geimpft.

Resultat: Die Tiere gehen in 22 Tagen an der Tollwut zugrunde.

Versuch 5. 15.III.1906. Zwei schwarze mit Straßenvirus sub cute geimpfte Ratten werden 15 Tage lang mit 2^{ccm} täglich, zusammen mit 30^{ccm} Emulsion von fixem Virus vom 3. Tage immunisiert.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 6. 16.III.1906. Zwei schwarze mit Straßenvirus sub cute geimpfte Ratten werden 15 Tage lang, täglich mit 2^{ccm}, zusammen 30^{ccm} Emulsion von fixen Virus, vom 4. Tage immunisiert.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 7. 29.IV.1904. An vier weißen Ratten, die mit Straßenvirus geimpft worden waren, inokuliert man täglich 10 Tage hindurch 3^{ccm} Mark von Nr. 6 bis Nr. 3.

Resultat: Die Tiere sterben in 19 Tagen.

Versuch 8. 25.VII.1904. An zwei mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sogleich 14 Markeinspritzungen von Nr. 12 bis Nr. 3 vorgenommen, indem man ihnen täglich 3^{ccm} einimpft.

Resultat: Die Tiere sterben an der Tollwut.

Versuch 9. 16.I.1905. An zwei mit Straßenvirus subkutan geimpften weißen Ratten werden sogleich 20 Einspritzungen von Emulsion von M. 8 bis M. 3 vorgenommen, indem ihnen täglich während 20 Tagen 3^{ccm} (im ganzen 60^{ccm}) injiziert werden.

Resultat: Die Tiere überleben. Lebten noch den 14.III., d. h. nach 3 Monaten.

Kontrollversuch. 14.I.1905. Zwei weiße Ratten, infiziert mit demselben Straßenvirus starben den 30.I., d. h. nach 16 Tagen.

Versuch 10. 25.III.1905. An zwei mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sogleich 15 Markemulsionseinspritzungen von Nr. 10 bis Nr. 3 vorgenommen, indem man ihnen täglich 3^{ccm}, im ganzen 45^{ccm} einimpft.

Resultat: Sie sterben an der Tollwut in 24 Tagen.

Versuch 11. 25.III.1905. An zwei mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sogleich 15 Emulsionseinspritzungen vorgenommen, indem man ihnen 15 Tage hindurch, täglich 3^{ccm} (im ganzen 45^{ccm}) einspritzt.

Resultat: Die Tiere sterben an der Tollwut in 20 Tagen.

Versuch 12. 25.III.1905. An zwei weißen Ratten, die mit Straßenvirus geimpft worden waren, werden sofort 20 Emulsionseinspritzungen vorgenommen, indem man ihnen 20 Tage hindurch, täglich 3^{ccm}, im ganzen 60^{ccm} einspritzt.

Resultat: Die Tiere sterben in 26 Tagen an der Tollwut.

Versuch 13. 8.II.1905. An zwei mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sogleich 20 Markeinspritzungen von Nr. 10 bis Nr. 3 vorgenommen, indem man ihnen täglich 3^{ccm}, d. h. im ganzen 60^{ccm} einspritzt.

Resultat: Beide Tiere bleiben am Leben. Sub cute mit fixem Virus geimpft sterben sie an der Tollwut in 17 Tagen. Also schützt die Immunisierung gegen das Straßenvirus nicht gegen fixes Virus. In diesem Falle jedoch ergab sich eine Verspätung von 10 Tagen.

Versuch 14. 28.II. 1904. An zwei mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sogleich 20 Tage hindurch 30 Markeinspritzungen von Nr. 8 bis Nr. 2 vorgenommen, indem ihnen täglich 3^{ccm} (im ganzen 60^{ccm}) eingespritzt werden.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben. Lebten noch den 24. III., d. h. nach 3 Monaten.

Versuch 15. 30.IV. 1904. An zwei mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sogleich 40 Markeinspritzungen von Nr. 10 bis Nr. 3 vorgenommen, indem ihnen täglich 20 Tage hindurch 3^{ccm}, also im ganzen 60^{ccm} eingeimpft werden.

Resultat: Die Tiere überleben. Sie lebten noch nach 2 Monaten. Nach dieser Zeit von neuem sub cute geimpft, starben sie nach 17 Tagen an Wut mit einer Verspätung von 10 Tagen.

Versuch 16. 28.II. 1904. An zwei mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sofort 30 Markeinspritzungen von Nr. 12 bis Nr. 8 vorgenommen, im ganzen 80^{ccm} eingespritzt.

Resultat: Sie bleiben am Leben. Mit fixem Virus den 19. III., d. h. nach 20 Tagen geimpft, sterben sie an der Tollwut den 26. III., d. h. nach 7 Tagen.

Versuch 17. 28.II. 1904. An zwei mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sogleich 40 Markeinspritzungen, von Nr. 12 bis Nr. 3 vorgenommen, indem ihnen täglich 2^{ccm}, im ganzen 80^{ccm} eingespritzt wurden.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 18. 12.II. 1905. An vier mit Straßenvirus geimpften weißen Ratten werden sogleich 40 Markeinspritzungen von Nr. 12 bis Nr. 8 vorgenommen, indem man ihnen täglich 20 Tage hindurch 4^{ccm}, zusammen 80^{ccm} einimpft.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben. Nach 36 Tagen wurden sie von neuem mit Straßenvirus geimpft und starben an der Tollwut nach 11 Tagen. (Die Immunisierung rettete die Tiere, aber dauert nicht lange.)

Versuch 19. 2.IV. 1906. Vier schwarze, sub cute mit Straßenvirus geimpfte Mäuse¹ werden wie beim Menschen immunisiert, von Nr. 12 begonnen bis Nr. 3 unter täglicher Einspritzung von $\frac{1}{3}$ ^{ccm} und zwar 25 Tage hindurch.

Resultat: Die Tiere überleben. Sie lebten noch am 26. IV.

Kontrollversuch. 2.IV. 1906. Ich impfte drei schwarze Mäuse sub cute.

Resultat: Die Tiere gehen in 16 Tagen an der Tollwut zugrunde.

¹ 12^{ccm} einer weißen Maus, die ungefähr $\frac{1}{3}$ (20^{grm}) einer weißen Ratte (100^{grm}) wiegt, würden 60^{ccm} entsprechen.

Schlußfolgerungen: Bei der Immunisierung mit abgeschwächtem fixen Virus gegen subkutane Infektion durch Straßenvirus ergab sich:

1. Daß die Tiere, 16 an der Zahl, die mit 20—30—45^{ccm} Impfstoff behandelt wurden, alle an der Wut starben. Nur vier schwarze mit 30^{ccm} fixem Virus, aber vom M. 3 und M. 4, geimpfte Ratten wurden gerettet.

2. Wurden hingegen die Tiere mit 60 bis 80^{ccm} Impfstoff behandelt, so blieben sie alle, nämlich 16 an der Zahl, i. e. 100 Prozent am Leben.

3. Die Kontrolltiere starben alle an der Wut.

V. Schutzimpfung mittels subkutaner Einspritzungen mit Emulsion von abgeschwächtem fixen Virus und nachfolgende subkutane Infektion mit Straßenvirus.

Versuch 1. 19. IV. 1904. An zwei weißen Ratten werden 10 Mark-einspritzungen von Nr. 12 bis Nr. 3 vorgenommen, indem man ihnen 10 Tage hindurch, täglich 4^{ccm}, also im ganzen 40^{ccm} Emulsion injiziert. Hierauf impft man die Ratten mit $\frac{1}{3}$ ^{ccm} Straßenvirus.

Resultat: Die Tiere sterben gelähmt in 21 Tagen.

Versuch 2. 19. IV. 1904. An fünf weißen Ratten wurden 10 Mark-einspritzungen von Nr. 12 bis Nr. 3 vorgenommen, indem man ihnen 10 Tage hindurch, täglich 4^{ccm}, also im ganzen 40^{ccm} Emulsion zuführt. Hierauf werden sie mit $\frac{1}{3}$ ^{ccm} Straßenvirus geimpft.

Resultat: Zwei Ratten sterben nach 16 Tagen, die anderen bleiben am Leben. Sie lebten noch nach 2 Monaten.

Versuch 3. 23. IV. 1904. An vier Ratten wurden 20 Markeinspritzungen vorgenommen, indem man ihnen täglich 3^{ccm}, also im ganzen 60^{ccm} verabreichte. Hierauf werden sie mit $\frac{1}{3}$ ^{ccm} Straßenvirusemulsion geimpft.

Resultat: Die Tiere überleben. Von neuem nach 3 Monaten subkutan geimpft, sterben zwei aber ohne Lähmung. Andere, mit dem Gehirn derselben geimpfte Ratten, bleiben am Leben.

Schlußfolgerung: Bei der Schutzimpfung mit geschwächtem fixen Virus, gegen die Infektion durch Straßenvirus, sub cute, ergab sich:

1. Daß beim Einimpfen von 40^{ccm} Impfstoff sämtliche Tiere an der Wut starben.

2. Beim Einimpfen von 60^{ccm} wurden sämtliche Tiere gerettet.

VI. Impfmethode gegen die Tollwut, beim Menschen angewandt und ihre Übelstände.

Die bisher am Menschen versuchten Impfungsmethoden gegen die Tollwut sind: die Methoden Pasteurs, Ferrans, Högyes und Pus-

cariu; die, obwohl voneinander verschieden, ungefähr die gleichen Resultate gegeben haben.

A. Pasteursche Methode. — Die Übelstände dieser Methode sind:

1. Die hierdurch den Privatpersonen und den Gemeinden entstehenden großen Kosten.
2. Die Beschwerlichkeiten, denen oft die von Tieren Gebissenen ausgesetzt sind, um sich in ein oft entferntes Pasteursches Institut begeben zu können.
3. Die gefährliche Verspätung ehe die Kur beginnt.
4. Die unsichere Asepsis des Impfstoffes und folglich die Möglichkeit der Abszeßbildung und sogar tödlicher Septikämien.¹
5. Die unregelmäßige und unsichere Abschwächung des Impfstoffes und folglich die, obwohl zweifelhafte Möglichkeit, mittels des Impfstoffes selbst, die paralytische Tollwut auf den Menschen übertragen zu können.²

¹ Außer den verschiedenen Vorfällen, die sich in einigen Pasteurschen Instituten in Italien ereigneten, erwähne ich den, der Palmirski im Pasteurschen Institut zu Warschau zugestoßen ist: von 40 Geimpften wurden 22 Prozent von einem scharlachähnlichen Ausschlag befallen; das Institut mußte geschlossen, eine allgemeine Desinfektion vorgenommen und ein anderes fixes Virus aus Petersburg beschafft werden.

² In dieser Beziehung erwähne ich folgende Mitteilungen:

Brouardel, Sur les paralysies au cours du traitement antirabique. *Bullet. de l'Acad.* 1897. Nr. 25.

J. K. Chmjelewsky und Skschivan, Eine milde Form paralytischer Lyssa nach Pasteurscher Schutzimpfung. Ref. *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1903. Abt. I. Bd. XXXIV. S. 146.

Gamaleia, Étude sur la rage paralytique chez l'homme. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1887. p. 68.

Le Gendre, La rage paralytique chez l'homme. *L'union méd.* 1887. Nr. 40.

Heydenreich, Wirkliche Wutkrankheit oder angeimpfte modifizierte Wut. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1904. S. 1002.

Laveran, D'une forme atténuée de la rage observée pendant le cours du traitement par les inoculations préventives. *Bull. et mém. Soc. méd. d'hôp. de Paris.* 1891. T. VIII. p. 191.

Rabieaux, Rabbia paralitica producida per cas inoculaciones preventivas. Curacion. *Journ. de méd. vét. de Lyon.* 31 janv. 1902.

Remlinger, Accidents paralytiques au cours du traitement antirabique. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1905. T. XIX. p. 625.

M. H. Rendu, Accidents medullaires à forme de paralysie ascendante aiguë survenue au cours d'un traitement antirabique. *Bull. de l'Acad. de méd.* 1897.

Sabarthez, Rage atténuée, produite très probablement par les inoculations pastoriennees. *Gaz. des hôp.* 1891. p. 1311.

V. Zagarrío, Trasmissione della rabbia durante il periodo d'incubazione. *Giorn. della R. Soc. e Acad. veterin. Ital.* 1903. Nr. 47. p. 820.

6. Die Produktion von Antikörpern, d. h. von Lyssicidsubstanzen, tritt im Serum erst nach 20 bis 22 Tagen ein (Tizzoni und Centanni, Kraus und Kreissl).¹

7. Da nun einmal, wie wir bereits gesehen haben, irgend welcher Impfversuch durch Hauteinspritzungen mit Emulsion von fixem Virus gegen die subkutan durch fixe Virus verursachte Infektion, nach unserem eigenen und nach anderer Versuche, so gut als mißlungen zu betrachten ist, halte ich die Modalität der Pasteurschen Methode, die in der Impfung mit der zunehmenden Serie geschwächten Markes besteht, für gänzlich unnützlich. Ist in der Tat experimentell nachgewiesen, daß die systematischen Schutzimpfungen mit Emulsion von fixem geschwächten Virus nicht imstande sind, die subkutan durch fixen Virus infizierten Tiere zu retten, so ist umsoweniger Hoffnung vorhanden, daß die wenigen Emulsionseinspritzungen mit dem Marke von 12 bis 2 gegen eine eventuelle Infektion der folgenden Marksorten von 2 bis 1 schützen können.

Erwähnte Modalität dient, meiner Ansicht nach, nur dazu, die Methode komplizierter zu gestalten und wäre somit aufzugeben.

Man würde denselben Zweck auch viel einfacher erreichen, wenn man nur mit dem Mark vom 6. oder 5. Tage, oder mit durch chemische Substanzen geschwächtem fixen Virus, wie man später sehen wird, impfen würde.²

R. Tonin, *Istituto antirabico di Cairo, primo triennio 1899—1901*. Cairo 1902. — Note storiche sulla rabbia in Egitto Cairo A. Castigliola 1903. Ref. *Riv. Fig.* 1903. p. 620.

¹ *Centralblatt für Bakteriologie*. Origin. Bd. XXXII. S. 810.

² Nach Bardach u. Högyes wäre die Wirkung des mittels trockenen Markes hergestellten Impfstoffes geringer als die durch frisches Mark erzielte. Dies kann man deutlich aus der folgenden, von Högyes gegebenen Tabelle entnehmen:

	Sterblichkeit der Gebissenen, die mit	
	getrocknetem Mark	frischem, virulentem Mark behandelt wurden
Bisse am Kopfe	+ 6·56 Prozent	+ 1·8 Prozent
Bisse an den Händen . .	+ 1·20 „	+ 0·86 „
Bisse an Füßen, am Rumpf oder an bedeckten Teilen }	+ 0·77 „	+ 0·00 „

Nach Gamaleia wäre die Anzahl der Mißerfolge der Pasteurschen Kur viel höher im Sommer und dies gerade, weil in dieser Jahreszeit die Austrocknung des Markes viel schneller und heftiger erfolgt.

Ich erwähne noch, daß der von Puscariu durch Erhitzen des Markes auf 40 bis 80° erlangte Impfstoff von Oshida sehr vorteilhaft, von Onchakow und Novi aber nicht so befunden wurde.

Die Tatsache, daß selbst wenn es gelingt, sogar Nr. 2 und selbst Nr. 1 einzuspritzen, die paralytische Lyssa nicht getötet wird, hängt ausschließlich von der Nichtempfänglichkeit des Menschen diesem Virus entgegen, auf subkutanem Wege, ab.

Die Hoffnung, mittels abgeschwächerem Impfstoff den Menschen gegen die nachfolgenden Injektionen mit Emulsion vom 2. oder 1. Tage schützen zu wollen, erachte ich nicht nur als irrig, sondern sogar als gefährlich, denn eine für den fixen Virus empfängliche und sub cute mit Nr. 2 und Nr. 1 geimpfte Person würde ohne weiteres an paralytischer Tollwut sterben, wie dies bei den Muriden, bisweilen auch bei Kaninchen, Meerschweinchen und Hunden der Fall ist.

VII. Neue Vaccinationsmethoden.

Diese Mißstände könnten natürlich beseitigt werden, würde man die Abschwächungs- und die Zubereitungsmethode des Impfstoffes ändern, und würde der Antilyssa-Impfstoff, wie dies bei anderen Impfstoffen und Sera der Fall ist, überall zu haben sein, so daß jeder Arzt in der Lage wäre, die Impfung gegen die Tollwut vorzunehmen.

Man begreift wohl, daß ein nach der Pasteurschen Methode, oder nach der von Högyes und von Puscariu hergestellter Impfstoff nicht geeignet ist, aufbewahrt zu werden oder in den Handel zu kommen.

Der Impfstoff müßte vielmehr aus dem Gehirn und dem Rückenmark möglichst großer Tiere (Hunde, Schafe, Pferde usw.) hergestellt, gleichzeitig abgeschwächt und durch Zusatz für subkutane Injektion geeigneter Antiseptica erhalten werden.

Diese Betrachtungen führten mich dazu, folgende Vorversuche anzustellen:

In einem ersten Orientierungsversuche suchte ich unter einer Reihe von chemischen Stoffen einen, der geeignet wäre, die Emulsion selbst bei einer Temperatur von 30° steril zu erhalten.¹

Zu diesem Zwecke verteilte ich in Röhrrchen, 5^{ccm} der verschiedenen Substanzen, fügte jedem $\frac{1}{2}$ ^{grm} frischen, gekneteten fixen Virus bei und hielt die Röhrrchen 6 Tage lang bei 30°.

Nach dieser Zeit prüfte ich mittels Agarplatten, welche Röhrrchen steril seien.

In einer anderen ähnlichen Versuchsreihe stellte ich die Minimaldosis der verschiedenen Substanzen fest, die fähig sind, die Fäulnis von 5^{ccm} Minimalemulsion zu 20 Prozent vollständig bei 22 bis 30° aufzuhalten.

¹ Siehe meine ausführliche Mitteilung über die Wirkung verschiedener chemischer Agentien auf das Wutvirus.

An anderer Stelle bringe ich die Tabellen, die sich auf die erhaltenen Resultate beziehen. Für den Augenblick begnüge ich mich zu bemerken, daß von den 17 versuchten Substanzen die Karbolsäure sich als die geeignetste erwies.

Nach diesen ersten Orientierungsversuchen gehen wir ohne weiteres zu den Versuchen über, welche ich über die verschiedenen Impfstoffe angestellt habe, und zwar zunächst die Versuche, die sich auf die Immunisierungsversuche mit fixem Virus, unter Zusatz von Sublimat, Hermophenyl, Argentum colloidal, Protargol, Actol, Methylenblau und Thymol, erstreckten, sodann lasse ich die anderen, zahlreicheren folgen, welche nach der von mir bevorzugten Methode vorgenommen wurden, d. h. unter Anwendung eines durch Zusatz von 1 prozentiger Karbolsäure sterilisierten Impfstoffes.

VIII. Subkutane Straßenvirusinfektion und nachfolgende Immunisierung durch subkutane Injektion 10 prozentiger fixer Virusemulsion, unter Zusatz chemischer Stoffe.¹

Unter den Substanzen, die gleichzeitig mit der antiseptischen Wirkung auch eine abschwächende Wirkung auf das frische fixe Virus ausüben und ihn in einen Impfstoff umwandeln, versuchte ich das Sublimat, das Hermophenyl, das Kollargol, das Protargol, das Actol, das Methylenblau, das Larycith. III und das Thymol.

Sublimat.

Versuch 1. 30. III. 1905. Zwei sub cute mit Straßenvirus geimpfte weiße Ratten werden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit dem Zusatze von Sublimat von 1 Promille immunisiert, indem ihnen 20 Tage hindurch, täglich 3^{ccm}, zusammen also 60^{ccm} eingeführt werden.

Resultat: Eine der Ratten stirbt nach 8 Tagen und die andere bleibt am Leben. Diese wurde sub cute mit fixem Virus geimpft und blieb auch dann noch am Leben; sub dura geimpft erlag sie nach 7 Tagen.

Hermophenyl.

Versuch 2. 11. V. 1905. Zwei mit Straßenvirus sub cute geimpfte Ratten werden durch subkutane Einspritzungen frischer fixer, 10 prozentiger Virusemulsion, mit dem Zusatze von 1 Prozent Hermophenyl immunisiert.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Kontrollversuch. 11. V. 1905. Zwei weiße mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten sterben nach 13 bis 14 Tagen.

¹ Betreffs der das Lyssavirus tötenden minimalen Menge verschiedener chemischer Stoffe siehe meine Arbeit: „Die Wirkung von chemischen Stoffen auf das Virus fixe“, die bald im *Archiv für Hygiene* erscheinen wird.

Kollargol.

Versuch 3. 19. III. 1905. Zwei weiße Ratten, sub cute mit Straßenvirus geimpft, werden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit dem Zusatz von Argentinum colloidal 1 Prozent (10 Großhirn eines wutkranken Kaninchens werden in 100^{cem} einer Lösung von Argentinum colloidal 1 Prozent emulsiert), immunisiert, indem ihnen 20 Tage hindurch, täglich 3^{cem}, also im ganzen 60^{cem}, eingeimpft werden.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben. Nach einiger Zeit mit fixem Virus geimpft, sterben sie an der Wutkrankheit in 7 Tagen.

Protargol.

Versuch 4. 30. III. 1905. Zwei mit Straßenvirus subkutan geimpfte weiße Ratten werden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit dem Zusatz von Protargol, 1 Prozent, immunisiert, indem ihnen 20 Tage hindurch, täglich 3^{cem}, zusammen 60^{cem}, zugeführt werden.

Resultat: Die Tiere bleiben gesund.

Actol.

Versuch 5. 30. III. 1905. Zwei subkutan mit Straßenvirus geimpfte weiße Ratten wurden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von frischem fixem Virus zu 10 Prozent mit dem Zusatz von Actol, 1 Prozent, immunisiert, indem ihnen täglich 3^{cem}, 20 Tage hindurch, also im ganzen 60^{cem}, eingeimpft werden.

Resultat: Die Tiere bleiben, selbst bei späterer subkutaner Injektion mit fixem Virus am Leben. Noch einmal mit fixem Virus, aber subdural infiziert, sterben sie nach 15 Tagen ohne Wuterscheinungen.

Versuch 6. 3. VI. 1905. Zwei sub dura mit Straßenvirus geimpfte weiße Ratten werden mittels subkutaner Einspritzungen einer Emulsion von frischem fixem Virus unter Zusatz von Actol 1:5000 immunisiert, indem ihnen 5 Tage hindurch, täglich 3^{cem} eingeimpft werden, d. h. im ganzen 15^{cem}.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 7. 3. VI. 1905. Zwei sub dura mit Straßenvirus geimpfte weiße Ratten werden mittels subkutaner Einspritzungen einer Emulsion von frischem fixem Virus unter dem Zusatz von Actol 1:5000 immunisiert, indem man ihnen 8 Tage hindurch, täglich 3^{cem} einimpft, d. h. im ganzen 24^{cem}.

Larycith.

Versuch 8. 11. V. 1905. Zwei mit Straßenvirus sub cute geimpfte weiße Ratten werden durch subkutane Einspritzung frischer, fixer, 10-prozentiger Virusemulsion unter Zusatz von Larycith 1 Promille immunisiert, indem man ihnen 10 Tage hindurch, täglich 3^{cem}, zusammen 30^{cem}, einimpft.

Resultat: Die Tiere sterben in 21 Tagen an der Wutkrankheit.

Kontrollversuch. 11. V. 1905. Zwei weiße subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten sterben den 24. V., d. h. nach 13 Tagen an Wut.

Methylenblau.

Versuch 9. 11. V. 1905. Zwei mit Straßenvirus inokulierte weiße Ratten werden durch subkutane Injektionen einer Emulsion von frischem fixen Virus zu 10 Prozent, mit Zusatz von Methylenblau $1\frac{1}{2}$ Prozent, immunisiert, indem ihnen 3 ccm täglich, 10 Tage hindurch, im ganzen 30 ccm , eingepflegt werden.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Kontrollversuch. 11. V. 1905. Vier weiße Ratten werden mit Straßenvirus, ohne sie zu immunisieren, subkutan gepflegt.

Resultat: Die Tiere sterben in 13 bis 15 Tagen.

Thymol.

Versuch 10. 23. V. 1905. Zwei mit Straßenvirus sub cute gepflegte weiße Ratten werden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von frischem fixen Virus zu 10 Prozent, mit dem Zusatze von Thymol $\frac{1}{2}$ Prozent, immunisiert, indem ihnen 3 Tage hindurch, täglich 3 ccm , zusammen 9 ccm , eingeführt werden.

Resultat: Die Tiere sterben an der Wutkrankheit in 13 Tagen.

Versuch 11. 23. V. 1905. Zwei mit Straßenvirus sub cute gepflegte weiße Ratten werden durch Einspritzungen (subkutane) einer Emulsion von frischem fixen Virus zu 10 Prozent, mit dem Zusatze von Thymol, $\frac{1}{2}$ Prozent, immunisiert, indem ihnen 5 Tage hindurch, täglich 3 ccm , also zusammen 15 ccm , eingeführt werden.

Resultat: Die Tiere sterben gelähmt in 13 Tagen.

Versuch 12. 23. V. 1905. Zwei weiße Ratten, die sub cute mit Straßenvirus gepflegt worden waren, werden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von frischem fixen Virus zu 10 Prozent, mit dem Zusatz von Thymol, $\frac{1}{2}$ Prozent, immunisiert, indem ihnen 8 Tage hindurch, täglich 3 ccm , also im ganzen 24 ccm , zugeführt werden.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 13. 23. V. 1905. Zwei sub cute mit Straßenvirus gepflegte Ratten werden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit einem Zusatze von Thymol, $\frac{1}{2}$ Prozent, immunisiert, indem ihnen 8 Tage hindurch, täglich 3 ccm , im ganzen 24 ccm , eingepflegt werden.

Resultat: Sie bleiben am Leben.

Kontrollversuch a. 23. V. 1905. Zwei weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten sterben an Wut am 5. VI., d. h. nach 13 Tagen.

Kontrollversuch b. 1. VI. 1905. Zwei weiße, subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten sterben an Wut am 14. VI., d. h. nach 13 Tagen.

Versuch 14. 23. VIII. 1905. Zwei subkutan mit Straßenvirus infizierte weiße Ratten werden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von fixem Virus 10 Prozent mit dem Zusatz von Thymol, 0.5 Prozent, immunisiert, indem ihnen 8 Tage hindurch, täglich 3^{ccm}, zusammen also 24^{ccm}, injiziert werden.

Resultat: Die Tiere überleben.

Versuch 15. 23. VIII. 1905. Zwei subkutan mit Straßenvirus geimpfte weiße Ratten werden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von fixem Virus 10 Prozent mit dem Zusatz von Thymol, 0.5 Prozent, immunisiert, indem ihnen 8 Tage hindurch, täglich 3^{ccm}, zusammen also 24^{ccm}, injiziert werden.

Resultat: Die Tiere überleben.

Aus diesen vorläufigen Orientierungsversuchen ergibt sich folgendes:

1. Beim Einimpfen von 60^{ccm} Impfstoff mit einem Sublimatzusatz wurde die Hälfte der Ratten gerettet.
2. Beim Einimpfen von 30^{ccm} Impfstoff mit Zusatz von Hermophyl wurden die Tiere im gleichen Verhältnis gerettet.
3. Beim Einspritzen von 60^{ccm} Impfstoff mit Protargolzusatz wurden alle Tiere gerettet.
4. Beim Einimpfen von 60^{ccm} Impfstoff mit Zusatz von Argentum colloidal zu 1 Prozent wurden die Tiere gerettet.
5. Beim Einspritzen von 60 bis 24^{ccm} Impfstoff mit Zusatz von Actol 1 : 5000 wurden sämtliche Tiere gerettet.
6. Bei Einspritzung von Ratten mit Impfstoff unter Zusatz von Larycith gingen dieselben zugrunde; während hingegen andere Ratten, die ebenfalls mit 30^{ccm} geimpft worden waren, denen aber Methylenblau beigemischt war, gerettet wurden.
7. Beim Einführen von 9 bis 15^{ccm} Impfstoff mit Zusatz von Thymol, $\frac{1}{2}$ Prozent, erlagen sämtliche Tiere der Tollwut; hingegen beim Einimpfen von 24^{ccm} wurden die Tiere gerettet.
8. Alle Kontrolltiere, nämlich 12 an der Zahl, subkutan mit Straßenvirus infiziert, sterben an Wut nach 13 bis 15 Tagen.

IX. Subkutane Infektion von Straßenvirus mit nachfolgender Immunisierung durch Injektionen von fixem Virus unter Zusatz von Thymol, begonnen nach einiger Zeit.

Versuch 1. 28. V. 1905. Nach fünf Tagen beginnt man zwei mit Straßenvirus geimpfte weiße Ratten mit frischem fixen Virus zu 10 Prozent

und dem Zusatz von Thymol, $\frac{1}{2}$ Prozent, zu immunisieren, indem man ihnen 10 Tage hindurch, täglich 3^{ccm} zuführt, d. h. im ganzen 30^{ccm}.

Resultat: Beide Tiere bleiben am Leben.

Versuch 2. Nach fünf Tagen beginnt man zwei mit Straßenvirus geimpfte weiße Ratten mit frischem fixen Virus zu 10 Prozent und einem Zusatz von Thymol, $\frac{1}{2}$ Prozent, zu immunisieren, indem man ihnen 8 Tage hindurch täglich 3^{ccm} einimpft, d. h. im ganzen 24^{ccm}.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Kontrollversuch. 28. V. 1905. Zur Kontrolle werden zwei weiße Ratten mit Straßenvirus sub cute injiziert, ohne sie zu immunisieren.

Resultat: Die Tiere sterben gelähmt den 10. VI., d. h. nach 13 Tagen.

Schlußfolgerung: Diese Versuche zeigen:

1. Daß 30, sogar 24^{ccm} Impfstoff mit Zusatz von Thymol, $\frac{1}{2}$ Prozent, nach 5 Tagen behufs Immunisierung der sub cute vorher mit Straßenvirus geimpften Tiere genügen.

2. Daß die Kontrolltiere, subkutan mit Straßenvirus infiziert, alle nach 13 Tagen starben.

X. Subdurale Infektion mit Straßenvirus und nachfolgende Immunisierung mittels subkutanen Einspritzungen von fixem Virus 10 Prozent mit Zusatz von Karbolsäure 1 Prozent.

Diese Versuche wurden an 34 Tieren angestellt.

Versuch 1. 3. VI. 1906. Eine schwarze sub dura mit $\frac{1}{30}$ ^{ccm} Straßenvirusemulsion geimpfte Ratte wird immunisiert, indem man am selben Tage mittels Einspritzungen von fixer Virusemulsion zu 10 Prozent unter Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent beginnt, und ihr täglich 2^{ccm}, 3 Tage hindurch, im ganzen 6^{ccm}, einführt.

Resultat: Das Tier stirbt am 16. VI., d. h. nach 13 Tagen.

Versuch 2. 3. VI. 1905. Zwei sub dura mit Straßenvirus geimpfte weiße Ratten werden nachher mittels subkutaner Einspritzungen einer Emulsion von frischem fixen Virus zu 10 Prozent unter dem Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent immunisiert, indem man ihnen 5 Tage hindurch, täglich 3^{ccm} einimpft, d. h. im ganzen 15^{ccm}.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 3. 3. VI. 1906. Sechs schwarze Ratten, die sub dura mit $\frac{1}{20}$ ^{ccm} Emulsion Straßenvirus geimpft worden waren, werden mittels subkutaner Einspritzung von fixer Virusemulsion zu 10 Prozent unter Zusatz von 1 Prozent Karbolsäure, vom gleichen Tage an immunisiert, indem ihnen täglich 2^{ccm}, einer Ratte 6 Tage lang (folglich 12^{ccm} im ganzen), einer anderen 8 Tage lang (im ganzen 16^{ccm}), und den anderen vier 10 Tage lang (im ganzen 20^{ccm}), eingespritzt werden.

Resultat: Die Ratte, welche 12 ^{ccm} erhielt, starb am 22. VI., also nach 8 Tagen, ohne Anzeichen von Wut; jene, die 16 ^{ccm} erhielt, verendet am 23. VI., d. h. nach 9 Tagen, ebenfalls ohne Anzeichen von Wut; zwei der Ratten, die 20 ^{ccm} erhielten, zeigen am 23. VII. um 7 Uhr vormittags Lähmung und verenden am 24. VI., nämlich nach 10 Tagen, und die beiden anderen überleben.¹

Kontrollversuch. 14. VI. Vier schwarzen Ratten wird sub dura Straßenvirus eingepfht.²

Resultat: Eine stirbt nach 8 Tagen ohne Anzeichen von Tollwut, zwei zeigen Lähmung am 23. VI. und sterben am 24. VI., nämlich nach 10 Tagen, die andere bleibt am Leben.

Versuch 4. 13. VI. 1906. Eine weiße sub dura mit $\frac{1}{20}$ ^{ccm} Emulsion von Straßenvirus geimpfte Ratte wird immunisiert, indem man am selben Tage beginnt, ihr 10 Prozent fixe Virusemulsion mit 1 Prozent Karbolsäurezusatz, 10 Tage lang, jeden Tag 2 ^{ccm}, im ganzen 20 ^{ccm}, einzupfhen.

Resultat: Das Tier verendete nach 10 Tagen. Ursache unbekannt.

Resultat: Eine stirbt nach 13 Tagen, die andere bleibt am Leben.

Versuch 5. 3. VI. 1905. Zwei sub dura mit Straßenvirus geimpfte weiße Ratten werden mittels subkutaner Einspritzungen einer Emulsion von frischem fixen Virus, unter dem Zusatze von Karbolsäure zu 1 Prozent immunisiert, indem man ihnen 8 Tage hindurch täglich 3 ^{ccm} einimpft, d. h. im ganzen 24 ^{ccm}.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 6. 13. VI. 1906. Vier schwarze, mit $\frac{1}{20}$ ^{ccm} Emulsion von Straßenvirus sub dura geimpfte Ratten werden immunisiert, indem am selben Tage mit der Impfung von fixer Virusemulsion zu 10 Prozent mit Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent begonnen wird und zwar mit Einimpfung von 2 ^{ccm} täglich, 12 Tage hindurch, d. h. im ganzen 24 ^{ccm}.

Resultat: Zwei Ratten sterben am 25. VI., d. h. nach 12 Tagen, und zwei überleben.

Versuch 7. 21. VI. 1906. Fünf weiße Ratten und eine schwarze, die mit $\frac{1}{20}$ ^{ccm} Emulsion von Straßenvirus sub dura infiziert worden waren, wurden immunisiert, indem man am gleichen Tage begann, ihnen 2 ^{ccm} Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit Zusatz von 1 Prozent Karbolsäure einzuspritzen. Die Einspritzungen dauerten 15 Tage, also im ganzen wurden 30 ^{ccm} eingeführt.

¹ Diese letzten vier sub cute infizierten und immunisierten Tiere hatten schon einer subduralen Infektion 2 Monate vorher widerstanden.

² Auch diese vier Ratten sind einer subkutanen Infektion von Straßenvirus gegenüber immunisiert gewesen und hatten auch spätere subdurale Infektion von Straßenvirus, ungefähr 2 Monate vorher, ertragen.

Resultat: Sämtliche Tiere zeigen am Abend den 27. VI. Lähmung und verenden am Vormittag den 28. VI., also nach 7 Tagen.

Kontrollversuch. 21. VI. 1906. Drei sub dura mit Straßenvirus infizierte und nicht geimpfte Ratten zeigen am Abend, den 27. VI. Lähmung und sterben am Vormittag, den 28. VI., also nach 7 Tagen.

Versuch 8. 3. VI. 1905. Zwei weiße sub dura mit Straßenvirus inokulierte Ratten werden immunisiert mittels subkutanen Injektionen mit Emulsion von fixem Virus vom 6., 5., 4. und 3. Tage, indem ihnen 10 Tage lang, täglich 3^{ccm}, also im ganzen 30^{ccm} eingeführt wurden.

Resultat: Beide Tiere sterben an der Wut, eins nach 13 Tagen, das andere nach 19 Tagen.

Kontrollversuch. 13. VI. 1905. Ich impfe zwei weiße Ratten sub dura mit Straßenvirus, ohne sie zu immunisieren.

Resultat: Die Tiere sterben in 12 bis 14 Tagen an der Tollwut.

Schlußfolgerung: Aus den Versuchen ergibt sich:

1. Daß beim Infizieren der Tiere sub dura und beim nachfolgenden Immunisieren mit 20 bis 30^{ccm}, dieselben im Verhältnis von 33 Prozent gerettet wurden.

2. Daß alle Kontrolltiere nach 12 bis 14 Tagen an Wut starben.

Man kann demnach daraus schließen, daß es äußerst schwer ist, mit Straßenvirus sub dura geimpfte Tiere zu immunisieren.

XI. Subkutane Infektion mit Straßenvirus und nachfolgender Immunisierung mittels frischem fixem Virus zu 10 Prozent mit 1 prozentigem Karbolsäurezusatz.

Diese lange Reihe von Versuchen erforderte 135 Tiere, nämlich 55 weiße und 59 schwarze Ratten und 11 schwarze Mäuse.

Versuch 1. 25. V. 1906. Man immunisiert vier schwarze sub cute mit $\frac{1}{2}$ ccm Emulsion von Straßenvirus infizierte Ratten, indem man nach 8 Tagen, d. h. vom 2. VI. an, mittels subkutaner Einspritzungen, ihnen täglich, 5 Tage hindurch, 2^{ccm} Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit einem Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent, also im ganzen 10^{ccm} injiziert.

Resultat: Eines der Tiere zeigt am 7. VI. vormittags Lähmung und stirbt im Laufe des Nachmittags; die anderen drei zeigen am 10. VI. Lähmung und sterben am 11. VI.

Kontrollversuch. 25. V. 1906. Vier weiße Ratten werden sub cute mit Straßenvirus geimpft.

Resultat: Eine stirbt am 6. VI. ohne Wutsymptome, die drei anderen starben an der Wut am Vormittag des 7. VI.

Versuch 2. 23. VIII. 1905. Zwei weiße sub cute mit Straßenvirus inokulierte Ratten beginnt man nach 5 Tagen durch subkutane Injektionen von fixer Virusemulsion zu 10 Prozent, mit einem Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent zu immunisieren, indem man ihnen 5 Tage lang, täglich 3^{ccm}, also im ganzen 15^{ccm} einimpft.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Versuch 3. 1. VI. 1906. Zwei sub cute mit Straßenvirus geimpfte weiße Ratten werden durch subkutane Einspritzungen einer frischen fixen 10 prozentigen Virusemulsion mit dem Zusatze von 1 Prozent Karbolsäure immunisiert, indem ihnen 5 Tage hindurch, täglich 3^{ccm}, also im ganzen 15^{ccm} eingeimpft werden.

Resultat: Die Tiere starben nach 13 Tagen.

Versuch 4. 25. V. 1906. Man immunisiert drei weiße und eine schwarze Ratte, die mit 1/3^{ccm} Emulsion von Straßenvirus sub cute infiziert worden waren, indem man vier Tage später anfängt (am 29. V.), ihnen mittels subkutanen Injektionen 9 Tage hindurch, täglich 2^{ccm}, also im ganzen 18^{ccm} Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit dem Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent zu verabreichen.

Resultat: Die drei weißen Ratten zeigen am 9. VI. Lähmung und zwei derselben sterben am gleichen Tage. Die schwarze Ratte bleibt am Leben.

Versuch 5. Am 9. II. 1906 wurde eine schwarze, mit Straßenvirus sub cute geimpfte Ratte mittels subkutaner Einspritzungen von frischer fixer Virusemulsion zu 10 Prozent und 1 Prozent Karbolsäure immunisiert. Es wurden 2^{ccm} eingeführt und zwar einer am Vormittag und der andere am Abend, und so 10 Tage lang, d. h. bis zum 19. II. Im ganzen wurden ihr 20^{ccm} Impfstoff zugeführt.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben. Nachdem es am 15. III. von neuem mit Straßenvirus geimpft worden war, blieb es ungefähr noch einen Monat am Leben.

Kontrollversuch. Am 14. II. 1906 wird eine schwarze Ratte sub cute mit Straßenvirus geimpft.

Resultat: Das Tier geht in 20 Tagen an der Tollwut zugrunde.

Versuch 6. 9. II. 1906. Eine schwarze, mit Straßenvirus sub cute inokulierte Ratte wird durch subkutane Injektionen mit Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent, mit Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent immunisiert, indem man ihr 10 Tage hindurch, täglich 2^{ccm}, also im ganzen 20^{ccm} einführt.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben; noch einmal am 13. III. mit Straßenvirus geimpft, bleibt es dennoch am Leben.

Kontrollversuch. Die schwarze Kontrollratte, die am 14. II. 1906 sub cute mit Straßenvirus geimpft wurde, starb nach 20 Tagen an der Wut.

Versuch 7. 26. II. 1906. Eine schwarze, sub cute mit Straßenvirus (Gehirn einer nach 23 Tagen an der Wut gestorbenen Ratte) geimpfte Ratte wird nach 2 Tagen durch Einspritzungen (sub cute) mit Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent, mit Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent immunisiert, indem man ihr 10 Tage hindurch täglich 2^{ccm}, also zusammen 20^{ccm}, einführt.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben. Von neuem am 15. III. sub cute mit Straßenvirus geimpft, bleibt es ebenfalls am Leben.

Versuch 8. 26. II. 1906. Eine schwarze, mit Straßenvirus sub cute geimpfte Ratte wird mittels subkutaner Einspritzungen von 10 prozentiger frischer fixer Virusemulsion, mit 1 Prozent Karbolsäure immunisiert. Täglich wurden ihr 2^{ccm} zugeführt und zwar einer am Vormittag, der andere am Abend, und so 10 Tage lang, d. h. bis zum 8. III. Im ganzen wurden ihr also 20^{ccm} Impfstoff zugeführt.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben. Von neuem den 15. III. geimpft, bleibt es dennoch am Leben. Ein drittes Mal, den 6. V. überlebte es. Lebte noch den 7. VI.

Kontrollversuch. 5. III. 1906. Ich impfte eine schwarze Ratte sub cute mit Straßenvirus.

Resultat: Das Tier ging in 15 Tagen an der Tollwut zugrunde.

Versuch 9. 5. III. 1906. Eine schwarze, mit Straßenvirus sub cute geimpfte Ratte wird 10 Tage lang täglich mit 2^{ccm} frischem fixen Virus, d. h. im ganzen mit 20^{ccm} zu 10 Prozent, mit 1 Prozent Karbolsäure immunisiert.

Resultat: Das Tier überlebte.

Kontrollversuch: Den 7. III. 1906 wird eine schwarze Ratte sub cute mit Straßenvirus geimpft.

Resultat: Das Tier geht in 21 Tagen an der Tollwut zugrunde.

Versuch 10. 1. VI. 1906. Zwei mit Straßenvirus sub cute geimpfte weiße Ratten werden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von frischem fixen Virus mit dem Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent immunisiert, indem man ihnen 8 Tage hindurch, täglich 3^{ccm}, im ganzen 24^{ccm}, einimpft.

Resultat: Die Tiere sterben nach 13 Tagen.

Versuch 11. 25. V. 1906. Drei weiße und eine schwarze Ratte, die sub cute mit $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion von Straßenvirus infiziert worden waren, werden immunisiert, indem man am selben Tage anfängt, sub cute täglich den drei weißen Ratten 2^{ccm} fixe Virusemulsion zu 10 Prozent, mit einem Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent zu verabreichen und zwar 14 Tage lang, so daß sie im ganzen 28^{ccm} erhalten und die schwarze ungefähr 23^{ccm}.

Resultat: Die drei weißen Ratten überleben und die schwarze zeigt am 10. VI. abends Lähmung und stirbt am 11. VI. morgens.

Versuch 12. 1. VI. 1905. Zwei mit Straßenvirus sub cute geimpfte weiße Ratten werden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von

fixen Virus zu 10 Prozent, mit dem Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent immunisiert, indem ihnen 10 Tage hindurch täglich 3^{ccm}, also im ganzen 30^{ccm}, eingeführt werden.

Resultat: Die Tiere überleben.

Versuch 13. 8.II.1906. Zwei schwarze, mit Straßenvirus sub cute inokulierte Ratten wurden 15 Tage hindurch mit täglich 2^{ccm} frischem fixen Virus zu 10 Prozent, welcher Karbolsäure zu 1 Prozent enthielt, immunisiert, so daß sie im ganzen 30^{ccm} erhielten.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben. Von neuem am 15.III. mit Straßenvirus infiziert, bleiben sie ebenfalls am Leben. Zum dritten Male am 6.V. infiziert, lebten sie noch am 7.VI.

Kontrollversuch. 8.II.1906. Eine schwarze Ratte wird mit Straßenvirus geimpft.

Resultat: Das Tier geht am 24.II., also nach 16 Tagen, an der Tollwut zugrunde.

Versuch 14. 10.III.1906. Eine schwarze, mit Straßenvirus sub cute geimpfte Ratte wird 15 Tage lang mit 30^{ccm} (2^{ccm} pro Tag) von frischem fixen Virus zu 10 Prozent mit 1 Prozent Karbolsäure immunisiert.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben. Es lebte noch am 23.IV., d. h. nach 44 Tagen. Infiziert noch einmal mit Straßenvirus den 16.V. überlebte. Lebte noch am 7.VI.

Kontrollversuch. 10.III.1906. Eine schwarze Ratte wird mit Straßenvirus sub cute geimpft.

Resultat: Das Tier geht an der Tollwut in 16 Tagen zugrunde.

Versuch 15. 10.III.1906. Zwei schwarze, mit Straßenvirus sub cute geimpfte Ratten werden 15 Tage mit 30^{ccm} frischem fixen Virus zu 10 Prozent, mit 1 Prozent Karbolsäure, immunisiert.

Resultat: Die Tiere überleben. Sie lebten noch am 23.IV., d. h. nach 44 Tagen. Nochmals den 6.V. infiziert, lebten sie noch den 7.VI.

Kontrollversuch. Am 10.III.1906 wird eine schwarze Ratte mit Straßenvirus sub cute geimpft.

Resultat: Das Tier geht in 18 Tagen an der Tollwut zugrunde.

Versuch 16. 14.III.1906. Eine schwarze, mit Straßenvirus sub cute infizierte Ratte wird 15 Tage lang mit 30^{ccm} frischem fixen Virus zu 10 Prozent mit 1 Prozent Karbolsäure immunisiert.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben. Es lebte noch am 23.IV., d. h. nach 40 Tagen.

Kontrollversuch. Am 14.III.1906 impfe ich eine Ratte sub cute mit Straßenvirus.

Resultat: Das Tier geht in 20 Tagen an der Tollwut zugrunde.

Versuch 17. 29. V. 1906. Man immunisiert vier schwarze Ratten, die mit $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion von Straßenvirus sub cute infiziert worden waren, indem man am selben Tage beginnt, ihnen durch subkutane Einspritzungen täglich 2 ^{ccm} Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent, mit einem Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent, 15 Tage hindurch, im ganzen also 30 ^{ccm}, einzuführen.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben.

Kontrollversuch. 29. V. 1906. Man impft drei schwarze Ratten sub cute mit Straßenvirus.

Resultat: Die Tiere sterben in 13 bis 16 Tagen an Wut.

Versuch 18. 7. V. 1906. Fünf schwarze, mit $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion von Straßenvirus infizierte Ratten werden immunisiert, indem man am selben Tage anfängt, ihnen 20 Tage hindurch täglich 2 ^{ccm}, also im ganzen 40 ^{ccm} fixe Virusemulsion zu 10 Prozent, mit einem Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent, sub cute einzuführen.

Resultat: Alle Tiere blieben am Leben. Sie lebten noch am 10. VII., d. h. nach mehr als zwei Monaten.

Kontrollversuch. 7. V. 1906. Von zwei schwarzen, sub cute mit Straßenvirus infizierten und nicht immunisierten Ratten zeigt die eine am Vormittag des 19. V. Lähmung und stirbt am Abend des 20. V., die andere bleibt am Leben.

Versuch 19. 18. V. 1906. Drei schwarze Ratten, die sub cute mit $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion von Straßenvirus infiziert wurden, werden immunisiert, indem man am nächsten Tage, den 19. V. vormittags, anfängt, mittels subkutaner Einspritzungen ihnen täglich 2 ^{ccm} Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit einem Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent, und zwar 20 Tage hindurch, also im ganzen 40 ^{ccm}, zu verabreichen.

Resultat: Die Tiere überleben. Sie leben noch am 10. VII., d. h. nach ungefähr 2 Monaten.

Kontrollversuch. 18. V. 1906. Von zwei schwarzen, sub cute mit Straßenvirus infizierten und nicht immunisierten Ratten geht eine am 30. V., d. h. nach 12 Tagen und die andere am 2. VI., d. h. nach 15 Tagen, an der Tollwut zugrunde.

Versuch 20. 30. III. 1905. Zwei mit Straßenvirus sub cute geimpfte weiße Ratten werden durch subkutane Einspritzungen einer Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit dem Zusatze von Karbolsäure zu 1 Prozent immunisiert, indem ihnen 20 Tage hindurch täglich 3 ^{ccm}, also zusammen 60 ^{ccm}, eingeführt wurden.

Resultat: Beide Tiere bleiben am Leben. Von neuem mit fixem Virus sub cute geimpft, bleiben sie am Leben, sub dura geimpft, verenden sie in 7 Tagen.

Versuch 21. 9. V. 1906. Vier schwarze Mäuse, die sub cute mit $\frac{1}{4}$ ^{ccm} Emulsion von Straßenvirus infiziert waren, werden immunisiert, indem man ihnen mittels subkutaner Injektionen 20 Tage lang täglich $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent, mit dem Zusatze von Karbolsäure zu 1 Prozent, im ganzen also 10 ^{ccm}, einführt.

Resultat: Alle Tiere bleiben am Leben. Sie lebten noch am 10. VII., also nach 2 Monaten.

Versuch 22. 29. III. 1906. Drei schwarze, mit Straßenvirus sub cute inokulierte Mäuse werden mit $\frac{1}{2}$ ^{ccm} frischem fixem Virus zu 10 Prozent, unter Karbolsäurezusatz zu 1 Prozent, 10 Tage hindurch immunisiert.

Resultat: Die Tiere bleiben am Leben. Sie lebten noch am 28. IV. Von neuem am 6. V. mit Straßenvirus infiziert, bleiben sie ebenfalls am Leben. Sie lebten noch am 7. VI.

Kontrollversuch. Vier schwarze Mäuse werden mit Straßenvirus sub cute behandelt.

Resultat: Die Tiere sterben in 16 Tagen an der Tollwut.

Versuch 23. 1. VI. 1905. Zehn mit Straßenvirus sub cute geimpfte weiße Mäuse werden durch subkutane Einspritzungen von frischer fixer 10prozentiger Virusemulsion mit dem Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent immunisiert, indem ihnen 10 Tage hindurch, täglich $\frac{1}{2}$ ^{ccm}, zusammen 5 ^{ccm}, eingeimpft werden.

Resultat: Die Tiere sterben alle gelähmt nach 13 bis 14 Tagen.

Versuch 24. 28. VI. 1906. Sieben schwarze Ratten, die sub cute mit $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion von Straßenvirus infiziert worden waren, werden immunisiert, indem man ihnen täglich in zwei Injektionen, 15 Tage lang 2 ^{ccm} Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent, im ganzen also 30 ^{ccm} verabreicht.

Resultat: Alle Tiere bleiben am Leben und völlig gesund, mit Ausnahme eines, welches nach 4 Tagen, aber nicht an Wut stirbt.

Kontrollversuch. 28. VI. 1906. Sechs schwarze Ratten werden sub cute, durch Injektion mit $\frac{1}{2}$ ^{ccm} desselben Straßenvirus infiziert.

Resultat: Sämtliche sechs Tiere gehen in 12 bis 13 Tagen an der Tollwut zugrunde und zwar: zwei zeigen Lähmung am 10. VII. gegen 4 Uhr nachmittags und verenden am 11. VII. um 6 Uhr abends; eines zeigt Lähmung am 11. VII. um 4 Uhr nachmittags und stirbt am selben Tage um 6 Uhr. Die anderen drei zeigen Lähmung am 11. VII. um 9 Uhr vormittags und verenden, eine am selben Tage um 4 Uhr, die beiden anderen um 6 Uhr abends.

Versuch 25. 30. VI. 1906. Acht schwarze Ratten, die mit $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Emulsion von Straßenvirus sub cute infiziert worden waren, werden immunisiert, indem man am selben Tage anfängt, ihnen durch Injektionen von Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent, mit Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent, täglich 2 ^{ccm} in zwei Injektionen, 15 Tage lang, also im ganzen 30 ^{ccm}, einzuführen.

Resultat: Alle Tiere, mit Ausnahme von zweien, überleben. Diese letzteren befanden sich in einem schlechten Zustande und erhielten nur das eine 6 ^{ccm} und das andere 14 ^{ccm} Impfstoff anstatt 30 ^{ccm}. Sie starben nicht an der Wut in 3 bzw. 5 Tagen.

Kontrollversuch. 30.VI.1906. Man infiziert sub cute fünf schwarze Ratten durch Einspritzung mit $\frac{1}{2}$ ccm desselben Straßenvirus.

Resultat: Alle Tiere sterben in 13 Tagen an der Tollwut und zwar: zwei zeigen Lähmung am 12.VII. um 6 Uhr abends und sterben am 13.VII. um 8 Uhr vormittags. Die anderen drei zeigen Lähmung am 12.VII. um 6 Uhr abends und sterben am 13.VII. um 6 Uhr vormittags.

Versuch 26. 25.VII.1906. Eine weiße Ratte, 175 grm Gewicht, die mit Straßenvirus subkutan infiziert wurde, wird 15 Tage lang, 2 ccm täglich, im ganzen 30 ccm, mit einer fixen Virusemulsion zu 10 Prozent mit 1 Prozent Karbolsäure sub cute immunisiert.

Resultat: Das Tier starb nach 5 Tagen aus unbekannter Ursache — hat an Gewicht 5 grm zugenommen.

Versuch 27. 25.VII.1906. Eine weiße, 100 grm Gewicht, mit Straßenvirus sub cute infizierte Ratte wird 15 Tage lang, 2 ccm täglich mit 30 ccm von frischer fixer Virusemulsion zu 10 Prozent mit 1 Prozent Karbolsäure immunisiert.

Resultat: Das Tier stirbt nach 12 Tagen an Wut — hat an Gewicht 20 grm zugenommen.

Versuch 28. 25.VII.1906. Eine weiße, 80 grm Gewicht, mit Straßenvirus sub cute infizierte Ratte wird 15 Tage lang, 2 ccm täglich mit 30 ccm von frischer fixer Virusemulsion zu 10 Prozent mit 1 Prozent Karbolsäure immunisiert.

Resultat: Das Tier stirbt nach 12 Tagen aus unbekannter Ursache — Gewicht 5 grm Verlust.

Versuch 29. 25.VII.1906. Sieben weißen, Gewicht 90—125—95—100—100—80—100 grm, mit Straßenvirus sub cute infizierten Ratten werden 15 Tage lang, 2 ccm täglich mit 30 ccm von frischer fixer Virusemulsion zu 10 Prozent mit 1 Prozent Karbolsäure immunisiert.

Resultat: Die Tiere überleben alle. Gewicht: zwei Ratten haben 10 und 5 grm zu und zwei 25 grm abgenommen. Die drei anderen sind unverändert geblieben.

Gegenversuch. 5.VII.1906. Fünf weiße Ratten (Gewicht 75—80—80—100—100 grm) mit $\frac{1}{3}$ ccm Straßenvirusemulsion subkutan infiziert, werden 10 Tage lang, 2 ccm täglich, im ganzen 20 ccm mit einer einfachen Lösung von Karbolsäure 2 Prozent ohne Virusemulsion immunisiert.

Resultat: 1. Drei am 5.VIII. 7 Uhr abends gelähmt, sterben den 6.VIII. 4 Uhr abends, d. h. nach 12 Tagen an Wut; 2. eine am 6.VIII. um 8 Uhr morgens gelähmt, stirbt den 6.VIII. um 7 Uhr abends, d. h. nach 12 Tagen an Wut; 3. eine überlebt; 4. Gewicht abgenommen in drei 5 grm, in zwei 10 grm.

Kontrollversuch. 25.VII.1906. Zehn weißen Ratten (Gewicht 70, 70, 60, 60, 60, 60, 70, 70, 70, 60 grm) werden subkutan mit $\frac{1}{3}$ ccm Straßenvirusemulsion infiziert.

Resultat: 1. Zwei Ratten sterben nach 5 Tagen aus unbekannter Ursache; 2. eine wird erst am 5.VIII. um 8 Uhr abends, d. h. nach 11 Tagen gelähmt und stirbt den 6.VIII. um 10 Uhr abends nach 12 Tagen an Wut;

3. drei gelähmt am 7.VIII. um 4 Uhr abends, d. h. nach 13 Tagen, sterben am 8.VIII. um 10 Uhr morgens, d. h. nach 14 Tagen; 4. vier gelähmt am 8.VIII. um 4 Uhr nachmittags; sterben am 8.VIII. um 7 Uhr abends, d. h. nach 14 Tagen; 5. Gewicht unverändert bei allen Tieren.

XII. Wie lange dauert die immunisierende Wirksamkeit dieses Impfstoffs?

Da sehr wichtig zu entscheiden war, ob der Impfstoff seine immunisierende Wirkung lange Zeit aufbewahrte, oder ob es vielmehr unbedingt nötig wäre, mit ganz frischem Impfstoffe zu immunisieren, wurden einige Versuche mit 3 und 4 Monate altem Impfstoffe angestellt.

Versuch 1. 29.V. 1906. Vier schwarze Ratten, die subkutan mit $\frac{1}{2}$ ^{cem} Emulsion von Straßenvirus infiziert worden waren, werden immunisiert, indem man am selben Tage beginnt, ihnen täglich in zwei Injektionen, 15 Tage lang, 2^{cem} Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent einzuspritzen, im ganzen werden also 30^{cem} verabreicht.

Resultat: Alle Tiere bleiben am Leben.

Versuch 2. 28.VI. 1906. Sieben schwarze Ratten, die subkutan mit $\frac{1}{2}$ ^{cem} Emulsion von Straßenvirus infiziert worden waren, werden immunisiert, indem man von demselben Tage an ihnen täglich in zwei Injektionen, 15 Tage lang, 2^{cem} Emulsion von fixem Virus zu 10 Prozent mit Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent, im ganzen also 30^{cem} verabreicht.

Resultat: Alle Tiere bleiben am Leben und völlig gesund, mit Ausnahme eines, welches nach 4 Tagen, aber nicht an Wut stirbt.

Kontrollversuch I. 29.V. 1906. Man impft drei schwarze Ratten subkutan mit derselben Straßenvirusemulsion wie bei Versuch I.

Resultat: Alle Tiere sterben in 13 bis 16 Tagen an Wut.

Kontrollversuch II. 28.VI. 1906. Sechs schwarze Ratten werden sub cute durch Injektion mit $\frac{1}{2}$ ^{cem} derselben Straßenvirusemulsion wie bei Versuch II geimpft.

Resultat: Sämtliche sechs Tiere gehen in 12 bis 13 Tagen an Tollwut zugrunde.

Schlußfolgerungen. Aus diesen zwei letzten an 135 Tieren vorgenommenen Versuchsreihen ergibt sich:

1. Daß die immunisierende Tätigkeit des Impfstoffes auch 4 Monate lang dauern kann.

2. Daß subkutan mit Straßenvirus infizierte Ratten nach Immunisierung mit 10 bis 18^{cem} Impfstoff, der aus Emulsion

von fixem Virus zu 10 Prozent und Karbolsäure zu 1 Prozent bestand, alle an Wut starben.

2. Beim Impfen der Tiere mit 20 bis 24^{ccm} Impfstoff sich die Tiere retteten und zwar im Verhältnis von 33 Prozent.

3. Beim Impfen der Tiere mit 28 bis 30^{ccm} retteten sich alle, 50 an der Zahl, d. h. im Verhältnis zu 100 Prozent. Andere Ratten, die in derselben Weise mit einer verdünnteren Emulsion zu 1 Promille behandelt wurden, blieben gleichfalls am Leben.

4. Von 13 mit 5^{ccm} Impfstoff behandelten Mäusen wurden nur 3 = 23 Prozent gerettet; während 4 andere mit 10^{ccm} geimpfte Mäuse sämtlich leben blieben. Folglich war bei den Mäusen die Impfung nur mit 10^{ccm} wirksam.

5. 34 Kontrolltiere (28 Ratten und 6 Mäuse) subkutan mit Straßenvirus infiziert, starben alle an Wut.

6. Weiße Ratten subkutan mit Straßenvirus infiziert und bloß mit Karbolsäurelösung von 2 Prozent subkutan als Gegenversuch behandelt, starben fast alle (80 Prozent).

7. Von allen Immunisierungsmethoden gegen die subkutane Injektion mit Straßenvirus erzielt man die besten Resultate, wenn man von frischem fixen Virus zu 10 Prozent und auch zu 1 Promille unter Zusatz von Karbolsäure zu 1 Prozent 30^{ccm} in 10 bis 20 Tagen mittels 15 bis 30 Einspritzungen verabreicht.

8. Aus diesen und früheren Versuchen ergeben sich zwei unwiderlegbare Tatsachen: 1. daß in Übereinstimmung mit den Erfahrungen sämtlicher Pasteurschen Institute die Wirkung der Impfung von der eingeführten Menge von Impfstoff abhängt; 2. daß, Gamaleia, Krasnitski usw. entgegen, und in Übereinstimmung mit Pasteur, Pascariu usw., die mittels Antiseptica (besser als durch Austrocknen) von ihrer Virulenz befreite Wutemulsion, einen Impfstoff darstellt, dessen Wirkung in nichts einem Impfstoffe aus vollvirulentem Materiale nachsteht.

Allgemeine Schlußfolgerungen.

Ich halte die oben angeführte Immunisierungsmethode gegen die Tollwut für besser als alle bisher erdachten und bekannten, und dies aus folgenden Gründen:

1. Die größere Wirkung dieser Methode ist deutlich an einer großen Anzahl von Tieren bewiesen worden. 100 Prozent von Tieren, die durch Straßenvirus sub cute infiziert und dann mit 28 bis 30^{cem} Impfstoff mit Karbolsäure behandelt wurden, wurden gerettet, während sämtliche Kontrolltiere, d. h. 100 Prozent, an Wut starben.

2. Einheit des Impfstoffes und Einfachheit der Zubereitung, anstatt der komplizierten und unzweckmäßigen (s. oben) Pasteurschen Abschwächungsmethode.

3. Der Impfstoff kann aufbewahrt und versandt werden, wie dies mit Sera und den anderen Impfstoffen geschieht, so daß man ihn überall vorfinden und jedem Sanitätsbeamten zur Verfügung stellen kann, um auf diese Weise die Behandlung sofort nach erfolgtem Bisse an Ort und Stelle vornehmen zu können.

4. Die hohen Ausgaben, die auf den Gemeinde- und Provinzialverwaltungen ruhen und zur Einrichtung und Erhaltung der Pasteurschen Institute bestimmt sind, könnten um vieles herabgesetzt werden.

5. Außer den geringen Ausgaben würden für die Privatpersonen die Unannehmlichkeiten langer Reisen und ein längerer Aufenthalt am Ort der Behandlung vermieden.

6. Würde sich der Impfstoff in jedem Orte befinden, so würde es nicht mehr vorkommen, daß eine große Anzahl von Gebissenen sich oft 5 bis 10, ja selbst 15 Tage nach dem Biß im Institute vorstellt, und auf diese Weise die Wirkung der Kur beeinträchtigt. Auch würde der Prozentsatz derjenigen viel geringer sein, die, sei es aus Unwissenheit, sei es aus anderen Gründen es unterlassen, sich der Impfung zu unterziehen.

7. Ein anderer nicht zu übergehender Vorteil dieser Methode ist, daß die ganze alltägliche Arbeit für die Entnahme des Markes der wutkranken Kaninchen, für die Impfung der

Kaninchen, deren Unterhalt, kurz, die Bereitung der Markserien und des Impfstoffes, ausgeschaltet sein würde.

8. Ein letzter und bedeutender Vorteil der Methode ist, daß die Möglichkeit trauriger Zwischenfälle, wie z. B. Abszesse, bisweilen tödlicher Septikämien, die vom Impfstoff verursacht werden, über dessen Keimfreiheit man nie sicher sein kann, erheblich vermindert werden würde.

Alle diese Vorteile, wiederhole ich, sind nicht in den wenn auch wertvollen Methoden von Pasteur, Ferron, Högyes, Puscariu zu finden.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Dr. Gaffky.)

Experimentelle Studien über die Übertragung des Rückfallfiebers durch Zecken.

Von

Dr. B. Möllers,
Oberarzt im 2. Garde-Ulanen-Regt.

Nachdem zuerst im November 1904 bei Eingeborenen, die an afrikanischem Rückfallfieber erkrankt waren, in Uganda von den englischen Forschern P. H. Ross und A. D. Milne (1) Spirochäten im Blut nachgewiesen waren, gelang es im folgenden Jahre Dutton und Todd (2) östlich des Kongo und R. Koch (3) in Deutsch-Ost-Afrika den einwandfreien Nachweis zu führen, daß die Erkrankung durch den Biß einer dort heimischen Zeckenart, des *Ornithodoros moubata*, auf den Menschen und auf Tiere übertragen wird. Bei weiteren Untersuchungen zeigte sich dann die interessante Tatsache, daß auch die von infizierten Eltern abstammenden jungen Zecken, nachdem sie das Ei verlassen haben, vollkommen infektionstüchtig sind. Wenn man dieselben einem gesunden Affen ansetzte, so wurde er infiziert und erkrankte häufig so schwer an Rekurrens, daß er der Krankheit erlag.

Diese Infektion von Affen durch frisch ausgekrochene Zecken, die niemals mit einem rekurrenskranken Tiere in Berührung gekommen waren, ist nicht nur für das afrikanische Rückfallfieber, sondern auch im allgemeinen für die ganze Infektionslehre wichtig.

Um einen näheren Einblick in die biologisch noch nicht genügend geklärten Verhältnisse zu bringen, forderte mich Hr. Geheimrat R. Koch auf, unter seiner Leitung einige interessante Fragen an der Hand von Fütterungsversuchen an Zecken zu bearbeiten, die er aus Deutsch-Ost-Afrika mitgebracht hatte.

Es sollte insbesondere festgestellt werden, wie oft die Zecken imstande sind, das ostafrikanische Rückfallfieber auf gesunde Versuchstiere zu übertragen, ohne von neuem an infizierten Tieren gesogen zu haben. Weiterhin sollte ich untersuchen, ob die Nachkommen von solchen Zecken, die zwar selbst noch infiziert haben, aber niemals an kranken Tieren gefüttert waren, die Infektion weiter übertragen können.

Die von mir benutzten Zecken waren größtenteils auf der Karawanenstraße von Dar-es-Salam nach Mrogoro in dem Ort Chakenge gesammelt, woselbst R. Koch (4) 50 Prozent dieser Tiere infiziert fand.

Die Aufbewahrung der Zecken geschieht in Glasgefäßen, die zu einem Viertel bis zur Hälfte mit trockener Erde angefüllt sind, in einem Zimmer, dessen Temperatur auf 20 bis 25° gehalten wird. Läßt man das Gefäß ruhig an dunkler Stelle stehen, so ist in dem Sande von den Zecken nichts zu bemerken, da sie sich vollkommen darin verbergen. Dieses Bild ändert sich, sobald man den Inhalt des Gefäßes in eine größere Glasschale umgießt und diese etwas erwärmt; plötzlich ist der ganze Inhalt in lebhaftester Bewegung; jedes einzelne Tier bemüht sich, so schnell wie möglich die normale Körperlage mit der Bauchseite und den Beinen nach unten einzunehmen und eilt aus dem in die Mitte der Glasschale gegossenen Sand heraus nach der Peripherie zu. Besonders charakteristisch ist dieses Verhalten bei jungen Zecken, die sich in großen Klumpen von mehreren Dutzend Exemplaren am Rande des Glasgefäßes ansammeln, so daß sie auf diese Weise leicht zur Fütterung aus dem Sande isoliert werden können.

Die Fütterung der Zecken findet in der Weise statt, daß man sie auf die rasierte Bauchhaut des betreffenden Versuchstieres setzt, wo sich zumal die jüngeren Exemplare, wenn sie hungrig sind, mit ihrem Rüssel schnell fest saugen. Bei ausgewachsenen Zecken dauert es in der Regel länger, bis sämtliche Tiere mit dem Saugen beginnen. Der Zeitpunkt, den die Zecken zu ihrer Sättigung nötig haben, schwankt zwischen $\frac{1}{2}$ und 4 Stunden und hängt von dem Alter der Tiere und der Zeit ab, seit welcher sie nicht mehr gefüttert sind. Im allgemeinen saugen die jungen Tiere schnell und bis zur maximalen Füllung, während die älteren gelegentlich überhaupt nicht oder nur kurze Zeit am Wirtstiere saugen. Während des Saugaktes sondern die Zecken aus der Analöffnung neben einem hellrötlichen, klaren, dünnflüssigen Sekret eine graugelbliche, schmierige Masse von honigartiger Konsistenz ab, mit welcher sie sich und das Wirtstier beschmutzen.

Auffallend ist der Größenunterschied, den man bei Zecken, die von denselben Eltern abstammen und immer an denselben Wirtstieren gefüttert

sind, häufig wahrnehmen kann. Schon nach 4 bis 5 maligem Saugen kann man neben Exemplaren von 3 bis 4^{mm} Länge solche von 8 bis 9^{mm} sehen. In den meisten Fällen zeichnen sich die weiblichen Individuen durch ihre Größe aus, während die männlichen kleiner bleiben; bei gleichaltrigen Tieren kommen jedoch in beiden Geschlechtern die verschiedensten Größen vor.

Nachdem sich die Zecken vollgesogen haben, verlassen sie das Wirtstier und verkriechen sich, wenn man sie in das mit Sand gefüllte Standgefäß zurücksetzt, schnell in der Erde. Setzt man die vollgesogenen Zecken nach der Fütterung zunächst in ein leeres Glasgefäß, so kann man nach kurzer Zeit die Kopulation beobachten, die in der Weise geschieht, daß das kleinere Männchen auf die Bauchseite des größeren Weibchens kriecht, und daß Männchen und Weibchen sich in der Weise miteinander verhaken, daß sich die beiderseitigen Bauchflächen berühren und die Genitalöffnungen nahezu aufeinander zu liegen kommen.

Die Argasiden, welche die Genera Argas und Ornithodoros umfassen, zeichnen sich gegenüber den anderen Zeckenarten durch mancherlei Besonderheiten aus. Die Eierablage erfolgt in kleinen Haufen schubweise, nachdem die geschlechtsreifen Zecken jedesmal von neuem wieder Blut gesogen haben. Von einer Mutterzecke wurden bis 80 Eier gezählt, die in einem Haufen zusammengeballt der Bauchseite der Mutter anliegen.

Die Eier sind fast kugelförmig, 0.8^{mm} im größten Durchmesser. Bei der hier üblichen Aufbewahrung der Zecken in mit feinem Sande gefülltem Glasgefäße pflegten die Mutterzecken ihre Eier so zu legen, daß dieselben dem Lichte zu, also von außen dem Beschauer sichtbar, gruppiert waren, während die Mutter im Sande unsichtbar blieb. Bei manchen Gefäßen war es so möglich, von außen bis zu 20 verschiedene Eierhaufen zu zählen. Die ersten Eier pflegen etwa 14 Tage nach der entsprechenden Fütterung der geschlechtsreifen Zecken sichtbar zu werden als etwa hirsekorngroße dunkelgraue Kügelchen, deren Zahl allmählich zunimmt.

Nach einigen Wochen wird die Eihaut gesprengt, die Larve kriecht aber nicht heraus, sondern bleibt noch eine weitere Woche in der Eihülle liegen und häutet sich in ihr. Im Gegensatz zu den meisten anderen Zeckenarten schlüpft das schon innerhalb der Eischale zur achtbeinigen Nymphe umgewandelte Tier, etwa 1^{mm} lang, gleichzeitig aus Eischale und Larvenhaut heraus, wie dies von R. Koch und der Liverpooler Schule gefunden wurde. Unter dem Mikroskop konnte dieser Vorgang von W. Dönitz (5) beobachtet werden, wobei in der Eischale noch deutlich die Exuvie, d. h. die abgeworfene Haut der sechsbeinigen Larvenform, zu erkennen ist.

Das Auskriechen der von einer Fütterung ausgehenden jungen Zeckengeneration geschieht nicht gleichzeitig, sondern kann sich auf den Zeitraum einer Woche erstrecken, so daß die im folgenden angegebenen Zeiten nur als Mittelwerte aufzufassen sind. Nach einigen Tagen, besser allerdings etwa 4 Wochen nach dem Auskriechen können die jungen Zecken zum ersten Male an einem geeigneten Wirtstier gefüttert werden. Häufig schon nach $\frac{1}{2}$ Stunde haben sich die jungen Tiere so vollgesogen, daß sie über das Doppelte ihrer bisherigen Größe erreichen und eine sackförmige Gestalt annehmen.

Etwa 2 Wochen nach geschehener Fütterung beginnen sich die Zecken zu häuten. Dieser Vorgang wird dadurch eingeleitet, daß die alte hart gewordene Haut des Tieres vorn und an den Seiten gesprengt wird und dadurch in eine Rücken- und eine Bauchschuppe zerfällt, welche letztere deutlich an den acht Beinen zu erkennen ist. Das verjüngte Tier kriecht dann aus dem Spalt heraus und läßt die Haut an Ort und Stelle zurück. Die Häutung wiederholt sich regelmäßig nach jeder Fütterung der Zecken bis zum Beginn der Geschlechtsreife, welche im allgemeinen nach der 6. bis 7. Fütterung bzw. Häutung eintritt; alsdann häuten sich nur noch die männlichen Tiere. Die Weibchen legen nach jeder weiteren Fütterung von neuem Eier, ohne sich zu häuten.

Im Alter von etwa 2 Jahren sterben die ausgewachsenen Zecken in der Gefangenschaft allmählich ab, indem sie bei den Fütterungen nur Nahrung aufnehmen und dann vertrocknen. Ein vollgesogenes erwachsenes Tier kann eine Größe von $12 \times 10 \times 7$ mm erreichen. Ausgewachsene Zecken können bis zu einem Jahre am Leben bleiben, ohne an einem Wirtstier Blut gesogen zu haben.

Die zu unseren Versuchen benutzten Zecken wurden an Affen, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und Mäusen gefüttert, indem sie an der rasierten Bauchhaut angesetzt wurden.

Ein Versuch, die natürlichen Infektionsverhältnisse nachzuahmen, indem die Zecken zusammen mit ihrem Wirtstier über Nacht in ein Glasgefäß gesetzt wurden, scheiterte daran, daß die meisten der Zecken von den Versuchstieren gefressen wurden, bevor oder nachdem sie gesogen hatten. Auch war wegen der schwierigen Kontrolle die Gefahr einer Hausinfektion zu befürchten, wenn einzelne Zecken über Nacht auf irgend eine Weise das Gefäß verlassen hätten.

Von den Versuchstieren zeigten sich die Affen für die Infektion am empfänglichsten, indem sie in der Regel mit starken Fieberanfällen erkrankten und häufig der Infektion erlagen. Von 25 bei unseren Versuchen benutzten Affen starben allein 20. Meerschweinchen und Kaninchen zeigten sich für die Rekurrenversuche weniger geeignet.

Sehr empfänglich für die Infektion waren leider auch die Menschen, indem im Frühjahr 1906 kurz nacheinander zwei Laboratoriumsdiener an Rückfallfieber erkrankten. Obwohl keiner derselben sich entsinnen konnte, von einer Zecke gebissen zu sein oder sich bei den Fütterungen der Versuchstiere eine Verletzung zugezogen zu haben, so muß eine unbemerkt gebliebene Infektion, wahrscheinlich durch Zeckenbiß, doch als sicher angenommen werden. Während bei dem einen nur zwei leichte Fieberanfälle eintraten, erkrankte der andere mit mindestens sieben schweren Anfällen, die eine mehrmonatliche Krankenhausbehandlung erforderten. Beide Patienten wurden vollkommen wiederhergestellt und sind auch später frei von Rückfällen geblieben.

Laboratoriumsinfektionen scheinen übrigens bei Rückfallfieber relativ leicht und häufig vorzukommen. So berichteten unter anderen im September 1906 die Engländer Breinl und Kinghorn (6) der Liverpool School von vier Hausinfektionen an Rekurrens, welche bei einem Arzt und drei Dienern auftraten und meist einen langwierigen Verlauf nahmen; bei allen trat jedoch völlige Genesung ein.

Bei den nachfolgenden Zeckenfütterungsversuchen wurde das Blut eines jeden Tieres, an dem die Zecken gesogen hatten, mindestens 3 bis 4 Wochen lang täglich mikroskopisch untersucht. Bei den infizierten Ratten waren die Spirillen in der Regel zuerst am 8. bis 10. Tage nach der Fütterung im Blute, meistens in sehr spärlicher Anzahl nachweisbar und verschwanden nach wenigen Tagen wieder. Die von einer Infektion mit Rekurrens genesenen Tiere erwerben dadurch einen gewissen Grad von aktiver Immunität gegen Reinfektion; die Wirksamkeit derselben entspricht direkt der Schwere des Anfalls. Wurden die oben erwähnten Ratten, die nur eine leichte Erkrankung durchmachten, später mit dem virulenten Rekurrensmäusepassagestamm nachinfiziert, so erkrankten sie prompt nach 2 Tagen an Rückfallfieber. Affen dagegen, die gleich nach der Fütterung im allgemeinen schwere Fieberanfälle durchmachten, blieben bei späterer Nachinfektion gesund.

Im nachfolgenden seien nun die Hauptergebnisse der Zeckenfütterungsversuche an einigen besonders instruktiven Versuchsprotokollen gezeigt.

Protokoll I.

110 junge Zecken, ausgekommen in Afrika Ende Juni 1905, werden dort am 30. VII. 05 an einem rekurrenskranken Affen gefüttert.

6. XI. 05. Die Zecken saugen am gesunden Affen Nr. 1, welcher am 14. XI. 05 an Rekurrens erkrankt und drei typische Fieberanfälle durchmacht.

16. XII. 05. Die Zecken, im ganzen 104, die sich gehäutet haben, saugen am gesunden Affen Nr. 2, der am 23. XII. 05 erkrankt.

17. I. 06. Die Zecken, 89 Stück, haben sich gehäutet und saugen am gesunden Affen Nr. 3, der am 23. I. 06 erkrankt.

5. II. 06. Die Zecken, im ganzen 82, haben sich gehäutet und saugen am gesunden Affen Nr. 4, welcher am 13. II. 06 erkrankt.

28. II. 06. Die Zecken, 78 Stück, von denen einzelne Eier gelegt hatten, haben sich gehäutet. Aus den Eiern sind 30 junge Zecken ausgekrochen, welche in ein anderes Gefäß gesetzt werden.

31. III. 06. Die alten Zecken, im ganzen 78, werden am gesunden Affen Nr. 5 gefüttert, der am 8. IV. 06 erkrankt, zwei Fieberanfälle durchmacht und am 4. V. 06 bei subnormalen Temperaturen stirbt.

17. IV. 06. In dem Glasgefäß sind 18 Haufen Eier sichtbar.

3. V. 06. Zahlreiche junge Zecken sind ausgekrochen; sie werden als zweite Serie in ein anderes Gefäß gesetzt. Neben den zahlreichen Häuten der jungen Zecken sind im Gefäß nur noch die Häute von 9 erwachsenen Zecken sichtbar. Es häutet sich also nur noch ein Teil der alten Zecken.

14. V. 06. Die alten Zecken, im ganzen noch 76, saugen am gesunden Affen Nr. 6, welcher am 22. V. 06 erkrankt und bereits am 28. V. 06 an Rekurrens stirbt.

1. VII. 06. Aus den nach der letzten Fütterung Anfang Juni gelegten Eiern sind zahlreiche junge Zecken ausgekrochen; sie werden als dritte Serie in ein anderes Gefäß gesetzt.

9. VII. 06. Die alten Zecken, 75 Stück, werden am gesunden Affen Nr. 7 gefüttert, welcher am 19. VII. 06 zum ersten Male Spirillen im Blute zeigt und am selben Tage mit subnormaler Temperatur stirbt.

31. VIII. 06. Aus den Ende Juli gelegten Eiern sind ziemlich viele junge Zecken ausgekrochen, die als vierte Serie in ein anderes Gefäß kommen.

6. IX. 06. Die alten Zecken, im ganzen 65, saugen am gesunden Affen Nr. 8, welcher am 13. IX. 06 an Spirillen erkrankt und am 17. IX. 06, also 11 Tage nach der Infektion stirbt.

30. X. 06. Von den Mitte Oktober gelegten Eiern sind als fünfte Serie ziemlich viele junge Zecken ausgekrochen, welche sich gehäutet haben. Neben den Häuten der jungen Zecken finden sich keine Häute von Erwachsenen im Gefäß.

7. XI. 06. Die alten Zecken, von denen noch 48 lebensfähig sind, werden am gesunden Affen Nr. 9 gefüttert, welcher am 14. XI. 06 erkrankt und, nachdem er drei leichte Fieberanfälle durchgemacht hat, später gesund bleibt.

4. I. 07. Von den Ende November 1906 gelegten Eiern sind ziemlich viele junge Zecken ausgekrochen; sie kommen als sechste Serie in ein anderes Gefäß.

11. I. 07. Die alten Zecken, im ganzen 35, saugen am gesunden Affen Nr. 10, der am 19. I. 07 an Rekurrens erkrankt und, nachdem er drei Fieberanfälle durchgemacht hat, später gesund bleibt.

3. III. 07. Von den Ende Januar 1907 gelegten Eiern sind ziemlich viele junge Zecken ausgekrochen, die als siebente Serie in ein anderes Gefäß kommen.

12. III. 07. Die Zecken, von denen sich noch 23 als lebensfähig erweisen, werden am gesunden Affen Nr. 11 gefüttert. Dieser macht weder

einen typischen Fieberanfall durch, noch können Spirillen im Blute nachgewiesen werden.

10.IV. 07. Von den Ende März 1907 gelegten Eiern sind ziemlich viele junge Zecken ausgekrochen, welche als achte Serie in ein anderes Gefäß kommen. Von den alten Zecken sind noch 10 am Leben. Keine derselben hat sich gehäutet.

10.V. 07. Die alten Zecken, von denen 7 saugen, werden am gesunden Affen Nr. 12 gefüttert, welcher nicht mehr erkrankt.

Aus dem Protokoll geht hervor, daß die Zecken bei jedesmaliger Fütterung zehnmal hintereinander gesunde Affen mit Rekurrenz infiziert haben. Die ersten acht Affen erlagen der Infektion; der neunte und zehnte sind noch am Leben, nachdem sie eine leichte Erkrankung überstanden. Affe Nr. 11 und 12 erkrankten nicht mehr. Einige der Zecken — ursprünglich 110, bei der letzten Fütterung nur noch 7 — haben somit bei durchschnittlich alle 2 Monate erfolgter Fütterung ein Alter von etwa 2 Jahren erreicht. Sie legten nach der fünften Fütterung zum ersten Male Eier; dies wiederholte sich nach jeder folgenden Fütterung. Noch $1\frac{1}{2}$ Jahre, nachdem sie an einem kranken Tiere gesogen, erwiesen die Zecken sich imstande, die Spirillen auf gesunde Tiere zu übertragen.

Sehr beachtenswert ist das allmähliche Schwächerwerden der Infektion. Die quantitative Verringerung bietet keine ausreichende Erklärung dafür; doch muß weiteren Versuchen vorbehalten bleiben, darüber Klarheit zu schaffen. Es sei noch erwähnt, daß die Nachkommenschaft unserer Zecken bis zur sechsten Serie von Eiern einschließlich (ausgekrochen 4. I. 1907) sich als infektionstüchtig zeigte. Bei der späteren Nachkommenschaft war dies nicht mehr der Fall.

Ich wende mich nun zum zweiten Teile meiner Aufgabe, zur Prüfung der Frage, ob die Nachkommen von solchen infektiösen Zecken, die niemals an kranken Tieren gefüttert waren, noch imstande sind, Rekurrensspirillen zu übertragen, d. h. ob die Spirillen sich unter diesen Umständen bis in die III. Generation vererben.

Protokoll II.

48 alte Zecken, am 11. XI. 05 an einem rekurrenzkranken Affen gefüttert, haben am 27. XI. 05 viele Haufen Eier gelegt.

25. XII. 05. Aus den Eiern sind über 900 junge Zecken ausgekommen, die in den Gefäßen III, IV und V untergebracht werden.

Protokoll III.

Die Zecken aus Gefäß III, anfangs 303, werden in der Zeit vom 9. I. 06 bis zum 20. II. 07 siebenmal an gesunden Affen oder Ratten gefüttert. Sie infizieren das betreffende Tier stets.

Es sind im ganzen noch 49 Zecken vorhanden, als sie am 11. III. 07 zum ersten Male Eier legen.

25. III. 07. Es kriechen 300 junge Zecken aus.

8. V. 07. Die jungen Zecken werden an gesunder Ratte gefüttert.

19. V. 07. Im Blute der Ratte werden Spirillen gefunden.

Protokoll IV.

Am 25. XII. 05 werden 482 eben ausgekommene junge Zecken in Gefäß IV gesetzt. [Betreffs Herkunft dieser Zecken vergleiche Protokoll II.]

Sie werden in der Zeit vom 13. I. bis zum 13. XI. 06 sechsmal an gesunden Mäusen und Ratten gefüttert und infizieren das betreffende Versuchstier stets.

Es sind im ganzen noch 55 Zecken vorhanden, als sie am 16. XII. 06 zum ersten Male Eier legen.

10. I. 07. Es kriechen aus den Eiern 310 junge Zecken aus.

24. I. 07. Die Zecken werden am gesunden Affen Nr. 21 gefüttert.

10. III. 07. Die jungen Zecken haben sich gehäutet; der Affe Nr. 21 hat seither drei Fieberanfalle gehabt, ohne daß trotz täglicher Blutuntersuchung bei ihm Spirillen gefunden werden konnten. Bei späterer Nachinfektion mit Rekurrensspirillen erweist sich der Affe immun.

20. III. 07. Die jungen Zecken, im ganzen 282, von denen etwa 60 nicht ordentlich gesogen haben, werden an gesunder Ratte gefüttert, welche am 30. III. an Spirillen erkrankt.

Protokoll V.

Am 25. XII. 05 werden 120 eben ausgekommene junge Zecken in Gefäß V gesetzt. [Betreffs Herkunft dieser Zecken vergleiche Protokoll II.]

Sie werden in der Zeit vom 31. I. bis zum 15. XI. 06 sechsmal an gesunden Ratten gefüttert, die stets erkranken.

Es sind im ganzen noch 67 Zecken vorhanden, als sie am 1. XII. 06 zum ersten Male Eier legen.

20. I. 07. Es kriechen aus diesen Eiern 127 junge Zecken aus.

6. II. 07. Die jungen Zecken werden an gesunder Ratte gefüttert, welche am 23. II. an Spirillen erkrankt.

25. IV. 07. Die jungen Zecken haben sich gehäutet und saugen — im ganzen 108 Stück — an gesunder Ratte, welche am 6. V. 07 an Rekurrens erkrankt.

Von den alten Zecken sind nach der siebenten Fütterung noch 60 am Leben, als sie am 17. IV. 07 zum zweiten Male Eier legen.

5. VI. 07. Es kriechen aus diesen Eiern 320 junge Zecken aus.

9. VII. 07. Die jungen Zecken werden an gesunder Ratte gefüttert, welche am 23. VII. an Spirillen erkrankt.

Aus den angeführten Protokollen ersehen wir, daß sich die Spirillen des ostafrikanischen Zeckenfiebers bis in die dritte Zeckengeneration vererbten, während die II. Generation niemals an einem rekurrenskranken Tiere gefüttert wurde.

Zecken, deren Eltern ihre Infektiosität ausschließlich durch Vererbung erhalten haben, ohne daß beide Generationen jemals mit einem rekurrenskranken Tiere in Berührung gekommen sind, sind also noch imstande, gesunde Tiere mit Rückfallfieber zu infizieren.

Die Wichtigkeit dieser Tatsache für die Epidemiologie des afrikanischen Rückfallfiebers ist ohne weiteres klar und bedarf keiner Erläuterung.

Die Möglichkeit solcher Vererbung legt den Gedanken nahe, daß auch bei anderen durch Zecken übertragenen Seuchen ähnliche Verhältnisse herrschen. Leider bietet ein Experimentieren mit Rhipicephalen ungleich größere Schwierigkeiten als das mit den Argasiden, die sich relativ leicht an Versuchstieren füttern lassen.

Literatur-Verzeichnis.

1. Ph. Ross and A. D. Milne, Tick fever. *Brit. med. Journal.* 1904. 26.XI p. 1458.
2. Dutton and Todd, The nature of human Tick fever in the eastern part of the Congo-free-state 1905. *Memoir XVII of the Liverpool School of Tropical Medicine.*
3. R. Koch, Vorläufige Mitteilungen über die Ergebnisse einer Forschungsreise nach Ostafrika. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1905. 25. XI. S 566.
4. Derselbe, Über afrikanische Rekurrens. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1906. Nr. 7.
5. W. Dönitz, *Die wirtschaftlich wichtigen Zecken mit besonderer Berücksichtigung Afrikas.* Leipzig 1907.
6. Breinl and Kinghorn, An experimental study of the parasite of the afrikan Tick fever. Sept. 1906. *Memoir XXI of the Liverpool School of Tropical Medicine.*

[Aus dem königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.]

(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Dr. Gaffky.)

(Abteilungs-Vorsteher: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Frosch.)

Über das Vorkommen pathogener Staphylokokken auf der Körperoberfläche des Menschen und seiner Umgebung.

Von

Dr. Josef Koch.¹

Die Frage der Differenzierung der Staphylokokken ist in letzter Zeit häufiger Gegenstand der Untersuchung gewesen. Die Untersuchungen entsprachen einem praktischen Bedürfnis, nämlich der Beantwortung der Frage, ob die auf der Körperoberfläche des Menschen, seinen Schleimhäuten, Kleidung und in seiner Umgebung saprophytisch vorkommenden Arten mit denen pathologischer Prozesse identisch sind. Die Bedeutung dieser Frage für die menschliche Pathologie kennzeichnen treffend die Worte Neissers und Wechsbergs: „So finden wir *Staphylococci aurei* im Eiter, auf der gesunden Haut, auf gesunden und kranken Schleimhäuten, in der Vaccine, in der Luft usw. und immer wieder erhebt sich die Frage: Ist das jedesmal der typische *Staphylococcus pyogenes aureus*, oder aber haben wir es, wie vielleicht bei den Streptokokken, mit verschiedenen für den Menschen pathogenen Arten zu tun? — eine Frage, die in ihren therapeutischen und hygienischen Konsequenzen gleich wichtig ist. Und dieselbe Unsicherheit besteht vielleicht in noch größerem Maße für die weißen Staphylokokken. Auch diese findet man sehr häufig als augenscheinlich harmlose Saprophyten, bis man bei manchen Befunden wieder an ihre pathologische Bedeutung gemahnt wird.“

¹ Die Untersuchungen auf Hämolyisin und Leukozidin im Filtrat sind von Hrn. Dr. Paus (Christiania) und mir gemeinschaftlich ausgeführt. Für seine Mitarbeit sage ich ihm meinen besten Dank.

Auch die Frage der Häufigkeit des Vorkommens pathogener Staphylokokken auf dem Menschen und in seiner Umgebung, die Frage der Virulenz und manche andere ist noch eine offene.

Zur Lösung dieser wichtigen Frage der Differenzierung der Staphylokokken sind viele Methoden angegeben und versucht worden.

Im Jahre 1900 fand Kraus¹, daß Staphylokokken auf Agar, den er mit Blutkörperchen und Staphylokokken bestrichen, bei Bruttemperatur ein Ferment, das Hämolsin oder Hämotoxin bildeten. Das Verdienst, die Hämolsinbildung genauer studiert zu haben, gebührt Neisser und Wechsberg², die in einer noch viel zu wenig gewürdigten Arbeit Näheres über die Giftwirkung der Eiterkokken³ mitgeteilt haben. Nach ihnen tritt das Hämolsin am besten in alkalischen Bouillonkulturen auf, die längere Zeit bei 37° C gehalten sind. Am 4. Tage beginnt die Bildung des Giftes und erreicht am 13. bis 15. Tage den Höhepunkt.

Zum Nachweis des Hämolsins bedienen sie sich folgender Versuchsanordnung:

Bouillonkulturen der Staphylokokken wurden zwischen dem 10. und 15. Tage durch Bakterienfilter filtriert, darauf das keimfreie Filtrat zu einem Tropfen Kaninchenblut in fallenden Dosen hinzugesetzt. Nachdem die Lösungen 1 Stunde im Brutschrank bei 37° gewellt, kamen sie 24 Stunden in den Eisschrank.

Das Gift der Staphylokokken, das Hämolsin, wirkt fermentartig auf das Stroma der roten Blutkörperchen, so daß aus ihnen der rote Blutfarbstoff austritt. Je nach der Intensität des Giftes verlieren alle Blutzellen oder nur ein Teil derselben ihren Farbstoff. Im Reagenzglas sieht man bei vollständiger Hämolyse eine klare Hämoglobinlösung, während bei unvollständiger ein mehr oder minder starker Bodensatz unveränderter Blutkörperchen übrigbleibt.

Schon vor der Entdeckung des Hämolsins durch Kraus hatte van de Velde⁴ ein anderes giftiges Sekretionsprodukt der Eiterkokken nachgewiesen, das Leukozidin. Man kann sich von seiner Gegenwart leicht überzeugen, wenn man einen Tropfen des Staphylokokkenfiltrates auf ein Deckglas bringt. An normalen Leukozyten, die man in den Tropfen

¹ Kraus, Über Hämolsine und Antihämolsine. *Wiener klin. Wochenschrift*. 1900. Nr. 3.

² Neisser u. Wechsberg, Über das Staphylotoxin. *Diese Zeitschr.* Bd. XXXVI.

³ Der Kürze halber bezeichne ich als „Eiterkokken“ die aus menschlichen Krankheitsherden stammenden und als „saprophytisch pyogene Kokken“ die von der Haut, Kleidung, Luft usw. stammenden.

⁴ Van de Velde, Étude sur le mécanisme de virulence du staphylocoque pyogène *La cellule*. T. X. Fasc. 2.

hineinbringt, kann man sodann beobachten, wie die weißen Blutkörperchen bald ihre amöboiden Bewegungen verlieren, aufquellen und ihre Struktur weiter eine degenerative Körnung erfährt. Die Leukozyten sterben also unter der Einwirkung des Giftes ab. van de Velde nannte daher das Gift Leukozidin.

An einer Reihe von Staphylokokkenstämmen konnten Neisser und Wechsberg mit ihrer Methode den wichtigen Nachweis führen, daß alle aus menschlichen Eiterungen gezüchteten Aureusstämme ein Hämolysin bilden.

Hämolysin bildeten ebenfalls drei aus Ekzem gezüchtete Aurei, ferner solche, die von kranker und gesunder Schleimhaut des Mundes, aus der Laboratoriumsluft usw. stammten.

Im Gegensatz zu diesen fanden sie in der Luft, Haut usw. auch hämolysinfreie Aurei.

Neisser und Wechsberg konstatierten weiter die Tatsache, daß das Hämolysin ein konstantes Merkmal des typischen *Staphylococcus pyogenes aureus* ist, und daß es stets nachzuweisen ist, sofern man unter den angegebenen Bedingungen züchtet und untersucht.

In Konsequenz dieser Anschauung müssen Neisser und Wechsberg deshalb auch annehmen, daß die von ihnen in Luft, auf Schleimhäuten und in einer frischen Vaccine gefundenen hämolysinbildenden Aurei als typische *Staphylococci pyogenes aurei* anzusprechen sind. Auch die Ekzemaurei waren in nichts vom typischen *Staphylococcus pyogenes aureus* verschieden.

Bezüglich der Albusstämmen bemerken Neisser und Wechsberg, daß die beiden als alleinige Mikroben aus Eiter gezüchteten Albusstämmen sich nur durch ihren Farbstoff vom typischen *Staphylococcus pyogenes aureus* unterscheiden. Sie bildeten beide Hämolysin, das sich durch die Neutralisierung mit künstlichem Aureusantitoxin als identisch mit dem Aureuslysin erwies.

Die übrigen Albusstämmen, von Haut usw. stammend, bildeten keine Spur Hämolysin, und manche unterschieden sich kulturell durch Nichtverflüssigung der Gelatine von dem typischen *Staphylococcus pyogenes albus*.

Neisser und Wechsberg kommen zu dem Resultat, daß der typische, pathogene *Staphylococcus pyogenes aureus* und der typische *Staphylococcus pyogenes albus* ein Hämolysin, und zwar ein und dasselbe Hämolysin bilden. Außer diesen pyogenen Arten, die kulturell und durch das Toxin wohl charakterisiert sind, gibt es sowohl Aureus- wie Albusstämmen, die sich häufig schon kulturell, sicher aber durch den dauernden Mangel jeglicher Hämolysinbildung von den typischen pyogenen Arten unterscheiden.

Ob ihr Urteil als ein endgültiges anzusehen ist, oder ob es wegen eines zu kleinen Materiales noch der Modifizierung bedarf, wird nach ihrer Ansicht nur durch eine vielfältige Untersuchung zahlreicher Stämme zu entscheiden sein.

Einen weiteren wichtigen Fortschritt in der Differenzierung der Staphylokokken brachten uns die Untersuchungen von Kolle und Otto¹ über die Agglutination der Eiterkokken.

Spritzt man nach den Angaben dieser Autoren abgetötete Agarkulturen wiederholt Kaninchen intravenös ein, so reagiert das Serum dieser Tiere mit Bildung von Agglutininen. Ein derartiges, mit pathogenen Kokken hergestelltes Serum agglutiniert saprophytische Staphylokokken nicht, umgekehrt kann man nach den Angaben Kolles und Ottos mit saprophytischen Staphylokokken kein Serum herstellen, welches pathogene Traubenkokken zur Häufchenbildung bringt.

Auch Proescher² konnte fast gleichzeitig mit Kolle und Otto berichten, daß sämtliche Staphylokokken, die aus menschlichem Eiter in Reinkultur gezüchtet waren, von dem Staphylokokkenserum agglutiniert, während diejenigen, die aus Luft, der normalen Haut und Vaccine isoliert waren, durch das Serum nicht beeinflußt werden.

An einem großen Material haben Klopstock und Bockenheimer³ die von Kolle und Otto gefundenen, für die Klinik, speziell für den Chirurgen so wichtigen Tatsachen nachgeprüft. An ihrem großen Material von menschenpathogenen Stämmen konnten sie dieselben in der Hauptsache bestätigen.

Bemerkenswerte Ergebnisse über die Staphylokokken des chronischen Ekzems brachte eine gleichnamige Arbeit von Veiel.⁴ Durch die Agglutination konnte er 20 aus Ekzemen gezüchtete Staphylokokkenstämme als pathogene nachweisen. Die Schlußsätze seiner Arbeit lauten:

„1. Beim chronischen Ekzem finden sich regelmäßig, in den Anfangsstadien ausschließlich, in späteren, fast ausschließlich Staphylokokken, die mit den eigentlichen Eiterkokken identisch sind und sich von den Staphylokokken der normalen Haut unterscheiden lassen.

2. Ob den Staphylokokken beim Entstehen des chronischen Ekzems eine ätiologische Bedeutung zukommt, läßt sich nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse weder bejahen noch verneinen. Dagegen berechtigt

¹ Kolle und Otto, Die Differenzierung der Staphylokokken mittels der Agglutination. *Diese Zeitschrift*. 1902. Bd. XLI.

² *Centralblatt für Bakteriologie*. 1903.

³ *Archiv für klin. Chirurgie*. Bd. LXXII.

⁴ *Münchener med. Wochenschrift*. 1904. Nr. 1.

die Tatsache, daß die Staphylokokken des chronischen Ekzems mit den eigentlichen Eiterkokken identisch sind, und in den Frühstadien der Erkrankung stets in Reinkultur angetroffen werden, zu dem Schluß, daß die Staphylokokken im chronischen Ekzem nicht als reine Saprophyten wuchern, sondern daß ihnen eine Bedeutung in der Pathogenese des Prozesses zukommt.

3. Da sich in den Frühstadien des chronischen Ekzems außer Staphylokokken andere Bakterien nicht finden, ist ein spezifischer Erreger des chronischen Ekzems mit Sicherheit auszuschließen.“

In ihren Untersuchungen über die Beziehungen von Hämolysebildung und Agglutinabilität der Staphylokokken klärten Kutscher und Konrich¹, gewissermaßen als Fortsetzung der von Kolle und Otto begonnenen Untersuchungen die Frage, in welchen Beziehungen die Agglutinationsfähigkeit der Kokken gegenüber einem mit pathogenen Kokken hergestellten Immuneserum zur Hämolysebildung steht. Sie fanden unter Zugrundelegung eines umfangreichen Materials, daß es notwendig ist, stets ein möglichst hochwertiges Serum anzuwenden, um zu sicheren Schlüssen mittels der Agglutination zu gelangen. Bei Verwendung eines hochwertigen spezifischen Serums genügt zur Differenzierung pathogener und nichtpathogener Traubenkokken die Agglutination. Bei schwer agglutinablen, d. h. den durch spezifisches Serum nur schwer beeinflussbaren Stämmen kann die Prüfung auf Hämolysebildung zur Differenzierung sehr wertvolle Dienste leisten. Denn es kann nach den Untersuchungen Kutschers und Konrichs als erwiesen gelten, daß gesetzmäßige Beziehungen zwischen Hämolysebildung und Agglutination bestehen. Echte pyogene, durch ein pathogenes Serum agglutinable Staphylokokken bilden ausnahmslos Hämolyse, bei saprophytischen Kokken scheint diese Eigenschaft nicht vorzukommen.

Fassen wir in großen Zügen die Ergebnisse der bisher erschienenen Arbeiten zusammen, so hat man bisher gefunden, daß die echten pyogenen Staphylokokken durch die Agglutination, durch die Bildung zweier Blutkörperchengifte, des Hämolyseins und des Leukozidins, von den saprophytischen sich unterscheiden.

Aber schon Neisser und Wechsberg konnten durch ihre Methode pathogene Staphylokokken in der Luft, auf Schleimhäuten und in der Vaccine nachweisen. Auch Kutscher und Konrich weisen bezüglich der Herkunft der Staphylokokkenstämme, die sie durch die Agglutination

¹ Kutscher u. Konrich, Untersuchungen über die Beziehungen von Hämolysebildung u. Agglutinabilität der Staphylokokken. *Diese Zeitschrift*. Bd. XLVIII.

und Hämolysinbildung als pyogene oder saprophytische zu differenzieren versuchten, darauf hin, daß sich unter den 41 untersuchten als pathogen identifizierten Staphylokokkenstämmen 6 = 14.6% befanden, welche nicht aus pathogenen Prozessen, sondern aus normaler Haut und Schleimhaut und aus ihrer Umgebung stammten.

Kutscher und Konrich ziehen daraus den Schluß, daß das Vorkommen pyogener Staphylokokken in unserer Umgebung, namentlich auf gesunder Haut und Schleimhaut, nicht gerade allzu selten ist, ein Umstand, der für die Entstehung mancher Eiterungen, z. B. der Panaritien, gewiß nicht ohne Bedeutung sein dürfte.

Kolle und Otto kommen am Schluß ihrer Arbeit zu folgender Ansicht:

„Die Angaben von der Ubiquität der pathogenen Staphylokokken dürften nach Bekanntgabe dieser Untersuchungen einer erneuten Prüfung zu unterziehen sein. Denn es ist, wenn man über ein hochwertiges agglutinierendes Serum verfügt, ohne große Schwierigkeiten möglich, eine große Anzahl von Kokken, die in der Umgebung des Menschen an Kleidern usw. vorkommen, auf Agglutination zu prüfen. Es hat nach unseren Untersuchungen den Anschein, als ob die echten pyogenen Kokken bei weitem nicht so saprophytisch in der Natur verbreitet sind, als man es gemeinhin anzunehmen geneigt ist.“

Bei der großen Bedeutung dieser noch strittigen Fragen für die praktische Chirurgie und die Pathologie der pyogenen Erkrankungen überhaupt folgte ich daher gern der Anregung des Hrn. Geheimrat Prof. Dr. Frosch, von neuem eine Klärung der Fragen zu versuchen.

Ich habe mir zunächst verschiedene Fragen zur Beantwortung vorgelegt:

1. Kommen überhaupt hämolysinbildende Staphylokokken beim Menschen und in seiner Umgebung unter normalen Verhältnissen vor?
2. In welchem Umfange?
3. In welchem Zustande der Pathogenität befinden sich diese Kokken; sind sie imstande, pathologische Prozesse hervorzurufen?

Auf Grund der konstanten Eigenschaft echter pyogener Kokken der Hämolysinbildung habe ich versucht, vor allem eine brauchbare, praktische Methode zur Differenzierung auszubauen.

Bekanntlich kann der Nachweis der hämolytischen Eigenschaft der Eiterkokken auf verschiedene Weise erbracht werden:

1. Einer Bouillonkultur von Staphylokokken wird ein Tropfen steriles gewaschenes Kaninchenblut zugesetzt. An der Entstehung einer Hämoglobulinlösung durch Auflösung der Blutkörperchen erkennt man die Hämolyse.

2. Nach Neisser und Wechsberg. In eine Reihe Reagensröhrchen kommen fallende Mengen des Staphylokokkenfiltrates, die man dann mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2^{cem} auffüllt. Hierzu fügt man je 1 Tropfen frisches gewaschenes Kaninchenblut.

3. Vermittels der Blutagarplatte; die auf der Oberfläche der Platte gewachsenen Kolonien zeigen nach 24 Stunden im Brutschrank die Hämolyse dadurch an, daß um sie ein heller Hof entsteht.

Schon Eijkmann¹ berichtete 1901, daß sich die Produktion hämolytischer Enzyme mittels der Kultur auf Blutagar nachweisen lasse. Nach seinen Angaben wird gewöhnliches Nähragar in geschmolzenem Zustande und auf 55° C abgekühlt mit einzelnen sterilen Bluttröpfchen versetzt und nach energischer Mischung zu Platten gegossen. Falls darauf verschiedenartige Kolonien gezüchtet sind, sieht man in analoger Weise, wie auf Milchagar sich einige mit einem hellen Hof umgeben, der außerdem teilweise entfärbt und wiederum von einem trüben Rande begrenzt ist.

Unter dem Mikroskop findet man in dem aufgeklärten Teile die Erythrozyten zu kleinen Körnchen reduziert, die schließlich ganz verschwinden.

Eine größere Anzahl Blutagarplatten stellt man sich am besten in folgender Weise her: Einem lebenden Kaninchen wird am desinfizierten Halse die Arteria jugularis freigelegt und durch einen Scherenschlag angeschnitten; das Blut ergießt sich im Strahl in ein mit Glasperlen versehenes sterilisiertes Glas, indem das Blut durch Schütteln defibriert wird. Darauf Zentrifugieren und Abgießen des Serums; sodann zweimaliges Waschen des Blutes mit steriler Kochsalzlösung und Zentrifugieren. Die gewaschenen Blutkörperchen werden in dem auf 55° abgekühlten flüssigen Agar durch Schütteln gleichmäßig verteilt und sofort zu Platten ausgegossen. Zum Nachweis der Hämolyse eignen sich am besten Blutplatten, die eine tiefrote Farbe haben.

Nach M. Neisser und Lipstein² ist der Nachweis mittels der Blutplatte vielleicht die empfindlichste Methode, um die Hämolyse bei den Bakterien zu beobachten, und es ist nach ihrer Ansicht nicht ausgeschlossen, daß bei dieser Art der Untersuchung primäre Hämolyse zur Wirkung gelangen, welche in den Filtraten nicht nachweisbar sind.

Mit den beiden ersten Methoden des Nachweises der Hämolyse, nämlich durch Kaninchenblutbouillon und im Filtrat kann man ohne Schwierigkeit nachweisen, daß unter den zahlreichen Staphylokokkenarten

¹ *Centralblatt für Bakteriologie*. 1901.

² Kolle u. Wassermanns *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*. 1903. Bd. III.

der menschlichen Körperoberfläche, in der Luft, auf der Kleidung Hämolytinbildner vorkommen. Das haben bereits Neisser und Wechsberg in ihrer Arbeit über das Staphylotoxin konstatiert.

Aber zur Beantwortung der Frage, wie häufig derartige Eiterkokken saprophytisch vorkommen, sind diese Methoden wegen ihrer Umständlichkeit nicht sehr geeignet. Das gelingt am besten vermitteltst der Blutplatten.

Ich fand die Hämolytinbildner anfangs so, daß ich eine Reihe von Staphylokokkenkulturen anlegte, die aus der Luft, der Körperoberfläche, der Kleidung usw. herstammten. Von diesen verschiedenen Stämmen stellte ich eine gemeinsame Aufschwemmung in Bouillon her. Ein Tropfen dieser Aufschwemmung wurde dann auf Blutplatten sorgfältig ausgestrichen. Nach 24stündigem Wachstum bei 37° C im Brutschrank zeigten die Hämolytinbildner einen mehr oder minder großen hellen Hof, während die anderen Staphylokokken den Nährboden unverändert ließen.

Aber auch dieses Verfahren hatte seine Nachteile. Es kam vor, daß unter den mühsam gewonnenen Staphylokokkenstämmen auch kein einziger Hämolytinbildner war, daß die gezüchteten Stämme also nichts anderes als harmlose Saprophyten waren. Ich kam auf diese Weise nicht in den Besitz einer größeren Reihe von Hämolytinbildnern.

Im weiteren Verlauf meiner Untersuchungen habe ich mich mit Erfolg eines sehr viel einfacheren Verfahrens bedient, indem ich die Blutplatten an den zu untersuchenden Körperteil andrückte. Auf diese Weise wurde von vornherein eine größere Oberfläche untersucht. Unter den zahlreichen Kolonien waren mit Leichtigkeit nach 24stündigem Wachstum im Brutschrank die Hämolytinbildner an der Hofbildung zu erkennen. Durch Abimpfen aller der mit einem Hof versehenen Staphylokokkenkolonien in Bouillon und dann auf gewöhnlichem Agar gelang es mir, eine Anzahl Reinkulturen von Hämolytin bildenden Staphylokokken zum weiteren Studium ihrer Eigenschaften zu gewinnen. Die Schleimhäute wurden auf ihren Kokkengehalt derart untersucht, daß die Sekrete auf Blutplatten ausgestrichen werden, die Luft, indem große Schalen mit Blutagar der Luft exponiert wurden.

Nach meinen Erfahrungen stellt diese Methode ein sehr brauchbares Verfahren dar, um jederzeit leicht hämolytinbildende Kokken auf der Körperoberfläche, den Schleimhäuten, der Kleidung und in der Luft nachzuweisen.

Vermittelst der Blutagarplatten habe ich sodann verschiedene Körperteile untersucht. Durch Andrücken der Platten an das Kopfhaar, Bart, Haut, Hände, Kleidung nach Züchtung bei 37° C wurden Platten gewonnen, die zunächst im allgemeinen über den Keimgehalt der verschiedenen Teile

Aufschluß gaben. Dabei gelingt es, mit der Blutplatte nur die oberflächlichen Keime zu fixieren; die in der Tiefe der Hautdrüsen, in den Nischen und Buchten der Haut sitzenden Keime lassen sich auf diese Weise kaum feststellen.

Je nach dem Körperteil schwankt der Keimgehalt sehr, doch läßt sich im allgemeinen sagen, daß die Körperoberfläche durchschnittlich eine ganz gewaltige Anzahl verschiedener Mikroorganismen birgt. Ganz enorme Mengen von Keimen waren auf Platten vom Skrotum und von der Haut der Füße gewachsen. Auch Kopfhaar beherbergt eine große Menge von Keimen, ebenso der Bart. Der Schmutz des Unternagelraumes besteht fast nur aus Bakterien.

Das Hauptkontingent der auf der Haut vegetierenden Keime stellen die Staphylokokken, und zwar fast ausschließlich die weißen Arten. Sie machen fast 90 Prozent aller Keime aus. Aber diese zahlreichen Staphylokokken sind keineswegs identisch mit den typischen Eiterkokken. Die meisten scheiden bei der Kultur auf Gelatine durch den Mangel der Verflüssigung, Entfärben nach Gram aus der Reihe der Eitererreger zunächst aus.

Unter jenen zahlreichen Staphylokokken erregen die mit einem hellen Hof umgebenen Kolonien, die sogen. Hämolysinbildner, unser Interesse. Sie sind besonders am Rande der Platte leicht zu finden, einmal, weil sie hier isolierter stehen, und sodann, weil hier die Hofbildung auf dem roten Nährboden hervorragend schön hervortritt. Die Anzahl solcher Kolonien schwankt sehr, selten fehlen sie auf einigen Platten ganz, und wenn, dann scheinbar, weil die Hofbildung durch Überwuchern anderer Keime nicht hervortritt oder undeutlich wird. Auf den meisten Platten kamen schätzungsweise auf 100 verschiedene Staphylokokkenkolonien etwa 5 Prozent, die eine Hofbildung aufwiesen.

Die durch Abimpfen solcher mit einem Hof versehenen Staphylokokkenkolonien auf Bouillon und gewöhnlichem Agar gewonnenen Reinkulturen wurden nacheinander im hängenden Tropfen, mit der Färbung nach Gram, auf die Fähigkeit der Verflüssigung der Gelatine, also auf die bekannten Eigenschaften der typischen Eitererreger untersucht. Fehlte eines dieser Merkmale, so wurden sie ausgeschieden. Nach dieser sorgfältigen Prüfung verfügte ich über 30 Stämme von Staphylokokken, die Hämolysin bildeten und alle anderen Eigenschaften der typischen Eitererreger aufwiesen (s. Tabelle I).

Die 30 Stämme wurden sodann weiter auf Hämolysinbildung in Kaninchenblutbouillon untersucht, indem wir den Bouillonkulturen je einen Tropfen Kaninchenblut zusetzten. Nach 2stündigem Verweilen im Brut-

Tabelle I.
Herkunft und Wachstum der untersuchten Stämme.

Lfd. Nr.	Herkunft	Farbe auf Agar	Lfd. Nr.	Herkunft	Farbe auf Agar
1	Haut (Stirn)	weiß	16	Finger (Dr. G.)	weiß
2	Skrotum	gelb	17	Kleidung	gelb
3	Finger (Diener)	weiß	18	Mund	"
4	Kopf (Dr. F.)	gelb	19	Finger (Dr. G.)	weiß
5	Kleidung "	"	20	Finger (Diener)	gelb
6	Mund "	"	21	"	"
7	" "	zitronengelb	22	Bart (Dr. K.)	"
8	Luft (Laboratorium)	weiß	23	Unternagelraum(Dr.K.)	"
9	Finger	zitronengelb	24	Bart	weiß
10	Kopfhaar (Dr. H.)		25	Strumpf	hellgelb
11	" (Diener)	gelb	26	Kopfhaar	weiß
12	"	hellgelb	27	Mund	"
13	Finger (Dr. K.)	gelb	28	Nase (Dr. D.)	gelb
14	"	hellgelb	29	Unternagelraum	"
15	Mund (Dr. G.)	weiß			

NB. Auch die nichtnäher bezeichneten Proben stammen von verschiedenen Personen.

und 24stündigem Aufenthalt im Eisschrank war die Lösung der Blutkörperchen eingetreten (s. Tabelle II).

Weiter wählten wir aus den 30 Stämmen 14 aus, um sie auf Hämolysebildung im Filtrat zu untersuchen. Wir hielten uns dabei ganz an die Vorschriften von Neisser und Wechsberg (10 Karbol, 20 Glycerin, 70 Aqua, davon 5 auf 100 Filtrat).

Kölbchen mit ca. 50^{ccm} Bouillon wurden geimpft und etwa 10 bis 15 Tage im Brutschrank bei 37° C belassen. Die Kulturen wurden dann, da um diese Zeit der Höhepunkt der Giftwirkung erreicht ist, durch Reichefilter filtriert und das Filtrat durch Zusatz von Karbollösung haltbar gemacht und im Eisschrank aufbewahrt.

Darauf wurden in eine Reihe von Reagensröhrchen fallende Mengen des Filtrates gegeben, welche durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 2^{ccm} aufgefüllt wurden. In jedes Röhrchen kam dazu 1 Tropfen frisches defibriertes Kaninchenblut. Nach 2stündigem Verweilen der Röhrchen im Brutofen kamen sie über Nacht in den Eisschrank.

Bei dem Vergleich der Hämolysebildung der Stämme auf der Blutagarplatte, in Kaninchenblutbouillon und im Filtrat zeigte es sich, daß einer kräftigen Hofbildung auf der Platte keineswegs auch eine starke Hämolysebildung in Kaninchenblutbouillon entspricht. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, steht bei einzelnen Stämmen eine sehr kräftige Hofbildung auf der Platte verzeichnet, während die Giftwirkung in der

Tabelle II.
Untersuchung auf Hämolysin und Leukozidin.

Lfd. Nr.	Herkunft (vgl. Tab. I)	Hämolysin					Leukozidin
		Hofbildung auf der Blutplatte	in Kaninchen- blutbouillon	im Filtrat ccm			
				0.5	1.0	1.5	
1	Haut	++	Spur				
2	Skrotum	+++	ganz rot				
3	Finger	+	Spur				
4	Kopf	+++	Kuppe	—	ganz rot	ganz rot	positiv
5	Kleidung	++	rot	—	Spur	"	"
6	Mund	++	"	Spur	ganz rot	"	"
7	"	++	"	—	Spur	"	
8	Luft	++	Kuppe				
9	Finger	+	Spur				
10	Haare	+	"	—	Spur	ganz rot	"
11	Kopfhaar	++	Kuppe				
12	"	+++	Spur	—	Spur	ganz rot	"
13	Finger	++	"	—	"	Kuppe	"
14	"	+	"	Spur	Kuppe	ganz rot	"
15	Mund	+	"				
16	Finger	++	Kuppe				
17	Kleidung	++	ganz rot				
18	Mund	++	fast komplett	fast kompl.	fast kompl.	fast kompl.	"
19	Finger	++	Kuppe	—	Kuppe	Kuppe	"
20	"	++	fast komplett	fast kompl.	komplett	komplett	"
21	"	+++	Kuppe				
22	"	+	Spur				
23	Bart	++	ganz rot	—	ganz rot	ganz rot	"
24	Unter- nagelraum	++	fast komplett	ganz rot	fast kompl.	fast kompl.	"
25	Bart	+++	fehlt				
26	Strumpf	++	"				
27	Kopfhaar	++	Kuppe				
28	Mund	+++	fehlt				
29	Nase	++	Spur				
30	Unter- nagelraum	++	ganz rot	—	Spur	ganz rot	"

+ = schwacher Hof. ++ = kräftiger Hof. +++ = sehr breiter Hof.

Kaninchenblutbouillon eine sehr schwache bzw. bei einzelnen Stämmen überhaupt nicht eingetreten war. Dagegen haben wir das Hämotoxin im Filtrat stets nachweisen können. Es ist daher die Annahme gerechtfertigt, daß bei Staphylokokkenstämmen, die auf der Blutplatte die Hämolysinwirkung zeigen, sich die Giftbildung auch stets im Filtrat wird nachweisen lassen.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß die Blutplatte in der Tat die empfindlichste Methode darstellt, um die Hämolyse bei den Staphylokokken zu beobachten. Wie schon erwähnt, glauben Neisser und Lipstein, daß bei dieser Art des Nachweises vielleicht primäre Hämolsine zur Wirkung gelangen, welche in dem Filtrat nicht nachweisbar sind. Denn während die Hämolsinbildung nach Neisser und Wechsberg in Bouillon nicht vor dem 4. Tage und der Höhepunkt allgemein zwischen dem 10. und 14. Tage eintritt, ist auf der Blutplatte die Hofbildung bereits in 24 Stunden klar eingetreten. Die Aufhellung der Blutplatte, die eine gleichmäßig tiefrote Deckfarbe zeigen und vollkommen undurchsichtig sein soll, läßt sich besonders gut auf Platten beobachten, auf denen nur spärliche Kolonien gewachsen sind. Während nach 24 Stunden eine scharfe, wenn auch oft sehr schmale Aufhellungszone um die Kolonie sich gebildet hat, wird dieselbe von Tag zu Tag beim Aufbewahren im Eisschrank größer. Die Höfe oder Aufhellungszonen benachbarter Kolonien fließen allmählich zusammen, so daß die Platte ein eigentümliches Bild darbietet, ein Bild, das einer Landkarte nicht unähnlich ist. Überall in der Umgebung der Kolonien ist die Blutplatte durchsichtig und lackfarben geworden, während die koloniefreien Partien der Platte die Deckfarbe sich erhalten haben. Im weiteren Verlauf diffundieren die Giftstoffe der Staphylokokken mehr und mehr in den Agar hinein, so daß endlich die ganze Platte lackfarben geworden ist.

Wie weiter aus der Tabelle II hervorgeht, ist die Quantität des gebildeten Hämolsins bei den einzelnen Stämmen sehr verschieden. Wir haben Stämme getroffen, die eben noch eine Spur Hämolsinwirkung erkennen ließen, und andere, die kräftige Giftbildner waren. Aber ganz besonders möchte ich hier hervorheben, daß es Paus und mir bei keinem unserer Stämme gelungen ist, das Gift der roten und weißen Blutkörperchen in so stark verdünnter Auflösung nachzuweisen, wie bei frischen menschenpathogenen Eiterkokken und wie es Neisser und Wechsberg mit ihren pathogenen Kokken haben tun können.

Ich werde weitere Versuche darüber anstellen, ob saprophytische Staphylokokken, bei denen wir eine Giftbildung nicht nachweisen können, diese unter günstigen Bedingungen vielleicht erwerben können.

Den Unterschied der Giftbildung sogenannter saprophytischer und pathogener Kokken illustriert am besten die folgende kleine Tabelle III. Wir haben 5 pathogene Stämme, die aus frischen menschlichen Krankheitsfällen stammten, und für Kaninchen hochvirulent waren, mit 5 der kräftigsten Hämolsinbildner unserer 30 Stämme verglichen.

Tabelle III.

Vergleich der Hämolyseinbildung frischer pathogener und saprophytischer Eiterkokken im Filtrat.

Lfd. Nr.	Herkunft	Farbe	Kubikzentimeter				
			0.1	0.2	0.5	1.0	1.5
a) der pathogenen.							
1	Karbunkel	weißgelb	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
2	Furunkel	gelb	fast kompl.	"	"	"	"
3	Osteomyelitis	"	"	"	"	"	"
4	Schulterabszeß	gelbweiß	komplett	"	"	"	"
5	Furunkel	hellgelb	fast kompl.	"	"	"	"
b) der saprophytischen.							
18	Mund	gelb	Spur	Kuppe	fast kompl.	komplett	komplett
14	Finger	hellgelb	"	Spur	Spur	Kuppe	ganz rot
20	"	gelb	ganz rot	ganz rot	fast kompl.	komplett	"
24	Unternagelraum	"	Spur	Kuppe	ganz rot	fast komplett	fast komplett
6	Mund	"	"	Spur	Kuppe	ganz rot	"

Während bei den pathogenen Stämmen die roten Blutkörperchen schon bei einer Toxinmenge von 0.2^{ccm} komplett gelöst waren, trat dies bei den anderen Stämmen erst bei viel größeren Toxinmengen und nur unvollständig ein.

Wir können daher die wichtige Tatsache konstatieren, daß in der Giftproduktion frischer pathogener Kokken und solcher, die wir von der Körperoberfläche des Menschen und seiner Umgebung gezüchtet haben, ein Unterschied besteht, nämlich der, daß die Produktion des Hämotoxins echter menschenpathogener Staphylokokkenstämme eine viel größere ist, wie die der sogenannten saprophytischen pyogenen Kokken, wenn sie unmittelbar von der Körperoberfläche gezüchtet sind.

Paus und ich haben weiter diejenigen Staphylokokkenstämme, bei denen wir die Hämolyse im Filtrat nachgewiesen haben, auch auf das zweite Gift, welches die Staphylokokkenstämme bilden, untersucht, nämlich das Leukozidin.

Die Untersuchung kann man auf zwei verschiedene Weisen vornehmen, einmal, indem man direkt die schädigende Wirkung des Filtrates der Eitererreger auf lebende weiße Blutkörperchen unter dem Mikroskop studiert, oder nach der von Neisser und Wechsberg angegebenen biologischen Methode.

Die Einwirkung des Leukozidins auf die weißen Blutkörperchen äußert sich nach Neisser und Wechsberg auf folgende Weise:

1. Die Leukozyten ziehen ihre Pseudopodien ein und werden rund,
2. eine helle Zone erscheint in ihrer Peripherie, während das Zentrum granuliert wird,
3. die helle Zone erreicht das Zentrum, die Granulationen verschwinden allmählich vollständig,
4. die weißen Blutkörperchen werden zu einer leeren Blase mit deutlich sichtbarem Kerne, der später auch noch verschwindet.

Diese Erscheinungen der Degeneration laufen in Zeit von 2 Minuten ab.

Unsere Beobachtungen der direkten Einwirkung des Staphylokokkengiftes auf die weißen Blutkörperchen decken sich vollkommen mit denen von van de Velde und denen Neissers und Wechsbergs. Wir sehen daher von einer genaueren Schilderung unserer Versuche ab und verweisen auf die Arbeiten dieser Autoren.

Neisser und Wechsberg machten darauf aufmerksam, daß die Methode der direkten Beobachtung ihre Schattenseiten habe, wenn es darauf ankommt, eine größere Anzahl von Eitererregern auf die Wirkung ihres die weißen Blutkörperchen schädigenden Giftes zu untersuchen. Sie haben daher die mikroskopische Beobachtung durch die makroskopische ersetzt und dadurch die Anstellung größerer Versuchsreihen in kürzerer Zeit ermöglicht. Sie nannten dies Verfahren die bioskopische Methode. Auch hier sehen wir von einer eingehenden Schilderung unserer Versuche ab, da wir vollkommen nach den Angaben der beiden Autoren verfahren sind; nur das sei hervorgehoben, daß wir überall dort das Leukozidin nachweisen konnten, wo im Filtrat das Hämölysin vorhanden war, aber auch hier wieder in weit geringerem Maße, als bei pathogenen Stämmen.

Ich habe nicht unterlassen, auch auf die spezifische Reaktion der Agglutination unsere 30 Stämme zu prüfen. Die Untersuchungen verfolgten lediglich zunächst den Zweck, festzustellen, ob die Stämme neben der spezifischen Toxinbildung auch die spezifische Reaktion pathogener Eiterkokken, die Agglutination zeigten, um damit einen weiteren Beweis für die Identität der Stämme mit echten pyogenen Kokken zu liefern.

Die bei diesen Versuchen gemachten Erfahrungen dürften aber auch ein allgemeines Interesse besitzen, da mit ihnen die Frage der Immunisierung sowie der Toxinwirkung abgetöteter pathogener Staphylokokken bei den Versuchstieren eng verknüpft war.

Es kam mir zunächst darauf an, ein mit menschenpathogenen Staphylokokken hergestelltes hochwertiges Immunserum zu gewinnen.

Zu diesem Zweck wurden 3 große ausgewachsene Kaninchen mit je einem virulenten Staphylococcus behandelt. Die 24 stündigen frischen Agarkulturen wurden stets mit steriler Kochsalzlösung abgeschwemmt und 2 Stunden im Brutschrank bei 60° abgetötet.

Kaninchen 1 erhält 2 Agarkulturen von einem hochvirulenten gelben Staphylococcus, der einer akuten Osteomyelitis entstammte und von dem $\frac{1}{3}$ Öse ein großes Tier innerhalb 24 Stunden unter dem Bilde der Sepsis tötete. Nach 10 Tagen wird die Dosis verdoppelt. Einige Tage nach der zweiten Injektion Tod des Tieres.

Kaninchen 2 erhält ebenfalls 2 Kulturen von Staphylococcus aureus, von dem $\frac{1}{3}$ Öse ein großes Tier innerhalb 48 Stunden tötete und der einem großen Karbunkel entstammte. Tod nach der dritten Injektion von 6 Agarkulturen.

Kaninchen 3 erlag ebenfalls nach der zweiten Injektion von 4 Agarkulturen eines Staphyl. aur. (Osteomyelitis).

Die Injektion erfolgte in die Ohrtrandvene; an der Stelle der Injektion hatte sich bei den 3 Versuchstieren ein etwa erbsengroßer kleiner Eiterherd gebildet.

Diese anfänglich negativen Immunisierungsversuche decken sich mit den Erfahrungen Klopstocks und Bockenheimers, die bei intravenöser Immunisierung die Dosis nicht über 4 Kulturen steigern durften, da dann die Tiere zugrunde gingen im Gegensatz zu den Angaben von Kutscher und Konrich, denen es gelungen war, verschiedentlich Tieren bis zu 20 bis 30 abgeschwemmten Kulturen als höchste einzelne Gabe intravenös zu injizieren. Sie bemerken ausdrücklich in ihrer Arbeit, „die Beobachtung von Klopstock und Bockenheimer, daß Kaninchen schon infolge intravenöser Einverleibung von mehr als 4 Kulturen abgetöteter Staphylokokken zugrunde gingen, konnten wir nicht bestätigen.“

Wie sind diese verschiedenen Resultate der Autoren zu erklären, und wie kommt es, daß die Versuchstiere in manchen Fällen schon nach der Einverleibung weniger abgetöteter Kulturen eingehen, während in anderen Fällen Einzelgaben von 30 Agargaben und noch mehr vertragen werden? Der Grund dieser Erscheinung liegt in der außerordentlich schwankenden Toxinwirkung der Eiterkokken und zwar, da die Gifte der roten und weißen Blutkörperchen, das Hämolysin und Leukozidin, schon bei einer Erhitzung auf 56° abgetötet werden, des an den Zellenleib der Kokken gebundenen Endotoxins.

Die toxischen Wirkungen abgetöteter Staphylokokken sind schon eine ganze Reihe von Jahren bekannt. Eine wesentliche Bereicherung unserer Kenntnisse hierüber verdanken wir den Untersuchungen Ribberts¹ und v. Lingelsheim.² Letzterer bediente sich beim Studium des Endotoxins

¹ *Die patholog. Anatomie und die Heilung der durch den Staphylococcus pyog. aureus hervorgerufenen Erkrankungen.* Bonn 1891.

² *Ätiologie und Therapie der Staphylokokken-Infektionen.* Berlin-Wien 1901.

zertrümmerter sterilisierter Kokkenmassen und konstatierte bei seinen Tierversuchen, daß:

1. die Toxizität der zertrümmerten Kokken annähernd dieselbe ist, wie die der durch Hitze sterilisierten, daß also das toxische Prinzip des Protoplasmas durch Temperaturen von 101° C nicht zerstört wird,

2. daß die Giftigkeit des Protoplasmas durch Erhöhung der Virulenz nicht wesentlich gesteigert wird.

Dem letzten Satze kann ich nicht beipflichten. Aus meinen Versuchen geht hervor, daß je größer die Virulenz lebender Staphylokokken, desto größer auch die Toxinwirkung abgetöteter Staphylokokkenleiber ist. Die verschiedenen Resultate der Untersucher bei der Immunisierung wären sonst nicht zu erklären.

Ribbert kommt auf Grund seiner Versuche mit abgetöteten Kokken zu dem Schluß, „daß sterilisierte Kulturen intensive Giftwirkung entfalten können, und daß die Intensität der Wirkung, wie nicht anders zu erwarten, wesentlich von der Menge der injizierten Emulsion abhängig ist“. Wieviel Kokkensubstanz seine Emulsion enthielt, geht aber aus seinen Ausführungen nicht klar hervor.

Den Grund für den tödlichen Ausgang rasch verlaufener Intoxikationen konnte Ribbert bei der Sektion nicht immer nachweisen. Herderkrankungen waren nicht vorhanden, in anderen Fällen waren die Organveränderungen wesentlich degenerativer Natur, teils Fettentartung des Herzmuskels, teils nekrotische Vorgänge der Nieren, in denen außerdem ein Austritt von Eiweiß durch die Glomeruli zustande kommt.

Bei der Sektion der drei großen Kaninchen (s. Protokolle), die während der Immunisierungsversuche der chronischen Intoxikation der auf 60° abgetöteten Kulturen sehr virulenter Stämme erlegen waren, vermißte ich in keinem Falle eine schwere Fettmetamorphose des Herzens, sowie eine parenchymatöse Trübung der Nieren, eine Nekrose gewundener Harnkanälchen, Blutungen usw. Dazu gesellten sich in zwei Fällen zahlreiche Blutungen der Bauchfellserosa und ein blutig seröses Exsudat im Peritonealraum. Bei der mikroskopischen Untersuchung fielen die zahlreichen Blutungen der Nieren auf, sowie eine fleckweise Nekrose gewundener Harnkanälchen, wie sie auch von Ribbert beschrieben ist. Die bakteriologische Untersuchung der drei Fälle hatte, wie ich ausdrücklich hinzufüge, ein negatives Resultat, so daß die Wirkung noch lebender Kokken auszuschließen ist.

Bei den weiteren Immunisierungsversuchen habe ich die Dosis bedeutend verringert, indem ich mit $\frac{1}{2}$ Agarkultur begann und sie all-

mählich auf zwei Kulturen steigerte.¹ Es gelang auf diese Weise, ein genügend hochwertiges Serum zu Agglutinationszwecken zu gewinnen. Voraussetzung bei der Anwendung kleiner Dosen bleibt aber, einen möglichst virulenten Stamm zu verwenden, von dem $\frac{1}{3}$ Öse ein ausgewachsenes Kaninchen in 24 Stunden tötet. Die Methode intravenöser Immunisierung mit kleinen Dosen ist jedenfalls erfolgreicher, als die intraperitoneale Einverleibung der abgetöteten Kulturen, die Kolle und Otto anfänglich zur Gewinnung ihrer Sera angewandt haben. Sie fingen mit einer Kultur an, dann wurde die Dosis auf 2, 4, 8, 12, 36, 48, 60 Kulturen gesteigert. Ihre Tiere magerten nach Injizierung größerer Mengen von Kulturmassen nicht unerheblich ab, sie warteten deshalb stets mit einer neuen Injektion, bis die Tiere das Körpergewicht wieder erreicht hatten.

Die Agglutinationsversuche wurden im übrigen ganz genau nach den Vorschriften von Kolle und Otto vorgenommen. Von dem zu prüfenden Serum wurden Verdünnungen mit 0.8prozent. Kochsalzlösung von 1:10, 1:20, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:600, 1:1000 hergestellt. In jedes Reagenröhrchen kam 1^{cm} der Verdünnung, und in jedem Röhrchen wurde eine Öse frischer Agarkultur verrieben. Daneben wurden Kontrollversuche mit normalem Serum und Kochsalzlösung angestellt. Die Röhrchen kamen dann 1 Stunde in den Thermostaten, nach dieser Zeit ist die Agglutination, wenn überhaupt vorhanden, eingetreten. Die folgende Tabelle IV, S. 304 zeigt die Resultate unserer Agglutinationsversuche.

Aus der Tabelle IV geht hervor, daß die Stämme Nr. 2, 4, 6, 7, 19 durch das spezifische mit einem sehr virulenten menschen-pathogenen Staphylokokkenstamm hergestellten Serum überhaupt nicht agglutiniert wurden. Diese Stämme bildeten aber das Hämotoxin im Filtrat, außerdem war durch den Tierversuch ihre Pathogenität erwiesen.

Wie die Tabelle weiter zeigt, wurden die 30 Stämme durch menschen-pathogenes Serum im allgemeinen ziemlich hoch agglutiniert.

Den Grund, warum die vier ersten Stämme keine spezifische Agglutination aufweisen, kann ich nicht angeben. Ich möchte hier aber daran erinnern, daß schwer agglutinable Staphylokokken schon sowohl von Klopstock und Bockenheimer, als auch von Kutscher und Konrich festgestellt sind. Die ersteren machten die Beobachtung, daß außer den aus der Luft und von normaler Haut stammenden Traubenkokken

¹ Michael Wassermann, der in unserem Institut zu anderen Zwecken Immunisierungsversuche mit denselben Stämmen anstellte, begann sogar mit $\frac{1}{8}$ Öse und ging nicht über 1 Kultur hinaus.

auch aus schweren Eiterungen gezüchtete Stämme, die also sicher pathogen sein mußten, sich spezifischen Seris gegenüber negativ verhielten. Ferner fiel ihnen auf, daß einzelne Stämme von dem einen Serum agglutiniert wurden, während sie sich dem anderen gegenüber negativ verhielten.

Tabelle IV.
Spezifisches Staphylokokkenserum. Titer 1:3500.

Nr.	Herkunft der Stämme	1:10	1:50	1:100	1:200	1:600	1:800	1:1000
1	Haut	+	+	+	+	+	+	
2	Skrotum	-	-	-	-	-	-	
3	Finger	+	+	-	-	-	-	
4	Kopf	-	-	-	-	-	-	
5	Kleidung	+	+	+	+	-		
6	Mund	-	-	-	-			
7	"	-	-	-	-			
8	Luft	+	+	+	+			
9	Finger	+	+	+				
10	"	+	+	+	+	+		
11	Kopfhaar	+	+	+	-	-		
12	"	+	+	+	+			
13	Finger	+	+	+	-	-		
14	"	+	+	-	-			
15	Mund	+	+	+	-			
16	Finger	+	+	+	-			
17	Kleidung	+	+	-	-			
18	Mund	+	+	+	+	+		
19	Finger	-	-	-	-			
20	"	+	+	+	+	+	+	
21	"	+	+	+	+	+	-	
22	Bart	+	+	+	+	-	-	
24	Unter- nagelraum	+	+	+	+	+	+	+
25	Bart	+	+	+	+	+	-	-
26	Strumpf	+	+	+	-	-		
27	Kopfhaar	+	+	+	-	-		
28	Mund	+	+	+	+	+	-	-
29	Nase	+	+	+	+	+	-	-
30	Unter- nagelraum	+	+	+	+	-	-	

Bei den Tierversuchen habe ich weiter gefunden, daß aus den Agglutinationsverhältnissen Rückschlüsse auf die Virulenz der Eiterkokken nicht zu ziehen sind. Es versagten Stämme im Tierversuche, die starke Agglutination zeigten, dagegen wiesen drei unserer Stämme, welche die stärkste Hämotoxinbildung aufwiesen (Stamm 18, 20, 24), auch die höchste Virulenz auf. Weitere Schlüsse aus diesen Versuchen zu ziehen, liegt mir fern, es kam mir vor allem darauf an, nachzuweisen, wie sich die 30 Stämme vom und aus der Umgebung des Menschen zur spezifischen Reaktion der Agglutination echter Eiterkokken verhielten.

Die vorhergehenden Untersuchungen der 30 Stämme haben gezeigt, daß sie die drei wichtigen charakteristischen Eigenschaften der echten menschen-pathogenen Staphylokokken aufwiesen, die Hämolyisin-, Leukozidinbildung und die Agglutination.

Somit hätte ich die Identität der von der Körperoberfläche des Menschen und seiner Umgebung gezüchteten Kokken mit den echten pathogenen Eitererregern erwiesen.

Ich habe aber weiter auch den Tierversuch angeschlossen; ein Weg, der bisher nur von wenigen Untersuchern zum Nachweis der Pathogenität beschritten worden ist. Als Grund der Unterlassung dieses wichtigen Beweises geben die meisten Untersucher die schwankende Empfindlichkeit der gewöhnlichen Versuchstiere gegen Staphylokokken und die hierdurch bedingte Unsicherheit der Ergebnisse an. In der Tat eignen sich auch nach meinen Versuchen weiße Mäuse, Ratten und Meerschweinchen wenig zu Versuchen mit Staphylokokken.

Dagegen ist nach Neisser „das klassische Versuchstier für den Staphylococcus das Kaninchen“. „Die klassische Art der Applikation ist die intravenöse Einspritzung“ (nach M. Neisser und A. Lipstein).¹ Ich kann diese Angaben bestätigen. Auf die Art der Applikation kommt außerordentlich viel an, wenn man gleichmäßige Befunde erhalten will. Ich kann hinzufügen, daß der zweite Faktor, der bei den Tierversuchen am Kaninchen in Rechnung zu setzen ist, die Virulenz der zu verwendenden Kulturen, der dritte das Alter der Tiere ist.

Für Infektionen mit Staphylokokken muß ich nach meinen vergleichenden Versuchen das junge, noch nicht ausgewachsene Kaninchen (mit einem Durchschnittsgewicht von 1000 bis 1200 ^gmm) als das beste Versuchstier bezeichnen.

Versuche auf subkutanem, intraperitonealem, intrapleuraalem Wege, die Pathogenität der zu prüfenden Kokken nachzuweisen, habe ich bald aufgegeben. Entweder sie verliefen resultatlos, oder es bedurfte sehr

¹ Kolle u. Wassermanns *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*.
Zeitschr. f. Hygiene. LVIII.

großer Mengen von Staphylokokken, um überhaupt pathologische Veränderungen zu erzielen. Es stimmt das durchaus überein mit den experimentellen Erfahrungen der Chirurgie, daß die normale Bauchhöhle viel weniger empfindlich selbst gegen größere Mengen pathogener Bakterien ist, wie eine Wunde, bei der oft wenige und schwach virulente Mikroorganismen die *prima reunio* verhindern und eine Eiterung herbeiführen können. Ähnlich verhält es sich mit der Infektion der Pleura. Noetzel hat nachgewiesen, daß eine normale Kaninchenpleura viel schwerer mit Staphylokokken zu infizieren ist, als eine, bei der er eine Schädigung durch einen künstlichen Pneumothorax hervorgerufen hatte.¹ Durch subkutane Injektion kann man mit pathogenen Staphylokokken einen Abszeß hervorrufen, doch bedarf es hierzu ziemlich großer Mengen, etwa 1^{cem} und mehr, und auch dann sind die Resultate noch mäßig.

Am besten wählt man die intravenöse Injektion von Bouillonkulturen beim jungen noch nicht ausgewachsenen Kaninchen. Bouillonkulturen sind deshalb vorzuziehen, weil bei ihnen die Giftwirkung mit der Wirkung der lebenden Staphylokokken kombiniert werden kann.

Im allgemeinen genügt, wie Kolle-Hetsch in ihrem Lehrbuch angeben und wie wir bestätigen können, $\frac{1}{3}$ Öse einer Agarkultur oder $\frac{1}{10}$ ^{cem} einer Bouillonkultur eines Stammes, der aus einem akuten menschlichen Krankheitsherd gezüchtet ist, um ein großes ausgewachsenes Kaninchen innerhalb 24 bis 48 Stunden zu töten unter den Zeichen einer akuten Sepsis. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bestehen in einer schweren parenchymatösen Degeneration der drüsigen Organe, in Blutungen und blutig serösen Exsudaten der serösen Häute. Sind die aus einem menschlichen Krankheitsherd gezüchteten Staphylokokken in geringerer Dosis oder in weniger virulentem Zustande eingeführt, so kommt es zu lokalisierten Eiterherden, es entsteht das Bild der Pyämie, und die Tiere erliegen der Erkrankung in etwa 4 bis 8 Tagen. In diesen Fällen findet man multiple kleinste oder größere zirkumskripte Eiterherde, besonders in den Nieren und im Myocard.

Ein ganz anderes Verhalten zeigten die von der Körperoberfläche, den Schleimhäuten, Kleidung, der Luft oder der engeren Umgebung des Menschen herstammenden Staphylokokkenstämme, welche, wie wir gezeigt haben, die Charakteristika der pathogenen Kokken, also die Giftbildung aufwiesen.

Spritzt man Bouillonkulturen erster Generation derartiger Kokken Kaninchen in gleicher Menge, wie von einem pathogenen Stamme intravenös ein, — wir benutzten dazu stets die Randvene des Ohres — so

¹ Siehe *Verhandlungen des Chirurgenkongresses 1907.*

wird man irgend einen krankmachenden Effekt überhaupt nicht erzielen. Mir ist dies wenigstens in keinem Falle gelungen. Den Unterschied in der Wirkung der Staphylokokken unserer 30 Stämme mit menschenpathogenen zeigt am besten folgender Versuch.

1. Großes, graues Kaninchen wird am 27. III. mit $\frac{1}{8}$ Öse eines *Staphylococcus aureus*, der direkt aus osteomyelitischem Eiter gezüchtet war, intravenös injiziert.

Tod am 28. III. Sektion: Sepsis acutissima. Zahlreiche kleinste parenchymatöse Blutungen auf dem Perikard. Parenchymatöse Degeneration sämtlicher drüsigen Organe, besonders der Nieren, geringe Hyperplasie der Milz.

1a. Großes, graues Kaninchen von gleicher Größe und Gewicht, wird mit $\frac{1}{8}$ Öse eines vom Kopfhair stammenden gelben *Staphylococcus* intravenös injiziert.

Das Tier bleibt am Leben und zeigt dieselbe Munterkeit wie früher.

2. Großes, schwarzes Kaninchen wird am 27. III. 1907 mit $\frac{1}{4}$ Öse eines hellgelben *Staphylococcus aureus*, der aus einem großen Rückenkarkunkel frisch gezüchtet war, intravenös injiziert.

Tod am 28. III. 1907. Sektion: Sepsis.

2a. Großes, graues Kaninchen von gleicher Größe wird am 27. III. 07. mit $\frac{1}{4}$ Öse eines vom Kopfe gezüchteten *Staphylococcus aureus* intravenös injiziert.

Tier zeigt in den folgenden Tagen nicht die geringste Veränderung.

Diese bequem anzustellenden Versuche zeigen die außerordentliche Virulenz der aus menschlichen Krankheitsprodukten reingezüchteten Staphylokokkenstämme, denen große ausgewachsene Kaninchen unter dem Bilde der Sepsis erliegen, im Gegensatz zu der Wirkung der sogenannten saprophytischen Eiterkokken, die in gleicher Dosis auch nicht die geringste krankmachende Wirkung auf diese Art von Versuchstieren ausüben.

Der Unterschied in der Wirkung der menschenpathogenen und der sogenannten saprophytischen pyogenen Kokken konnte zwei Ursachen haben. Sie waren entweder überhaupt nicht pathogen, also harmlose Schmarotzer, trotz ihrer Fähigkeit, Gifte zu bilden, oder ihre Virulenz war eine geringe. Im letzteren Fall mußte die Dosis des Infektionsmaterials gesteigert werden, und um gleiche Resultate zu haben, benutzten wir von jetzt ab zu unseren weiteren Versuchen das junge noch nicht ausgewachsene Kaninchen, da wir inzwischen die Erfahrung gemacht hatten, daß sie am empfindlichsten auf eine Staphylokokkeninfektion reagieren.

Um die Pathogenität der 30 Stämme überhaupt festzustellen, wurden mit den kräftigsten Hämolysebildnern zunächst folgende orientierende Versuche angestellt:

Am 12. April wurde Kaninchen Nr. 4 mit einem hellgelben Staphylococcus (Nr. 17) intravenös gespritzt. Die Dosis betrug 3^{cem} einer 1tägigen Bouillonkultur, der Staphylococcus stammte von der Kleidung.

Kaninchen Nr. 5 bekam die gleiche Dosis eines gelben Staphylococcus, der von den Fingern herrührte (Nr. 20). Nr. 4 erlag nach 24 Stunden einer Sepsis. Sektion ergab eine blutig seröse Pericarditis, Blutungen in den Lungen und der Pleura, Blutungen in der Niere.

Mit dem Blute des rechten Herzens wurden Agarröhrchen geimpft, ebenso wurden Kulturen aus den Nieren und dem Urin der Blase angelegt.

Nach 24 Stunden waren auf den mit dem Herzblute geimpften Röhrchen zahlreiche Kolonien des Staphylococcus aureus gewachsen, die mit Nierensaft und Urin beschickten Röhrchen zeigten einen dicken, gelben Belag.

Am 16. IV. wurde Kaninchen Nr. 6 mit einem aus dem Mund stammenden Staphylococcus aureus (Nr. 18), und zwar 3^{cem} einer 6tägigen Bouillonkultur gespritzt.

Tod am 17. IV. Sektion: Seröse Pericarditis, geringe Pleuritis, kleinste weiße metastatische Eiterherde in den Nieren, von Blutungen umgeben. Blutungen auf dem Perikard. In der Leber größere weißgraue Herde, die wie Nekrosen aussehen. (Giftwirkung der 6 Tage alten Bouillonkultur?)

Bakteriologische Sektion: Mit Herzblut geimpfte Agarröhrchen zeigen etwa 50 Kolonien des Staphylococcus aureus. Aus Niere und Urin der Blase wuchs ein dicker Rasen einer Reinkultur.

In gleicher Weise wie Kaninchen Nr. 6 hatte Nr. 7 am 16. IV. 3^{cem} einer 6tägigen Bouillonkultur eines Staphylococcus aureus intravenös erhalten, den wir aus dem Schmutz des Unternagelraumes gezüchtet hatten. Tod am 17. IV. nach 24 Stunden. Der pathologisch-anatomische, sowie der bakteriologische Befund stimmte mit dem von Nr. 5 überein.

Tier Nr. 4 war nach der Injektion von $2\frac{1}{2}$ bis 3^{cem} einer 1tägigen Bouillonkultur von Nr. 17 eines von der Kleidung herrührenden Staphylococcus aureus schwer erkrankt. Das Tier magerte stark ab, bekam ein struppiges Aussehen, blieb jedoch am Leben. 6 Tage nach der Injektion wurde es getötet.

Bei der Sektion fand sich an einer Herzklappe eine polypöse Exkreszenz (Thrombus), die mit dem Rande der Klappe durch einen kurzen dicken Stiel in Verbindung stand, weiß aussah, die Größe eines großen Stecknadelkopfes hatte und von ziemlich derber Konsistenz war. An ver-

schiedenen Rippen sah man, meist der Knochenknorpelgrenze entsprechend, weißgraue Herde, die bereits zu einer Auftreibung des Knochens von der Größe einer kleinen Erbse geführt hatten (osteomyelitische Herde). Die Leber zeigte spärliche Abszesse, von denen einer die Größe einer Erbse hatte und mit dickem Eiter gefüllt war. Aus diesem Eiter wurde der *Staphylococcus* reingezüchtet. Die Nieren enthielten nur wenige Kolonien.

Es war mir also gelungen, mit *Staphylokokken*, die von den Händen, dem Unternagelraum, von der Kleidung, aus dem Munde gesunder Menschen stammten, junge Kaninchen tödlich zu infizieren. Allerdings war die Dosis etwa 20- bis 30 mal so groß, wie bei *Staphylokokken*, die aus frischen akuten menschlichen Krankheitsherden herrühren. Ihre Virulenz war also weit geringer. Aber im übrigen war das Bild der Infektion genau dasselbe, wie bei menschen-pathogenen Kokken. Das beweist 1. der makroskopisch pathologisch-anatomische, 2. der mikroskopische, 3. der bakteriologische Befund.

Drei Tiere waren einer Sepsis erlegen, der Befund war meist übereinstimmend. Pericarditis und Pleuritis serosa hämorrhagica. Hämorrhagien auf dem Pericard, kleinste *Staphylokokken*embolien hauptsächlich im Myokard und den Nieren, Milzhyperplasie, die *Staphylokokken* nachweisbar im Blut, in den Nieren und in der Blase.

Nach diesen orientierenden Versuchen, die wir mit gelben Eiterkokken machten, welche die größte Hämotoxinbildung im Filtrat aufwiesen (Stamm 17, 18, 20, 24), also eine starke Giftwirkung erwarten ließen, habe ich sodann einen größeren Tierversuch mit anderen Stämmen angestellt.

Es wurden acht Kaninchen mit Bouillonkulturen von Stämmen, die vom Kopfhaar, Haut, Mund, Kleidung, aus der Nase und von den Fingern stammten, intravenös injiziert. Von diesen Stämmen hatte einer (Nr. 19), der aus der Nase stammte, sich schon als pathogen erwiesen. Trotzdem war der Erfolg ein sehr bescheidener. Die Tiere machten zwar in den folgenden Tagen nach der Infektion einen schwerkranken Eindruck, es starben aber nur zwei Tiere.

Um eine größere pathogene Wirkung zu erzeugen, mußte die Dosis wieder gesteigert werden, und zwar injizierte ich diesmal die Abschwemmung von fünf Agarkulturen. Über die Resultate des Versuches siehe die folgende Tabelle.

Von neun Tieren starben also vier, fünf machten in den der Injektion folgenden Tagen einen zum Teil schwerkranken Eindruck, erholten sich aber allmählich wieder, vier von diesen Tieren bekamen einen bzw. mehrere Abszesse am Ohr, deren Sitz nicht immer mit der Injektionsstelle

übereinstimmte. Das Auftreten von Abszessen scheint eine Eigenschaft der Agarkulturen zu sein; bei intravenöser Injektion von Bouillonkulturen habe ich derartige Ohrabszesse nie beobachtet.

Tabelle. Tierversuche I.

Vers.-Nr.	Tag der Infektion	Stamm-Herkunft	V e r l a u f	T o d	Bemerkungen
7	7. VI.	Nr. 2 Skrotum	Abszeß am Ohr		
8	"	" 8 Luft	" "		
9	"	" 9 Finger	—	8. VI.	
10	"	" 26 Strumpf	Abszeß am Ohr		
11	8. VI.	" 3 Finger	schwer krank, erholt sich aber		
12	"	" 4 Kopf	krank	18. VI.	
13	"	" 6 Mund	"	10. VI.	
14	"	" 7 "	"	12. VI.	
15	"	" 10 Haare	Abszeß am Ohr		

Bemerkenswert bei diesen Versuchen ist, eine wie große Menge von Kokken das Blut vertragen und sie unschädlich machen kann, während die Gewebe am Ohr mit Bildung von Abszessen reagierten. Die Versuche zeigen aber auch wiederum, ein wie großer Unterschied in der Virulenz der am und in der Umgebung des Menschen vorkommenden pathogenen Kokken und solchen, die aus frischen Krankheitsherden gezüchtet werden, besteht. Die Versuchstiere überstanden zum Teil eine Infektion von fünf Agarkulturen, zum Teil gingen sie erst verhältnismäßig spät unter den Erscheinungen einer chronischen Sepsis ein.

Der Versuch wurde nun in der Weise fortgesetzt, daß aus den Abszessen am Ohr der am Leben gebliebenen Kaninchen, sowie aus den Organen der gestorbenen Tiere Reinkulturen angelegt wurden. Von diesen Reinkulturen erhielt wieder eine Serie von acht Tieren 3 bis 4^{com} einer 1 tägigen Bouillonkultur injiziert; über den Erfolg siehe die folgende Tabelle.

Tabelle. Tierversuche II.

Vers.-Nr.	Tag der Infektion	Stamm-Herkunft	Verlauf	T o d	Bemerkungen
16	14. VI.	Nr. 2 Skrotum	krank	18. VI.	
17	"	" 8 Luft	"	17. VI.	
18	"	" 9 Finger	"	18. VI.	getötet in der Agone
19	"	" 10 "	"	18. VI.	" "
20	"	" 4 Kopf	"	23. VI.	
21	19. VI.	" 6 Mund	"	22. VI.	
22	"	" 7 "	"	23. VI.	

Nachdem ich mich durch die Tierversuche über die pathogene Wirkung der Stämme unterrichtet hatte, habe ich die weitere wichtige Frage in Angriff genommen, ob eine Steigerung der Virulenz zur Höhe der aus frischen, menschlichen Eiterherden gezüchteten pyogenen Kokken experimentell erzielt werden kann.

Es liegen bereits Versuche verschiedener Autoren vor, die mit menschenpathogenen bzw. aus menschlichen Eiterherden stammenden Staphylokokkenstämmen Virulenzsteigerungen angestellt haben.

Die Erhöhung der Virulenz der Eiterkokken durch fortlaufende Tierpassage, sagt Lingelsheim, d. h. durch fortgesetzte Impfung des von dem vorhergehenden Tiere gewonnenen Virus auf das folgende — und zwar in fallenden Dosen — stößt bei Benützung des Kaninchens als Versuchstier meist auf keine große Schwierigkeit. Man müsse sich aber bei den ersten Tierpassagen bewußt bleiben, daß der Tierkörper sowohl Virulenz abschwächend wie Virulenz erhöhend wirken könne. Als der zweckmäßigste Applikationsmodus ergab sich Lingelsheim bei seinen Versuchen, wenigstens für den Anfang, die intramuskuläre Infektion. Von einer Kultur eines pathogenen Staphylococcus, der anfangs nur in Mengen von 5^{00m} tötete, war nach der achten Passage schon ein Hundertstel Kubikzentimeter für denselben Zweck ausreichend. Seine Virulenz für das Kaninchen war also um das Fünfhundertfache gesteigert worden.

Anders verfuhr Terni (referiert nach Lingelsheim). Zum Zweck der Virulenzsteigerung ging er in der Weise vor, daß er mit wenig virulenten Kulturen mit großen Mengen bei Kaninchen subkutane Abszesse erzeugte. Aus dem Eiter wurden neue Kulturen angelegt und diese in derselben Weise übertragen. Er gelangte so schließlich zu Kulturen, die, in geringen Mengen appliziert, die Tiere unter dem Bilde der Septikämie töteten.

Ich habe bei meinen Versuchen zur Virulenzsteigerung meiner Stämme die intravenöse Applikation gewählt; ebenso wie die intramuskuläre oder subkutane Applikation ist auch diese Methode imstande, eine Erhöhung der Pathogenität zu bewirken. Vom Stamm 18, 20, 24 ($\frac{1}{4}$ Agarkultur machte keine tödliche Infektion) lag die Anfangsdosis der tödlichen Infektion zwischen 3 bis 4^{00m} , es waren dies die pathogensten Stämme meiner Sammlung. Diese drei konnten, wie die Protokolle ergeben, durch 4 bis 8 Passagen dahingebacht werden, daß schließlich ein Drittel Öse genügte, um ein Kaninchen innerhalb 24 Stunden unter dem Bilde einer akuten Sepsis zu töten. Ihre Virulenz hatte also denselben Grad der Pathogenität erreicht, wie die frischer, menschen-pathogener Eiterkokken.

Diese von mir für die saprophytisch pyogenen Kokken konstatierte Tatsache ist für die praktische Chirurgie von Bedeutung; die Versuche zeigen, daß die am Menschen gewissermaßen saprophytisch lebenden Eiterkokken unter entsprechenden Bedingungen pathogen sind und ihre pathogenen Wirkungen, die sich nach der akquirierten Virulenz verschieden äußern werden, steigern können.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bei intravenöser Infektion der Versuchstiere mit Staphylokokken bedürfen noch einiger Bemerkungen. Über die Veränderungen, welche die Eiterkokken beim Menschen auf dem Wege der Blutbahn hervorrufen, sind wir heutzutage im allgemeinen gut unterrichtet. Zu diesen Kenntnissen haben experimentelle Arbeiten, wie die von Orth, Ribbert viel beigetragen. Ribbert hat die durch die intravenöse Injektion von Eitererregern hervorgerufenen pathologischen Veränderungen beim Kaninchen genau beschrieben. Ich kann mich daher in vielen Punkten, um Wiederholungen zu vermeiden, auf seine Angaben beziehen.

Bei meinen Versuchen experimentierte ich in derselben Weise, wie Ribbert, der das infizierende Material als Emulsion in eine Ohrvene einspritzte. Der Unterschied zwischen unseren Versuchen besteht nur darin, daß er ausschließlich mit Eiterkokken experimentierte, die aus menschlichen Krankheitsherden stammten, während ich dazu meine 30 Stämme benutzte.

Wie dieselben sich schon durch die geringere Hämotoxin- und Leukozidinproduktion von den menschen-pathogenen Staphylokokken unterschieden, durchweg auch in viel geringerem Maße agglutiniert wurden, so war bei den Versuchen zu konstatieren, daß auch ihre pathogene Wirkung anfänglich im Tierkörper durchweg eine viel geringere war.

Wie aus meinen früheren Darlegungen hervorgeht, waren bei den meisten Stämmen teilweise große Mengen, zuweilen mehrere Agarkulturen nötig, um überhaupt den Tod des Versuchstieres herbeizuführen, während Ribbert bemerkt, daß bei seinen Hunderten von Versuchen ihm kein Fall vorgekommen sei, in welchem das Kaninchen der Einspritzung eines Kubikzentimeters einer Aufschwemmung, welche innerhalb der gegen das Licht gehaltenen Pravazspritze leicht getrübt erschien, nicht erlegen wäre.

Gehe ich nun auf die durch meine Stämme bei den Versuchen hervorgerufenen Organerkrankungen näher ein, so konnte ich mit den einzelnen Stämmen in genügender Dosis die ganze Skala der septisch-pyämischen Organerkrankungen erzeugen. Einzelne Stämme töteten junge Kaninchen in 24 bis 48 Stunden, wenn ihnen der Infektionsstoff in einer Menge von ca. 3^{cem} Bouillonkultur beigebracht

war. Die Sepsis war offenbar auf die toxische Wirkung der Blutgifte zurückzuführen. In geringerer Dosis erzeugten die Stämme das Bild der Pyämie, es kam zur Bildung von Eiterherden in den Nieren, im Herzen, in den Lungen, Milz und Knochenmark. Dies ist nach Ribbert die Reihenfolge der Organe, in welchen der Staphylococcus mit Vorliebe Veränderungen hervorruft.

Auf der Rindenoberfläche der Nieren fand ich die zerstreuten miliaren, zuweilen in Gruppen angeordneten bis erbsengroßen Herde, die in der Mitte gelbweiß aussehen und oft von einem hämorrhagischen Hof umgeben sind. Diese Herde sind die in der Rinde gelegenen Abszesse. Auf dem Durchschnitt sieht man in vielen Fällen auch in der Marksubstanz gelegene, eben sichtbare bis Erbsengröße erreichende Herde, von denen gelbweiße oder bräunliche Streifen radiär gestellt nach der Papillenspitze hinziehen. Diese in der Marksubstanz gelegenen Herde stehen meist in keiner direkt sichtbaren Verbindung mit den in der Rinde gelegenen Abszessen.

In anderen Fällen wieder, besonders, wenn ich größere Mengen schwach virulenter Eiterkokken einspritzte, war nicht nur das pathologische Bild der erkrankten Organe, sondern auch der klinische Verlauf der Erkrankung bei den Versuchstieren ein anderer. Die Tiere verloren nach der Infektion ihre Munterkeit, wurden struppig und magerten stark ab. Im Laufe von 8 Tagen waren sie dann gewöhnlich verendet. In diesen Fällen waren oft sichtbare eitrige Herderkrankungen nicht vorhanden, dagegen bot die Oberfläche der Nieren, die Nierenrinde, diffuse Veränderungen; die Farbe der Rinde war blaßgrau, von opakem Aussehen. Auf dem Durchschnitt erwies sie sich regelmäßig verbreitert und ließ Blutungen erkennen. Scharf gegen die weiße Rinde hob sich die rote Marksubstanz ab, in der einige erweiterte Gefäße deutlich zu sehen waren. Daneben fielen dem Auge des Beobachters die schon oben erwähnten gelben oder gelbbraunlich radiär gestellten Streifen, den geraden Harnkanälchen entsprechend, auf. Diese in der Marksubstanz gelegenen Streifen waren in einzelnen Fällen so dicht, daß die Papillenspitze fast weiß erschien, in anderen Fällen waren sie spärlicher, von eitrigem Gewebe umgeben. Rindenabszesse waren bei der Injektion dieser schwachen Kulturen nicht vorhanden.

In $\frac{4}{5}$ dieser Fälle konnte ich die Kokken aus den Nieren, Urin und Gallenblase züchten. Das Bild der Erkrankung war das einer chronischen Sepsis. Damit stimmte auch die diffuse Erkrankung der Nierenrinde, des Myokards, die Hyperplasie der Milz überein.

Bei den herdförmigen Nierenerkrankungen können wir zwei Arten von Abszessen unterscheiden: Die Rinden- und Markabszesse. Es besteht

bei beiden nicht nur ein anatomischer Unterschied durch die verschiedene Lage, sondern auch ein Unterschied hinsichtlich ihrer Genese, und zwar insofern, als die Rindenabszesse teils durch die in die kleinsten Gefäße der Rinde verschleppten Kokken, teils durch solche hervorgerufen werden, welche das Kapillarnetz der Glomerulusschlinge nicht passiert und dort ihre pathogenen Eigenschaften entfaltet haben, während die Markabszesse gewöhnlich ihren Ausgang von Kokkenhaufen genommen hatten, die in manchen Fällen die Lumina der geraden Harnkanälchen bis zur Papillenspitze direkt ausfüllten. In Übereinstimmung mit Orth, der ähnliche Veränderungen beim Menschen schon im Jahre 1890¹ gesehen und sie als Nephritis papillaris mycotica beschrieben hat, bin ich der Ansicht, daß diese Kokkenhaufen keineswegs in den Gefäßen der Marksubstanz, sondern in den geraden Harnkanälchen liegen, in denen sie aus dem Blut nach Passieren der Glomeruli sich gesammelt, und wo sie in den hier in Masse lagernden Epithelien, Zylindern, roten Blutkörperchen einen günstigen Nährboden zur Vermehrung fanden. Sekundär um diese Kokkenhaufen bilden sich dann Abszesse, welche in einzelnen Fällen ganze Papillen zerstören können. Ob die Ausscheidung solcher wenig virulenten Staphylokokken aus dem Blut durch die Glomeruli in den Harn als eine physiologische oder pathologische Tätigkeit der Niere als Ausscheidungsorgan aufzufassen ist, lasse ich dahingestellt; ich werde in einer besonderen Arbeit auf diese Vorgänge noch zurückkommen.

Fast ebenso häufig als die diffusen Erkrankungen der Niere war in den Fällen chronischer Sepsis, in denen es zur Ausbildung von Herd-erkrankungen, wie Abszessen, nicht gekommen war, eine Degeneration der Herzmuskulatur. Makroskopisch sieht man in diesen Fällen, daß die normal rote Farbe der Muskulatur einer mehr gelblichen opaken Farbe gewichen ist. Der Herzmuskel ist schlaff, mürbe und zerreißlich. Diese Veränderungen haben ihren Grund in der fleckweisen, am meisten an den Trabekeln und Papillarmuskeln ins Auge fallenden zirkumskripten Fettmetamorphose der Muskelfasern. Das Bild stimmt vollkommen überein mit der beim Menschen in vielen Fällen von Infektionskrankheiten auftretenden degenerativen Myokarditis.

Diese diffuse Erkrankung der Herzmuskulatur ohne Abszeßbildung tritt gewöhnlich bei der Anwendung schwacher Kulturen ein. Sie kann die alleinige Erkrankung des Herzens darstellen, und der Befund ist durchaus ähnlich demjenigen, den ich bei meinen drei bei den Immunisierungsversuchen

¹ Orth, Über die Ausscheidung abnormer körperlicher Bestandteile des Blutes durch die Nieren. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1890.

verendeten Kaninchen machte, die abgetötete Kulturmassen von sehr virulenten Staphylokokken intravenös erhalten hatten. (Siehe Protokolle.)

Interessantere Befunde von endokarditischen Erkrankungen der Klappen und Sehnenfäden des Herzens brachten die Versuche Nr. 4, 6, 12, 14, 16, 22 (siehe die Protokolle).

Über die Erzeugung der Endocarditis auf experimentellem Wege liegen ja bereits Arbeiten verschiedener Autoren vor. Die meisten Untersucher gingen auf die Weise vor, daß sie auf irgend einem Wege Läsionen der Herzklappen herbeiführten, auf denen sich dann die Kokken als einem locus minoris resistentiae ansiedeln konnten. Aber bereits Ribbert, der durch Beimengung von Bröckchen der zur Kultur benutzten Kartoffel zur Kokkenaufschwemmung eine Endocarditis erzeugte, berichtet, daß alle diese Maßnahmen zur Entstehung derselben nicht erforderlich sind. Bei meinen Versuchen habe ich in mehreren Fällen eine echte Endocarditis der Mitralis und Tricuspidalis, sowie endokarditische Prozesse der Sehnenfäden beobachtet. Es ist mir also gelungen, in einzelnen Fällen auch ohne Läsion der Klappen und ohne Beimengungen mit pyogenen Kokken, die von und aus der Umgebung des normalen Menschen stammen, eine typische Endocarditis bei den Versuchstieren zu erzeugen.

Pathologische Veränderungen der Lunge sind bei der Anwendung schwach virulenter Kulturen verhältnismäßig selten. Im übrigen kann ich bezüglich der Einzelheiten nur auf das verweisen, was Ribbert darüber in seiner Monographie mitgeteilt hat.

Wie schon oben hervorgehoben, ist nach Ribbert die Reihenfolge der Organe, welche der Staphylococcus am meisten befällt, Niere, Herz, Lunge, Milz, Knochenmark. Abweichend habe ich bei den Versuchen mit meinen Stämmen die Beobachtung gemacht, daß die Erkrankung des Knochensystems und -marks, besonders an den Rippen in der Häufigkeit sofort hinter der Erkrankung des Herzens kommt, zuweilen ist sogar die Erkrankung einer oder mehrerer Rippen die einzige Erkrankung nach intravenöser Injektion, wie ich bei Tieren, die nach Überstehung der akuten Erkrankung getötet wurden, feststellen konnte. Ribbert ist hierauf nicht näher eingegangen und beschreibt nur die Veränderungen des Knochenmarks, die in einer allmählichen, besonders am Femur bequem zu verfolgenden Umwandlung des Fettmarkes in lymphoides Mark bestehen.

Die Veränderungen, welche der Staphylococcus an den Rippen hervorruft, sitzen gewöhnlich an der Berührungsstelle von Rippenknorpel und knöcherner Rippe: Entweder, und das sieht man am häufigsten,

kommt es hier zu Blutungen oder kleinen Eiterherden, die manchmal auch im Periost sitzen, oder zu einer spindelförmigen Auftreibung des Knochens. In anderen Fällen liegt die spindelförmige Auftreibung nicht an der Epiphysengrenze, sondern in der Kontinuität der knöchernen Rippe. Es kann nur eine oder aber auch mehrere Rippen gleichzeitig erkrankt sein. In einem Falle waren vier osteomyelitische Herde an den verschiedensten Rippen vorhanden. Der Prozeß kann auch auf die Nachbarschaft übergreifen; neben Rötung und Schwellung wurden in dem benachbarten Gewebe zuweilen größere Hämorrhagieen beobachtet.

Mehrere Fälle habe ich genauer pathologisch-anatomisch untersucht. Ein Tier wurde 3 Wochen nach der überstandenen Infektion getötet. Es fand sich an einer Rippe eine spindelförmige Auftreibung, auf deren Durchschnitt der kleine graugelb aussehende, abgestorbene Knochen als kleiner Sequester sichtbar war. Um ihn herum hatte sich bereits neues junges Knochengewebe gebildet. Die mikroskopische Untersuchung bestätigte vollkommen den makroskopischen Befund.

Daß ich bei meinen Versuchen die Erkrankung der Knochen zum Unterschied zu Ribbert so häufig beobachten konnte, führe ich darauf zurück, daß ich

1. meine Versuche fast durchweg am jungen, noch nicht ganz ausgewachsenen Tiere anstellte,
2. zu den Versuchen nur die wenig virulenten Kulturen meiner 30 Stämme benutzte.

Erfahrungen über die Entstehung und den Verlauf der Osteomyelitis an den Extremitätenknochen fehlen mir. Daß die Knochen bzw. das Mark und die Gelenke der Versuchstiere bei intravenöser Einverleibung der Kulturen in Mitleidenschaft gezogen waren, schließe ich daraus, daß die Kaninchen in den Tagen nach der Infektion zuweilen hinkten und bei Berührung der Extremitäten Schmerzen äußerten. Zur Ausbildung osteomyelitischer Knochenverdickungen der dicken Röhrenknochen der Extremitäten gehört zudem mehr Zeit, wie bei den viel zarteren Rippen. Es würde aber auch hier vielleicht im Laufe der Zeit zu osteomyelitischen Prozessen gekommen sein, wenn die Tiere länger gelebt hätten. In dieser Annahme bestärken mich die Angaben Lexer's.¹

„Nimmt man zur intravenösen Injektion alte abgeschwächte Kulturen von gelben oder weißen Staphylokokken und von Streptokokken, so überstehen die Tiere eine kurz dauernde Erkrankung, in deren Verlauf bei

¹ Lexer, Über die experimentelle Erzeugung der Osteomyelitis. *Lehrbuch der allgem. Chirurgie*. 1904. Bd. I.

einzelnen schmerzhaft heisse Schwellungen an einem oder mehreren Gliedern auftreten. Während die Weichteilsschwellung schwindet, bildet sich immer deutlicher eine Knochenverdickung aus, welche nach 2 bis 3 Monaten alle pathologischen Veränderungen der Osteomyelitis purulenta chronica des Menschen mit ausgedehnter Eiterung und Nekrose aufweist.“

Zum Schlusse der Ausführungen über die pathologische Anatomie der Staphylokokkeninfektion beim Kaninchen möchte ich noch hervorheben, daß ich auch vielfach Heilungsprozesse beobachtet habe. Wenn also die Tiere die Infektion mit einzelnen meiner 30 Stämme überstanden, so ist damit noch keineswegs gesagt, daß diese Stämme nicht pathogen sind. Wenn ich die Tiere längere Zeit nach der Infektion tötete, so konnte ich in einzelnen Fällen isolierte osteomyelitische Prozesse der Rippen nachweisen, in anderen Fällen war die Nierenoberfläche granuliert, von einer höckerigen Beschaffenheit, ein Bild, welches einer Granularatrophie der Nieren nicht unähnlich war. Hier handelte es sich offenbar um die Ausheilung einer diffusen Erkrankung der Nierenrinde.

Aus den vorhergehenden Ausführungen ergeben sich für die praktische Chirurgie einige bemerkenswerte Tatsachen.

Ich habe gezeigt, daß wir in der Blutagarplatte eine Methode zur Differenzierung besitzen, um pathogene von saprophytischen harmlosen Traubenkokken leicht zu unterscheiden. Die Differenzierung wird möglich gemacht durch die Eigenschaft pyogener Kokken, das Hämolysin zu sezernieren. Es wird dadurch die Aufgabe, die echten pyogenen Kokken aus der Unzahl der übrigen herauszuzüchten, wesentlich erleichtert. Mit einem hoch agglutinierenden, von einem menschenpathogenen Stamme hergestellten Serum kann man dann die Agglutination noch zur Differenzierung heranziehen, muß sich aber dabei bewußt bleiben, daß es pathogene Stämme gibt, welche entweder schwer oder gar nicht agglutinabel sind.

Mit dieser für praktische Zwecke brauchbaren Methode können wir durch direkte Abdrücke des zu untersuchenden Körperteiles nachweisen, daß die große Bakterienflora der menschlichen Haut, der Haare, Kleidung usw. zu 90 Prozent aus harmlosen Saprophyten, hauptsächlich weißen Staphylokokken besteht, daß unter den übrig bleibenden 10 Prozent etwa 3 bis 5 Prozent echte pyogene Kokken sind. Diese Zahlen machen jedoch keinen Anspruch auf Zuverlässigkeit. Ich habe verschiedentlich durch Andrücken an das Kopfhaar und die Haut, durch Aussetzen der Blutplatten der Luft, Platten gewonnen, auf denen 10 Prozent und mehr Staphylokokkenkolonien mit Hofbildung gewachsen waren. Es bleibt

weiteren Untersuchungen überlassen, festzustellen, ob bei einzelnen Menschen der Grund einer chronischen Furunkulose, der häufigen Erkrankung der Diabetiker an Furunkeln usw. durch ein häufigeres Vorkommen der Eiterkokken auf ihrer Körperoberfläche oder durch andere Verhältnisse zu erklären ist, so daß es auch hier „Kokkenträger“ gäbe, wie wir bei anderen Krankheiten „Bazillenträger“ kennen gelernt haben.

Durch die Tierversuche habe ich ferner einwandfrei festgestellt, daß die Hämotoxin bildenden Staphylokokken alle pyogenen Erkrankungsformen hervorrufen können. Die Behauptung einzelner Autoren und Lehrbücher, daß an und in der Umgebung des gesunden Menschen echte pyogene Traubenkokken nicht vorkämen, ist demnach nicht richtig, andererseits aber sind auch die Angaben mancher Lehrbücher über das sehr zahlreiche Vorkommen nicht immer zutreffend.

Wenn somit an der Identität der saprophytisch pyogenen Staphylokokken mit Eiterkokken nicht gezweifelt werden kann, so haben meine Untersuchungen doch ergeben, daß gewisse Unterschiede zwischen beiden bestehen. Die Kenntnis derselben ist für die praktische Chirurgie von Wichtigkeit, da sie einerseits manche ihrer theoretischen Annahmen sicherstellt, andererseits einige beachtenswerte Fingerzeige für die Prophylaxe chirurgischer Maßnahmen bei Operationen usw. gibt.

Der fundamentale Unterschied zwischen beiden Kokkenarten besteht in der verschiedenen anfänglichen Virulenz. Außerdem ist der Virulenzgrad der aus frischen menschlichen Krankheitsherden stammenden Eiterkokken gegenüber den anderen ein ziemlich konstanter.

An einen solchen Virulenzgrad, an eine derartige konstante Wirkung reichen auch die pathogensten Stämme der auf der Körperoberfläche, auf der Schleimhaut, auf der Kleidung, in der Luft saprophytisch lebenden Traubenkokken ursprünglich nicht im entferntesten heran. Ich habe gezeigt, wie große Mengen oft nötig sind, um auch nur eine örtliche Erkrankung des Versuchstieres herbeizuführen. Von Wichtigkeit ist ferner der von mir geführte Nachweis, daß die saprophytisch pyogenen Kokken durch Tierpassagen den Virulenzgrad der Eiterkokken erlangen können.

Wenn wir nun aber die wenig virulenten pyogenen Kokken des normalen menschlichen Körpers und seiner Umgebung als Erreger schwererer Infektionen zunächst nicht zu fürchten brauchen, so spielen sie doch in der praktischen Chirurgie eine große Rolle. Die Tatsache, daß sie überall am Menschen vorkommen und unter geeigneten Bedingungen virulent werden können, zeigt uns, daß die Gefahren, die der normalen Heilung einer Wunde, besonders unserer Operationswunden drohen,

doch recht erhebliche sind und keineswegs gering angeschlagen werden dürfen.

Wir können daher bei aseptischen Operationen die Vorsichtsmaßregeln gar nicht weit genug treiben! Die wenig virulenten pyogenen Kokken, die aus der Luft, von den Händen, von dem Körper des Operierten in die Wunden gelangen, werden vielleicht meistens den bakteriziden Kräften des Organismus erliegen. Es ändert sich aber das Bild, wenn entweder die Widerstandskraft des Organismus geschwächt, oder bei der Operation die Gewebe durch Quetschen, Reißen geschädigt oder durch Ansammlung von Wundsekret, Blut usw. gute Entwicklungsstätten für die Kokken geschaffen werden.

Wollen wir aber noch bessere Resultate unserer Wundheilungen erzielen, dann müssen wir das ganze Rüstzeug der verfeinerten Asepsik, Handschuhe, Mundmasken, Kopfbedeckungen in Anwendung bringen. Die modernen Bestrebungen nach Verbesserung der Asepsik sind also keineswegs eine müßige Spielerei, sondern basieren auf der Erkenntnis, daß an und in der Umgebung des Menschen pyogene Kokken vorkommen.

Es bleibt noch die Frage zu erörtern, ob die pyogenen Staphylokokken des normalen Körpers als Erreger spontaner eitriger und septischer Erkrankungen in Betracht kommen. Im Hinblick auf diese Frage ist die von mir konstatierte Tatsache wichtig, daß man mit diesen wenig virulenten Kokken experimentell alle Erkrankungen, bei denen erfahrungsgemäß Staphylokokken eine Rolle spielen, wie Sepsis, Pyämie, Endocarditis, Osteomyelitis bei Kaninchen erzeugen kann. Es ist möglich, daß sie auch beim Menschen diese Erkrankungen hervorrufen können. Eine genügende Antwort läßt sich aber nur schwer darauf geben. Als Erreger der akuten hämatogenen Osteomyelitis im Kindesalter dürften sie wohl in Betracht kommen. Die häufigsten Erkrankungen fallen in die Wachstumszeit, und von dieser ist der Zeitraum vom 8. bis 17. Lebensjahre am meisten heimgesucht, während sie nach dem 25. Jahre nur selten auftreten.

Wir müssen annehmen, daß pyogene Kokken durch irgendwelche geringfügige Läsionen der Haut und Schleimhäute in den Kreislauf geraten können. Es liegen übrigens Versuche vor, nach denen Bakterien die unverletzte Haut unter dem Einflusse von Reibung zwischen Haarschaft und Scheide zu durchwandern vermögen.

Ich glaube, daß nichts dagegen spricht, anzunehmen, daß die auf der normalen Körperoberfläche vegetierenden pyogenen Eiterkokken für die Fälle von Osteomyelitis usw. in Frage kommen, wo ein primärer pyogener Herd, wie Furunkel, Angina usw. nicht aufzufinden ist. Die Träger pathogener Kokken schweben also beständig in einer gewissen Gefahr.

Sektionsprotokolle

a) der mit abgetöteten Staphylokokkenkulturen zur Serumgewinnung behandelten Tiere.

Versuch 1. Großes starkes Kaninchen, erhielt am 25. IV. 2 Agarkulturen von einem hochvirulenten *Staphylococcus aureus*, der einer Osteomyelitis entstammte; am 4. V. 4 Agarkulturen; beide Kulturmengen je 2 Stunden bei 60° sterilisiert.

Tot am 8. V. Sektion: Tier nicht abgemagert. Starke Hypertrophie des Herzens, besonders des linken Ventrikels; Muskulatur gelblich verfärbt, fleckige Fettmetamorphose. Lungen voluminös, beide Unterlappen hepatisiert, Blutungen auf der Pleura. Nieren groß, Rinde verbreitert, von grangelber Farbe mit zahlreichen Blutungen.

Bakteriologische Sektion: Blut, Nieren, Galle steril.

Versuch 2. Großes graues Tier.

Injektion am 14. V. 2 Agarkulturen *Staphylococcus aureus* (Karbunkel).

" " 23. V. 4 " " " "

" " 30. V. 6 " " " "

Tot am 2. VI.

Sektion: Im Peritonealraum blutig seröses Exsudat. Blutungen auf dem parietalen Blatt des Peritoneums; Hypertrophie des linken Ventrikels. Fettmetamorphose des Herzens. Nieren sehr groß. Rinde verbreitert von graugelbem opakem Aussehen. Kleine Blutungen in der Rindensubstanz. Blutungen und Hepatisation der Lungen. Leber zerreiblich, parenchymatös getrübt.

Bakteriologische Sektion: Blut, Nieren, Galle steril.

Versuch 3. Sehr großes, schweres Tier.

Injektion am 14. V. 2 Agarkulturen *Staphylococcus aureus* (Osteomyelit).

" " 23. V. 4 " " " "

Tot am 24. V.

Sektion: 25. V. Lungen groß, stark hepatisiert, Blutungen der Pleura und im Lungengewebe. Herz hypertrophisch; fleckige Fettmetamorphose der Muskulatur. Leber, Nieren parenchymatöse Trübung; Nierenrinde verbreitert von graugelber Beschaffenheit. Im Peritonealraum blutig seröses Exsudat.

Bakteriologische Sektion: Nieren, Blut, Urin steril.

Mikroskopische Untersuchung der Nieren: Herdweise Nekrose der gewundenen Harnkanälchen. Blutungen im Kapillarnetz der Glomeruli, zahlreiche Blutungen in der Marksubstanz.

b) Protokolle zum

Versuch 4. Junges, noch nicht ausgewachsenes Kaninchen.

Intravenöse Injektion am 12. IV. von 2 $\frac{1}{2}$ bis 3^{ccm} 1 tägiger Bouillenkultur von Stamm 17 (Kleidung).

Getötet am 18. IV.

Sektion: An verschiedenen Rippen der Knorpelknochengrenze entsprechend weißgraue Herde, wodurch der Knochen bis zur Größe einer kleinen Erbsen aufgetrieben erscheint. (Osteomyelitische Herde.) An der Mitralklappe ein

etwa stecknadelkopfgroßes, weißes Knötchen, welches dem Rande der Klappe durch breite Verbindung aufsitzt. In der Leber ein erbsengroßer Abszeß.

Bakteriologische Sektion: Auf Agarröhrchen, die mit Nierensaft bestrichen, fünf Kolonien Staphylococcus, ebenso einzelne Kolonien aus dem Leberabszeß. Blut steril.

Die mikroskopische Untersuchung der polypösen Exkreszenz der Mitralklappe ergab, daß sie in der Hauptsache aus einer Thrombusmasse besteht, und zwar sieht man in dem feinen Fibrin zahlreiche weiße Blutkörperchen; zwischen ihnen eingeschlossen lassen sich mit der Färbung nach Gram noch Kokken erkennen. Am Rande der Exkreszenz sind zahlreiche rote Blutkörperchen haften geblieben. Diagnose: Endocarditis polyposa.

Versuch 5. Schwarzes Kaninchen. 12. IV. Injektion von 3^{cem} 1 tägiger Bouillonkultur von Stamm 20 (Finger). Staphylococcus aureus.

Tot 13. IV.

Sektion: Blutig seröse Pericarditis der Pleura und der Lungen. Parenchymatöse Trübung der Nieren und Leber. Hyperplasie der Milz.

Bakteriologische Sektion: Herzblut enthält zahlreiche Kolonien vom Staphylococcus aureus, Niere einen zusammenhängenden Belag, ebenso der Urin.

Diagnose: Sepsis.

Versuch 6. Tier erhielt am 16. IV. 3^{cem} 6 Tage alter Bouillonkultur von Stamm 18 (Staphylococcus aureus aus dem Mund), kräftiger Hämolysinbildner.

Tot 17. IV. Sektion: Blutungen auf dem Perikard; geringe Pleuritis, Herz schlaff, dilatiert. An der Tricuspidalis finden sich zahlreiche, kleinste grau aussehende Knötchen, die auf der Unterfläche der Klappe fest aufsitzen. Endocarditis tricuspidalis! An der Leber fallen längliche weiße Herde mit zackigen, unregelmäßigen Rändern auf (Nekrosen, keine Kokzidiose). Niere zeigt kleinste gelbe Herde auf der Rindenoberfläche von roten Höfen umgeben (beginnende Abszesse!) Hyperplasia lienis.

Bakteriologische Sektion: Herzblut etwa 50 Kolonien, Niere und Urin zusammenhängender Belag von Staphylococcus aureus.

Diagnose: Septicopyaemie.

Versuch 7. Am 16. IV. Injektion von 3^{cem} 6 Tage alter Bouillonkultur von Stamm 24. Staphylococcus aureus aus dem Unternagelraum, kräftiger Hämotoxinbildner.

Tot am 17. IV. Sektion: Sehr starke Pericarditis. Blutungen auf dem Perikard, besonders an der Herzspitze. Blutungen auch im Endocard. Muskulatur schlaff, gelblich verfärbt. In der Leber die länglichen zackigen Nekrosen von weißgrauer Farbe (keine Kokzidiose!). Nierenoberfläche beginnende Abszeßbildung.

Bakteriologische Sektion: Herzblut 40 bis 50 Kolonien. Nieren, Urin dicker zusammenhängender Belag von Staphylococcus aureus.

Diagnose: Sepsis.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Nieren und des Herzens der Tiere aus Versuch 4, 5, 6, 7 konnten zahlreiche Staphylokokkenherde nachgewiesen werden.

Protokolle zu den Tierversuchen Tabelle I.

Kaninchen Nr. 9. Am 7. VI. Injektion von 5 Agarkulturen von Stamm 9. *Staphylococcus albus* von der Hand.

Tot 8. VI. Blutungen auf dem Perikard und der Pleura. Herz dilatiert, schlaff. Milz vergrößert. Nieren, Leber, parenchymatös getrübt. Blutungen in den Epiphysengrenzen der Rippen.

Bakteriologische Sektion: Herz, Nieren, Urin, Gallenblase, Reinkultur von *Staphylococcus albus*.

Kaninchen Nr. 12. Am 7. VI. Injektion wie vorher mit Stamm Nr. 4. *Staphylococcus aureus* vom Kopf.

Tot am 13. VI.

Auf dem Perikard Blutungen. Herz schlaff, Muskulatur fleckige Fettmetamorphose. Auf dem Endokard des rechten Ventrikels teilweise zwischen den Sehnenfäden der Tricuspidalis ein unregelmäßiges grauweißes Knötchen, das von einem hämorrhagischen Gewebe umgeben ist; die Blutungen setzen sich durch die Ventrikelwand auf das Perikard fort (fortgeleitete Endocarditis von einem Staphylokokkenherd im Myokard). Nierenoberfläche zeigt unregelmäßige blasse Partien, so daß die Niere wie gefleckt aussieht. Auf dem Durchschnitt haben die blassen Partien das Aussehen eines Infarktes. In der Marksubstanz sind gelbbraunliche, radiär gestellte zur Papillenspitze ziehende Streifen sichtbar. Milzhyperplasie.

Bakteriologische Sektion: Blut steril. Aus Niere, Urin, Galle zusammenhängender Belag.

Diagnose: Chronische Sepsis. Myocarditis parenchymatosa, Endocarditis, Nephritis papillaris mycotica nach Orth.

Kaninchen Nr. 13. Injektion am 8. VI. wie vorher mit Stamm Nr. 6 (Mund).

Tot am 10. VI. Herz schlaff, dilatiert. Blutungen auf der Pleura. Nieren groß, Rinde von graugelbem opakem Aussehen. In der Marksubstanz zur Papillenspitze ziehende gelbbraunliche Streifen. An zwei Rippen etwa 1 cm vor der Epiphysengrenze osteomyelitische Auftreibung. Hyperplasie der Milz.

Bakteriologische Sektion: Blut steril. Aus Nieren, Urin, Galle wächst zusammenhängender Belag von *Staphylococcus aureus*.

Kaninchen Nr. 14. Injektion am 8. VI. mit Stamm Nr. 7 (Mund). *Staphylococcus aureus*.

Tot am 11. VI. Sektion: Blutungen und pneumonische Herde in den Lungen. Pericarditis haemorrhagica. Fettige Degeneration der Herzmuskulatur. An der Mitralklappe feine rötliche Exkreszenzen, die wie kleine Würzchen aussehen, sie sitzen auf der Unterlage fest. Nieren groß. Die Oberfläche sieht wie gefleckt aus; auf dem Durchschnitt in der Rinde infarktähnliche Partien. In der Marksubstanz gelbbraunliche Streifen (Nephritis papillaris mycotica). Milzhyperplasie.

Bakteriologische Sektion: Blut 15 bis 20 Kolonien, Ausstriche aus Nieren, Gallenblase zeigen zusammenhängenden Belag von *Staphylococcus aureus*.

Diagnose: Chronische Sepsis.

Protokolle zu den Tierversuchen von Tabelle II.

Kaninchen Nr. 16. Injektion einer Bouillonkultur von Stamm Nr. 2.
Haut des Skrotums.

Tot am 18. VI. Sektion: Blutungen auf dem Perikard. Herz schlaff, Muskulatur verfärbt. An der Mitralis auf zwei Sehnenfäden übergehend zwei weiße miliare Knötchen (Endocarditis). Nierenrinde zeigt auf der Oberfläche in Gruppen angeordnet über das Niveau prominierende stecknadelkopfgroße Abszesse, von einem schmalen hämorrhagischen Hofe umgeben. Hyperplasie der Milz. Gallenblase groß, prall gespannt.

Bakteriologische Sektion: Blut 2 bis 3 Kolonien, Niere, Urin zahlreiche, aber noch isolierte Kolonien *Staphylococcus aureus*. Galle zusammenhängender Belag.

Kaninchen Nr. 17. Injektion am 14. VI. wie vorher mit Stamm Nr. 8 aus der Luft.

Tot am 17. VI. Sektion: Im Peritonealraum blutig seröses Exsudat. Pleura leichter seröser Erguß mit großen Blutungen. Starke Blutungen in den Rippen, besonders an der Knorpelknochengrenze. In einer Rippe ein Eiterherd, das Gewebe ringsherum hämorrhagisch entzündet. Gallenblase groß, prall gespannt. Hyperplasie der Milz.

Bakteriologische Sektion: Röhrechen von Herzblut, Gallenblase, Urin steril. Von der Niere spärliche Kolonien von *Staphylococcus albus*.

Kaninchen Nr. 18. Injektion am 14. VI. wie vorher mit Stamm Nr. 9 (Finger).

Getötet in der Agone am 18. VI.

Sektion: Blutungen auf dem Perikard. An fünf Rippen osteomyelitische Auftreibungen. Nierenrinde von geflecktem Aussehen. Milzhyperplasie.

Bakteriologische Sektion: Blut, Urin steril. Galle nicht untersucht.

Kaninchen Nr. 19. Injektion am 14. VI. wie vorher mit Stamm Nr. 10, (Haare).

Getötet am 18. VI. in der Agone. Sektion: Blutungen auf dem Perikard. Abszesse in der Marksubstanz der Niere, welche die Papillen der Marksubstanz teilweise zerstört haben. An der 10. und 11. Rippe Osteomyelitis. Milz hyperplastisch.

Bakteriologische Sektion: Herzblut steril, Galle ebenfalls. Nierenausstrich zusammenhängender Belag. Urin zahlreiche noch isolierte Kolonien.

Kaninchen Nr. 20. Injektion am 14. VI. wie vorher mit Stamm Nr. 4. *Staphylococcus aureus* vom Kopf.

Tot am 23. VI. Sektion: Lungenblutungen und broncho-pneumonische Herde. Herz groß, schlaff dilatiert. Nierenabszesse in der Marksubstanz und vereinzelte in der Nierenrinde.

Bakteriologische Sektion: Aus Blut, Galle, Urin breiter Überzug von *Staphylococcus aureus* mit vereinzelten anderen Kolonien (*Bacterium coli*?).

Kaninchen Nr. 21. Injektion am 19. VI. wie vorher mit Stamm Nr. 6 (Mund).

Tot am 22. VI. Sektion: Blutungen auf der Pleura. Herzmuskulatur gelblich verfärbt. Fettmetamorphose der Muskulatur. Nierenrinde von grauweißem opakem Aussehen. Rinde verbreitert. Nephritis papillaris mycotica.

Bakteriologische Sektion: Blut steril. Aus Galle zahlreiche, aber noch isolierte Kolonien. Niere und Urin zusammenhängender Belag von *Staphylococcus aureus*.

Kaninchen Nr. 22. Injektion am 19. VI. wie vorher mit Stamm Nr. 7, (Mund). Zitronengelber *Staphylococcus*.

Tot am 23. VI. Sektion: Osteomyelitis incipiens an einzelnen Rippen. Auf dem Perikard vereinzelt Hämorrhagien. An der Mitralis zwei kleine stecknadelkopfgroße Knötchen (*Endocarditis polyposa*). Nierenrinde weist kleine in Gruppen angeordnete Abszesse auf. Gallenblase prall gespannt, dunkelgrüne Galle enthaltend.

Bakteriologische Sektion: Blut steril. Niere, Urin, zahlreiche isolierte Kolonien. Galle zusammenhängender Belag.

Protokolle der Versuche zur Steigerung der Virulenz.

a) Stamm 20, *Staphylococcus aureus* von den Fingern. Ein Kontrolltier, das $\frac{1}{4}$ Agarkultur in NaCl-Aufschwemmung erhält, blieb gesund.

Kaninchen Nr. 5 (s. Protokoll) erliegt nach 24 Stunden einer Sepsis, nachdem es 3^{cem} einer 1 tägigen Bouillonkultur erhalten.

Mit dem aus Kaninchen Nr. 5 reingezüchteten Stamm 20 bekommt

Kaninchen Nr. 25 am 16. IV. 1 $\frac{1}{2}$ ^{cem} 1 tägiger Bouillonkultur.

Tot 17. IV. Sektion: Pleuritis serosa, Parenchymatöse Trübung der Leber, Nieren, Herz schlaff, gelblich verfärbt. Hyperplasie der Milz.

Bakteriologische Sektion: Im Herzblut und pleuritischen Exsudat 10 bis 20 Kolonien. Ausstriche aus Nieren, Urin gelber zusammenhängender Belag. Diagnose: Sepsis.

Kaninchen Nr. 26 erhält $\frac{1}{3}$ ^{cem} Bouillonkultur von Stamm 20, der aus Kaninchen Nr. 25 reingezüchtet war. Am 19. IV. Tier hinkt in den folgenden Tagen mit den Hinterläufern stark, magert stark ab. Tot am 25. IV. Sektion: Lungen zeigen durch die Pleura durchscheinend kleine Abszesse, von hämorrhagischem Gewebe umgeben. Myokard kleinste weiße Herde mit Blutungen. Nierenoberfläche ist eingenommen von sehr zahlreichen bis erbsengroßen grauweißen Herden, welche die Nierenkapsel buckelförmig vorwölben und offenbar durch Konfluieren kleinerer Herde entstanden sind. Das Gewebe um die rechte Niere ist ödematös durchtränkt, im Gewebe ziehen weiße Streifen (eitergefüllte Lymphbahnen?) nach dem Nierenlager hin. Osteomyelitis einer Rippe.

Bakteriologische Sektion: Herzblut steril. Urin zeigt zusammenhängenden Belag von *Staphylococcus aureus* (mit einzelnen Kolonien von *Bacterium coli*?).

Kaninchen Nr. 27. Injektion am 19. VI. von 1 Öse *Staphylococcus aureus* Stamm 20. Passage aus Kaninchen Nr. 26.

Tot am 26. VI. Sektion: Blutungen auf dem Perikard, Pleura, Blutungen im Knochenmarke der Rippen. Schwere parenchymatöse Trübung der Leber, Nieren sehen wie gekocht aus.

Bakteriologische Sektion: Blut zeigt isolierte Kolonien. Niere zusammenhängender Belag, Urin isolierte Kolonien. Galle 3 bis 4 Kolonien.

Diagnose: Sepsis acuta.

Kaninchen 28. Injektion am 22. VI. $\frac{1}{4}$ Öse von Stamm 20, Passage aus Tier 27. Tot am 23. VI.

Sektion: Blutig seröses Exsudat im Perikard und Pleuren. Blutungen auf dem Perikard. Schwere parenchymatöse Trübung der Leber, Niere, deren Oberfläche Blutungen zeigt. Eine große Blutung findet sich in der Muskulatur des Femurs des hinteren Hinterlaufes.

Bakteriologische Sektion: Blut 40 bis 50 Kolonien. Galle 20 bis 30 Kolonien. Niere, Urin dicker gelber Belag.

b) mit *Staphylococcus aureus* Stamm 18 (Mund).

Das Kontrolltier, das $\frac{1}{4}$ Agarkultur Stammkultur intravenös erhalten hatte, magert nach der Injektion ab, wird struppig, verendet nach 14 Tagen. Ursache: Lungenseuche?

Kaninchen Nr. 6. Injektion 16. IV. von 3^{com} 6 tägiger Bouillonkultur. Tod am 17. IV. Sepsis s. Protokoll (Versuch Nr. 6).

Kaninchen Nr. 29. Injektion am 19. IV. mit $\frac{1}{2}$ ^{com} Bouillonkultur (Passage aus dem vorhergehenden Tier). Tot am 25. IV. 1907.

Sektion: Abgemagertes, struppiges Tier, Herz schlaff, dilatiert, Muskulatur fleckige Fettmetamorphose. Leber zeigt zackige, in die Länge gezogene weißgraue Herde. (Nekrosen?) Keine Kokzidiose! Nierenrinde: Abszesse. An der Knochenknorpelgrenze zweier Rippen osteomyelitische Auftreibungen. Hyperplasie der Milz.

Bakteriologische Sektion: Herzblut 10 bis 15 Kolonien. *Staphylococcus aureus*. Niere, Urin nicht untersucht!

Kaninchen Nr. 30. Injektion am 2. V. von 1 Öse Agarkultur (Passage aus dem vorhergehenden Tier). Tot am 4. V. Sektion. Diagnose: Sepsis, Protokoll fehlt.

Kaninchen Nr. 31. Injektion am 19. VI. von $\frac{1}{3}$ Öse Agarkultur (Passage aus dem vorhergehenden Tier). Tot am 20. VI.

Sektion: Muskulatur gelb verfärbt, schlaff. Pericarditis serosa. Herz fettige Degeneration. Leber, Niere gelbgraues Aussehen, Parenchym brüchig, leicht zerreißlich. Blutungen an den Epiphysengrenzen der Rippen.

Die drüsigen Organe boten das Pathologisch-Anatomische wie bei einer akuten Vergiftung.

Bakteriologische Sektion: Blut zahllose Kolonien. Niere, Urin ebenso. Galle aber nur eine Kolonie. Diagnose: Sepsis acutissima.

c) mit *Staphylococcus aureus* Stamm 24, Unternagelraum.

Kaninchen Nr. 32. Injektion am 19. IV. von 1^{com} 1 tägiger Bouillonkultur (Passage von Tier Nr. 7, siehe Protokoll). Tot am 24. IV.

Sektion: In den Lungen Abszesse, die von hämorrhagischem Gewebe umgeben sind. Im Myokard zahlreiche, besonders in der Gegend der Herzspitze stechnadelkopfgroße weiße Herde durchschimmernd (Abszesse). Auf dem rechten Ventrikel eine linsengroße unregelmäßige Blutung. Daneben

verstreut zahlreiche kleinere. Auf der Nierenoberfläche zahlreiche in Gruppen angeordnete Abszesse. An den Rippen befinden sich Auftreibungen des Knochens an der Epiphysengrenze.

Bakteriologische Sektion: Blut steril. Nieren, Urin dicker gelber Belag.

Kaninchen Nr. 33. Injektion 22. V. $\frac{1}{2}$ Öse Agarkultur (Passage an vorhergehendem Tier). Tot am 23. V. Diagnose: Sepsis.

Sektion ohne Besonderheiten.

Bakteriologische Sektion: Blut zahlreiche Kolonien. Nieren, Urin, Galle zusammenhängender Belag.

Die Orientbeulen und ihre Ätiologie.

Von

E. J. Marsinowsky.

(Hierzu Taf. V u. VI.)

Vor 2 Jahren war es mir gelungen, im Sekret einer Orientbeule einen eigentümlichen Parasiten aus der Klasse der Protozoa, der von mir und Dr. S. L. Bogroff¹ zusammen beschrieben war, zu entdecken. Die regelmäßige Anwesenheit dieses Parasiten in den Beulen und seine hauptsächlich intrazelluläre Lebensweise gaben eine gewisse Basis, ihn für den Erreger dieser originellen Erkrankung zu halten.

Um meine Untersuchungen mit neuen Beweismitteln zu ergänzen, unternahm ich eine Reise nach dem Kaukasus, wo zwei endemische Herde dieser Krankheit, Lenkoran und Elisabethpolis, vorhanden sind. Die letztgenannte Stadt wird für die äußerste nordwestliche Grenze ihrer geographischen Verbreitung gehalten. Überhaupt aber ist diese Krankheit am meisten in der tropischen und subtropischen Zone beider Hemisphären verbreitet und besitzt aus diesem Grunde sehr viele Benennungen (Bouton de Biskra, Bouton d'Alepp, Saccharaschankre, Cocanka, Sartenbeule, Pendsinsche Beule usw.). Im Kaukasus ist sie unter dem Namen „godowik“, tatarisch „il-jarassy“ (il—Jahr, jarassy—Beule) bekannt.

Das klinische Krankheitsbild. Als Unterscheidungsmerkmale der Orientbeulen, die dieses Leiden in eine besondere Gruppe einzureihen gestatten, sind folgende festzuhalten: 1. Die Krankheit hat einen bestimmten zyklischen Verlauf, 2. sie stellt eine gutartige lokale Erkrankung der Haut dar, und ist 3. eng an eine bestimmte Gegend gebunden.

¹ *Medizinische Rundschau*. Russisch in Moskau (1).

Man kann unter den verschiedenen Formen der Orientbeule zwei äußerste Typen unterscheiden: der eine — akute, der andere — langsam verlaufende, chronische. Alle übrigen Formen sind Übergangsformen.

Im Laufe der Krankheit selbst kann man vier Perioden unterscheiden: 1. eine prodromale Periode, 2. die Entstehung einer Papel in der Haut und ihre Exulceration, 3. die floride Beule und 4. ihre Vernarbung.

Die Inkubationsperiode beträgt ungefähr zwei Wochen [Heydenreich (2)], jedoch sind in der Literatur Hinweise darauf vorhanden, daß diese Periode zuweilen 2 bis 3 Monate oder noch länger dauert [Hirsch (3), Manotzkoff (4)]. In dieser Periode hält sich der Kranke für völlig gesund; er hat keine Schmerzen, keine Temperaturerhöhung; das einzige, worauf einige Forscher [Heydenreich (2)] hinweisen, ist Jucken und Kitzeln an der Stelle der zukünftigen Beule.

Bei der Beschreibung des Anfangsstadiums der Entwicklung der Beule ist eine gewisse Meinungsverschiedenheit vorhanden. Einige Autoren [Fleming (5), Altounyan (6), Schulgin (7), Chatelain (8), Tscherepinin (9) u. a.] behaupten, daß die Beule in diesem Stadium an einen Insektenbiß erinnert und aus einem hämorrhagischen Punkt besteht, welcher mit einem hyperämisierten Rand umgeben ist. An dieser Stelle entwickelt sich darauf eine Papel, ein Knoten und endlich die Beule; andere Forscher [Neuymmin (10)] dagegen notieren das Auftreten eines roten Fleckchens (macula) an der Stelle der künftigen Beule, doch sagen sie nichts über seine Ähnlichkeit mit dem Biß eines Insekts. Die letzten endlich, und zwar die Mehrheit, behaupten, daß die Beule mit dem Entstehen einer kleinen Papel anfängt. Diese Papel geht während ihrer weiteren Entwicklung in einen Tuberkel über und dieser in eine Beule. Dabei nekrotisiert gewöhnlich die Oberfläche des Tuberkels; sie ulceriert darauf und wird mit einer braunroten oder schwarzen Eiterkruste bedeckt. In einigen Fällen entwickelt sich aus einer Papel ein Bläschen und nachher eine Pustel, oder direkt eine solche. Wenn man im Anfangsstadium der Beule die Kruste abnimmt, sieht man unter ihr eine kleine Geschwürsfläche, die mit einem dichten, eitrigen, dem diphtheritischen ähnlichen Anflug bedeckt ist. Von der Erscheinung der Papel an bis zum Anfange der Beulenentstehung verfließen gewöhnlich 1 bis 4 Wochen. Diese Periode wird zuweilen von hoher (bis 40°) Temperatur begleitet. Dann tritt die dritte Periode ein — das Bestehen des Geschwürs. Die Geschwürsfläche vergrößert sich mehr und mehr und erreicht bisweilen die Größe eines Silberrubels. Ihre Ränder sind braunrot, besitzen die Konsistenz eines Knorpels und erheben sich über die Oberfläche der gesunden Haut. Der Boden eines solchen Geschwürs ist schon mit Granulationen bedeckt, von oben aber mit einem spärlichen serös-eitrigen oder blut-eitrigen Sekret,

das zu dunkelroten oder schwarzen Krusten vertrocknet. Das Geschwür wird mehr und mehr mit Granulationen ausgefüllt. Die letzteren haben einen Blutsturz und lassen sich leicht auseinander reißen. Die Beule selbst ruft keinen Schmerz hervor und wird durch keine Hyperplasie der Lymphdrüsen begleitet. Zuweilen kann man in den Granulationen die Anwesenheit von miliaren Tuberkeln konstatieren [Manotzkoff (4)]. Mir war ebenfalls gelungen, diese Tuberkeln bei einem Kranken zu beobachten. In solcher Form existiert die Beule während einiger Monate, dann wird sie einer regressiven Metamorphose unterworfen und per granulationem geheilt. Von einer Ausschlags- und papillomatösen Form soll hier keine Rede sein, da es unmöglich ist, ihre Zugehörigkeit zu den Orientbeulen für festgestellt zu halten.

An der Stelle einer früheren Beule bildet sich eine Narbe, die ebenfalls einige Eigentümlichkeiten besitzt: ihre Ränder sind ein wenig hervorgehoben und stark pigmentiert; die Pigmentierung des Bodens dagegen ist stets schwächer ausgeprägt. Die Gestalt der Narbe hängt von der der Beule selbst ab; sie kann rund, oval oder sternförmig sein. An der Stelle der Narbe bilden sich zuweilen Rezidive. Die Dauer der Beulen schwankt von 2 — 3 Wochen bis 1 — 2 Jahren; im mittleren kann man sie auf 6 bis 8 Monate schätzen. Die Zahl der Beulen kann verschieden sein, von 1 bis 30. Was die Lokalisation der Beule anbetrifft, so ist sie streng bestimmt. Man kann für eine Regel halten, daß sich die Beule nur auf den nicht bekleideten Teilen des Körpers entwickelt. Ihre Lieblingsstelle auf dem Gesicht ist der Arcus zygomaticus. Oft stehen sie auf der Spitze der Nase, über den Augenbrauen, auf den Ohrenrändern, auf dem Kinn und Lippen. An den Extremitäten befallen sie gewöhnlich die Rückoberflächen der Gelenke. Zuweilen entstehen in der Nähe der Beule nach dem Traktus der Lymphgefäße in der Haut kleine braunrote Knötchen von Hirsekörnchengröße. Meistenteils verschwinden sie spurlos nach der Heilung der Beule, zuweilen aber verwandeln sie sich selbst in eine Beule. Ein solches Knötchen haben wir bei unserem ersten Kranken, einem Perser, beobachtet. Obgleich es die Größe einer Erbse erreichte, ging es doch nicht in eine Beule über, wie wir aus einem Briefe des russischen Konsulatsarztes in Tauris schließen konnten. Bisweilen können die Beulen von Lymphangoitis begleitet werden. Was den Exitus der Krankheit anbetrifft, so ist er stets günstig. Wenn auch irgendwelche Komplikationen beobachtet werden, so geschieht das nicht häufiger als bei allen anderen Beulen. Sekundäre Erkrankungen an Beulen finden nur in Ausnahmefällen statt [Heydenreich (2)].

Die Haustiere erkranken an Beulen sehr selten; auf solche Fälle sind in der Literatur nur einzelne Hinweise vorhanden. Bei den Hunden

lokalisiert sich die Beule hauptsächlich in der Mundhöhle [Smith (11), Carter (12), Wortabet (13), Murray (14) u. a.], zuweilen aber auf den Saugwarzen [Heydenreich (2)]. Die Beulen werden von den Knoten begleitet. Es sind auch Fälle der Erkrankung an Beulen bei Katzen, Kamelen und Pferden beschrieben.

Pathologische Anatomie. Die Orientbeule ist ihrer Struktur nach auf die sogenannten Infektionsgranulome zu beziehen. Im Anfangstadium der Beulenentwicklung, wo sie noch eine Papula oder eine Tuberkel darstellt, ist man imstande, folgende Veränderungen in der Haut zu konstatieren. Die Epithelialschicht ist an dieser Stelle ein wenig angeschwollen und in den Lücken zwischen den einzelnen Zellen sind polynukleare Leukozyten sichtbar; im Corium ist ein Entzündungsinfiltrat vorhanden, das sich hauptsächlich rings um die Gefäße befindet und aus runden, epithelioiden, zuweilen aber auch aus Riesenzellen besteht. Die Zahl der Mastzellen im Bindegewebe ist bedeutend vergrößert. In den Gefäßen ist irgendwo eine Randstellung der Leukozyten zu sehen; das Endothel stellt sich aufgeschwollen dar. Im weiteren Verlaufe der Beule vermehrt sich bedeutend die Zahl der Leukozyten in der Epithelschicht und das Infiltrat selbst vergrößert sich ebenfalls.

In seinen späteren Entwicklungsstadien erleidet das Infiltrat eine regressive Metamorphose: seine Zentralteile mit der anliegenden Epithelschicht werden nekrotisiert und geben auf solche Weise einen Anfang für die Beule. Die letztere nimmt immer mehr und mehr an Größe zu. Der Boden der Beule bedeckt sich mit einem jungen Bindegewebe, das mit der Zeit die ganze Beulenoberfläche ausfüllt. Ferner findet an den Rändern der Beule eine reichere Proliferation des Epithels statt, das allmählich den Boden der zu heilen beginnenden Beule bedeckt. Auf solche Weise bildet sich an der Stelle der früheren Beule eine Narbe, in der sich eine große Menge von Blutpigment ablagert. Was die abortive Form der Beule anbetrifft, so beschränkt sich in diesen Fällen der ganze Prozeß [nach Rapschewsky (15)] auf die Infiltration der Papillarschicht des Corium ohne nachfolgenden Zerfall dieses Infiltrates.

Ätiologie. Wenn man über die Ätiologie der Orientbeule spricht, muß man erstens ihre Abhängigkeit vom heißen Klima hervorheben; wenigstens bis jetzt ist kein einziger Fall einer solchen Beule in einer gemäßigten Zone beschrieben worden. Ferner existiert ein unzweifelhafter Zusammenhang zwischen der Zahl der Erkrankungen und der Jahreszeit. In allen Gegenden fällt das Maximum der Erkrankungen mit dem Anfange des Herbstes oder überhaupt mit der kälteren Jahreszeit zusammen. Jenseits des Kaukasus fällt es auf September und Oktober.

Die Orientbeule kann man für eine Krankheit hauptsächlich des Kindesalters halten; doch es erkranken an ihr bisweilen auch Erwachsene; in Aleppo hat selten ein Kind bis zu seinem siebenten Jahre keine Beule gehabt. Nach Castaing (16) soll die weiße Rasse mehr als andere dieser Krankheit ausgesetzt sein. Mit dieser Tatsache ist besonders bei Expeditionen in heiße Gegenden zu rechnen. Als auf ein Beispiel kann man auf die Militärexpedition nach Mittelasien im Jahre 1885, die mit der Schlacht bei Kuschka endete, hinweisen. Im Murgabschen Korps fiel das größte Prozent an Kranken auf die durch die Orientbeule ergriffenen. Im ganzen waren 88 Prozent solcher Kranken vorhanden, in einigen Kompagnien sogar 100 Prozent. Der Krankheit sind besonders die unter schlechten hygienischen Bedingungen Wohnenden ausgesetzt, doch schont sie im allgemeinen niemanden. Jenseits des Kaukasus erkranken an ihr nicht selten die Kinder der gebildeten Klassen, zuweilen aber auch die Ärzte.

Eine große Bedeutung für die Ätiologie der Beule wurde einst seitens einiger Forscher [Heydenreich (2)] dem Boden zugeschrieben, diese Voraussetzung hat jedoch wenig für sich, da die Erkrankungen an Beulen sich scharf auf ein kleines Gebiet beschränken, während in der Nachbarschaft bei denselben Bodenbedingungen keine Erkrankungen konstatiert werden können. So z. B. erscheint der „Godowik“ als eine der verbreitetsten Krankheiten in der Stadt Elisabethpolis, dagegen wird sie niemals in den ringsumliegenden Dörfern und sogar auf der Eisenbahnstation, die mit der Stadt durch eine ununterbrochene Reihe von Gebäuden und durch Tramway verbunden sind, konstatiert. In Arabien tragen die Orientbeulen den Namen „bes-el-temür“ (Dattelkrankheit), da die Einwohner denken, daß sie infolge des übermäßigen Essens der Datteln entstehen. Doch ist diese Voraussetzung nicht richtig, da die Krankheit auch dort konstatiert wird, wo überhaupt keine Datteln wachsen.

Als mehr wahrscheinlicher Faktor der Verbreitung dieser Krankheit erscheint das Trinkwasser; so wird von verschiedenen Autoren [Hasselquist (17), Russel (18), Volney (19)] angegeben, daß in der Umgebung von Aleppo nur die an Beulen leiden, welche das Wasser aus dem Flusse Coik trinken. Die Bevölkerung jenseits des Kaukasus ist derselben Meinung, doch man nimmt dort an, daß das Wasser nur im Herbst ansteckend ist, weil in dieser Jahreszeit die Tschinarablätter von den Bäumen ins Wasser fallen. Es sei hier die interessante Tatsache mitgeteilt, daß zuweilen mit der Verbesserung des Trinkwassers die Verminderung der Zahl von Erkrankungen an Beulen zusammenfällt [Lewis und Cunningham (20)]. Diese Erscheinung fand auch in Elisabethpolis statt. Diese Stadt wird mit dem Wasser aus dem Fluß

Gangjinka, das in Kanälen durch die ganze Stadt hindurchgeleitet wird, versorgt; aus diesen Kanälen nimmt die Bevölkerung das Wasser zum Trinken, hier wird auch das Geschirr und nicht selten auch die Wäsche gewaschen. In den letzten 2 bis 3 Jahren ist in der Stadt eine Anzahl von Springbrunnen gebaut. Aus diesen Springbrunnen nimmt jetzt ein großer Teil der Bevölkerung das Wasser, die ärmeren Tataren und Armenier dagegen nehmen, wie auch früher, das Wasser aus den Kanälen. Seit der Zeit, wo die Springbrunnen gebaut sind, verkleinerte sich die Zahl der Erkrankungen um so viel, daß jetzt der „Godowik“ eine vergleichsweise seltene Krankheit geworden ist. Während meines Aufenthaltes (1 Monat) habe ich im ganzen zirka 30 Fälle beobachtet. Dagegen habe ich bei 2 bis 3 von je 10 Personen, die mir begegneten, die Spuren (Narben) von früheren Beulen auf dem Gesichte oder auf den Händen gefunden. — Einige Autoren machen den Versuch, die Wirkung des Wassers durch seinen Gehalt an verschiedenen Salzen und Gasstoffen zu erklären. So weist z. B. Jilt (21) auf den Gipsgehalt des Flusses Coik hin, Fraser (22) und Candry (23) auf den Gehalt an Nitraten im Wasser Pendjabas, Allcock (24) auf die Anwesenheit des H_2S usw. Doch damit allein kann man die schädliche Wirkung des Wassers kaum erklären; so verweist z. B. Laveran (25) auf einige Gegenden in der Oasis Biskra, z. B. El-Cantara, wo ungeachtet der Anwesenheit eines guten Trinkwassers ein endemischer Herd dieser Krankheit existiert. Es ist ebenfalls bekannt, daß von den Dörfern, die ein und dasselbe Wasser gebrauchen, die einen dieser Krankheit ausgesetzt sind, die anderen nicht. Mit jener Annahme stimmt auch nicht die Tatsache, auf die schon Weber (26) hingewiesen hat, daß auch diejenigen, die nur Mineralwasser trinken, ebenfalls an Beulen erkranken. Die Abhängigkeit der Beulenentstehung von Klima und Jahreszeit lenkt auf den Gedanken, daß diese Krankheit sich durch Insektenbisse verbreitet, wie viele Gelehrte meinen. Tscherepnin (9) sagt, daß der lokale Name der Krankheit sartisch „peschéchurdá“ — „Fliegenbiß“ bedeutet. Die Tataren jenseits des Kaukasus stellen das Erscheinen der Beule in Abhängigkeit vom Bisse gewisser Moskitos, die sich auf den Blättern der Pyramidalpappel entwickeln.

Alles Gesagte läßt die Ursache der Krankheit weder im Boden, noch im Wasser oder hygienischen Bedingungen, sondern in einer gewissen Infektion suchen, die auf diese oder jene Weise in die Haut eindringt und das Erscheinen der Beule bedingt.

Vielfache bakteriologische Untersuchungen der Beulen führten zu keinen positiven Resultaten: einige fanden Kokken, andere verschiedene Formen von Stäbchen, dritte Kokken und Stäbchen zusammen. Hier

geben wir die Befunde dieser Mikroorganismen an: *Mikrococcus* [Deperet und Boinet (27), Loustalot (28), Finkelstein (29)]. *Mikrococcus*, der sich zuweilen in Form des *Diplococcus* darstellt [Duclaux et Heydenreich (30), Chantemesse (31), Neuymin (10) u. a.]. *Mikrococcus capsulatus*, dessen Kultur noch nicht gelungen ist (Riehl und Paltauf (32)). *Mikrococcus* und noch ein unbekanntes, bisher nicht kultiviertes Stäbchen [Poncet (33)]. *Streptococcus* [Rapschewsky (15), Nicolle et Noury-Bey (34), Djelaleddin-Moukhthar (35)]. *Streptococcus* und *staphylococcus albus* [Le Dantec et Auché (36)]. *Streptothrix* [Brocq et Veillon (37)].

Einige von den oben erwähnten Mikroorganismen besaßen pathogene Eigenschaften; doch es gelang weder bei Tieren noch beim Menschen mit ihnen eine typische Beule hervorzurufen. Ein gewisses, mehr geschichtliches Interesse nehmen die Untersuchungen Flemings in Anspruch. Dieser Gelehrte fand im Gewebe der Beulen eigentümliche Bildungen, die er für Eier irgend eines Parasiten hielt; demnächst änderte er seine Meinung, da diese Bildungen hyaline Häufchen darstellen. Einen solchen Fehler machte auch Smith (11) durch, welcher der Meinung war, daß es ihm gelungen sei, in den Beulen Eier der Klasse *Distoma* zu finden. Carters (12) Untersuchungen, der in Schnitten aus der Beule Pilzmycel mit Sporen und orangefarbenen Körperchen sah, können nicht für überzeugend gehalten werden, da das Präparat der Beule schlecht fixiert war und leicht beschmutzt sein konnte. Cunningham (38) beschreibt nach Gefrierschnitten aus der delischen Beule besondere runde oder elliptische Körperchen von 25.6 bis 6.4 μ Größe, deren kleinste größer als Leukozyten waren. In diesen Körperchen befanden sich ein oder mehrere Körnchen, zuweilen aber auch eine Masse von Chromatinkörnchen von gleicher Größe. Diese Bildungen hält der Autor für *Monadina* aus der Klasse *Mycetozoa*. Dagegen hält Firth (39), der diese Beobachtungen bestätigte, die entdeckten Parasiten für *Sporozoa furunculosa*. In letzter Zeit hat Borowski (40) bei der Sartenbeule (20 Fälle) einen besonderen Parasiten aus der Klasse *Protozoa* beschrieben, den er sowohl im Beulensekret als auch in Schnitten gefunden hat. Dieser Parasit ist rund oder spindelförmig, $\frac{1}{2}$ bis 3 μ groß. Der Kern liegt exzentrisch. Nicht selten befindet sich der Parasit in den lymphoiden oder roten Blutkörperchen. Dr. Bogorás (41) beobachtete in Schnitten des „Godowik“ in den Epithelzellen eigentümliche Einschlüsse, die mit den Kernfarben gefärbt werden. Diese Körperchen liegen gewöhnlich zu 2 bis 3 zusammen im Zellprotoplasma in Vakuolen, wobei es zuweilen dem Autor gelungen war, rings um sie herum einen kleinen Ring von Protoplasma zu beobachten. Diese Bildungen ist der Autor

geneigt für Protozoa zu halten. Im Beulensekret werden sie nicht gefunden. Schulgin (7) bestätigte Borowskis Untersuchungen, wobei es ihm auch gelang, diesen Parasiten im Beulensekret (in 17 Fällen) zu beobachten. Nach Schulgins Beschreibungen liegt der Parasit vorzugsweise in roten Blutkörperchen und bewegt sich sogar in ihnen lebhaft (?). Ein ähnlicher Parasit wurde auch von mir im vorigen Jahre, und zwar fast gleichzeitig mit Wright (42) beschrieben. Uns beiden war es gelungen das Chromatin zu färben und die Färbungsfiguren des Parasiten zu finden.

Jetzt gehe ich zu den Resultaten meiner letzten Untersuchungen über. Gesehen habe ich sehr viele Kranke an „Godowik“ jenseits des Kaukasus, doch sie ausführlich zu untersuchen, gelang mir nur in einigen Fällen. Der Grund dieser Tatsache liegt darin, daß die Bevölkerung sich selten mit dieser Krankheit an den Arzt wendet, sich vielmehr mit Hausmitteln oder durch Kurpfuscher zu kurieren pflegt. Eingehend habe ich im ganzen nur 16 Fälle von Godowik (14 aus Elisabethpolis und 2 aus Lenkoran) untersucht. Von dieser Zahl befanden sich nur sieben eine ziemlich lange Zeit unter meiner Beobachtung, da sie über einen Tag das Ambulatorium des Stadtkrankenhauses besuchten. Die übrigen Kranken waren Tatarenkinder, die überhaupt nicht behandelt zu werden wünschten und nur unter Mitwirkung eines Dolmetschers erlaubten, mit dem Beulensekret eine Anzahl von Gläschen zu bestreichen. Die Mehrzahl von meinen Kranken waren Kinder im Alter von 2 bis 10 Jahren, Erwachsene waren es nur drei. Der Nationalität nach verteilten sich die obenerwähnten Kranken folgendermaßen: 11 Tataren, 4 Armenier und 1 Ossetin. Ein jeder von ihnen hatte eine Anzahl von Beulen, nicht selten verschiedenen Alters und Größe. Drei Kranke hatten nur je eine Beule. Bei allen ohne Ausnahme befanden sich die „Godowiki“ auf dem Gesichte, bei einem aber waren noch außerdem zirka 20 Beulen an beiden Händen vorhanden. Alle Fälle dieser Krankheit, die von mir untersucht wurden — mit Ausnahme von zweien — gehören zu einem langsam verlaufenden Typus.

Bei der Untersuchung des Beulensekrets im hängenden Tropfen kann man leicht bei starker Vergrößerung zwischen den verschiedenen Zellen eigentümlich glänzende Körperchen, die oval, seltener rund sind, und die sich langsam amoebenartig bewegen, entdecken. Beim Studieren derselben auf einem Erwärmungstisch bei verschiedener Temperatur kann man bemerken, daß diese Bewegungen bei einer Temperaturerhöhung über 37° C. bedeutend lebhafter werden. Bei ca. 70° hören die Bewegungen völlig auf und der Parasit scheint zugrunde zu gehen. Bei der Färbung der Strichpräparate aus den Granulationen, die den Boden der Beule

bedecken, auf Chromatin nach Giemsa und Reiter, kann man im Protoplasma einiger Mononuklearen eine große Anzahl (bis 20) ovalförmiger Körperchen von einer vollständig gleichen Größe (ca. 1μ) nachweisen. Zuweilen begegnet man solchen Körperchen in Epithelzellen, noch seltener auch in polynuklearen Leukozyten. Ihre feinste Struktur stellt sich bei jener Färbung in folgender Weise dar: das ganze Körperchen ist fein bläulich gefärbt; das Chromatin dagegen ist lilarot und bildet im Körperchen zwei Anhäufungen (Makro- und Mikronucleus): die eine hat die Gestalt eines kleinen Häufchens von mannigfachen Konturen, die andere dagegen die Form eines Stäbchens oder eines Kügelchens; die letztere Anhäufung läßt sich besonders intensiv färben. Es ist möglich, daß die größere der Chromatinbildungen den Kern des Parasiten, die kleinere sein Centrosom darstellt. — In dieser Richtung unternehme ich weitere Beobachtungen. Ähnliche Körperchen werden auch, obwohl seltener, in freiem Zustande zwischen den Zellen des Exsudats gefunden. Gewöhnlich sind sie hier mehr rundlich und bedeutend größer (bis 3μ); ihr Protoplasma läßt sich ungleichmäßig und sehr schwach färben. In diesen Körperchen kann man nicht selten Doppelchromatinfiguren finden, was ohne Zweifel auf die ersten Symptome der Teilung des Parasiten hinweist. Den Prozeß dieser Teilung selbst kann man auf Grund des Studierens zahlreicher Präparate in folgender Weise darstellen: der Körper des Parasiten vergrößert sich etwas, das Protoplasma fängt an sich sehr schwach färben zu lassen, das Chromatin dagegen färbt sich intensiver, aber ungleichmäßig. Die stäbchenförmige Chromatinanhäufung (Mikronucleus) liegt der Richtung des kleinsten Diameter des Körperchens nach, umringt sich mit einer hellen Zone und teilt sich in zwei gleiche Teile. Die infolge dieser Teilung entstandenen Stäbchen drehen sich mit ihren inneren Enden in der Richtung an den Makronucleus, wodurch eine \wedge -förmige Figur entsteht. Gleichzeitig damit teilt sich auch die große Chromatinanhäufung (Makronucleus). Ferner drehen sich die oben erwähnten Stäbchen noch mehr, stellen sich parallel gegeneinander (und perpendicular zum Makronucleus), in der Richtung des großen Diameter des Körperchens und gehen dann etwas auseinander zur Seite. Nach der Teilung der Chromatinmassen und der Umstellung ihrer Teile fängt auch das Protoplasma des Parasiten an, sich in zwei gleiche Teile zu teilen.¹

Dieser Parasit ist von mir in 13 Fällen von „Godowik“ gefunden; in den letzten drei Fällen gelang es mir nicht, ihn zu entdecken. Es kann leicht sein, daß dies kein „Godowik“, sondern ein ihm ähnliches

¹ Die Präparate wurden in der Moskauer bakteriologischen Gesellschaft am 6. November 1904 demonstriert.

Leiden gewesen ist. Vielleicht lag auch die Ursache darin, daß ich nur wenig Präparate zur Hand hatte.

Im peripherischen Blut läßt sich der Parasit nicht finden.

In den Schnitten aus den Beulen gelang es mir auch, ihn obwohl in einer geringen Zahl und vorzugsweise in epithelialen Infiltratzellen zu finden. Diese Zellen erinnern etwas an Mastzellen.

Der hier beschriebene Parasit soll nach der autoritativen Meinung des Herrn Dr. Mesnil, des Assistenten Laverans, dem ich hier meinen Dank ausspreche, zur Klasse der Piroplasma gehören.

Ein ähnlicher, wenn auch nicht völlig identischer Parasit wurde von Dr. Donovan (43) in Indien bei einer eigentümlichen, größtenteils einen letalen Ausgang hervorrufenden Erkrankung gefunden. Differenzierende Symptome der erwähnten Krankheit sind: ein Fieber von unregelmäßigem Typus mit starker Milzvergrößerung, das größtenteils von großen Ödemen, Bronchitis, Blutstuhl und Beulchen der Haut begleitet wird. Die letzten sind zuweilen von einer bedeutenden Größe, und was besonders interessant ist, erinnern ihrem Aussehen nach an die Orientbeulen. Im Sekrete solcher Beulen werden jene Parasiten in großer Menge gefunden.

Christophers (44) bestätigt Donowans Beobachtungen und gibt seinerseits eine ausführliche Beschreibung der Krankheit selbst und ihrer Erreger.

In beschmutzten, eiternden Beulen werden außer diesen Bildungen auch Mikrokokken, die sich teils paarweise, teils in kurze Kettchen ordnen, gefunden. In den Kulturen auf gewöhnlichen Nährböden aus dem Sekrete solcher Beulen werden gewöhnliche Eiterungserreger: *Staphylococcus pyogenes aureus* und *Streptococcus pyogenes brevis* gefunden. Versuche, Kulturen des obenbeschriebenen Parasiten auf Blutnährböden, auf Heudecoct oder auf Agar-Agar mit Beimischung von Blut zu bekommen, gaben, wie auch beim ersten Male, keine positiven Resultate; ebenfalls konnten auch keine Vermehrungssymptome des Parasiten in Blut, das dem Beulenboden entnommen und in zugeschmolzenen Glasröhrchen konserviert wurde, bemerkt werden.

Auf den ersten Blick scheint die Tatsache unbegreiflich, daß es zahlreichen Untersuchern der Orientbeulen nicht gelungen war, diese Parasiten zu sehen, ich aber sie fast in jedem Falle beobachtet habe. In der Tat, wenn man nur das Sekret der Beulen untersucht, so kann es leicht geschehen, daß diese Parasiten infolge ihrer hier nur sehr geringen Zahl nicht bemerkt werden; wenn man aber ein Stückchen der Granulationen ausreißt und damit Strichpräparate auf dem Gläschen macht, so werden die Parasiten in einer gewaltigen Menge gefunden. Von einer großen

Bedeutung beim Suchen nach den Parasiten ist die spezifische Färbung auf Chromatin nach Giemsa und Reiter: bei anderen Färbungen treten die Parasiten sehr undeutlich hervor und können leicht für Produkte des Zellzerfalls gehalten werden.

Bei dem näheren Studieren der betreffenden Literatur kam ich zu dem Ergebnis, daß auch andere Autoren diesen Parasiten gesehen haben, doch gaben sie für ihn eine andere Erklärung. So hielten ihn Heydenreich (2), Riehl und Paltauf (32) für einen Mikrocooccus in Kapsel, Cunningham (38) und Firth (39) dagegen für die Sporen des von ihnen beschriebenen Parasiten *Sporozoa furunculosa*.

Da meine früheren Versuche an Tieren ein negatives Resultat gaben, so versuchte ich die Beule mir selbst zu verimpfen. Zu diesem Zwecke strich ich das Sekret des „Godowik“ auf die gekratzte Oberfläche meiner linken Hand. In einem anderen Versuche führte ich subkutan in dieselbe ein Stückchen der Granulation aus der Beule ein, die nachweislich viel Parasiten enthielt, wovon ich mich leicht überzeugen konnte, nachdem ich mit diesem Stückchen ein Strichpräparat auf dem Deckgläschen gemacht hatte. Nach einigen Tagen nahm die Haut an den Impfstellen wieder ein normales Aussehen an und nur an der Stelle der zweiten Impfung, wo das subkutan eingeführte Granulationsstückchen sich gut akklimatisieren ließ, blieb eine kleine Pigmentierung zurück.

Außerdem brachte ich das blutenthaltende Beulensekret in einem zugeschmolzenen Glasröhrchen und die Granulationsstückchen mit mir nach Moskau, wo ich die Versuche mit der Impfung an mir selbst wiederholte. Nur änderte ich den Charakter der Versuche. So führte ich auf den Rat des G. N. Gabritschewsky in zwei Fällen das Beulensekret in die Blase, die an der Hand infolge einer Combustio mit Zündhölzchen entstanden war, ein.

70 Tage nach der Impfung fing ich an mich unwohl zu fühlen: es erschienen Kopfschmerzen, Hitze, leichter Schauer und allgemeine Schwäche. Alle diese Erscheinungen schrieb ich der Influenza zu, obwohl die bei dieser Krankheit üblichen Katarrhe der Atemwege fehlten. Schon in den ersten Tagen der Krankheit bemerkte ich an der Stelle einer der Impfungen eine kleine Papula, die sich bald in ein Knötchen von braunroter Farbe und ziemlich kompakter Konsistenz verwandelte. Der Fieberzustand dauerte ca. 2 Wochen. Ich neigte mich während dieser Zeit zu der Meinung, daß dieser Zustand von der sich entwickelnden Orientbeule abhinge, und deswegen nahm ich keine Medikamenta. Das Knötchen vergrößerte sich mehr und mehr und erreichte am Ende der zweiten Woche die Größe eines Hanfkörnchens, dann aber fing es an blasser zu werden, sich zu verkleinern und im Zentrum bildete sich eine

kleine Einsenkung. In der Meinung, daß dieses Knötchen ohne in die Beule überzugehen, sich der regressiven Metamorphose unterworfen habe, schnitt ich es, obgleich nicht tief, am 17. Tage nach seiner Entstehung heraus.

Einen Teil des herausgeschnittenen Knötchens impfte ich einem Kamel, einen anderen mir selbst subkutan ein und den letzten Teil benutzte ich zur mikroskopischen Untersuchung. Die Exzisionswunde heilte per primam; doch nach 10 Tagen bemerkte ich, daß an der Stelle des resezierten Knötchens ohne jegliche subjektive Empfindung sich ein neues zu entwickeln begann. Binnen 8 Monaten erreichte es die Größe einer kleinen Erbse, war ebenso braunrot und zeichnete sich dadurch stark von der gesunden Haut aus.

Lymphangoitis und Hyperplasie der Lymphdrüsen wurden nicht beobachtet. Zuweilen erschien an der Spitze des Knötchens eine kleine Vertiefung und dann erinnerte es seiner Form nach sehr an eine Pockenpustel. Gewöhnlich fühlte ich mich in diesen Tagen unwohl.

Am 15. März, also 6 Monate nach der Impfung, entschloß ich mich, den Tuberkel zu öffnen und ihn einer ausführlichen Untersuchung zu unterwerfen, was ich bei Anwesenheit des Dr. A. K. Morosoff machte. Die Epidermis war auf der Spitze des Knötchens ohne Zusammenhang mit dem unterliegenden Gewebe; gleich unter ihm befand sich ein für die Orientbeule typisches Granulationsgewebe, dessen Berührung und sogar Ausreißen nicht nur schmerzlos, sondern auch kaum empfindlich war.

In den Strichpräparaten aus den Granulationen waren die Parasiten in einer überaus großen Anzahl sowohl in freiem Zustande als auch in den Bindegewebs- und sogar Riesenzellen vorhanden. Im Blute aus den Beulen wurden nur einzelne Exemplare gefunden.

Die Mehrzahl der Parasiten war von einer rundlichen Gestalt mit dem vakuolisierten Protoplasma und stark gefärbtem Chromatin.

Beim Ausstreichen eines solchen Blutes auf Blutserum blieb das letztere, wie man auch erwarten durfte, steril.

Am 2. Tage trat aus der Beule, an die eine Kollodiumbinde gelegt war, ein kleines Tröpfchen von serös-eitriger Flüssigkeit, die ausschließlich nur oben erwähnte Parasiten enthielt, hervor. Die Parasiten lagen zuweilen im Protoplasma der polynuklearen Leukozyten.

Nach 4 Tagen wurde von Dr. G. W. Wlassoff (Moskau) eine wiederholte Untersuchung der geimpften Beule unternommen, und obwohl die letztere schon fast geheilt erschien, wurden dennoch in Strichpräparaten aus Granulationen sehr viel Parasiten gefunden.

Am 3. Tage nach dieser Untersuchung wurde die Beule chirurgisch entfernt.

In Schnittpräparaten aus der Beule wurden ebenfalls die Parasiten in einer großen Anzahl gefunden; dabei befanden sie sich vorzugsweise in den Gewebszellen.

Der gelungene Versuch der Impfung der Orientbeule auf den Menschen samt dem Befunde des von mir unter dem Namen „*Ovoplasma orientale*“ beschriebenen Parasiten schließt jeglichen Zweifel daran aus, daß dieser Parasit der Erreger der Orientbeule ist. Versuche, mit der Beule Menschen oder Tiere zu infizieren, wurden seitens vieler Autoren unternommen, wobei die einen [Schlimmer (45), Carter (12), Gröschel (46), Wortabet (13), Polak (47), Skoroff (48), Morokhowetz (49)] vollständig negative Resultate bekamen, die anderen dagegen [Weber (26), Fleming (5), Heydenreich (2), Murray (14), Boinet et Deperet (27), Chantemesse (31) u. a.] zweifelhafte. Die einen Autoren, wie Carter, Morokhowetz, infizierten mit dem Sekrete der Beulen, die anderen (Weber) mit den zerriebenen Schuppen und endlich die dritten (Heydenreich, Boinet et Deperet) mit Kulturen der vermeintlichen Krankheitserreger.

Die experimentell hervorgerufenen Beulen entstanden gewöhnlich rasch und schlossen sich nach 2 bis 4 Wochen, weshalb sie natürlich mit den Orientbeulen nicht zu identifizieren sind.

Wir können hier die von den Bagdadjuden geübten Schutzimpfungen nicht ohne Erwähnung lassen. Ausgehend von der Tatsache, daß die, welche die Beule überstanden haben, eine langdauernde Immunität gegen diese Krankheit besitzen, impfen die Juden aus Bagdad, wie Colvilli [zitiert nach Heydenreich (2)] sagt, sich selbst das Beulensekret, indem sie sich 10 bis 12 Stiche machen. Die Wirkung solcher Impfungen soll jedoch für zweifelhaft gehalten werden.

Ein großes Interesse bietet die Frage, von wo und auf welche Weise der oben beschriebene Parasit in die Haut eindringt.

Am wahrscheinlichsten scheinen mir folgende Voraussetzungen: die erste, daß der Parasit durch den Stich eines gewissen lokalen Insektes in die Haut eindringt, zweitens, daß die Infektion durch das Wasser geschieht. Für die Infizierung durch Wasser spricht die mehrmals beobachtete Tatsache, daß sich die Zahl der Erkrankungen an der Beule mit der Verbesserung der Wasserversorgung verminderte; außerdem spricht die Lokalisation der Beulen auf den unbedeckten und hervortretenden Körperteilen dafür, daß die Infizierung durch „Einsalben“ des Infektionsvirus geschehe. Die Beulen bei den Hunden, die sich vorzugsweise rings um den Mund und auf der unteren Kinnlade, also auf den Stellen der größten Berührung mit Wasser, lokalisieren, bestätigen teilweise diese Voraussetzung.

Aber auch bei der Voraussetzung, daß die Infizierung durch das Wasser stattfindet, bleibt unaufgeklärt, auf welche Weise der Parasit in das Wasser gelangt: soll er im Körper irgendwelcher Wasserinsekten, die sich nur in der oder jener Gegend befinden, wohnen, oder gelangt er in dieses zugleich mit fallenden Blättern, Staub usw. Meine vielfachen Untersuchungen des Wassers und der lokalen stechenden und einiger anderer Insekten (die z. B. auf den Blättern der Tschinara oder Pappel wohnen) führten mich zu keinen positiven Resultaten.

Therapie der Beule. Die Orientbeule gehört zu den Krankheiten, zu deren Heilung eine große Menge von verschiedenen Medikamenten vorgeschlagen ist, wobei kein einziges das wünschenswerte Resultat erreichte.

Mehrmals wurden sogar Prämien (z. B. von A. N. Kuropatkin) für die Auffindung einer wirklichen Heilungsmethode dieser Krankheit gestiftet. Für die verbreitetsten Mittel muß man verschiedene Caustica und adstringentia (glühendes Eisen, Thermokauter, Zincum chloratum, Cuprum sulfuricum, Acidum salicylicum usw.), dann verschiedene Streupulver (Jodoform, Calomel, Naphthalin, Naphthalan, Chinin usw.) und endlich mannigfaltige Wundwässer (Sublimat 1:2000) halten.

Nicht selten aber verursacht die Therapie mit den obenerwähnten Mitteln eine Exacerbation des Prozesses und die Vergrößerung der Beule, weswegen einige Ärzte [Woskressenski (51), Heydenreich (2) u. a.] als Therapie nur Ruhe und Reinhalten der Beule vorgeschlagen haben.

Unter den Turkmenen und Saryken herrscht die Meinung, daß die Beule nicht kuriert werden soll.

Was die Heilung der Beule durch lokale Kurfuscher anbetrifft, so besteht sie auch in der Kauterisation mit glühendem Eisen oder Cuprum sulfuricum. Zuweilen aber benutzt man Blätter einer gewissen Pflanze, saure Milch usw.

Ungeachtet dessen, daß die Beule sich schnell schließt, läßt sie doch eine tiefe Narbe zurück, die für das ganze Leben bleibt. Es scheint mir daher die einzige radikale Behandlung, die nicht nur die Krankheit selbst, sondern auch deren Folge — eine häßliche Narbe — beseitigt, eine operative Entfernung der Beule zu sein. In den Fällen von Borowski (40), Bogorás (41) u. a. blieb an der Stelle der operierten Beule eine dünne, linienförmige Narbe übrig und es bildeten sich keine Rezidive. Ich entfernte gleichfalls die Beulen bei drei Kranken unter Kokrainanästhesie, wobei nach einigen Tagen eine vollständige Heilung folgte. In den Fällen, wo ich aus den oder jenen Gründen eine operative Heilung zu unternehmen nicht imstande war, benutzte ich mit gutem Erfolge folgende Methode: nach einer ausführlichen Reinigung der Beule von den

Krusten wurde sie mit 10 proz. Ferropyrinlösung gesalbt, um den Blutsturz aufzuhalten. Darauf wurde die Beule mit einer 50 proz. Lösung des Chininum bimuriaticum reichlich angefeuchtet, wonach eine Kollodiumbinde aufgelegt wurde. Ebendieselbe Prozedur wurde je nach einem Tage bis zur vollständigen Heilung wiederholt; zuweilen wurde außerdem das Chinin in die Peripherie der Beule eingespritzt. Bei solcher Behandlungsmethode folgte ziemlich schnell eine vollständige Heilung (7 bis 11 Tage).

In der letzten Zeit erschien eine Arbeit von Schulgin (52), in welcher der Autor empfiehlt, die Beulen mit Äther gefrieren zu lassen. Diese Methode, die er an 300 Kranken probierte, führte ihn zu sehr guten Resultaten.

Zum Schlusse spreche ich hier den Herren Ärzten M. M. Potapoff, D. M. Malujenko, N. A. Bogorás und A. J. Gurgencebeckoff meinen Dank für ihre Mitwirkung beim Aufsuchen des mir notwendigen Materials aus.

Literatur-Verzeichnis.

1. E. J. Marzinowsky u. S. L. Bogroff, *Medicin. Obscr.* 1904. Nr. 3 (in russischer Sprache). — *Virchows Archiv.* 1904. Bd. CLXXVIII. S. 112.
2. Heydenreich, *Beilage zum militär-ärztlichen Journal.* 1888. (Russisch.)
3. Hirsch, *Die Organkrankheiten von hist. geogr. Standpunkte.* 1886. S. 467.
4. Manotzkoff, *Therapie der Pendsinschen Beule.* Batum 1899. (Russisch.)
5. Fleming, *Brit. Army ann. med. reports for 1869.* Vol. XI. p. 511.
6. Altounyau, *Journ. of cut. and vener. dis.* 1885, Juni. p. 161.
7. Schulgin, *Russki Wratsch.* 1902. Nr. 32 u. 33. S. 1150 u. 1180.
8. Chatelain, *La Médecine Orientale.* 1902. Nr. 7. — *Monatschr. für pr. Derm.* 1903. Bd. XXXVI. S. 534.
9. Tscherepnin, *St. Petersburger med. Wochenschrift.* 1876. Nr. 2.
10. Neuymin, *Med. sborn. Kavkas. med. Obsch.* 1886. Nr. 40. Tom. 2. p. 1—37.
11. Smith, *Brit. Army ann. med. rep. for 1868.* Vol. X. p. 321.
12. Carter, *Transactions of the med.-chirurg. Soc.* 1877. p. 275. — *The Lancet.* 1875. Aug. p. 315.
13. Wortabet, *Med. Times and Gaz.* 1874. Jan. 94. Zitiert nach Hirsch.
14. Murray, *Brit. med. Journ.* 1883. April. p. 718. Zitiert nach Hirsch.
15. Rapschewski, *Mil.-med. Journ.* Aug. 1899. (Russisch.)
16. Castaing, *Mém. de méd. milit.* 1862. III. Sér. VIII. p. 343. Zitiert nach Hirsch.
17. Hasselquist, *Voyage dans le Levant.* Paris 1769. Vol. II., Ch. 14. p. 118. Zitiert nach Hirsch.
18. Russel, *The Natural History of Aleppo and parts adjacent.* London 1756. Ch. IV. Zitiert nach Geber.
19. Volney, *Voyage en Syrie et en Egypte.* I, 1783. p. 84 u. 85. II, 1787. p. 51. Zitiert nach Hirsch.
20. Lewis and Cunningham, *The oriental sore as observed in India.* Calcutta 1877. Zitiert nach Hirsch.
21. Jilt, *Gaz. méd. de Paris.* 1849. Nr. 46. p. 900.
22. Fraser, *Indian. Lancet.* 1860. July. — *Brit. Army med. reports for the year 1860.* p. 452. Zitiert nach Hirsch.
23. Candy, *Med. Times and Gaz.* 1870. Aug. p. 153. Zitiert nach Hirsch.
24. Allcock, *Ebenda.* 1870. April. p. 384. Zitiert nach Hirsch.

25. Laveran, *Annal. de dermatologie et de syphiligraphie*. 1880. II. Sér. I. p. 173.
26. Weber, *Mém. de méd. milit.* 1876. III. Série. T. XXXII. p. 44.
27. Déperet et Boinet, *Archives de méd. et de pharm. militaires*. T. III. Avril 1884. p. 296.
28. Loustalot, *Le bouton de Biakra*. Thèse de Lille. 1886.
29. Finkelstein, *Med. sborn. Kawk. med. Ob.* Nr. 40. Vol. 2. p. 45—54. (Russisch.)
30. Duclaux et Heydenreich, *Arch. de physiologie normale et pathologique*. 1884. T. III. Série IV. p. 106.
31. Chantemesse, *Annales de l'Institut Pasteur*. Octobre 1887.
32. Riehl, *Vierteljahrschrift f. Derm. und Syph.* 1886. Hft. 4. S. 805.
33. Poncet, *Annales de l'Institut Pasteur*. Novembre 1887.
34. Nicolle et Noury-Bey, *Ebenda*. 1897. Nr. 9. p. 777.
35. Djelaleddin-Moukhthar. Zitiert nach Hallopeau et Leredde, *Traité pratique de dermatologie*. Paris 1900. p. 427.
36. Le Dantec, *La médecine exotique*. Paris 1900.
37. Brocq et Veillon, *Annales de dermat. et de syphiligraphie*. 1897. p. 558.
38. Cunningham, *Scientific memoirs by medical officers of the Army of India*. 1884. Part. I. Calcutta 1885.
39. Firth, *Brit. Medic. Journ.* 1891. 10. Jan. p. 80.
40. Borowski, *Milit.-med. Journ.* 1898. November. p. 925. (Russisch.)
41. Bogorás, *Arbeiten des II. Kongresses der kaukas. Ärzte*. (Russisch.)
42. Wright, *Journ. of cut. and vener. dis.* 1904. January. p. 1.
43. Donowan, *The Lancet*. 1904. 10. Septembre.
44. Christophers, *Scientif. Memoirs by officers of the Medical and sanitary departments*. Calcutta 1904.
45. Schlimmer, *Wiener med. Wochenschrift*. 1875. Nr. 52.
46. Gröschel, *Ebenda*. 1858. Nr. 19 u. 20.
47. Polak, *Ebenda*. 1855. Nr. 17. — *Wochenblatt zur Zeitschrift der Wiener Ärzte*. 1857. S. 742. — *Ebenda*. 1859. S. 174. — *Wiener allgemeine med. Zeitung*. 1860. Nr. 48 u. 49. — *Wiener med. Presse*. 1868. S. 378.
48. Skoroff, *Med. sborn. Kaukas. Ob.* 1868. Nr. 5. Hft. 1. (Russisch.)
49. Morokhowetz, zitiert nach Heydenreich.
50. Colvilli, *Tr. of Med. and Phys. Soc. of Bombay*. 1872. Vol. XI.
51. Woskressenski, *Russkaja medicina*. 1888. Nr. 15—18.
52. Schulgin, *Mil.-med. Journal*. August 1904. (Russisch.)

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. V u. VI.)

Tafel V.

Fig. 1. Das Sekret der Orientbeule. Es sind Parasiten zu sehen. Gefärbt nach Giemsa. Vergr. 2000.

Fig. 2. Das Sekret der experimentellen Orientbeule des Menschen: a) Riesenzelle, von Parasiten gefüllt, b) rote Blutkörperchen. Gefärbt nach Giemsa.

Fig. 3. Das Sekret der experimentellen Orientbeule. Mononuklear, in dessen Protoplasma Parasiten zu sehen sind.

Fig. 4. Schnitt durch die Orientbeule: a) Deckepithel, b) Granulationsgewebe, in welchem Parasiten zu sehen sind. Gefärbt nach Giemsa (24 Stunden). Vergr. 800.

Fig. 5. Dieselbe Stelle bei stärkerer Vergrößerung (gegen 2000).

Tafel VI.

Fig. 6. a, b, c, d, nacheinanderfolgende Stadien der Teilung des Parasiten. a, b, c, d, dasselbe bei stärkerer (2000) Vergrößerung. Gefärbt nach Giemsa.



Fig. 1.

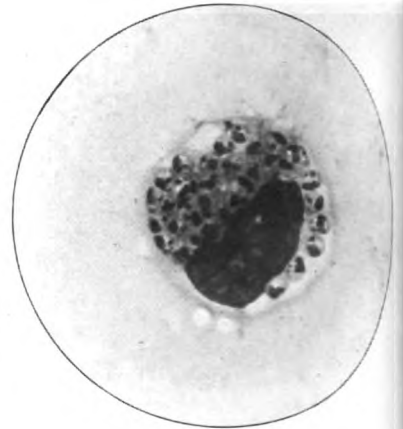


Fig. 3.

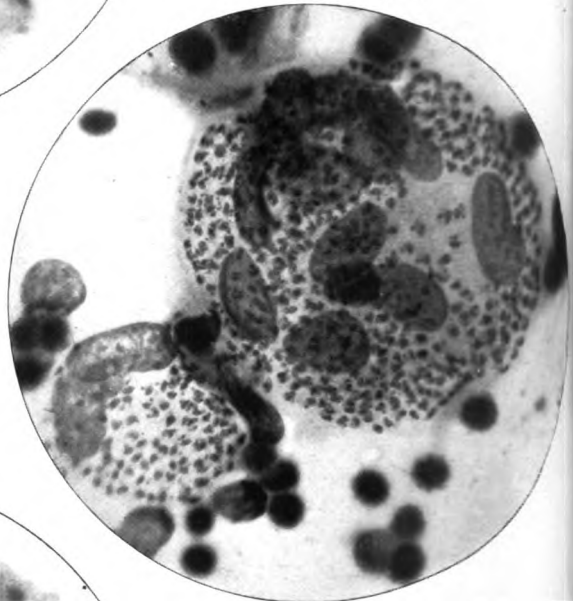


Fig. 2.

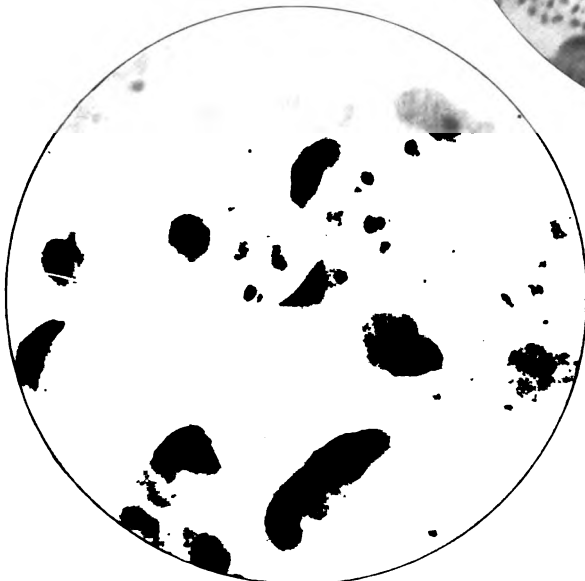


Fig. 5.

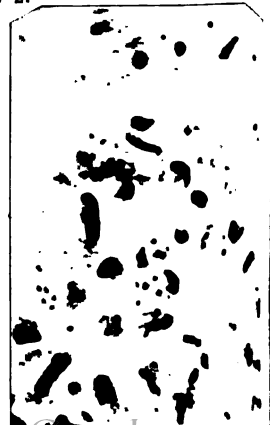


Fig. 4.



Fig. 6.

Über die Arten und die Verbreitung der lebensfähigen Mikroorganismen in der Atmosphäre.

Von

Dr. Flemming,

Stabsarzt an der Kaiser Wilhelms-Akademie.

In der Zeit, wo die lenkbare Luftschiffahrt aus dem Stadium der theoretischen Betrachtungen herauszutreten und der Ballon ein praktisches Beobachtungs-, Sports- und Verkehrsfahrzeug für Krieg und Frieden zu werden beginnt, nimmt auch das Medium, das diese Fahrzeuge zu tragen imstande ist, ein erhöhtes Interesse für sich in Anspruch. Von den Meteorologen sind und werden seit einer Reihe von Jahren zur Erforschung der Atmosphäre insbesondere über dem Meer und in den Polargegenden erhebliche Anstrengungen gemacht, deren Erfolge letzthin auf dem Stiftungsfest des Berliner Vereins für Luftschiffahrt vor allem von Hergeßell in seinem Vortrage: „Die Erforschung der Atmosphäre über dem Meere“ gewürdigt wurden.

Fast keinerlei Untersuchungen besitzen wir bisher über die biologischen Verhältnisse der höheren Luftschichten. Als ich Gelegenheit hatte, in diese des öfteren auf Ballonfahrten geführt zu werden, habe ich daher begonnen, mich mit dem Studium der Art und Verbreitung der lebenden Mikroorganismen zu beschäftigen.

In der Literatur findet man Untersuchungsbefunde über den Keimgehalt der Luft im allgemeinen über Städten, auf hohen Bergen, auf Landwegen usw. von Miquel, Hesse, Flügge, Dyar, Welz, Bindt, Robertson, Lagerwell, Macfayden u. a. Biologische Untersuchungen der Luft über dem Meere oder in der Nähe des Meeres haben, abgesehen von Minervini, dessen Methode jedoch nicht einwandfrei ist, Roster

Giorgio und insbesondere Fischer angestellt. Wir kommen später darauf zurück. Alle Untersuchungen jedoch, mit Ausnahme derer von Harz¹ entstammen immer nur der Höhe von wenigen Metern über der Erde oder mit der Erde in Berührung stehenden Werken der Baukunst und werden daher stets von den besonderen Verhältnissen der darunter sich befindenden Erde, sei es nun Wasser, Wiese, Feld, Wald oder unkultiviertes Gelände unmittelbar mehr oder weniger beeinflußt.

Das Material meiner Untersuchungen ist entnommen

1. der Luft über ein und demselben Ort in verschiedenen Höhen im Fesselballon,
2. der Luft über verschiedenen Erdpunkten in verschiedenen Höhen im Freiballon,
3. der Luft über dem Meere in ein und derselben Höhe über dem Dampfer.

Die Untersuchungen wurden ausgeführt im Institut für Infektionskrankheiten auf der Abteilung des Hrn. Geheimrat Doenitz, dem ich für sein weitgehendes Interesse sowie für die Durchsicht der Arbeit auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

Was zunächst die Gewinnung des Luftmaterials betrifft, so wurde bei allen hier verwerteten Luftuntersuchungen die von Ficker² modifizierte Petrische Luftfiltrationsmethode nach vielfachen Vorversuchen verwandt. Dagegen konnte es nicht als einwandfrei angesehen werden, das Ausgangsmaterial in geöffneten, mit Gelatine beschickten Petrischalen zu gewinnen, wie es bei Ballonfahrten schon von anderen und früher auch von mir versucht wurde. Denn es ergaben z. B. in ein und demselben Raum zu gleicher Zeit entnommene Luftproben mit dieser und der Filtrationsmethode die größten Differenzen in Quantität und Qualität der Keime. Die Überlegung sagt schon, daß z. B. bei Freifahrten in derselben Luftströmung mit derselben Geschwindigkeit wie der Ballon auch die Keime der Luft schwimmen. Sie haben daher keine Veranlassung, sich auf den ausgestellten Platten abzusetzen, falls sie nicht zeitweilig beschwert werden oder falls der Ballon nicht Auftrieb bekommt. Beide Umstände ändern sofort den relativen Gehalt der Luft an Keimen, und das mußte vor allem vermieden werden. Im besonderen wurde die Untersuchung in folgender Weise vorgenommen:

¹ Vortrag, gehalten im Münchener Verein für Luftschiffahrt. *Jahrbuch des deutschen Luftschiffverbandes*. 1904.

² Ficker, Zur Methodik der bakteriologischen Luftuntersuchung. *Diese Zeitschrift*. 1896. Bd. XXII.

Die zylindrisch geformten, ausgebuchteten und zwischen dem 3. und 4. Viertel mit einem Saugrande versehenen Glasröhren werden an ihrem hinteren Ende mit einem passenden Kupferdrahtnetz abgeschlossen und von der freien Seite mit gestoßenen Glassplittern von verschiedener, aber bestimmter Korngröße gefüllt, gestopft und mit einem gleichen Drahtstück auch hier versehen. Ein Wattebausch schließt an beiden Seiten gegen jegliches Eindringen von Keimen das Innere des Röhrchens ab. So vorbereitet werden die Röhrchen zugleich mit dem von einem Glasrohr durchbohrten Gummipfropfen (Ansatzstück) in einem Blechkästchen verpackt und in strömendem Wasserdampf oder wegen leichterer Entfernung der Glassplitter aus dem Röhrchen im Trockenofen mehrere Stunden sterilisiert, um auch die widerstandsfähigsten Sporen zu vernichten. Am Orte der Luftentnahme werden die Wattebüsche in eine sterilisierte Petrischale gelegt, während das Röhrchen am hinteren Ende durch Gummipfropfen und Glasrohr und einen 5 bis 10^m langen Gummischlauch mit einer Pferdemagenpumpe verbunden wird. Wie der Laboratoriumsversuch zeigt, wurden aus einem unter Wasser umgestülpten, 1000^{ccm} fassenden Zylinder 375^{ccm} Luft durch das fertige Filter aspiriert, wenn der benutzte Ballon der Pferdemagenpumpe einmal zusammengepreßt wurde, ganz gleich ob das Filter fest oder leicht gestopft war, ob die Entnahme 5 oder 20 Sekunden dauerte. Der gleichmäßigen Filtration halber wurde jedoch bei den Versuchen die langsame Entnahme angestrebt. Nach 27 Aspirationen waren daher etwas mehr als 10 Liter Luft filtriert. Daß bei gut gestopften Filtern sämtliche Keime durch die Glassplitter abgefangen wurden, erwies der im Ansatzstück enthaltene steril gebliebene Wattebausch. Um das Material unbeeinflusst durch die menschliche Nähe zu entnehmen, wurde der Fangapparat unter die Peripherie des Freiballons oder an den Kopf des Fesselballons oder an die die Spitzen der Masten verbindende Signalleine des Schiffes gezogen, so daß die Entnahmestelle bei dem Kugelballon 4 bis 5^m, bei dem zylindrisch geformten Drachenballon (von Sigfeld-Parsevalscher Konstruktion) 8 bis 10^m und bei dem Dampfer 10^m vom Untersucher entfernt war.

Zur Kontrolle der Keime, die mit der Ballonhülle und dem übrigen Ballonmaterial von der Erde mitgeführt, durch auf- oder absteigende Luftströmungen abgerissen und so zu Fehlerquellen bei der Luftentnahme Veranlassung geben konnten, wurden mehrmals vor der Fahrt Prodigiosuskulturen abgeschwemmt, mit Wasser verdünnt und auf sämtliche Ballonteile versprüht. Bei allen kurze Zeit darauf unterhalb der Peripherie wie an anderen Stellen entnommenen Luftproben im treibenden Ballon haben wir niemals diese Bakterienart wieder gefunden.

Eine Verunreinigung bei der Entnahme kann unter diesen Kautelen meines Erachtens somit nicht in Frage kommen. Fehlerquellen können sich dagegen am leichtesten einstellen bei der Verarbeitung des Filtermaterials im Laboratorium. Dort wurden die Glasröhrchen am vorderen Ende vom Wattebausch befreit, abgeglüht, der Glassplitter entleert und mit flüssig gemachter Gelatine nachgespült. Glassplitter sowohl wie Gelatine gelangten in sterilisierte Petrischalen und wurden mit Gelatine-lösung soweit übergossen, daß eine etwa 0.5 bis 0.75^{cm} dicke Schicht entstand.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß bei diesem Aus- und Einfüllen des Filtermaterials aus der meist sehr keimreichen Laboratoriumsluft Mikroorganismen mit in die Gelatine gelangen können. Zur Kontrolle dieser Fehlerquelle sowie zur Kontrolle des Nähr- und Glasmaterials wurde daher schon bei der Luftentnahme ein Filter, abgesehen von der Aspiration, genau denselben Bedingungen ausgesetzt wie die übrigen und ebenso verarbeitet. Wuchsen aus diesem Kontrollmaterial die gleichen Mikroorganismen wie aus den mit Luft beschickten, so wurden diese Befunde nicht verwertet. Sie sind in der Sammeltabelle mit einer eckigen Klammer versehen. Die Zeit, die seit der Entnahme bis zur Verarbeitung des Materials verstrich, betrug bei den Untersuchungen im Freiballon 12 bis 24 Stunden, einmal nach der Landung in Rußland 48 Stunden, im Fesselballon 2 bis 16 Stunden, auf dem Dampfer $\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden.

Als Nährmaterial in den Petrischalen diente bei den Untersuchungen der Luft über dem Festlande eine 10 prozentige Fleischpeptongelatine von der Alkaleszenz 0.12 nach dem Lakmusneutralpunkt, über dem Meere mit Rücksicht auf den höheren Salzgehalt eine um 1 Prozent stärker alkalische. Dieser Alkaleszenzgrad erschien am geeignetsten, um möglichst viele lebensfähige Keime zur Vermehrung und somit zur Feststellung zu bringen. Denn obgleich bekanntlich viele Schimmel- und Fadenpilze bei saurem oder neutralem Nährmaterial erheblich besser gedeihen, wurde doch eine Alkaleszenz gewählt, die einerseits den Bakterien mehr zusagt und die andererseits das Wachstum der Schimmelpilze beschränkt. Denn diese überwuchern sonst während der langen Beobachtungszeit leicht alle anderen Kolonien.

Die besäten Schalen wurden 2 bis 3 Tage im Brutofen bei 22 bis 25 ° C und einige Tage lang außerdem bei Zimmertemperatur aufbewahrt und täglich makroskopisch und mikroskopisch betrachtet. Die gewachsenen Kolonien wurden auf schwach alkalischem oder saurem (Pflaumenmus-) Agar isoliert, nach 24stündigem Wachstum nach Gram gefärbt, im hängenden Tropfen beobachtet und zur Prüfung der Gelatineverflüssigung nochmals auf Platten ausgegossen.

Die Identifizierung der gefundenen Keime erfolgte bei den Bakterien nach dem Sammelwerk von Matsuschita¹, bei den Schimmelpilzen nach Engler-Prantl²: „Die natürlichen Pflanzenfamilien“, späterhin vor allem nach den allmählich aus den Untersuchungen gesammelten Testkulturen.

Bei der Veränderlichkeit der Eigenschaften und Wuchsformen der Bakterien erwies sich am konstantesten das spezifische Verhalten gegen Farbstoffe, insbesondere gegen die Gramsche Färbmethode, die in der im Institut für Infektionskrankheiten üblichen Weise ausgeführt wurde. Das auf einem Objektträger von 8 bis 10 verschiedenen Kulturen fixierte Material wird 30 Sekunden mit Karbolgentianaviolett, 30 Sekunden mit Lugolscher Lösung behandelt, in konzentriertem Alkohol entfärbt und mit stark verdünnter Ziehlscher Lösung nachgefärbt. So erhält man eine Serienfärbung von meist deutlich unterschiedenen, in der nachfolgenden Tabelle je nach der Intensität der Farbe mit 1 bis 3 „+“ oder „—“ Zeichen versehene Individuen der einzelnen Arten. Jedoch nicht immer. Bei einzelnen Arten konnten sogar Diplokokken beobachtet werden, von denen der eine schwarzblau, der andere deutlich rot gefärbt war, wie dies auch von Lingelsheim, Flügge und Kutscher für Meningokokken beschrieben ist. Viel schwankender als die Farbstoffaufnahme zeigte sich die Gelatineverflüssigungskraft der einzelnen Arten. Sie ist oft so gering, erfolgt oft erst so spät, daß die Zeitangabe und quantitative Größe bei der Bestimmung der Arten anzugeben nötig war. Nach diesen Prinzipien, ferner mit Berücksichtigung ihres Wachstums in Bouillon und auf Kartoffelnährböden sind die gefundenen Arten von Kokken, Sarcinen, Bazillen, Sproß- und Schimmelpilzen im Anhang (Tab. III) zusammengestellt, im einzelnen wiederum nach einer Skala des Farbstoff bildenden Vermögens auf Agar von weiß-gelb-rot-braun geordnet, so daß bei den letzten Untersuchungen die fraglichen Kulturen leicht bestimmt werden konnten. Manche Arten zeigten von den von Matsuschita und Engler-Prantl beschriebenen mehr oder weniger Abweichungen, manche waren überhaupt nicht einzureihen. Erstere haben in der Tabelle III, abgesehen von der Anführung der abweichenden Eigenschaft, zu dem Namen der fraglichen Art ein Fragezeichen erhalten, letztere einen Namen in Klammern, der einer ihrer Haupteigenschaften entlehnt ist.

Die folgende Tabelle I, in der sämtliche bei den Untersuchungen gefundenen Mikroorganismen der Zeit der Aufnahme und der Höhe des Fundortes nach geordnet sind, enthält zugleich mit kurzer Angabe der Witterung an dem betreffenden Tage ihre Anzahl, wie sie bei 6 Auffahrten im Fesselballon und 10 Freifahrten auf 65 beschickten Filtern festgestellt wurde.

¹ Matsuschita, *Bakteriologische Diagnostik*. Jena 1902.

² Engler-Prantl, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. Leipzig 1897.

Laufende Nummer	Bezeichnung	3. 28. III. 1906 ab Berlin wolkenlos		4. 9./10. V. 1906 ab Bitterfeld unterhalb einzelner Cumuli				5. 14. X. 1906 ab Berlin oberh. dichter Wolken- schichten				6. 27. X. 1906 ab Berlin Wolkenschicht 3-800 μ darü- ber frei						
		1900 m	2100 m	2400 m	27-3000 m	30 m	50 m	200 m	200 m	600 m	100-1100 m	2000 m	2500 m	2600 m	8-400 m	980 m	1080 m	1200 m
1	<i>Microc. nubilus</i> . . .	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	<i>M. cinnabarinus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	<i>M. cereus albus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—
4	<i>M. fuscus coronatus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	<i>M. citreus</i> — . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	<i>M. versicolor</i> liquef.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	<i>M. aërogenes</i> . . .	—	1	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—
8	<i>M. galbanatus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	<i>M. flavus</i> liquef.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	<i>M. citreus conglom.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	<i>M. rosaceus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	<i>M. luteus</i> + — . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
13	<i>M. albus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	<i>M. cremoides</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	<i>M. fervitosus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
16	<i>M. irregularis</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	<i>M. concentricus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	<i>M. aurantiacus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	<i>M. luteus</i> — + . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	<i>M. candidus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
21	<i>M. aurant. radiat.</i> . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	<i>M. citreus</i> — + . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23	<i>M. carneus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24	<i>M. aurant. magn.</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	<i>M. madidus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26	<i>M. rhenanus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
27	<i>Sarc. lutea</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28	<i>Sarc. flava</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	<i>Sarc. aurantiac</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30	<i>B. pseudodiphtheric.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
31	<i>B. pseudotetani</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—
32	<i>B. aureo-flavus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
33	<i>B. terrestris</i> . . .	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
34	<i>B. subtilis</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
35	<i>B. mesentericus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
36	<i>B. flavus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
37	<i>B. areat. non liquef.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
38	<i>B. annulat.</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
39	<i>B. fluorescens</i> liquef.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
40	<i>B. cuticulatus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
41	<i>B. loculosus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
42	<i>B. varicosus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
43	<i>B. guttatus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
44	<i>B. mycoides</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
45	<i>B. rubrus</i> . . .	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
46	<i>B. aurescens</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
47	<i>B. aquatilis</i> rad. . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
48	<i>B. campestris</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
49	<i>B. luteus</i> . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

L

5. 3. IV. 1908 wolkenlos SO 4 ^m					6. 13. XII. 1908 S-SW 8 ^m unt. Wolkengr. 250-300 ^m			1. 6. I. 1908 ab Berlin, unt. Wolkengrenze 200-250 ^m			2. 14. IV. 1906 ab Breslau zunächst wolkenlos, später vereinzelte Cumuli									
100 ^m	200 ^m	200 ^m	3-200 ^m	300 ^m	300 ^m	100-200 ^m	200 ^m	200-250 ^m	250 ^m	250 ^m	250 ^m	750-800 ^m	1-1300 ^m	13-1400 ^m	14-1500 ^m	16-1850 ^m	17-1800 ^m	2-2200 ^m	27-3000 ^m	4-4100 ^m
-	-	-	-	-	-	50	2	3	-	-	-	(1)	(1)	-	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
-	-	-	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-	1	-	-	5	-	1	-	-
-	1	-	-	-	-	-	-	-	30	48	51	1	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	-	-	2	-	-	-	-	-
-	-	1	-	-	-	5	-	300	2	1	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	1	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
-	2	1	-	1	109	-	-	-	908	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	1	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	1	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-
-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	1	4
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-
-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
-	8	1	2	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-

das zweite den der Gramfärbung.

Tabelle I.

Laufende Nummer	Bezeichnung	Kontrolle	1.			2.					3.			4.						
			7. XII. 1905 SW 14 ^m p.s. unterhalb Cumuli			30. I. 1908 NW 14 ^m im Schnee-Regen					16. II. 1908 S 3 ^m bedeckt			26. II. 1906 SO 4 ^m Wolkengrenze 250—300 ^m						
			Erde	100 ^m	200 ^m	Erde	100 ^m	150 ^m	200 ^m	250 ^m	— 100 ^m	200 ^m	250 ^m	100—150 ^m	150—200 ^m	300 ^m	320—350 ^m	420—450 ^m	480 ^m	
50	<i>B. ubiquitous</i>																			
51	<i>B. subluteus</i>	1																		
52	<i>B. aerophilus</i>																			
53	<i>B. gracilescens</i>	1																		
54	<i>B. citreus</i>																			
55	<i>B. candicans</i>																			
56	<i>B. ellipsoideus</i>																			
57	<i>B. mesenteric. fusc.</i>																			
58	<i>B. aureus</i>																			
59	<i>B. fulvus</i>	1																		
60	<i>B. brevis</i>																			
61	<i>B. tenuis</i>																			
62	<i>B. flavus annulat.</i>																			
63	<i>B. brunosceus</i>																			
64	<i>B. rubiginosus</i>																			
65	<i>B. pseudo-oedematis</i>	3																		
66	<i>B. profusus</i>																			
67	<i>Torula aurantiaca</i>					1														
68	<i>Torula grisea</i>									1										
69	<i>Torula rosea</i>									1	1									
70	<i>Torula flava</i>																			
71	<i>Torula rosacea</i>																			
72	<i>Torula radiata</i>																			
73	<i>Torula rad. liquef.</i>																			
74	Pilz rot V.																			
75	Penic. crustac.	2	3	2		3			1	(2)	(1)	(4)	(1)		(2)	(1)	(2)			
76	Mucor. rhizop. alb.		4			3							1	1						
77	Botrytis geniculat.		1	1	1															
78	Pen. niger	2				1	1													
79	Aspergill. alb.					1	1	1	1											
80	Botrytis cin.					1														
81	Mucor stolonifer						1			1										
82	Aspergill. niger							1												
83	Aspergill. herb.	7								(2)	(6)	(4)	2		1	1				
84	Mucor. mucedo									1			1							
85	Pilz K ₁									2										
86	M. rhizopodif.	1													1	1				
87	Pilz IV ₂															1	1			
88	Muc. spinosus	1																		
89	Dicranophora fulva																			
90	Entomophthora																			
91	Pen. glaucum	1																		
92	Pen. fuscum																			
93	Aspergill. glauc.																			
Summa:			25	84	198	226	152	128	61	29	18	30	15	10	7	6	335	2	4	3
Reduziert				: 2			: 2				: 2				: 2					
auf 10 Liter Luft			42	99	113	76	64	31	15	9	15	8	5	4	3	163	1	2	2	

Laufende Nummer	Bezeichnung	3. 28. III. 1906 ab Berlin wolkenlos				4. 9./10. V. 1906 ab Bitterfeld unterhalb einzelner Cumuli				5. 14. X. 1906 ab Berlin oberh. dichter Wolken- schichten				6. 27. X. 1906 ab Berlin Wolkenschicht 3-800 m darü- ber frei				
		1900 m	2100 m	2400 m	27-8000 m	30 m	50 m	200 m	200 m	600 m	1-1100 m	2000 m	2500 m	2800 m	8-400 m	990 m	1090 m	1200 m
50	<i>B. ubiquitous</i>	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
51	<i>B. subluteus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	(1)	—	—	—	—	—	—	—	—
52	<i>B. aerophilus</i>	—	1	—	—	1	1	—	8	7	—	—	—	—	—	—	—	—
53	<i>B. gracilescens</i>	—	—	—	—	1	—	—	15	—	—	—	—	—	—	—	—	—
54	<i>B. citreus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
55	<i>B. candicans</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
56	<i>B. elipsoideus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
57	<i>B. mesenteric. fusc.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
58	<i>B. aureus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—
59	<i>B. fulvus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
60	<i>B. brevis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
61	<i>B. tenuis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
62	<i>B. flavus annulat.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
63	<i>B. brunescens</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
64	<i>B. rubiginosus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—
65	<i>B. pseudo-oedematis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(2)	(1)	—	(1)	—
66	<i>B. profusus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
67	<i>Torula aurantiaca</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
68	<i>Torula grisea</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
69	<i>Torula rosca</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
70	<i>Torula fiava</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
71	<i>Torula rosacea</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—
72	<i>Torula radiata</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	4	—	—	—
73	<i>Torula rad. liquef.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
74	Pilz rot V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
75	<i>Pen. crustac.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	(1)	(2)	(2)	—	—	—	—	—	—
76	<i>Mucor rhizop. alb.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
77	<i>Botrytis geniculat.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
78	<i>Pen. niger</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(1)	(9)	—	(1)	—
79	<i>Aspergill. alb.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
80	<i>Botrytis cin.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
81	<i>Mucor stolonifer</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
82	<i>Aspergill. niger</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
83	<i>Aspergill. herb.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
84	<i>Mucor mucedo</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
85	Pilz K ₁	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
86	<i>M. rhizopodif.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
87	Pilz LV ₂	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
88	<i>Muc. spinosus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(1)	(1)	—	—	—
89	<i>Dicranophora fulva</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
90	<i>Eutomophthora</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
91	<i>Pen. glaucum</i>	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	(3)	—	(4)
92	<i>Pen. fuscum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—
93	<i>Aspergill. glauc.</i>	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Summa:		4	3	—	—	5	5	35	37	8	4	6	3	—	6	8	6	1
Reduziert			: 2					: 2				: 4			: 2		: 3	
auf 10 Liter Luft		2	1	—	—	3	3	18	19	4	1	2	1	—	3	3	2	1

Fortsetzung.)

7. XII. 06 Hinterfeld sehen u. Cumuli		8. 18. II. 1907 ab Berlin wolkenlos (ab- ziehendes Minim.)				9. 5. V. 1907 ab Berlin vereinzelt Cumuli bei 1600-1800 ^m				10. 24./25. V. 06 ab Berlin klar nach Regen		Anzahl der Kolonien	Anzahl der Filter, aus denen die Kol. gewachsen	Höhe, bis zu der die Keime gefunden sind m
6-700 ^m	570 ^m	740 ^m	750 ^m	1800 ^m	1900 ^m	2600 ^m	2700 ^m	2800 ^m	2900 ^m	3000 ^m				
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	477	6	2700	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	2	1900	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	29	12	3000	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16	2	200	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	3	1800	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	800	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	250	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1	1600	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3	2500	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(1)	(1)	Kontrolle	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	2	3000	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	2	3000	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	3000	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	4100	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1	2500	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(4)	(3)	1200	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	250	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	1400	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	100	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	250	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	1500	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	1	1000	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	2	1000	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	2900	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	200	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	32	17	4100	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	6	4100	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3	200	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	100	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9	9	1900	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	3	250	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	200	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	750	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	6	1100	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3	2800	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	2	200	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	450	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3	750	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	3	4100	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	2	250	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2200	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	200	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	2000	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	1900	
4	2	3	—	2	5	2	3	3	4	1				
1		:2				×1				×1				
4	1	2	—	2	5	2	3	3	4	1				

Aus diesen Zusammenstellungen geht zunächst hervor, daß Mikroorganismen sich auch in größere Höhen (bis 4100^m) erheben und sich dort lebensfähig erhalten können. Der Annahme Belli¹, daß es festgestellt sei, daß die Luft der höheren Regionen bakteriologisch frei von Keimen sei, muß daher widersprochen werden. Unsere Befunde erklären andererseits leicht, daß Belli den Hagel, der sich nach der allgemeinen Anschauung der Meteorologen in sehr hohen Regionen bildet, bakteriologisch nicht frei von Keimen fand. Wie Belli im Hagel, konnten auch wir z. B. den *Bacillus mycoides* und den *Bacillus fluoresc. liquefac.* noch in Höhen von 2000 bis 3000^m feststellen. Vollständig frei von Keimen wurde die Luft nur viermal gefunden und zwar in einer Höhe von 750^m über Guben, 2400 und 2600^m über dem Erzgebirge und 2600^m über dem Hochlande bei Lodz in Rußland.

Im übrigen bleibt aber die Anzahl der Mikroorganismen, von den ersten 500^m über der Erde abgesehen, auch bis zu den Höhen von 4150^m eine ziemlich gleichmäßige, wie aus der nächsten Tabelle² hervorgeht.

Höhe in Metern	Anzahl der gefundenen Kolonien.															Summe	Durchschn.	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15			
0	42	76	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	118	(59) 59
10—100	15	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	19	(15) 6
100—200	99	64	2	4	31	56	3	113	15	8	6	6	6	19	19	—	451	(32) 30
200—300	353	9	5	7	168	4	176	2784	112	—	—	—	—	—	—	—	3618	(91) 402
300—500	58	1	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	63	(16) 16
500—1000	4	6	3	2	2	4	1	2	0	—	—	—	—	—	—	—	24	3
1000—2000	2	4	15	12	8	1	2	2	1	5	2	—	—	—	—	—	54	5
2000—3000	6	13	1	1	0	2	—	0	4	2	3	3	—	—	—	—	35	3
3000—4100	11	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	6

Auf ein Liter Luft kommen somit in Höhen unter 500^m 12.9 Keime. in Höhen darüber 0.37 Keime.

¹ Belli, Chemische, mikroskopische und bakteriologische Untersuchungen über den Hagel. Hygien. Institut Padua. *Hygien. Rundschau.* Bd. XL Nr. 24.

² Die *schrägen* und die eingeklammerten Ziffern bezeichnen die Befunde im Fesselballon.

Besonders konstant sind die Durchschnittswerte, die von 500^m bis 4100^m gefunden wurden. Sie schwanken nur von 3 bis 6 Keimen für 10 Liter der filtrierten Luft und stehen somit im auffallenden Gegensatz zu den lediglich quantitativen Befunden von Harz¹, der an einem klaren wolkenlosen Tage, allerdings nach einer anderen Methode (veränderte Miquelsche)

in 1 Liter bei . . .	1700 ^m	114.5 Keime
„ 1 „ „ . . .	1500 ^m	179 „
„ 1 „ „ 1800 bis 2000 ^m		2875 „
„ 1 „ „ . . .	2300 ^m	593.7 „
„ 1 „ „ . . .	2100 ^m	188 „

gefunden hat.

Ganz unregelmäßig stellen sich die Durchschnittswerte bis zu 500^m dar, ganz abgesehen davon, ob man die im Frei- und Fesselballon gewonnenen Resultate einzeln oder zusammengekommen betrachtet. Anstatt einer zu erwartenden gleichmäßigen Abnahme mit der Höhe sehen wir sogar bis zu 300^m ein sprungweises Ansteigen der Keimmenge bis auf das fast 70fache. Wie ist das zu erklären?

Um nur gleichartiges Material zu verwerten, wollen wir hier die im Freiballon gefundenen Keimmengen außer acht lassen und nur die im Fesselballon gewonnenen betrachten. Denn ein Unterschied in der Gewinnung des Keimmaterials ist jedenfalls vorhanden. Während bei dem am Fesselballon befestigten Filter stetig mit dem Winde neue Luftmengen vorbeistreichen und somit je nach dem Keimgehalt dieser stetig wechselnden Luftmengen und je nach Schnelligkeit des Windes mehr oder weniger Keime der Luft entnommen werden, bleibt an der Entnahmestelle des Materials im Freiballon die Zusammensetzung der Luft fast stets die gleiche. Ebenso wie die Keime, schwimmt auch der Freiballon mit der gleichen Geschwindigkeit des Windes.

Über dem Übungsplatz des Luftschieferbataillons wurden mit dem gefesselten Ballon folgende Keimmengen gefunden. (Siehe umstehende Tabelle.).

Mit Ausnahme der Luftproben vom 30. I. 1906 sind alle übrigen bei SO- bis SW-Wind filtriert. Der Übungsplatz des Luftschieferbataillons liegt bei Reinickendorf im Norden von Berlin. Unter direktem Wind von Berlin oder Charlottenburg sind daher diese 5 Proben entnommen.

¹ Vortrag, veröffentlicht im *Jahrbuch des deutschen Luftschiefer-Verbandes*. 1904.

Datum	1.			2.				3.			
	7. XII. 1905			30. I. 1906				16. II. 1906			
Höhe in Metern	0	100	200	0	100	150	200	250	100	200	250
Keimmenge absolut	84	198	226	152	128	61	29	18	30	15	10
Keimmenge reduziert auf 10 Liter	42	99	113	76	64	31	15	9	15	8	5
Untere Wolkengrenze			200 ↑	0 ↑							400 ↑
Witterung	bedeckter Himmel - 3° S-SW 50 km			bedeckter Himmel, Regen und Schnee + 3° NW 60 km				bedeckter Himmel + 4° fast Windstille			

Datum	4.						5.					6.			
	26. II. 1906						3. IV. 1906					13. XII. 1906			
Höhe in Metern	100-150	150-200	300	320-350	420-450	450	100	200	200	2-300	300	3-320	100-200	200	2-250
Keimmenge absolut	7	6	335	2	4	3	4	12	12	13	8	116	56	6	353
Keimmenge reduziert auf 10 Liter	4	3	168	1	2	2	2	6	6	7	4	58	56	6	353
Untere Wolkengrenze			↑ 2-300										250-800	↑	
Witterung	bedeckter Himmel, oben zunehmender SO 15-30 km + 4°						wolkenloser Himmel S-SO 15 km + 6°					bedeckter Himmel S-SW 30 km + 3°			

Die Mikroorganismen gelangen in die Atmosphäre durch verspritztes Wasser aus Sümpfen, Gruben, Aborten usw. oder meistens durch aufgewirbelte Staubmassen. Wasser sowohl als Staub enthalten oft enorme Keimengen. So fand z. B. Miquel¹ in dem Kanalwasser von Clichy 6 000 000 Keime im Kubikzentimeter und 2 100 000 Keime in 1 ^{cm} Straßentaub, Matsuschita² in 1 ^{cm} besprengten Straßentaubes 1 204 948 Keime.

¹ *Annuaire de l'observatoire municipal de Montsouris*. 1892—1893.

² Über die Bakterien im besprengten und nicht besprengten Straßentaub. *Archiv für Hygiene*. Bd. XXXV.

In dichtbewohnten Gegenden und großen Städten werden Wasser und Erdreich mehr verunreinigt als auf dem Lande, und aus dieser Quelle entströmen größtenteils mit den Staubpartikelchen unzählige Mengen von Mikroorganismen in die Luft. Daß dies namentlich in Berlin der Fall ist, wird jeder zugeben, der einmal den gewaltigen Dunstkreis gesehen, durch den sich die Großstadt schon aus weiter Ferne kenntlich macht. Je nach der Wärmeentwicklung einer solchen Stadt und der Differenz dieser Wärme gegenüber der über dem Lande lagernden Temperatur werden namentlich im Winter die mit diesem Dunstkreis emporgehobenen Keime geschlossen in mehr oder minder hohe Regionen steigen, solange ein Widerstand in der Luft nicht vorhanden ist. Der erhebt sich aber, sobald dieser aufsteigende Luftstrom einer Wolkenbildung oder einer stärkeren Luftbewegung begegnet. Da werden die Keime von den kleinsten Wassertropfchen aufgenommen und an der Grenze der Wind-, Temperatur- oder Feuchtigkeitsgehaltsänderung fortgeweht, ehe die Möglichkeit einer mehr oder minder gleichmäßigen Zerstreung eintreten kann. Solche Verhältnisse liegen bei den fünf Untersuchungsbefunden vor, die durch die 4 bis 5^{km} entfernte, nur durch einen Teil der Jungfernheide [Schießstände] getrennte Stadt Berlin-Charlottenburg beeinflußt wurden. So erklären sich leicht die sonst auffallenden Befunde insbesondere von Nr. 4 und Nr. 6, wo die Keimzahl plötzlich von 3 auf 168 und von 6 auf 353 anschwillt, unter Berücksichtigung der unteren Wolkengrenze. So erklären sich auch die Befunde vom 6. Januar 1906 im Freiballon, wo nach einer Fahrt über Berlin noch am Grimnitzsee in der Höhe von 250 m 2784 Keime (relative Menge) gefunden wurden. Auch hier fiel diese Höhe mit der unteren Wolkengrenze zusammen, die den infolge der Temperaturdifferenz zwischen der reichlich Wärme absondernden Großstadt und der schneebedeckten Umgebung schnell aufsteigenden, mit reichlichen Staubteilchen und Mikroorganismen geschwängerten Luftstrom abfing und geschlossen mit sich führte.

Zufolge unserer Untersuchungen ist die Zahl der in der Atmosphäre vorhandenen lebensfähigen Keime — und nur diese können wir selbstverständlich mit unserer Methode nachweisen — ferner abhängig von der Sonnenbestrahlung. Das ergibt sich aus folgender Zusammenstellung, in der die einzelnen Untersuchungsbefunde nach dauernder, zeitweiser und fehlender Sonnenbestrahlung zur Zeit der Entnahme geordnet sind. (Siehe umstehende Tabelle.)

Bei dieser Zusammenstellung haben wir nur die Befunde im Freiballon berücksichtigt, da die im Fesselballon über der Jungfernheide gefundenen Werte infolge der großen Nähe der Mikroorganismenanhäufung in der Großstadt nicht einwandfrei in dieser Beziehung erscheinen. Wir erhalten demnach in 10 Liter Luft (s. S. 363):

1. Dauernde Sonnenbestrahlung.

1.				2.				3.				4.			5.	
28. III. 1906				25. X. 1906				27. X. 1906				18. II. 1907			25. V. 07	
1900	2100	2400	27-3000	10-1100	2000	2500	2600	990	1090	1200	8-4000	570	750	750	2900	3000
[2]	2	—	—	1	1	1	—	2	2	1	[4]	1	1	—	4	1
Obere Wolken- grenze 2100—2200 m				Oberhalb der Wolken				Obere Wolkengrenze 800 m				Wolken- lose Atmo- sphäre, ab- ziehendes Minimum			Ober- halb der Wolken	
= 17:15 = 1-1 Keim auf 10 Liter.																

2. Zeitweise Sonnenbestrahlung. (Cumuluswolken.)

1.									2.				
14. IV. 1906									9. u. 10. V. 1906				
750-800	10-1300	13-1400	14-1500	16-1700	1750-1800	2000-2100	2700-3000	4000-4100	30	50	200	200	600
2	2	4	15	12	8	6	13	11	[2]	2	19	19	4
Zunächst wolkenlos, dann zunehmende Cumulus- bewölkung in 8 Höhenlagen.									Sonnen- schein	Cumulus- bewölkung, Nachtfahrt.			Sonnen- schein

3.		4.				
6. u. 7. XII. 1906		5. V. 1907				
600	700	1800	1900	2700	2800	2600
6	4	2	5	3	3	2
Untere Grenze der Cumuli 600 m.		Zeitweise geringe Cumulusbildung, sonst klar.				
= 138:19 = 7-3 Keime auf 10 Liter.						

3. Fehlende Sonnenbestrahlung.

6. I. 1906		
250	250	250
2784	176	118
= 3078:3 = 1026 Keime auf 10 Liter.		
Untere Wolkengrenze 200—250 m, Erde mit Schnee bedeckt.		

bei dauernder Sonnenbestrahlung	1.1 Keime
„ zeitweiser	7.3 „
„ fehlender	1026 „

Würde man in Anbetracht der nur geringen Zahlen der filtrierten Luft bei fehlender Bestrahlung dennoch die 18 einschlägigen Befunde im Fesselballon heranziehen wollen, so würden die Keime auf 193 pro 10 Liter herabgedrückt werden. Ein dominierender Einfluß der Sonne ist da nicht zu leugnen.

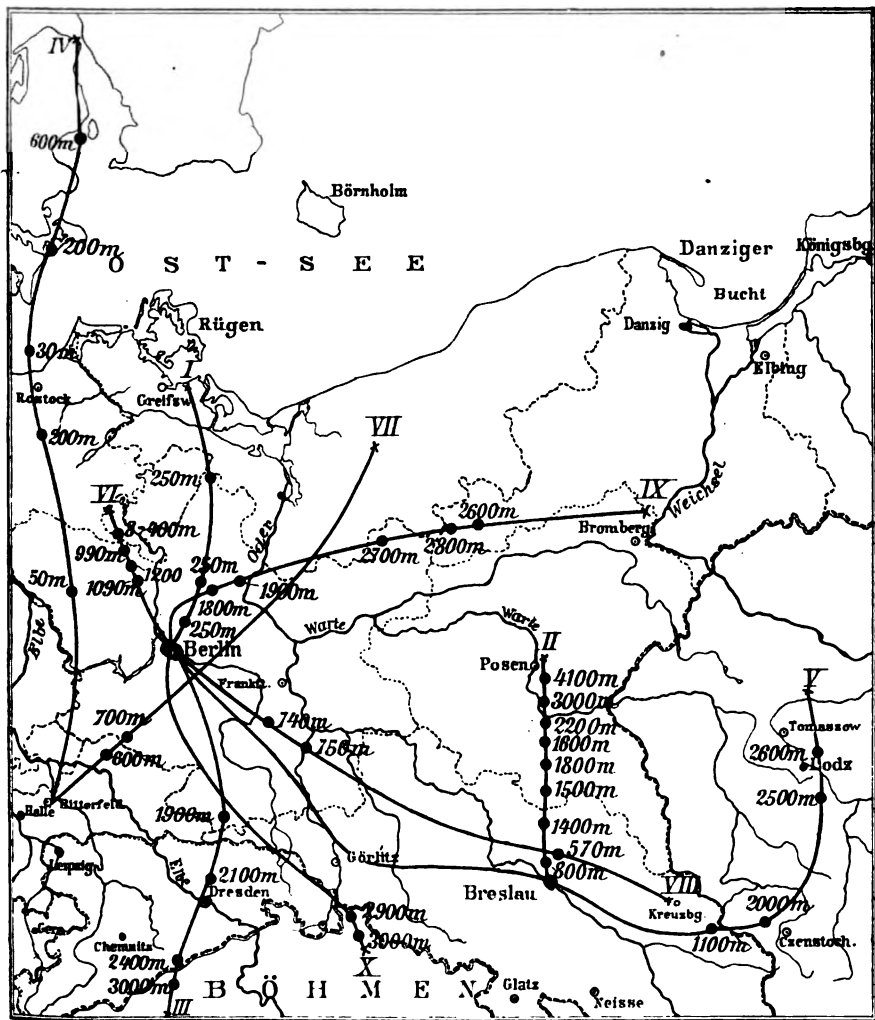


Fig. 1.

Mit Matsuschita¹, der im trockenen Straßenstaub die lebensfähigen Keime um mehr als die Hälfte gegenüber dem befeuchteten vermindert und von 24290 Keimen am 2. Tage nur noch 216 lebend fand, sehen wir daher vor allem in der bakteriziden Kraft der Sonne den wesentlichsten Faktor, der die lebensfähigen Keimmengen in der Luft herabsetzt, und nur sekundär, erst als Wirkung der Sonne trockene Luft und hohe Temperatur, Faktoren, die Condorelli Mangeri² aber als ursächlich anführt.

Die Entnahmestellen des Materials in bezug auf die geographische Lage zeigt vorstehende Karte. Die ausgezogenen Linien sind als Fahrtlinien des Freiballons gleichbedeutend mit der in der jedesmaligen Höhe herrschenden Windrichtung. (Siehe Fig. 1.)

Die Befunde der Fahrten I und IV, die im übrigen betreffs Windrichtung und Entfernung von der Erde vielfach Analogien bieten, stehen im auffallenden Gegensatz. Die Keimmengen bei der Fahrt I von Berlin aus, die bereits oben erwähnt sind, betragen auf 10 Liter reduziert, 250^m über Schoenholz 176, 250^m über dem Grimnitzsee 2784, 250^m über Heinrichswalde 118, bei der Fahrt IV dagegen 50^m über der Dosse 3, 200^m über Güstrow 18, 30^m über der Ostsee 3, 200^m über der Insel Moen 19 und 600^m über dem Kjögebusen 4. Es sei hier nur auf den oben erwähnten Einfluß des Staubes von Berlin auf die Befunde der Fahrt I bis auf eine Entfernung von über 100^{km} hingewiesen; alle ätiologischen Betrachtungen betreffs des Einflusses der See möchte ich hier unterlassen, da das Material zu gering ist und diese Frage noch später berührt werden wird.

Eine Zu- oder Abnahme der Keime zu verschiedenen Jahreszeiten, wie sie Welz³ für die freie Luft angibt, haben wir bei unseren Untersuchungen in den höheren Regionen nicht gefunden.

Was nun die Häufigkeit der Arten der Mikroorganismen betrifft, die wir bei den Untersuchungen feststellten, so kommen auf den *Micrococcus radiatus* mit 1027 die meisten Kolonien, gezüchtet aus 10 Filtern. Es folgen dann mit einer Zahl von über 100 Kolonien

2. <i>Bacillus ubiquitus</i>	.	mit 477 Kol.	auf 6 Filtern
3. <i>Micrococcus albus</i>	.	„ 313	„ „ 6 „
4. „ <i>nubilus</i>	.	„ 278	„ „ 18 „
5. <i>Bacillus aureoscens</i>	.	„ 269	„ „ 4 „
6. „ <i>aureo-flavus</i>	.	„ 209	„ „ 6 „

¹ Matsuschita, Über die Bakterien im besprengten und nicht besprengten Staub. *Archiv für Hygiene*. Bd. XXXV.

² Nach Welz, *Diese Zeitschrift*. 1891. Bd. XI.

³ Bakteriologische Untersuchung der Freiburger Luft. *Ebenda*. Bd. XI.

Am häufigsten in den einzelnen Filtern, wenn auch nicht in solcher Quantität, und zwar mehr als zehnmal, wurde angetroffen:

Pen. crust. . . .	auf 17 Filtern mit	32 Kol.
Bac. terrestris . . . „	15 „ „	45 „
M. nubilus . . . „	13 „ „	278 „
Bac. aërophilus . . . „	12 „ „	29 „
Bac. submesenteroid. „	12 „ „	25 „
M. aerogenes . . . „	10 „ „	23 „
M. radiatus . . . „	10 „ „	1027 „
Bac. mycoides . . . „	10 „ „	53 „

Alle diese Pilz- und Bazillenarten bilden Sporen aus.

In Höhen über 2500^m wurde unter anderem der *Bacillus mycoides*, *terrestris*, *aureus*, *rubiginosus*, *aerophilus*, *Microc. cremoides*, *Sarcin. lutea*, in den erreichten höchsten von über 4000^m *Micr. citreus*, *luteus*, *Pen. crust.* angetroffen.

Auffallend häufig fanden wir in allen Höhen, besonders aber in den allerhöchsten, unter den Mikroorganismen farbstoffbildende Arten. Unter den 18, in einer Höhe von über 2500^m festgestellten Bazillen- und Kokkenarten fanden sich 10 Farbstoffbildner. Sehr in die Augen stechend ist die siegellackrote Farbe des *Micr. cinnabarinus*, die zitronengelbe des *Micr. citreus conglomeratus*, die intensiv goldgelbe des *Micr. aurantiacus*, die dunkelgelbe des *Bac. flavus*, die orangerote des *Bac. rubrus*, die orangerote der bisher nur sehr selten gefundenen *Torula aurantiaca*, die rosarote, häufig vorkommende *Torula rosea*.

Allem Anschein nach müssen wir diese Farbstoffbildung als eine unter Sonnenbestrahlung sich entwickelnde Fähigkeit dieser Bakterien ansehen, und zwar aus folgenden Gründen. Die gefundenen Farbstoffbildner weisen nur grüngelbe-rotbraune Farben auf. Diese erscheinen neben den schwarzen als die geeignetsten, um die allein schädlichen, chemisch wirkenden, blauen-ultravioletten Strahlen der Sonne zu absorbieren und so das darunter befindliche lebende Gewebe vor der Vernichtung zu schützen. Dies beweisen einmal die bekannten Versuche von Finsen, der trotz längerer Bestrahlung Hautentzündungen nach Absonderung der blauen-ultravioletten Farben vermeiden konnte, dies beweist ferner das Verhalten der Haut, die, bestrichen mit gelber oder roter Salbe auch bei längeren Hochfahrten im Sonnenschein sich nicht entzündet, während ohne Schutz stets ein Erythem an den unbedeckten Körperteilen entsteht, dies zeigt endlich auch die Hautfarbe der Menschen, die wie bei Mongolen und Indianer eine um so dunklere Pigmentierung aufweist, je näher sich der Wohnsitz dieser Rassen dem Äquator befindet.

In gleicher Weise ist die Farbstoffbildung dieser Bakterien als eine natürliche Schutzvorrichtung aufzufassen, die eine Abtötung des Inneren der Keime trotz erheblich größerer Sonnenbestrahlung in den höheren Luftschichten zu verhindern vermag.

Concornotti¹ hat über die Häufigkeit der pathogenen Mikroorganismen Untersuchungen angestellt und als pathogen im Staube den Staph. aureus, albus, citreus, Bac. pyoceaneus, liquefaciens, pathogenes und vulgaris gefunden. Bei einer großen Anzahl unserer Kulturen haben auch wir diese Frage geprüft, intraperitoneal und subkutan an Meerschweinchen, Ratten und Mäusen. Es wurden nur für Mäuse pathogene Keime gefunden. Der Versuch wurde in der üblichen Weise angestellt, indem 2 Normalösen = 4^{ms} Kultur in 2^{ccm} schwachalkalischer Nährbouillon aufgeschwemmt und davon Mengen von 1 bis 0.25^{ccm} den Versuchstieren eingespritzt wurden. Das Ergebnis bei den eingegangenen Mäusen, aus deren Leber und Herzblut die injizierten Keime wiedergezüchtet werden konnten, war folgendes:

Art	Dosis	Resultat	Bemerkungen
Micrococcus nubilus	2.0 ^{ms}	† innerhalb 24 Stunden	— 1100 ^m sehr häufig gefunden.
	1.0 „	† „ 24 „	
	0.5 „	lebt nach 3 Tagen	
Micrococcus fervitosus	2.0 ^{ms}	† innerhalb 48 Stunden	— 1600 ^m sehr häufig
	1.0 „	lebt nach 3 Tagen	
	0.5 „	desgl.	
M. albus pathogenes	2.0 ^{ms}	† innerhalb 24 Stunden	— 1500 ^m sehr häufig
	1.0 „	desgl.	
	0.5 „	desgl.	
Bac. cuticulatus	2.0 ^{ms}	† innerhalb 24 Stunden	— 2600 ^m häufig
	1.0 „	desgl.	
	0.5 „	lebt nach 3 Tagen	
Bac. pseudo-oedematis	2.0 ^{ms}	† innerhalb 24 Stunden	— 1200 ^m selten und in der Kontrolle
	0.5 „	desgl.	
Kontrolle	1.0 ^{ccm} Bouillon	lebt nach 3 Tagen	

¹ Concornotti, E., Über die Häufigkeit der pathogenen Mikroorganismen in der Luft. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1899. Bd. XXVI.

Unter den 29 überhaupt gefundenen Kokkenarten verflüssigten die Gelatine 10 Arten, unter den 3 Sarcinen 2, unter den 39 Bazillen 21, unter den 8 Sproßpilzen 3. 22 Kokkenarten zeigten eine Gram positive Farbstoffreaktion, 7 eine Gram negative, darunter fallen 2 für Mäuse pathogene Arten. 36 Bazillen waren Gram +, 3 Gram -. Unter den Stäbchen fanden sich 10 Arten mit Eigenbewegung.

Das Verhältnis der Spaltpilze zu den Sproß- und Schimmelpilzen war in Höhen bis zu 500^m 1:42, von 500 bis 4100^m 1:3, d. h. es wurden in den Höhen über 500^m verhältnismäßig viel mehr Sproß- und Schimmelpilzkeime gefunden. Mit der Entfernung von der Erde tritt also relativ Abnahme der Spaltpilze, Zunahme der Schimmel- und Hefepilze ein.

Diese Tatsache, die wir auch bei den Untersuchungen über dem Meere bestätigt fanden, liegt in der verschiedenen Widerstandsfähigkeit der Schimmel- und Spaltpilze begründet. Die Bakterien vertragen im allgemeinen Bestrahlung und Austrocknung sehr schlecht, während die Schimmelpilzsporen dadurch wenig in ihren vitalen Eigenschaften beeinflußt werden. Mit wachsender Entfernung von der Erde und damit zunehmender Dauer der bakteriziden Einwirkung der Sonne muß daher zugunsten der Schimmelpilze eine Änderung der Zahlenverhältnisse eintreten.

Ein längerer Urlaub nach Brasilien gab mir Gelegenheit, die gewonnenen Resultate der Luftuntersuchungen in höheren Regionen zu ergänzen und durch Untersuchungen der oft analogen Verhältnisse über dem Meere zu kontrollieren.

Es galt zunächst eine Methode zur einwandsfreien Gewinnung der Luftkeime zu finden. Zu dem Zweck, insbesondere um vollständig den Einfluß des Schiffes auszuschalten, war beabsichtigt, den mit einem trichterförmigen Windfang am vorderen Ende versehenen Filter der schon beschriebenen Art durch Drachen in die Höhe zu heben, mit Hilfe eines Magneten vom Schiff aus elektrisch zu öffnen, von einer bestimmten Luftmenge durchströmen zu lassen und wieder elektrisch zu schließen. Leider gelang es der beauftragten Firma nicht, diesen Apparat bis zur Abreise fertigzustellen. Ich habe daher auf dem Postdampfer „Prinz Sigismund“ das Untersuchungsmaterial in ähnlicher Weise entnommen wie im Luftballon, nur daß hier der Filter nicht horizontal, sondern vertikal aus dem Bereich der möglichen Verunreinigung entfernt wurde. Vom Sonnendeck aus bis zur Signalleine emporgezogen, war der so arbeitende Filter 10^m dem obersten Deck und 25^m der Wasseroberfläche entrückt, so daß Fehlerquellen bei der Entnahme nicht vorkommen konnten, so-

lange der fahrende Dampfer oder der Wind senkrecht aufsteigende Luftströmungen verhinderte. Kontrollen wurden in derselben Weise wie im Ballon angestellt.

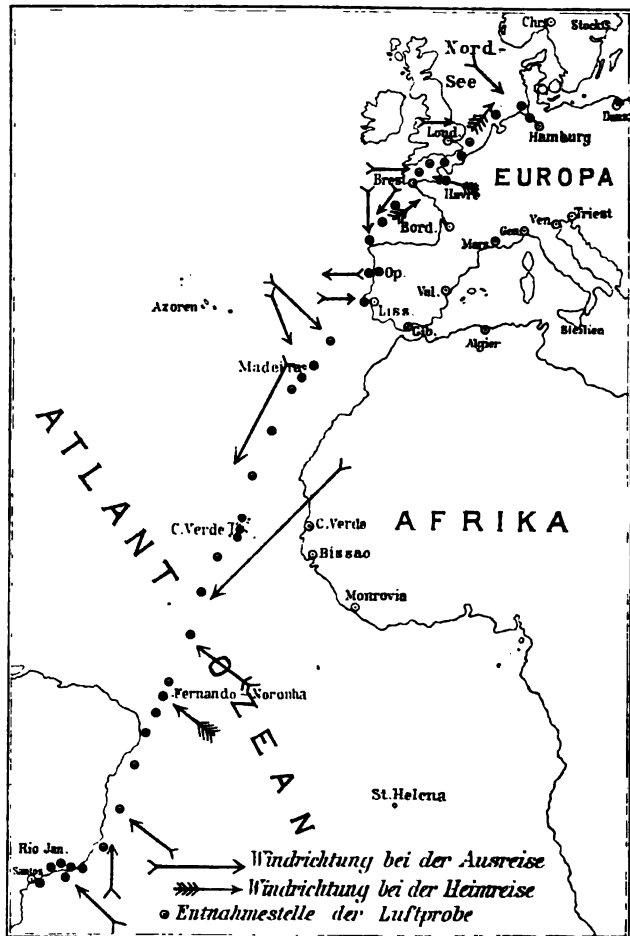


Fig. 2.

Bei der folgenden Tabelle wird die häufige Verunreinigung der Kontrollschalen — durch [] bezeichnet — auffallen. Zieht man jedoch in Betracht die engen Verhältnisse auf einem Personendampfer, das Fehlen eines mit allen Hilfsmitteln ausgestatteten Laboratoriumsraumes, wie er mir auf dem Festlande im Institut für Infektionskrankheiten zur Verfügung stand, so wird ein häufigeres Hineingelangen

von Keimen in die Petrischalen bei der Verarbeitung des Materials sich leicht erklären. Auf der Hinreise wurden täglich zu den verschiedensten Tages- und Nachtzeiten, bei den verschiedensten Witterungsverhältnissen, unter Wind von Land- und Seeseite Untersuchungen angestellt, auf der Rückreise nur dort, wo ein positives Resultat gefunden war oder besondere Ergebnisse vorausgesetzt werden konnten. Vorstehende Karte gibt die Entnahmestellen zugleich mit der Windrichtung wieder. Die besäten Petrischalen wurden in einem verschlossenen Schränkchen aufbewahrt und täglich auf sichtbare Kolonien beobachtet, jedoch ohne geöffnet zu werden. Denn hierdurch gelangen sehr häufig nachträglich Keime auf den Nährboden. Ein Brutofen konnte bei der warmen Außentemperatur entbehrt werden. In der Tabelle II (S. 370) sind die Untersuchungsergebnisse unter Berücksichtigung von Zeit-, Ort-, Wind-, Temperatur- und Bestrahlungsverhältnissen bei der Entnahme und der Zeit der endgültigen Verarbeitung nach Art und Anzahl der gefundenen Kolonien zusammengestellt. Das Material ist stets vom Schiff aus der Luft entnommen mit Ausnahme von Nr. 34a, wo über einem Bambushain auf dem Tijucaberge (900^m über M.) unweit Rio de Janeiro eine vergleichende Untersuchung der Luft stattfand, die, wie schon jetzt vorweg gesagt sein mag, Keime nicht enthielt. Die jedesmal filtrierte Luftmenge betrug meistens 50 Liter, mehrmals auch 100 Liter. Der Einfachheit halber ist die Anzahl der Kolonien in der Tabelle stets auf 50 Liter reduziert.

Aus 53 ausgesäeten Filtern wuchsen somit insgesamt 362 Keime, d. h. auf 7.3 Liter Luft kommt 1 Keim. 31 mal war das Untersuchungsergebnis vollständig negativ. Trennen wir unser Ergebnis derart, daß alle Versuche unter 100 Seemeilen und alle Versuche über 100 Seemeilen Entfernung vom nächsten in der direkten Windrichtung gelegenen Lande zusammengenommen werden, so erhalten wir für eine Entfernung von unter 100 Seemeilen 15 mal 312 Keime, 10 mal 0 Keime oder auf 4.0 Liter einen Keim, bei einer Entfernung über 100 Seemeilen 7 mal 51 Keime, 21 mal 0 Keime oder auf 27.4 Liter einen Keim. Vergleichen wir unsere Zahlen mit denen Fischers¹, der über dieselben Verhältnisse eingehende Untersuchungen angestellt hat und bei einer Entfernung unter 100 Seemeilen 1 Keim auf 42 Liter und über 100 Seemeilen 1 Keim auf 218 Liter feststellen konnte, so erscheinen die von uns gefundenen Werte beträchtlich höher. Bei dieser Zusammenstellung sieht Fischer jedoch von den Windverhältnissen ganz ab, und es erklärt sich daher der Unterschied in den beiderseitigen Resultaten, die im übrigen viel annähernde, auch gleiche

¹ Fischer, Bakteriologische Untersuchungen auf einer Reise nach Westindien. *Diese Zeitschrift*. 1886. Bd. I.

Zeitschr. f. Hygiene. LVIII.

Lfd. Nr.	Datum	Tageszeit	Ort in Graden		Bezeichnung des Ortes	Wind u. Geschwindigkeit in km
1	31. V.	4 ^h 00' p.	53° 57' N	8° 40' O	Elbe V, Feuerschiff nördl. Cuxhaven	NW ₂
2	31. V.	4 30 p.	53° 58' N	8° 38' O	Elbe IV, Insel Neuwerk Höhe	NW ₂
3	1. VI.	6 00 p.	52° 18' N	1° 57' O	Kanal	W ₂
4	2. VI.	4 00 p.			Hafen Boulogne	W ₂
5	2. VI.	7 40 p.	49° 46' N	2° 22' W		W ₂
6	3. VI.	5 45 p.	46° 45' N	6° 39' W	Golf v. Biscaya	NO ₂
7	4. VI.	1 45 p.	43° 5' N	9° 25' W	Küste Kastilien	N ₂
8	5. VI.	5 45 a.			Hafen Leixoes	O ₂
9	7. VI.	11 15 a.			Hafen Lissabon	W ₂
10	8. VI.	5 30 p.	35° 15' N	13° 46' W		NW ₂
11	9. VI.	9 30 a.	32° 50' N	16° 25' W	Porto Santo	NN ₂
12	10. VI.	12 10 p.	30° 43' N	18° 1' W	200 km nördl. Teneriffa	N ₂
13	11. VI.	11 45 a.	26° 19' N	20° 21' W	Westküste Afrika	N ₂
14	12. VI.	12 05 p.	21° 53' N	22° 38' W	" "	N ₂
15	13. VI.	8 15 a.	18° 12' N	24° 26' W	100 km n. Insel Vicente	NO ₂
16	13. VI.	2 15 p.	18° 12' N	24° 26' W	zw. S. Antonio u. Vicente, Leuchtturm	NO ₂
17	13. VI.	2 45 p.	18° 12' N	24° 26' W	Hafen Insel Vicente	NO ₂
18	13. VI.	3 15 p.	18° 12' N	24° 26' W	1 km ab Vicente	NO ₂
19	13. VI.	3 30 p.	18° 12' N	24° 26' W	südl. Vicente	NO ₂
20	14. VI.	12 05 p.	12° 52' N	26° 44' W	Atlantischer Ozean	NO ₂
21	15. VI.	11 50 a.	8° 11' N	28° 20' W	" "	N ₂
22	16. VI.	10 15 a.	3° 51' N	29° 30' W	" "	SO ₂
23	16. VI.	11 15 a.	3° 46' N	29° 52' W	Äquatorzone	SO ₂
24	17. VI.	4 15 p.	1° 41' S	32° 0' W	" "	SO ₂
25	18. VI.	12 10 p.	5° 18' S	33° 34' W	" "	SO ₂
26	19. VI.	10 30 a.	östl. 2 km ab Riff		vor Hafen Pernambuco	SO ₂
27	20. VI.	9 00 a.	westl. 20 km ab Riff		im	SO ₂

10	g _b	grün, erhaben aufgelöster Randzone	gelblichgrau, leicht abheb- bar in toto, 0.4 mm	undurchsich- tig, unregel- mäßig gelappt, am Rande in zackig.Haufen zerfallend	+ nach 10 Tagen	72 St. — (nicht gewachsen)	saftig, dick	zitronengelb	— St. G. —	schmutzigorange mit radiär gerif- elter Randzone, später intensiv goldgelb, krümel.	M. (aurantia- cus magnus)	liquifacium)
----	----------------	--	--	---	--------------------	----------------------------------	--------------	--------------	------------	---	------------------------------	--------------

b) Gelatine nicht verflüssigend, 1. Gram positiv.

11	a ₂							dünn, durchsich- tig hellgrau			M. concentri- cus 918	intra-periton. nicht patho- gen (Maus)
12	A ₃							dick, weiß lack.			M. nubilus 974	intra-peritoneal pathogen: 1/5 Normaldöse = 1 ^{me} tötet Maus innerh. 24 Std.; nicht pathogen für Meerschw.
13	F ₆							mattgrau, später milchig weiß			M. cereus albus 911	
14	c ₁							schneeweiß, er- haben			M. candidus 910	
15	C ₁							hellgrau, später schwefelgelb			M. flavustardi- gradus 1024	
16	hg	wachsgelb, trocken, rund, dick, 2.0 mm		grobgranuliert glattrandig	—	++ + 48 St.	wachsgelb, dick, homogen, feucht	hellgrau, später chromgelb	K. 8 x St. G. ++ +		M. luteus 1020?	intra-periton. nicht pathog. (Meerschw.)
17	Ba							hellgrau, später chromgelb			M. sulfureus 1022	
18	b ₂							chromgelbgrün			M. citreus non liquifac. 1021	
19	f ₃	grünlichgelb, leicht in toto abhebbar, 0.2 mm		feingranuliert durchseitig	—	+ + 72 St.	intensiv zitronengelb	intensiv feucht, Einzelkol. mit konz. Ringen, G. ++ +	K. sehr klein, meist Diplo, G. ++ +		M. madidus 1031?	intra-periton. nicht pathog. (Meerschw.)

Tabelle II

Lfd. Nr.	Datum	Tageszeit	Ort in Graden	Bezeichnung des Ortes	Wind u. Geschwindigkeit in km
28	22. VI.	11 ^h 50' a.	11° 40' S 35° 58' W	In Höhe von Bahia	SO ₃₀
29	23. VI.	11 50 a.	16° 4' S 34° 28' W	" " „ Porto Seguro	SO ₃₀
30	24. VI.	12 10 p.	20° 12' S 39° 49' W	" " „ Viktoria	S ₁₀
31	25. VI.	9 15 a.	23° 2' S 42° 24' W	südl. Cap Frio	NW ₁₀
32	25. VI.	6 00 p.	Hafen Rio de Janeiro		NO ₁₅
33	27. VI.	6 15 a.	Hafen Rio de Janeiro		W ₁₀
34	28. VI.	12 00 m.	Hafen Rio de Janeiro		NW ₅
34a	29. VI.	5 00 p.	Berg Tijuca 900 ^m über Wasser	über Bambushain	—
35	30. VI.	5 00 p.	Ausreise aus Hafen Rio de Janeiro	Zollstation — Forts	—
36	30. VI.	5 20 p.	"	Forts — Insel Redonda	—
37	2. VII.	4 30 p.	Hafen Santos		S ₃₀
38	13. VII.	2 45 p.	Ausreise aus Hafen Rio de Janeiro	Fort S. Cruz — I. Pao Porto	O ₁₀
39	13. VII.	3 00 p.	10 ^{km} ab Küste	Insel P. Porto — Insel Pay	ONO ₁₅
40	13. VII.	3 25 p.	23° 0' S 42° 54' W	Insel Pay — Insel Maricas	ONO ₁₅
41	19. VII.	10 45 a.	3° 49' S 32° 28' W	Fernando Noronha	SO ₃₀
42	19. VII.		3° 49' S 32° 28' W	Ratteninsel	SO ₃₀
43	24. VII.	3 00 a.	S. Vicente Leuchtturm — Bird-Insel		NO ₃₀
44	24. VII.	4 05 a.	Bird-Insel — East Point		NO ₃₀
45	25. VII.	11 00 a.	22° 24' N 22° 20' W		NO ₃₀
46	27. VII.	5 45 p.	31° 52' N 17° 15' W	80 ^{km} ab Madeira	NO ₃₀
47	1. VIII.	10 00 a.	45° 17' N 7° 49' W	Golf v. Biscaya	SSW ₃₀
48	2. VIII.	11 30 a.	49° 20' N 3° 28' W	Kanal in Höhe I. Guernsey	SSO ₃₀
49	2. VIII.	4 00 p.	49° 50' N 2° 20' W	Höhe Cherbourg	OSO ₃₀
50	3. VIII.	5 00 a.	51° 3' N 1° 52' O	2 ^{km} ab Dover	WSW ₃₀
51	3. VIII.	8 45 p.	53° 27' N 4° 51' O	Feuerschiff Terschelling	SW ₃₀
52	4. VIII.	11 00 a.	53° 50' N 8° 44' O	Cuxhaven	SW ₃₀
53	4. VIII.	11 30	Kaiser Wilhelm-Kanal	Brunsbüttel	NW ₃₀

Fortsetzung.)

Entfernung und Windseite	Temperatur in Grad C	Witterung	Filter Nr.	Unter- suchungs- Datum	Bezeichnung	Diagnose	Anzahl sämmtl. Kolonien	Anzahl der wirkl. Keime
Atlantischer Ozean	26.0	Regen	31	2. VII.		—	—	—
„ „	26.0	halb bedeckt	15	2. VII.		—	—	—
„ „	25.0	Regen	III	2. VII.		—	—	—
8 km ab Festland	21.5	Sonnenschein	33	2. VII.	Z ₃₃	Aspergill. herb.	4	4
5 km ab Nitheroy	24.0	Sonnenschein	22	3. VII.	C ₁ C ₂ C ₃	Bac. brevis Penic. glauc. Microc. siccus	1 2 1	4
7 km ab Kaserne	18.5	halb bedeckt	XII	3. VII.	D ₁ D ₂	[Pen. glauc. Aspergill. niger	3 1	1
20 km ab Land (Petrop.)	22.5	Sonnenschein	II	4. VII.	E ₁ E ₂	Pen. crustaceum M. flavus tardigrad.	3 1	4
	—	„	15	7. VII.		[Pen. crustaceum	2]	—
	23.0	„	31	7. VII.		[Pen. crustaceum	6]	—
	23.0	„	12	7. VII.		—	—	—
Wind ab Stadt	23.0	trübe	IV		D ₁ D ₂	Pen. crustaceum Muc. rhizopodif.	10 1	11
2 km ab Küste	22.0	Sonnenschein	11	18. VII.		[Pen. crustaceum	10]	—
parallel der Küste	22.0	„	31	18. VII.		[Pen. crustaceum	4]	—
1 km ab Insel Maricas	22.0	„	IV	18. VII.		[Pen. crustaceum	5]	—
1 km ab Fernando Noronha	26.0	„	33	27. VII.		[Bac. subtilis	10]	—
4 km ab Ratteninsel	26.0	„	30	27. VII.	G ₁ G ₂	Pen. crustaceum Torula alba	20 10	30
1 km ab Insel Vicente		bedeckt	31	28. VII.		—	—	—
			33	28. VII.	H	Bac. subtilis	1	1
Atlantischer Ozean	24.0	bedeckt	IV	31. VII.		—	—	—
80 km ab Madeira	21.0	Sonnenschein	33	2. VIII.		—	—	—
Atlantischer Ozean	22.0	„	31	7. VIII.		[Bac. candidus	20]	—
75 km ab Frankreich	17.5	„	II	„	J	Micr. aërogenes	5	5
75 km „ „	17.5	„	30	„	K M	Penic. album Microc. sulfuscus	4 20	24
Atlantischer Ozean	15.5	halb bedeckt	31	„		[M. ferritosus	30]	—
Atl. Ozean u. England	16.5	Mondschein	unz.	„	N L ₁	M. subfuscus M. aërogenes	5 7	12
1 km ab Land	21.0	Sonnenschein	4	„	L ₂	Bac. Zopfi	3	3
	„		15	„	P ₁ P ₂	Mucor mucedo Pen. crustaceum	2 4	6

Ergebnisse haben. Verglichen mit den in größeren vertikalen Entfernungen (500 bis 4100^m) über der Erde gefundenen Keimen: 2.7 Liter enthalten 1 Keim, fallen diese Verhältnisse ungefähr mit denen unter 100 Seemeilen zusammen.

Auch wir können daher im allgemeinen im Gegensatz zu Minervini¹ Fischers Ansicht bestätigen, daß die Seeluft nicht nur überhaupt arm an Keimen, sondern auch in einer großen Anzahl von Fällen bei der Untersuchung als keimfrei gefunden wird.

Abweichend von seinen Versuchsergebnissen können wir jedoch ihm nicht beistimmen nach den Befunden von Nr. 15 u. ff., daß „die Mikroorganismen der Luft sich nur bis auf eine zwischen 70 und 120 Meilen liegende Strecke vom Land entfernen können.“ Unter dem 18° 12' N und dem 24° 26' O Breite, etwa 100^{km} nördlich der Insel St. Vicente fanden wir hintereinander mehrmals zahlreiche Hefekolonien, die der Windrichtung nach nur vom afrikanischen Festlande herkommen konnten, das von der Entnahmestelle mehr als 600^{km} entfernt war. Eine Verunreinigung ist hier umsomehr ausgeschlossen, als diese Hefeart (*Torula alba*) niemals in den Kontrollplatten vorkam und dieselbe Art aus den nächsten Filtern 3 mal in erheblichen Mengen gezüchtet wurde. Dieses Ergebnis erscheint auch nicht so unmöglich, wenn man von dem auch von Fischer zitierten Staubregen erfährt, der nach Darwin² mehrmals in 300 bis 600, ja sogar einmal in ca. 1000 Meilen Abstand vom afrikanischen Festlande beobachtet wurde.

Ein Einfluß der Bestrahlung auf die Verminderung der lebensfähigen Keime wie bei den Untersuchungen in größeren Höhen konnte hier nicht festgestellt werden.

Deutlich zeigt sich jedoch hier wie dort mit der zunehmenden Entfernung von dem Festlande eine verhältnismäßige Zunahme der Sproß- und Schimmelpilze gegenüber den Spaltpilzen. Selbst absolut genommen fanden wir, daß in der Seeluft die Sproß- und Schimmelpilzkeime im Vergleich zu den Bakterien ganz beträchtlich überwiegen. Denn es kamen überhaupt auf 209 Sproß- und Schimmelpilze 151 Spaltpilzkolonien. 161 Sproß- und Schimmelpilze und 150 Spaltpilze wurden in einer Entfernung von unter 100 Seemeilen beobachtet, darüber hinaus aber nur noch der Rest von 51 Sproß- und Schimmelpilzen, doch keine Spaltpilze

¹ Minervini, Einige bakteriologische Untersuchungen über Luft und Wasser inmitten des Nordatlantischen Ozeans. *Ebenda*. Bd. XXXV.

² Charles Darwin, An account of the fine dust which often falls on vessels in the atlantic Ocean. *Memoir descriptive and explanatory of the northern atlantic Ocean* by A. G. Findlay, London 1878.

mehr. Wir weichen somit in unserem Endergebnis darin etwas von Fischers Ansicht ab, der eine Zunahme der Schimmelpilze allein gegenüber den Bakterien und Hefen feststellte.

Was die hier gefundenen Arten der Keime betrifft, so sind es im allgemeinen dieselben, die wir über dem Festlande beobachteten. Nur aus der Seeluft wurden gezüchtet von der schon erwähnten *Torula alba* abgesehen der *Microc. sulfureus*, *flavus tardigradus* und der *Bacillus Zopfii*.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen fassen wir dahin zusammen:

Die Atmosphäre enthält bis zu Höhen von über 4000^m lebensfähige Keime, und zwar beträgt im Durchschnitt ihre Anzahl über 500^m im Liter Luft 0·37, unter 500^m 12·9 Keime; 4 mal wurden Keime nicht gefunden.

Der Gehalt an lebensfähigen Keimen in höheren Luftschichten ist vor allem von der Sonnenbestrahlung abhängig. Es fanden sich bei dauernder Sonnenbestrahlung im Liter Luft 0·1 Keime, bei fehlender 102·6 Keime.

Der Gehalt an lebensfähigen Keimen ist auffallend groß an der unteren Wolkengrenze.

Der Gehalt an lebensfähigen Keimen in Höhen bis zu 500^m wird bei bedecktem Himmel in der Windrichtung auch auf große Entfernungen hinaus von dem reichlichem Keimgehalt der Großstädte beeinflusst.

Unter den Bakterien und Hefearten finden sich in höheren Luftschichten auffallend reichlich Farbstoffbildner.

Auch für Mäuse pathogene Keimarten kommen in höheren Luftschichten vor.

Im Verhältnis zu der Luft der höheren Regionen über der Erde ist die Seeluft im allgemeinen keimarm. In einer Entfernung bis zu 100 Seemeilen vom nächsten in der Windrichtung gelegenen Lande betrug die Keimzahl im Liter Luft 0·25, darüber hinaus 0·036.

Die Seeluft enthält jedoch stellenweise bis auf Entfernungen von 400 Seemeilen vom Festlande lebensfähige Keime.

Mit der Entfernung vom Festlande sowohl in vertikaler als horizontaler Richtung findet verhältnismäßig eine Zunahme der Sproß- und Schimmelpilze und eine Abnahme der Spaltpilze statt.

Tabelle III.

Laufende Nr.	Bezeichnung	Reinkultur auf				Hängender Tropfen und Gramfärbung	Diagnose	Bemerkungen
		Originalplatte, makroskopisches Aussehen, Größe	Gelatine schwache Vergrößerung	Bouillon + frühe - klar	Kartoffel Agar			
I. Kokken.								
a) Gelatine verflüssigend, 1. Gram positiv.								
1	K ₆				safran gelb		M. aerogenes 441 ¹	intrapertiton, nicht pathog. (Meerschw.)
2	III ₄	grauweiß	++	48 St. ++	weißgrün, feucht glänzend	Kokken 2 x St. groß meistens Diplo, G. ++	M. rhenanus 466?	
3	VIII ₃ b				crème gelb		M. cremoides 509	
4	VII ₁ h	fein granuliert, durchsichtig	++	++	gelbgrau, später zitronengelb		M. flavus liquefaciens 507	intrapertiton, nicht pathog. (Maus)
5	F ₉				zitronengelbgrün		M. citreus conglomeratus 508	
6	K ₈				gelbgrau, später Goldgelb		M. galbanatus 510	intrapertiton, nicht pathog. (Maus)
7	30 b				chromgelb		M. subfuscus 525	
2. Gram negativ.								
8	VIII ₁ d	grünweiß gelblich, unregelmäßig, 2 mm groß	+++	48 St. +++	weiß lackiert, später mit bläulichem Rand	Kokken in Haufen, - St. (f. -	M. (versicolor) liquefaciens	

10	g _b	gelblichgrau, leicht abhebbär in toto, 0.4 mm	Kandzone undurchsichtig, unregelmäßig geleppt, am Rande in zackig. Haufen zerfallend	+ nach 72 St. — 10 Tagen	(nicht gewachsen)	schmutzorange mit radiär geriffelter Randzone, später intensiv goldgelb, krümel.	K. in Haufen, 6 x St. G. —	M. (aurantiacus magnus)
11	a ₂							M. concentricus 918
12	A ₃					dünn, durchsichtig hellgrau		M. nubilus 974
13	F ₆					dick, weiß lack.		
14	c ₁					mattgrau, später milchig weiß		M. cereus albus 911
15	C ₁					schneeweiß, erhaben		M. candidus 910
16	hg	wachsgelb, trocken, rund, dick, 2.0 mm	grobgranuliert, glattrandig	— ++ 48 St.	wachsgelb, dick, homogen, feucht	hellgrau, später schwefelgelb	K. 8 x St. G. ++	M. flavus tardigradus 1024 M. luteus 1020?
17	Ba					hellgrau, später chromgelb		M. sulfureus 1022
18	b ₂					chromgelbgrün		M. citreus non liquefac. 1021
19	f ₃	grünlichgelb, leicht in toto abhebbär, 0.2 mm	feingranuliert durchsichtig	— ++ 72 St.	intensiv zitronengelb	intensiv zitronengelb, feucht, Einzelkol. mit konz. Ringen, G. ++	K. sehr klein, meist Diplo, G. ++	M. madidus 1031?

b) Gelatine nicht verflüssigend, 1. Gram positiv.

intra-periton.
nicht pathogen (Maus)
Intra-peritoneal pathogen:
1/2 Normalöse = 1 mg tötet Maus innerh. 24 Std.; nicht pathogen für Meerschw.

intra-periton.
nicht pathogen (Meerschw.)

intra-periton.
nicht pathogen (Meerschw.)

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Laufende Nr.	Bezeichnung	Reinkultur auf				Hängender Tropfen und Gramfärbung	Diagnose	Bemerkungen
		Gelatine schwache Vergrößerung	Bouillon + trübe — klar	Kartoffel	Agar			
20	C ₃						M. sicus 1038	
21	C ₇	milchigweiß, in der Gelat. 0.5 mm	—	wachsgelb, später gelbgrünlich	orange-gelb, trocken, blaßgelb, allmählich dunkelbräunlich mit hellem, scharf abgesetzt. Rande u. büschelförm. Ausläufern	K. = St. in Haufen, G. + +	M. (fuscus coronatus)	
22	d ₄	gelbrötlich, kugelig 1.0 mm	—	(nicht gewachsen)	orange-gelb mit konzentrischen Ringen u. ein- gesunkenem Zen- trum, Rand hell, radiär gefurcht	K. = 4 x St. in Haufen, G. + + +	M. (aurantia- cus radiatus)	
23	d ₄	rötlichgelb, feucht, in toto abhebbar	+ 72 St.	desgl.	matrosa feucht, Einzelkolonien groß, flach	K. = 2 x St. meist Diplo, Gr. ungleich- mäßig	M. (rosaceus)	
24	d ₁₁				hell, später siegel- lackrot		M. cinna- barinus 1070	
25	d ₉				matrosa, später himbeerrot		M. carneus 1072	
26	Va	hellgrauweiß 2 mm	+ + 72 St.	2. Gram positiv. (nicht gewachsen)	milchigweiß, unregelmäßig groß	K. v. unregelm. Größe, meist Diplo, oft blau, oft rot nach	M. (irregularis)	intrap. pathogen nichtpathogen (Meerschw.)
27	VII _a	grau m. punktförmigem Zen- trum u. kon- zentrischen Ausläufern	+ + + 48 St.	desgl.	hellgrün, große Kol. mit homo- gener Zen-trum- platte, radiär ge- furcht	Gram ± K. = St. in Haufen (i. —)	M. ferritosus 918P	intrap. pathogen 1 Normalbe- 2 = tötet Maus insech. 3 = St.

29	VIII ₁ a	zitronengelb 0-1 mm	durchsichtig feingranuliert, durchsichtig mit glattem Rand, sp. kon- zentr. Ringe	-	+++ 48 St.	intensiv zeisig-gelb, feucht	zig u. massig zitronengelb- gran, glasig	U. — K. = St. meist Diplo, in kurzen Ketten G. —	M. (citreus non lique- faciens Gr.—)	0-5 wagt, Maus innerh. 24 Std.
----	---------------------	------------------------	--	---	---------------	------------------------------------	--	--	--	-----------------------------------

II. Sarcina.

30	h ₁			a) Gelatine verflüssigend.	Gram positiv.	zitronengelb- grau	Sarcina flava 546	intraperton. nichtpathogen (Meerschw.)
31	d ₇					mattzitronengelb	Sarc. lutea 547	
32	C ₃	hellgelblich 0-3 mm	grob- granuliert, hellzackig, unregelmäßig gerandet	b) Gelatine nicht verflüssigend.	Gram positiv.	orange-gelb mit goldgelbem Zen- trum, hellem ge- zacktem Rand u. hellem Hof	Sarc. (auran- tiaca non liquefaciens)	

III. Bazillen.

1	D ₁	gelblichweiß 20 mm	10. Tag: glattrandig, in der undurchsieh.-3. Woche tüg, grob- granuliert	+	+++ 48 St.	homogen, saftig, gelb- grau, dünn	saftig, grau, dünn, sp. mit unregelm. zackig auslaufen- dem hellem, blau- weißem Rande	große, dicke, regelm. St., oft kolb. a. d. End. verdickt, Spor. i. d. Mitte G.—, G. + + + + + Bwgl. + + + +	B. guttatus 118?
2	J ₃	dünne graue Haut 20 mm Rand v. Zentr. mit langsam durch hell. Zon. schr. abgesetzt	3. Tag: dunk- les Zentrum mit langsam zerfallendem, grobkrn. Rand	++	+++ 48 St. Haut	graugelb, flach, trocken, später gefaltet	grau, trocken, krisselig mit unregelmäßig zackigem Rande	mäßig lange, gerade dicke St. m. scharfen Eck. G. + + + + Bwgl. + + + +	B. annulatus 138?

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Laufrnde Nr.	Bezeichnung	Reinkultur auf				Hängender Tropfen und Gramfärbung	Diagnose	Bemerkungen
		Gelatine	Bouillon	Kartoffel	Agar			
3	IIc	schwache Vergrößerung	+ trübe — klar		graugrünlich-schleimig	endständige Sporen	<i>B. pseudotetani</i> 629 (Maus)	subkutan nichtpathogen (Maus)
4	C ₉	3. Tag: glattrandig, helle Kol. am Rand körnig zerfallend	++	gelbbraun, feucht, später mit orangegelbem Zentrum	grauweiß, feucht	kleine, ovale, plumpe St., auch in Fäden G. ++	<i>B. subtilis</i> 1 <i>B.</i> (ellipsoid.)	
5	VI, c	schmutzig gelbgrau 3 mm	++ 48 St.		gelbliche, sehr kleine Kol., sp. gelblich feuchter Belag mit rölichem Ton	Bwgl. +++		
6	S a				weißgrau lackiert		<i>B. terrestris</i> 26	intraepitonen nichtpathogen (Maus)
7	C ₁				krisselig trocken grau		<i>B. gracilescens</i> 181	desgl.
8	N ₇				grüngelblich-schleimig		<i>B. campestris</i> 159	
9	IIIb	klein, farblos, 10 mm sp. rossgelb	++ 48 St.	flach, rötlich-gelb, feucht	schwach gelbrötlich, später rotgelb, feucht dünn	kleine, kurze St. oft a. Enden zugespitzt, auch i. lang. Fäden G. ++ ++	<i>B.</i> (aureus)	
10	I ₄				grauweiß, glänzend		<i>B. varicosus</i> 428	intraepitonen nichtpathogen (Moersohw.)
11	h ₁₀	weißgrau in der Gelatine 9.0 mm	++ 48 St. Flockenbildung	kartoffelgrau, erhaben einkehrt, sp. glänzend	große gelbe feste Kol. mit Handring. sp. gefaltet	große dicke St. in abgerundeten Ecken, auch in lang. Ketten u.	<i>B.</i> (mosentericus)	

β) nicht beweglich.

13	C ₁	schnebe und radial geriffeltem Rand weißgrau in der Gelatine	5. Tag: un- durchsicht. m. krz. Auslauf u. unreglm. Rand	++	Winkel, sp. gefaltet große gelbe Kol mit Randring, sp. gefaltet	Sporen z. Teil G. + + + Bwgl. — sehr dick oval. St., in d. Mitte oft geteilt G. + +	B. mesentericus fuscus? 48	innerh. 24 St., nichtpathogen f. Meerschw. intraperiton. nichtpathogen (Maus)
14	*H				graugelblich, trocken		B. pseudooedematis 633	intraparitoneal pathogen 0.5 mg töt. Maus innerh. 24 St.
15	7 ₆	3 mm grau, homogen	10. Tag: 0.1 mm unregelmäßig eckig gerandet, feingranuliert	++ nach 2 Wochen	grau, feucht, glänzend, sp. gefaltet u. feucht Kalbsgekröse	lang dünn, St., i. ält. Kult. viele Körner, auch i. Fäd., Bwgl. — G. + + +	B. (tennis)	
16	k ₃				gelblich grau, homogen		B. aerophilus 392	intrapariton. nichtpathogen (Meerschw.)
17	IIIb ₂				schmutzig grün glasig, sp. Agar weinrot färbend		B. rubiginosus 567	
18	VIII ₃ a				wurzelartig verzweigt		B. mycoides	
19	*C ₁	gelbgrau, sp. gelb	3. Tag: aufgelöste Kol.	++	Gram negativ. α) beweglich. dunkelgelb, feucht, erhaben	kurze klein. St. staketartig gelagert = Diph. ther. - B. G. —, Bwgl. + + +	B. (brevis)	wie Nr. 16
20	Vb				β) nicht beweglich. grauweißgrün, schleimig, Agar fluoresziert grün		B. fluorescens liquefac. 329	wie Nr. 16
21	N ₆				gelbgrün, glasig, fadenziehend		B. squatilis radiatus 587	

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Laufende Nr.	Bezeichnung	Reinkultur auf			Hängender Tropfen und Gramfärbung	Diagnose	Bemerkungen
		Originalplatte, makroskopisches Aussehen, Größe	Gelatine schwache Vergrößerung	Bouillon + trübe — klar			
22	F ₁₀	2 mm radiär regelm. geriffelt, wachsgelb, schnell wachsend	10. Tag: feingranuliert, durchsichtig	—	—	—	—
b) Gelatine nicht verflüssigend. 1. Gram positiv (sämtlich unbeweglich).							
23	VII ₂ f	2-0 mm grau erhaben, Einzelkolonien radiär geriffelt	sehr kleine Koll., undurchsichtig, an Oberfl. viel größer als in der Tiefe, mit scharf begrenztem Zentrumspunkt	48 St. + + +	grauweiß, cremegelb, flach (nicht gewachsen)	dick, weiß, perlmutterartig glänzend dünnglasig, schleimig	B. (arcatus intraperiton. nichtpathogen (Meerschw.)) B. candidans 1095 B. loculosus 892?
24	I ₄	2-0 mm grau erhaben, Einzelkolonien radiär geriffelt	sehr kleine Koll., undurchsichtig, an Oberfl. viel größer als in der Tiefe, mit scharf begrenztem Zentrumspunkt	48 St. + + +	(nicht gewachsen)	kurze dicke St. mit abgerundeten Ecken, auch in Fäden G. + + +	B. loculosus 892? B. candidans 1095
25	I _c	graugelblich mit hellem Rand	grobgranuliert, glattrandig, undurchsichtig	48 St. + +	degl.	mattgelb, grünlich glasig glashelle Tröpfchen, durchsichtiger grauer Belag	B. subtilens 1016 B. pseudodiphthericus 901? subkutan nichtpathogen (Meerschw.)
26	VII ₁ c	graugelblich mit hellem Rand	grobgranuliert, glattrandig, undurchsichtig	48 St. + +	degl.	mattgelb, grünlich glasig glashelle Tröpfchen, durchsichtiger grauer Belag	B. subtilens 1016 B. pseudodiphthericus 901? subkutan nichtpathogen (Meerschw.)
27	J ₈	2 mm erhaben, Kran foucht	grobgranuliert, in der Vert.	48 St. Nieder-schlag	graugelb, foucht	gelbgrau dick, blaß, orange-gelb, schleimig, Einzelkol. poliert aussehend mit	B. citreus 1188 B. (flavus annulatus)

(nur mass.)

30	*C ₉	4.0 zitronengelb	glatt durchscheinend	-	+ 48 St.	bläßgelb, dünn, (schlechtes Wachstum)	dicker, intensiv dunkelgelber Be- lag. feucht, sp. Agar weinrot färbend	kurze dicke, komma- förmige St. G. +++	B. (flavus)
31	b ₃₀₀			-			rotgelb, dick, feucht		B. aurantiacus 707
32	A ₁₁						hell, knopfförmig erhaben, später intensiv orange- gelb		B. aureo- flavus 706

2. Gram negativ. α) beweglich.

33	i ₃	2.0 gelbgrünlich	0.01 mm glattrandig, durchsichtig	-	- 48 St.	schmutzig- gelb, sp. braun- gelb, feucht	graugrün, dick, saftig	sehr kleine, dünne St. G. -, Bwgl. +	B. (fulvus)
34	k ₅						gelbrot, sp. gold- gelb, färbt Agar pflaumenbraun		B. teebraun- färben (brunescens) Matsushita
35	N ₅						bläßrosa, später orangerot		B. rubrus 856

β) nicht beweglich.

36	VII ₃ , b						glashell, grau, später grünlich- gelb, trübe		B. ubiquitous 1146
37	VII ₁ , i	0.2 grauweiß	feingranuliert, durchsichtig, glattrandig	-	+++ 48 St.	graugelb glänzend	große, saftige Kol. mit Rand- ringen, hellgrau orange gelb	dünne St. von unregelmäß. Längen u. Dicke	B. profusus 1158?
38	N ₉								B. luteus 1186
39	N ₁						flach, gelblichrot		B. aurescens 1194

Tabelle III. (Fortsetzung.)
IV. Sproßpilze.

Bezeichnung	Gelatine (Pflaumenmas)	Traubenzucker-Bouillon	Kartoffel	Agar	Hängender Tropfen, gefärbt	Diagnose	Bemerkungen
1 A ₅₃	weiß erhaben, in Riesenkolonien mit gewulstetem Rand u. eingesunkenem Zentrum, nach 5 Wochen: ovale Kolon. aus kleinen Halbkugeln weiß. Verf. —	nicht vergoren, klar, weißer Niederschlag auf dem Grunde	weiß erhaben, trocken	mattgrün, dick, trocken	in Größe u. Form = Blutkörperchen; in Aqua dest. ruckweises Zusammenballen, Sproßbildung.	Torula alba	
2 V ₇	hauchartig in Gelatine, Verf. —	nicht vergoren, kein Niederschlag, wolkeige Trübung	grau, trocken, erhaben	grauweiß mit filzigen radiären Ausläufern desgl.	unregelm. eiförmig geformte Zellen, teilw. mit Kern., Sproßbild. G. ± lange ovale Zellen mit Spross., auch i. zylindr. segmentiert. Strängen liqnefaciens)	Torula (radiata)	
3 Ia	grauweiß, Verf. + + +	desgl.					
4 7c	graugelb, grünlich mit radiären Ausläufern, später Schimmelpilzen gleichend	nicht vergoren, graugrünllicher Niederschlag	schmutzig graubraun, dick, später gefaltet	dick, weiß mit grünl. Ton, schleimig, auf saurem Agar besser als alkalischem	Ketten v. langgestreckt. großen zylindrischen Zellen, mit seitlicher Gliederung, G. ±	Torula (grises)	nicht pathogen für Mäuse u. Ratten
5 d _{1,2}	hellgelb, rötlich schleimig fadenziehend, Verf. +	(nicht gewachsen)	(nicht gewachsen)	bläß orange gelb, in klein. fest. Kol. (schlechtes Wachstum)	ovale, mäßig große Zellen	Torula flava	
6 D ₁	Riesenkol. halbkugelig, erhaben, radiär, konzentrisch, orangefarb., nach 5 Wochen: in die Gel. eingesunken. Verf. +, 10 Tagen	nicht vergoren, rotbrauner Niederschlag u. Trübung an der Oberfläche	(nicht gewachsen)	orangefarb., mäßig gutes Wachstum, besser auf sauren als auf Nährböden, bei 87° nicht gewachsen	länglich ovale Zellen, ähnlich Sacch. apiculata, doch größer, mit Sproßbildung, Zellen reichl. gekörnt, G. +	Torula aurantiaca	nicht pathogen für Mäuse u. Ratten
7 I ₁	klein, gelbweiß, in Gel. Verf. —	nicht vergoren, Trübung an der Oberfläche und Niederschlag	mattrosa, feucht mit hellem Harthen Kande dicker roter	mattrosa Beleg mit hellen radiären Ausläufern	Konidien tragende Äste, mit eiförmig geformten Zellen ohne Sporen	Torula rosacea	nicht pathogen

Tabelle III. (Schluß.)
V. Schimmelpilze.

Lfd. Nr.	Bezeichnung	
1	IV b	Penicill. crustaceum
2	I ₁	Pen. glaucum
3	I ₇	Pen. niger
4	b ₃	Pen. (fuscum)
		helles, lockig verzweigtes Mycel mit Zystenbildung, Konidienrasen kaneelfarben gelbbraun. Konidienträger pinselartig mehrmals geteilt mit kugeligen Konidienketten
5	III ₁	Aspergillus albus
6	III ₂	Asperg. herbariorum
7	IV ₁	Asperg. niger
8	E ₁	Mucor stolonifer
9	f ₊	Mucor mucedo
10	Ic	Mucor mucedo (albus)
		Sporangienrasen krümelig, weiß
11	b ₂₀₀	Dicranophora fulva
12	V ₂	Mucor spinosus
13	Drv	Mucor rhizopodiformis
14	f ₆	Mucor rhizopod. albus
15	b ₃	Entomophthoracea
16	AII	Botrytis geniculata
17	C ₁₆	Botrytis cuierea
18	IV ₂	weißer Rasen aus dünnen unverzweigten Hyphen mit Querscheidewänden ohne Fruchtbildung
19	Ki	fädiges Mycel, Aussehen gleich einer eingetrockneten Weintraube
20	Vi	weinrote Kol. aus sehr dünnen gewellten Fäden mit unverzweigten kurzen Konidienträgern u. endständigen ovalen Konidien

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.]
(Direktor: Geheimer Obermedizinalrat Prof. Dr. Gaffky)

Über Geißelzöpfe, *Spirochaete polyspira* und *Planosarcina Schaudinni*.

Von

Prof. Dr. Zettnow.

(Hierzu Taf. VII—IX.)

I.

Seitdem Löffler(1) den ersten Geißelzopf in einem mit seiner Beize behandelten Präparat von Rauschbrand beobachtet, photographiert und alsdann auch im hängenden Tropfen nach vielem Suchen zu Gesicht bekommen hat, sind diese Gebilde mehrfach in der Literatur erwähnt, sowie Photogramme von ihnen veröffentlicht worden. Mir sind außer

1. Löfflers Bildern noch folgende bekannt:
2. Pfeiffers (2) Photogramme sowohl von gefärbten wie ungefärbten Geißelzöpfen, gebildet von Novys Bacillus des malignen Odems.
3. Schmorls Photogramm vom Heubacillus, Fig. 6 auf Taf. V, zu A. Fischers (3) Arbeit: Untersuchungen über Bakterien.
4. Dunbars Photographien zur Arbeit von Sames (4): Eine bewegliche Sarcine.
5. Ich selbst habe zwei Photogramme von Geißelzöpfen, herrührend von zwei verschiedenen Bakterien, in den Fig. 35 und 36 des von mir zusammengestellten Atlas zu Kolles und Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen veröffentlicht.

Bisher hat niemand diesen Geißelverschlingungen besondere Aufmerksamkeit geschenkt; sie werden als merkwürdige morphologische Gebilde

betrachtet und desto leichter übersehen, da sie ja fast stets erst nach Anfertigung eines guten Geißelpräparates dem Auge auffallen; ebenso wenig hat man ihrer äußeren Gestalt sonderliche Bedeutung zugemessen, obgleich bei den dünneren mitunter eine überraschende Ähnlichkeit mit korkzieherartig gedrehten Spirillen und Spirochäten, von deren Polen eine Endgeißel ausgeht, vorhanden ist.

In einer vor kurzem erschienenen vorläufigen Mitteilung über *Spirochaete polyspira* hat nun Max Wolff(5) sogar umgekehrt die Frage aufgeworfen (S. 452), „ob nicht so manches, was bisher als Geißelzopf gedeutet wurde, in Wirklichkeit etwas anderes gewesen ist und sich . . . schließlich als Spirochäte entpuppt haben würde.“

Sowohl am Anfang wie am Schluß seiner Mitteilung gibt der Verfasser als Grund für seine Veröffentlichung an, er wolle darauf aufmerksam machen, „daß echte Spirochäten in Reinkulturen von Bakterien vorkommen können und also diese in solchen Fällen für etwaige pathologische Wirkungen nicht allein verantwortlich gemacht werden dürfen, wenn es nicht gelingt, sie von den protozoären Kommensalen zu befreien“.

Bei wiederholtem Durchlesen dieser Arbeit und der genauen Betrachtung der ihr beigegebenen Photogramme von *Spirochaete polyspira* haben sich mir alsbald folgende drei Fragen aufgedrängt:

1. Handelt es sich hier wirklich um Spirochäten und nicht doch um Geißelzöpfe von ganz ähnlicher Art, wie die solche aus den 1901 von *Sarcina agilis* Sames angefertigten Präparaten bekannt sind, besonders da *Plenosarcina Schaudinni* der *Sarcina agilis* außerordentlich nahe steht?

2. Sollte den Bakteriologen eine derartige, wenn auch erst im Laufe der Zeit sichtbar werdende Verunreinigung einer Reinkultur wirklich bisher entgangen sein? und

3. Zeigen die Photogramme wirklich alle Kennzeichen einer Spirochäte?

Wenn auch in den letzten Jahren die Anzahl der Spirochätenarten sich stark vermehrt hat und wahrscheinlich in kürzerer oder längerer Zeit eine Trennung eintreten wird, in solche, welche a) den Spirillen, also den Bakterien, und b) den Protozoen näher stehen, so lassen sich doch auf Grund der wohl bekannten Arten: *Spirochaete buccalis*, *dentium*, *gallinarum*, *anserina*, *Obermeieri*, *Duttoni*, *balanitidis*, *refringens* und *pallida* folgende Kennzeichen feststellen:

A. Die Breite wechselt bei derselben Färbungsart nur in mäßigen Grenzen; durch sehr kräftige Färbung werden besonders die kleinsten Arten, wie *Sp. pallida*, für das Auge leichter wahrnehmbar und erscheinen bedeutend breiter als schwach gefärbte, gerade erkennbare; bei wirklichen Messungen ergibt sich jedoch nur eine geringe Zunahme der Breite;

dasselbe Verhalten ist von kleinen, schwach und stark nach demselben Verfahren gefärbten Bakterien allgemein bekannt.

Bei Benutzung einer anderen Methode der Färbung kann die Breite zunehmen, nach Beizung und Versilberung das Doppelte bis Dreifache gegenüber der gewöhnlichen Färbung betragen. Aus diesem Verhalten bei letzterer Färbung schließe ich auf das Dasein eines sehr starken Ektoplasmas bei den Spirochäten, wie ein solches außerordentlich starkes auch bei vielen Bakterien, z. B. Cholera vibrionen, durch Beizung leicht nachweisbar ist.

Die größte Breite bei den oben angeführten Spirochäten, also von *Sp. balbianii* und *anodontae* abgesehen, beträgt 0.5 bis 0.7 μ und geht bei den kleinsten auf etwa 0.2 μ hinunter.

B. Die Länge schwankt in bedeutenderem Maße als die Breite; sie kann z. B. bei *Sp. pallida* 4 bis 20 μ betragen, bei *Sp. Duttoni* und *refringens* auf 30 bis 40 μ steigen und bei verlangsamter Teilung das drei- bis fünffache von derjenigen betragen, welche man bei den kürzesten Exemplaren nach eben erfolgter Abtrennung beobachtet.

C. Die äußere Gestalt derselben Art erscheint verschieden, je nach der Präparation; wenn auch der Körper niemals gerade gestreckt erscheint und stets Windungen aufweist, so sind diese doch in dem einen Präparat lang ausgezogen, ähnlich wie eine geschwungene Peitschenschnur, in einem anderen dagegen mehr oder weniger stark spiralg gedreht. Bei Rekurrens-Spirochäten findet man fast nur die letztere Form in Präparaten, welche mit zentrifugiertem und durch Osmium abgetötetem Material hergestellt sind; in Blutaussstrichen dagegen selten eine andere als die erstere mit flachen ungleichmäßigen Windungen. Niemals fehlen die sich kurz zuspitzenden Enden, durch welche sie sich von den Spirillen unterscheiden.

Es passen also auf die oben angeführten Spirochäten auch heute noch die seit Jahrzehnten festgehaltenen Kennzeichen: Es sind spiralg oder peitschenschnurartig gewundene biegsame Fäden mit Eigenbewegung.

Niemals treten Unterschiede in der Breite auf, wie solche aus den beiden Photogrammen 1 und 2 von Wolff für *Spirochaete polyspira*, auf dieselbe Vergrößerung bezogen, abzuleiten sind. Für die lange Spirochäte in Fig. 1 beträgt in der Mitte die Breite 1.0 bis 1.1 μ ; die Vergrößerung berechnet sich aus den Angaben der Tafelerklärung auf rund 1100, also ist sie bei 1000 facher Vergrößerung 0.9 bis 1.1 μ breit. Bei dem großen Exemplar in Fig. 2 1500 fach vergrößert und 4 bis 4.5 μ breit, ergibt sich für 1000 fache Vergrößerung eine Breite von 2.7 bis 3 μ .

Derartige Gebilde, wie Fig. 2 zeigt, waren mir aus meinen 1898 von *Sarcina agilis* Sames angefertigten Geißelpräparaten in der verschiedensten

Größe wohlbekannt; solche ähnlich denen der Fig. 1 hatte ich 1901 bei Wiederholung des Versuchs erhalten.

Zur näheren Untersuchung in lebendem Zustande bezog ich von Král eine Kultur von *Planosarcina Schaudinni*, welche Hr. Dr. Max Wolff, dem ich sie zur Begutachtung einsandte, die Güte hatte, als echt anzuerkennen.

Außer einer Anzahl von hängenden Tropfen, in denen sich jedoch bis jetzt, 10 Wochen nach ihrer Anlage, von derartigen Gebilden nichts erkennen läßt, legte ich Bouillonkulturen an und ahmte, ebenso wie ich es früher bei *Sarcina agilis* getan hatte, den von Sames angegebenen Eintrocknungsversuch in größerem Maßstabe nach. Etwa 10^{ccm} einer gut angegangenen, bzw. bei anderen Versuchen 14 Tage alten Bouillonkultur wurden in eine Schale gegossen und bei 28° halb eingetrocknet; hierzu genügten 3 bis 4 Tage; da der Deckel der Schale entfernt war, wurde zum Schutz gegen Verunreinigung eine Glasplatte etwa 2^{cm} über der Schale angebracht; auch wurde der Brutofen geschlossen gehalten. Als dann wurde die Kultur durch Hinzufügung von 1^{ccm} 40 prozentigem Formalin abgetötet und mit 1 Prozent Formalin bis auf etwa 150^{ccm} verdünnt. Der nach 48 Stunden im Spitzglase erhaltene Absatz wurde durch nochmaliges Aufschwemmen in 1 Prozent Formalin gewaschen und nach erneutem Absetzen zur Anfertigung von Präparaten benutzt.

Im hängenden Tropfen ließen sich von solchem Material nur an halbtrocknen Stellen, nicht an den von der Flüssigkeit völlig bedeckten, ganz ähnliche Gebilde beobachten, wie solche die Wolffschen Photogramme zeigen; besonders dickere, von Sarcinepaketen ausgehende, meist etwas geschweifte Stränge zeigten sich in großer Menge; sie waren jedoch sämtlich nur schwierig, wenigstens für mein Auge, erkennbar. Bei einer anderen Bakterienart, dem *Bacillus brandenburgensis* Maaßen, habe ich solche Geißelzöpfe sowohl im hängenden Tropfen, in welchem sie sich gebildet hatten, wie in der wässerigen Aufschwemmung einer Agarkultur schon bei mittelstarker Vergrößerung ohne Schwierigkeiten erkennen können.

Im Geißelpräparat dagegen treten sie klar und in allen Einzelheiten so deutlich erkennbar hervor, daß der Vergleich mit dem ungefärbten Präparat gewisse Schwierigkeiten bereitet; in letzterem wird nur das gröbere Gefüge des Geißelzopfes dem Auge sichtbar, während die feineren Einzelheiten, z. B. die ihm angelagerten zarten Geißelverschlingungen, ihrer Durchsichtigkeit wegen übersehen oder falsch gedeutet werden; so z. B. berichtet Wolff auf S. 453: „Dagegen habe ich an vollständig ruhenden Spirochäten sehr schön beobachten können, wie ein feiner Zacken von einem Pol des Tieres zum anderen an der äußeren Kontur

der undulierenden Membran entlang wandert.“ Bei genauer Betrachtung des Wolffschen Photogramms Fig. 1 sieht man in der Mitte auf der rechten Seite des außergewöhnlich langen Geißelzopfes eine feine gewellte Linie, welche als Randfaden der undulierenden Membran gedeutet werden kann; im Geißelpräparat würde sie sich deutlicher als Geißelverschlingung erkennen lassen, wahrscheinlich das ganze Gebilde als aus einzelnen Geißeln zusammengesetzt sich erweisen; ähnlich wie die Fig. 1 und 2 auf Taf. VII es zeigen. Diese Photogramme zeigen Stellen aus Präparaten, welche von *Sarc. agilis* angefertigt sind, während die Fig. 22 bis 26 und 29 bis 31 solche an wirkliche Spirochäten nicht nur erinnernde, sondern sie täuschend nachahmende Geißelzöpfe von *Planosarcina Schaudinni* darstellen; erst die Durchmusterung der Präparate, in welchen sich ebenso wie bei *Sarcina agilis* alle nur erdenklichen Übergänge von freien oder am Bacterium befindlichen Geißeln zu kleinen und großen, lockeren und durch Verschmelzung verdichteten Geißelzöpfen befinden, zeigt, daß auch sie wirkliche Geißelzöpfe vorstellen und daß es sich nicht, wie ihr aus dem Zusammenhang gerissenes Bild vermuten lassen könnte, um Spirochäten handelt. Wolff geht von der Annahme aus, daß es bei derselben Art große und kleine Spirochäten gibt bis hinunter zu ultramikroskopischen Formen. Er stützt sich, wie dies aus der ganzen Arbeit ersichtlich ist, auf Schaudinns (6) Veröffentlichung über *Spirochaete Ziemanni*; er hat übersehen, daß Schaudinns Mitteilung sich eigentlich auf Trypanosomen bezieht und daß Schaudinn hinsichtlich der Spirochäten seine Ansicht etwa ein Jahr später, wenn auch nicht mit dürren Worten, so doch in Wirklichkeit geändert hat, da er (7) sagt, daß die *Spirochaete Ziemanni* nur in einem kurzen Entwicklungszustande Spirochätengestalt (äußere Ähnlichkeit usw.) besitzt und nur phylogenetische Beziehungen zu diesen Organismen andeutet.

Infolge dieser Vorstellungen und hauptsächlich auf Beobachtung des lebenden Präparates gestützt, erkennt Wolff S. 453 eine undulierende Membran und sieht eine Bewegung derselben; er beobachtet S. 450 eine Längsteilung und sieht von der Herstellung eines gefärbten Präparates ab, da S. 453 seine „Spirochäte sehr schwer nach Giemsa, mit Heidenhain, Delafield, Romanowsky so gut wie gar nicht (d. h. ohne brauchbares Resultat) färbbar zu sein scheint“.

Ferner erkennt er S. 454, wenn auch mit Vorbehalt, sogar die Ruhestadien der Spirochäten, welche Schaudinn in den Fig. 17 *g* und *h* auf S. 431 seiner Arbeit abbildet.

Ein gutes, klares Geißelpräparat hätte ihm wie über die Zöpfe, so auch über diese kleinsten Gebilde sichere Aufklärung verschafft; ich halte sie für zerfallende und in Auflösung begriffene Sarcinen; im hängenden

Tropfen sieht man bereits 4 bis 6 Tage nach Anfertigung desselben jene kleinen, an Kapselkokken erinnernden, „stark lichtbrechenden minutiösen Gebilde“, wie Wolff sie sehr treffend bezeichnet; im Geißelpräparat älterer Kulturen trifft man sie vielfach an; meist sind zwei bis vier vorhanden, umgeben von einem großen gelben Hof mit unregelmäßiger Umrandung, von welcher mitunter Geißeln ausgehen; oft sieht man letzteren allein, ohne schwarzen Coccus; ich halte sie für untergehende Sarcinen, bei welchen die chromatische Substanz allmählich verschwindet, schließlich nicht mehr durch Färbung von dem durch die Beize darstellbaren Teil sich differenziert. Ein ganz ähnliches Verhalten habe ich bei *Bacillus alvei* beobachtet; bei diesem, auf ungünstigem Boden gewachsen, zeigten sich in einer 8 Tage alten Kultur im Geißelpräparat eine große Menge an Kokken erinnernde, mit breitem Hof und mit mehreren Geißeln versehene Gebilde; sie nahmen mit dem Alter der Kultur zu und betrug schließlich 80 bis 90 Prozent; auf neuem Nährboden derselben Art wuchsen jedoch nur Kolonien von *Bac. alvei*.

Daß Geißeln und die von ihnen gebildeten Zöpfe lange Zeit in der Flüssigkeit, in welcher sie sich gebildet haben, ohne Veränderung erhalten bleiben können, berichtet Fischer; noch nach 190 Tagen waren in jeder Öse des Bodensatzes einer Bouillonkultur vom *Heubacillus* Hunderte von Zöpfen enthalten; in Wasser übertragen, lösten sie sich jedoch in kurzer Zeit auf. Ich selbst habe in einer 15 Wochen alten, stark eingetrockneten Kultur von *Spirillum volutans* nach Aufweichung des Materials und Anfertigung eines Geißelpräparates fast an jedem *Spirillum* ein wohl erhaltenes Geißelbüschel gesehen; von einer außerordentlich langen Erhaltung derartiger Geißelzöpfe hat mir Maaßen von seinem *Bacillus brandenburgensis* berichtet; nicht nur in einem 2 $\frac{1}{2}$ Jahre alten hängenden Tropfen waren viele große Geißelzöpfe bei mittelstarker Vergrößerung leicht zu erkennen, sondern auch in 20 Jahre alten Bienenlarven konnten sie durch Färbung nachgewiesen werden.

Welche besonderen Bedingungen für eine ausgiebige Bildung freier Geißelzöpfe bei Bakterien überhaupt notwendig sind, vermag ich ebenso wenig zu sagen, wie darüber, weshalb sie in dem einen Falle leicht sich auflösen, im anderen nicht. An erster Stelle ist wohl die Art des Bacteriums maßgebend, bzw. die Eigentümlichkeit seiner Geißeln. Bei so reich begeißelten Arten wie *Proteus vulgaris* und *Tetanus*, deren Körper von Geißeln strotzt, habe ich trotz darauf hinzielender Versuche niemals freie Zöpfe erhalten; selbst kleine Verschlingungen von Geißeln am Stäbchen sind gar nicht häufig. Bei Rauschbrand dagegen geht sowohl auf der Agaroberfläche, wie in der Bouillonkultur eine solche Verschlingung nicht nur am Bacterium selbst mit großer Leichtigkeit vor sich, sondern

man kann auch mit Sicherheit auf die Bildung von freien Geißelzöpfen rechnen; ähnlich verhält sich *Sarcina agilis* Sames.

Besser orientiert sind wir über den Aufbau von Geißelzöpfen; in jedem Präparat von Rauschbrand kann man ohne Schwierigkeit erkennen, wie aus den einzelnen Geißeln kleine, aus diesen wahrscheinlich durch chemotaktische Anziehung der verschmelzenden und in ihrer Substanz sich verändernden Masse größere, schließlich riesige Geißelzöpfe entstehen. (Vgl. Fig. 1 bis 5, 7, 10, 16, 17, 19, 28, 46 bis 49.) Selbst bei starker Beizung und Färbung erscheinen solche große Gebilde nicht so stark gefärbt, wie man es nach ihrer Masse vermuten sollte; dieses Verhalten deutet darauf hin, daß die ältesten Teile im Innern sich bereits stark umgeändert und die Färbbarkeit eingebüßt haben; sonst wäre es z. B. nicht möglich, daß der mächtige Geißelzopf von *Sarcina agilis* (Fig. 3, Taf. VII) solche Feinheiten im Bau erkennen ließe, wie das Bild sie zeigt. Die äußere Gestalt der Geißelzöpfe ist bei derselben Bakterienart wechselnd und richtet sich nach dem Nährboden sowie seiner Alkalität; 1898 lieferte mir *Sarcina agilis* nach starker Verdunstung der Spirillenbouillon ausnahmslos gewellte, dicht zusammengedrehte Zöpfe, wie die Fig. 3 und 4, Taf. VII, sie zeigen; 1901 erhielt ich fast nur lockere (vgl. Fig. 2, Taf. VII), obgleich dem Anschein nach der Versuch ganz ähnlich angestellt war; möglicherweise war die Eintrocknung etwas geringer. Die in Fig. 50 und 51, Taf. IX, dargestellten Zöpfe aus einem Originalpräparat von Sames (ein Tropfen Quetschwasser auf dem Objektträger langsam verdunstet und mit Karbolfuchsin gefärbt) zeigen nicht mehr die Zusammensetzung aus Geißeln und machen den Eindruck, als ob sie stärker degeneriert sind, als die vor völligem Eintrocknen fixierten.

Außer bei den genannten beiden Bakterienarten, bei welchen man mit Sicherheit auf die Bildung von Geißelzöpfen rechnen kann, habe ich 1890 solche in einer Faulflüssigkeit beobachtet; sie sind fast in jedem Gesichtsfeld des Präparates, dessen Färbung seit jener Zeit nur wenig abgeblaßt ist, zu sehen und rühren mit großer Wahrscheinlichkeit von dem in Fig. 43, dargestellten *Bacillus* her. Es ist derselbe, von welchem Löffler in seiner ersten Mitteilung über die Färbung der Geißeln in Fig. 1 eine Abbildung gibt; da ich ihn früher öfter in Faulflüssigkeiten angetroffen und eine Reihe von Photogrammen von ihm angefertigt habe, gab ich ihm den Namen *Bacillus flagellotortus*, auch ohne eine Reinkultur erhalten zu haben. Seine Polgeißeln sind fast ausnahmslos zu einem gewellten Zopf zusammengedreht; Exemplare mit einzelnen Geißeln sind äußerst selten.

Die Frage, ob es sich in diesem Präparat der Faulflüssigkeit doch vielleicht um *Spirochäten* handelt, hat Hr. Geheimrat Löffler, welchem ich damals das Präparat zur Ansicht gesandt hatte, ebenso verneint, wie

ich selbst, und bei Rücksendung desselben ein anderes beigelegt, von welchem die Fig. 36 bis 38, Taf. IX, herrühren; das kleine, unbenannte *Bacterium* ist ausgezeichnet durch die ungeheure Menge von Geißelzöpfen, welche es bildet; einzelne Geißeln am Stäbchen oder im Untergrund sind im Präparat sehr selten, dagegen Zöpfe stellenweise in Unmasse vorhanden. Die unscharfen Ränder, von welchen häufig gut erkennbare einzelne Geißeln ausgehen, lassen sie leicht als wirkliche Zöpfe erkennen.

Auch *Bacillus brandenburgensis* Maaßen¹ (Fig. 44 bis 46) bildet, wie schon erwähnt, schöne Geißelzöpfe verschiedenster Größe.

Auffallend ist bei diesen Gebilden die oft außerordentliche Regelmäßigkeit, mit welcher sich zwei von ihnen, gleichgültig, ob schlank oder dick, miteinander verschlingen. Sie können vollkommene Bilder von einfachen oder in der Längsteilung befindlichen echten Spirochäten vortäuschen. Auch demjenigen, welcher in Kenntnis, daß es sich um Geißelzöpfe handelt, die Photogramme Nr. 22 bis 27, 32, 33, 35, 36, 39 bis 42 betrachtet, wird ihre Ähnlichkeit mit Spirochäten gegeben.

Nach Beendigung der Arbeiten über die angebliche *Spirochaete polyspira* hat es sich herausgestellt (vgl. II.), daß die *Planosarcina* Schaudinni keine besondere Art ist, sondern nur als Stamm von *Sarcina agilis* zu betrachten ist. Es können also die von letzterer Art gegebenen Figuren nicht nur, wie geschehen, als Vergleichsbilder herangezogen werden, sondern direkt als Beweise für die Ähnlichkeit der Zöpfe mit *Spirochaete polyspira* dienen.

II.

Planosarcina Schaudinni ist keine neue Art.

Als Kennzeichen, durch welche sich *Planosarcina* Schaudinni von *Sarcina agilis* Sames unterscheiden soll, gibt ihr Entdecker Max Wolff (8) S. 25 die folgenden an:

1. Sie ist die größte aller bekannt gewordenen *Planosarcinen*; der Einzelcoccus soll nach Messungen am lebenden Exemplar, S. 20 und 21, 2.5 bis 3 μ , die Tetrade 5.5 \times 4.3 μ messen.

2. Auf Spirillenagar wächst Pl. Sch. nicht besonders gut; auf gewöhnlichen Nährböden dagegen besser; sie zeigt auf Agar wenig Neigung, einen zusammenhängenden Belag zu bilden.

3. Die Kolonien von Pl. Sch. in Gelatine sind rund, diejenigen von *S. agilis* wetzsteinförmig.

¹ Kultur und geeigneten Nährboden verdanke ich Hrn. Regierungsrat Maaßen.

4. Im Stich S. 22 wächst sie nur bis zu einer Tiefe von 1^{cm}.

5. In Uschinskys Lösung findet kein Wachstum statt.

Da aus der Beschreibung nicht hervorgeht, ob der Verfasser vergleichende Versuche mit *Sarcina agilis* Sames angestellt hat oder die betreffenden Unterschiede nur aus den Angaben der Arbeit von Sames ableitet, so habe ich bei der auffallenden Ähnlichkeit beider Arten einige derartige Versuche angestellt; hierbei muß man berücksichtigen, daß Sames seine Art vor fast 10 Jahren isoliert hat, und daß diese seit jener Zeit von mir auf Spirillenagar fortgezüchtet ist; dreimal ist mir in diesem Zeitraum die Kultur völlig eingetrocknet und nur mit Mühe wieder zum Weiterwachsen gebracht; an Beweglichkeit hat sie beträchtlich eingebüßt und trotz häufiger, in letzter Zeit erfolgter Überimpfung nicht wieder jene Kraft derselben erlangt, welche sie noch 1901 besessen hat. Die Ergebnisse der Vergleichung sind folgende:

A. Die Bestimmung der Größe ist mit gewissen Schwierigkeiten verknüpft, da einzelne Kokken in frischen Kulturen bei beiden Arten kaum angetroffen werden und alte Kulturen, in welchen sie neben sehr großen Verbänden von Maul- oder Himbeerenform vorkommen, mir für diese Bestimmung nicht geeignet erscheinen. Ich habe mich daher an die in 2 tägigen Kulturen in großer Menge auftretenden Viererformen gehalten; auch ist es mir nicht aufgefallen, daß die Verbände von Pl. Sch. normalerweise aus 16 bis 32 Zellen, diejenigen von *S. agilis* aus acht bestehen; in dem zur Ausmessung bestimmten Photogramm befinden sich ebenso wie bei *S. agilis* kaum andere als Viererformen. Die lebenden Sarcinen wurden in Wasser, welches durch Methylenblau schwach gefärbt war, eingerührt und nach Eintritt geringer Färbung von diesem nassen Präparat ein Photogramm bei genau 1000facher Vergrößerung hergestellt. Ebenso wie das in Fig. 15 in meinem Atlas zu Kolle und Wassermann veröffentlichte Photogramm von *S. agilis* zeigt dasjenige von Pl. Sch. bereits in jedem Coccus der Viererform eine durch Querlinien angedeutete Vorbereitung zur Teilung; häufig ist auch die eine Hälfte des Verbandes kleiner als die andere, ihr in der Teilung vorausgeeilte. Bei Pl. Sch. zeigen nun derartige möglichst gleichmäßig ausgebildete Formen, in der Diagonale des quadratischen Paketes gemessen, fast alle 4 bis 4.5 μ ; quer über den größten Durchmesser des Quadrates 3.8 bis 4.0 μ ; man wird daher der Wahrheit wohl sehr nahe kommen, wenn man für den Einzelcoccus 2 μ annimmt. Bei *S. agilis* betrug 1902 bei gleicher Art der Messung der Durchmesser des Quadrates 3.6 bis 4.2 μ ; im Mittel aus mehreren Messungen 3.85 μ ; der Einzelcoccus also 1.93 μ . Ein Unterschied in der Größe ist also nicht vorhanden. Sames sagt: „Der Durchmesser der einzelnen aus acht Kokken zusammengesetzten *Sarcina* beträgt

3 μ im Mittel“, ohne Angabe, ob diese Messung sich auf lebende oder auf gefärbte, in Balsam liegende Sarcinen bezieht; wahrscheinlich ist die letztere Annahme die richtige, da sich gegenüber meiner Messung der Durchmesser des einzelnen Coccus nur auf 1.5 μ berechnet. In einem von mir hergestellten 1000 fachen Photogramm, nach einem von Sames angefertigten Geißelpräparat, beträgt die Breite eines derartigen Paketes 3 bis 3.2 μ ; der schrumpfende Einfluß des Balsams macht sich also trotz der Beize bemerklich.

B. Auf Spirillenagar in möglichst gleicher Menge von frischer Kultur übergeimpft, wachsen beide ohne bemerkbaren Unterschied, wenn auch weniger stark als auf den gewöhnlichen Nährböden; der Vorsprung in der Entwicklung, welchen *S. agilis* in den ersten 2 bis 3 Tagen zeigt, wird von Pl. Sch., welche an diesen Nährboden noch nicht so gewöhnt ist wie die erstere, allmählich vollkommen eingeholt.

C. Impft man in das Quetschwasser von gewöhnlichem Agar und läßt dieses über die Oberfläche fließen, so wachsen beide in gesonderten, nicht zusammenfließenden Kolonien.

D. Im Strich auf gewöhnlichen Agar bleiben beide auf ihn beschränkt und breiten sich nur allmählich von den Seiten aus.

E. Beide bilden, in Gelatine ausgesät, völlig gleiche Kolonien; sie gehen bei 22° nach 48 Stunden deutlich an, bilden genau so, wie Wolff es beschreibt, kugelförmig, in der Tiefe dunklere Kolonien als auf der Oberfläche, und behalten diese Form auch bei weiterem Wachstum bei. Ist die Gelatine fester als gewöhnlich, z. B. bei einem Gehalt von 13 bis 15 Prozent, so bleiben die Kolonien beider in der Tiefe nicht völlig rund, sondern werden etwas unregelmäßig in der Umrandung. Wetzsteinförmige Kolonien habe ich niemals bei *S. ag.* gesehen, auch Sames berichtet von solchen nichts; er sagt: „die tiefer liegenden sind unregelmäßig geformt“. Wetzsteinförmiges Aussehen habe ich auch nicht im Stich, 3^{cm} unter der Oberfläche, beobachtet.

Dagegen machte sich bei *S. agilis* ein kräftigeres Wachstum bemerklich; die Kolonien wurden fast doppelt so groß als bei Pl. Sch.

F. Im Stich entwickelte sich *S. agilis* bis zu 3.5^{cm} Tiefe, Pl. Sch. stellte bei 2.5^{cm} unterhalb der Oberfläche plötzlich das Wachstum ein.

G. In Uschinskys Lösung wuchsen beide erst nach Alkalisierung z. B. mit 0.7^{cem} Normalnatron auf 10^{cem} Lösung; sie bildeten beide nach 5 bis 8 Tagen einen nicht unbedeutenden Satz, welcher bei *S. agilis* etwas stärker war als bei Pl. Sch.

H. Auf Rinderblutserum wachsen beide so gleichmäßig, daß es unmöglich ist, sie zu unterscheiden; der Rasen ist schwach und zeigt an den Rändern eine braungelbe Kante, schließlich durchweg diese Farbe.

J. Auf Drigalskiagar (Milchzucker - Kristallviolett) wachsen beide Arten gleich gut, werden jedoch unbeweglich, trotzdem die Geißeln sich ausgebildet haben, wie Geißelpräparate zeigten.

K. Auf Maltoselakmus ist das Verhalten dasselbe wie unter J., der Nährboden wird schwach gerötet.

L. Auf Malachitgrünagar wurde ein Wachstum nicht beobachtet.

Bei dieser fast völligen Gleichheit in kultureller Hinsicht mußte der biologische Versuch die Entscheidung bringen.

Hr. Dr. Leuchs hatte die Güte, ihn anzustellen, und Hr. Geheimrat Wassermann ihn zu begutachten; ich statte den Herren auch an dieser Stelle für ihre freundliche Beihilfe meinen verbindlichsten Dank ab. Zwei mit den beiden Sarcinen vorbehandelte Kaninchen lieferten ziemlich hochwertige Sera, welche nicht nur ihren eigenen Stamm bis zur Verdünnung 1:500 agglutinierten, sondern auch den fremden; der einzige Unterschied zeigte sich bei der letzten Verdünnung; bei dieser war die Agglutination des eigenen Stammes ein wenig stärker als diejenige des fremden.

Nach den Ergebnissen dieses entscheidenden Versuches kann *Planosarcina Schaudinni* als selbständige Art fernerhin nicht aufrecht erhalten werden; sie kann nur als Stamm *Wolf* der *Sarcina agilis* Sames gelten.

Als bestes Merkmal, um die beiden Stämme zurzeit zu unterscheiden, kann die Kraft ihrer Beweglichkeit herangezogen werden; während der Stamm *Wolf*, von frischer Agarkultur in Wasser übertragen, sich außerordentlich lebhaft bewegt, im hängenden Tropfen sogar wochenlang, ist die Beweglichkeit bei dem Stamm *Sames*, welcher sie in früheren Zeiten in gleich starkem Maße besaß, jetzt eine bedeutend geringere.

Nachschrift.

Während des Druckes meiner Arbeit habe ich mit Hrn. Dr. M. Wolff korrespondiert; ich entspreche seinem Wunsche, wenn ich die folgende Stelle aus einem seiner Briefe anführe: „Auf Grund Ihrer Angaben und Photogramme habe ich mich von der Irrigkeit meiner Auffassung überzeugt.“

Literatur-Verzeichnis.

1. Löffler, Weitere Untersuchungen über Beizung und Färbung der Geißeln bei den Bakterien. *Centralblatt für Bakteriologie*. Mai 1890. Bd. VII. S. 625.
2. R. Pfeiffer, *Diese Zeitschrift*. Oktober 1893. Bd. XVII. S. 233.
3. A. Fischer, Untersuchungen über Bakterien. *Jahrbuch für wissenschaftl. Botanik*. 1895. Bd. XXVII.
4. Sames, Eine bewegliche Sarcine. *Centralblatt für Bakteriologie*. Septbr. 1898. Abt. II. Bd. IV.
5. Max Wolff, Spirochaete polyspira n. sp. *Ebenda*. Juli 1907. Abt. II. Bd. XVIII.
6. Schaudinn, Generations- und Wirtswechsel usw. *Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte*. 1904. Bd. XX.
7. Derselbe, Zur Kenntnis der Spirochaete pallida. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1905. Nr. 42.
8. Max Wolff, Pediplana Haeckeli n. g. n. sp. und Planosarcina Schaudinni usw. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1907. Abt. II. Bd. XVIII.
9. Gonder, Studien über Spirochäten aus dem Blut von Vespertilio Kuhlii. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. Bd. XXVII. S. 406.
10. v. Prowazek, Vergleichende Spirochätenuntersuchungen. *Ebenda*. Bd. XXVI. Taf. IV. Fig. 8.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. VII—IX.)

Die Vergrößerung beträgt, falls sie nicht anders angegeben ist, stets das Tausendfache. Die Geißelpräparate sind durch Behandlung mit Antimonbeize und Äthylamin Silber erhalten; für die Fig. 36 bis 43 dienten zwei nach Löfflers Verfahren hergestellte Präparate.

Tafel VII.

Sarcina agilis Sames. Spirillenbouillon eingedunstet.
Geißelpräparate 1901 (Fig. 1, 2 u. 5).

Fig. 1. Ein sehr langer Geißelzopf; wegen der gewellten Form würde er in ungefärbtem Zustande mit einer Spirochäte noch eher zu verwechseln gewesen sein, wie der von Wolff in Fig. 1 seiner Arbeit dargestellte.

Fig. 2. Zwei sehr große, ziemlich dicke, von einer *Sarcina* ausgehende Zöpfe; die Zusammensetzung aus Geißeln überall gut erkennbar.

Geißelpräparat 1898 (Fig. 3 u. 4.)

Fig. 3. Verschlingung von großen und kleinen Geißelzöpfen in eng spiralförmiger Windung.

Fig. 4. Wie Fig. 3, jedoch bedeutend dicker; die Auflösung der Geißelmasse, besonders im mittleren Teil, ist deutlich erkennbar.

Fig. 5. Mehrere Geißelzöpfe; nur 250 fach vergrößert, da sie in das Gesichtsfeld einer Olinnersion nicht hineingingen.

Planosarcina Schaudinni

aus 14 Tage alter, stark eingedunsteter Bouillonkultur. Fig. 6—10.

Fig. 6 u. 9. Geißelzöpfe in Auflösung; daher die Zusammensetzung aus einzelnen Strängen kaum mehr erkennbar.

Fig. 7 zeigt sehr schön die Bildung eines Zopfes aus einzelnen Geißeln, welche durch Ineinanderdrehung einen festen Strang bilden.

Fig. 8. Der vorigen Figur ähnlich; könnte bei stärkerer Verschlingung und Verschmelzung eine Spirochäte in Längsteilung vertauschen; vielleicht Vorläufer für solche Bildungen; vergleiche die Fig. 25, 26, 35 u. 42.

Fig. 9. Wie Fig. 6; Auflösung weniger weit vorgeschritten.

Fig. 10. Vorläufer zu Figuren, ähnlich den Nr. 23—27.

Tafel VIII.

Fig. 11. *Sarc. agilis* 1898, mittelgroßer Verband.

Planosarcina Schaudinni (Fig. 12 bis 18, sowie 20 u. 21).

Bouillonkultur, 14 Tage alt, stark eingedunstet; Fig. 17 und 18 Bouillonkultur 4 Wochen alt.

Fig. 12. Reich begeißelter mittelgroßer Verband; wahrscheinlich haben sich einzelne freie Geißeln in die von ihm ausgehenden verschlungen, obgleich solche in der Nähe nicht mehr vorhanden waren.

Fig. 13. Kleiner Verband mit einer der längsten, spiralgewundenen Geißeln von etwa $26\ \mu$ Länge, die ich beobachtet habe.

Fig. 14. Kleines Paket mit fast graden, vielleicht schon abgestorbenen Geißeln von 40 bis $45\ \mu$ Länge.

Fig. 15. Sehr großer Verband; nach den gewellten Geißeln zu schließen völlig lebenskräftig. Beispiel für Geißelzöpfe am Bacterium selbst.

Fig. 16. Großer Verband, welcher viel Geißeln verloren hat, während die vorhandenen fast sämtlich zu einem Zopf zusammengedreht sind, welchem sich lose Geißeln zugesellen. Die zwei Geißeln in Verschlingung, der Spitze des Zopfes anliegend, sind dem Zopfe Fig. 30 ähnlich.

Fig. 17 und 18. Kleine Verbände, deren Geißeln zu Zöpfen zusammengedreht sind.

Fig. 19 wie 17 stammt jedoch von *Sarc. agilis* Präparat 1901.

Fig. 20. Durch Verschmelzen bereits ineinander geflossene Geißeln an sehr kleinem Verband; an der Spitze 2 oder 3 ebenfalls schon innig vereinigte Geißeln, an welche sich zwei von einander deutlich getrennte Geißeln angesetzt haben.

Fig. 21. Enge und weite Wellungen an derselben Geißel; selten beobachtet.

Die in den Fig. 22 bis 27, sowie 30 und 35 wiedergegebenen Geißelzöpfe besitzen große Ähnlichkeit mit echten Spirochäten.

Planosarcina Schaudinni (Fig. 22 und 23).

Fig. 22 gleicht in hohem Maße der Fig. 16 in Gonders (9) Arbeit über die Spirochäten bei *Vespertilio Kuhlii*.

Fig. 23 gleicht den Fig. 2 und 4 von Gonder daselbst, wenn auch die Wellung ein wenig anders ist.

Tafel IX.

Planosarcina Schaudinni (Fig. 24 bis 27).

Fig. 24 könnte als Spirochäte mit beginnender Auffaserung der Membran gedeutet werden.

Fig. 25 bis 27 könnten als Teilungsformen angesprochen werden.

Fig. 28. *Sarcina agillis* 1898. Ein Haufen dünner freier Geißelzöpfe in ähnlicher Verschlingung wie sie bei Rekurrensspirochäten im hängenden Tropfen beobachtet wird; ganz freiliegend.

Planosarcina Schaudinni (Fig. 29 bis 31).

Fig. 29. Spirochäten ähnliche Geißelzöpfe zwischen Sarcinapaketen.

Fig. 30 und 31. Spirochäten ähnliche Geißelzöpfe.

Fig. 32 und 33. *Sarcina agilis* 1898. Geißelzöpfe von großer Ähnlichkeit in der äußeren Form mit den von v. Prowazek (10) in Fig. 8 gezeichneten, und als männliche Spirochäten aus *Ulcus tropicum* aufgeführten Bildern; nur ist bei den Geißelzöpfen die undulierende Membran bzw. ihr Randfaden deutlich sichtbar.

Fig. 34. *Planosarcina Schaudinni*; sehr schlanke Geißelzöpfe in stärkerer Verschlingung als bei Fig. 28.

Fig. 35. *Sarcina agilis*; Täuschungsbilder für Längsteilung von Spirochäten.

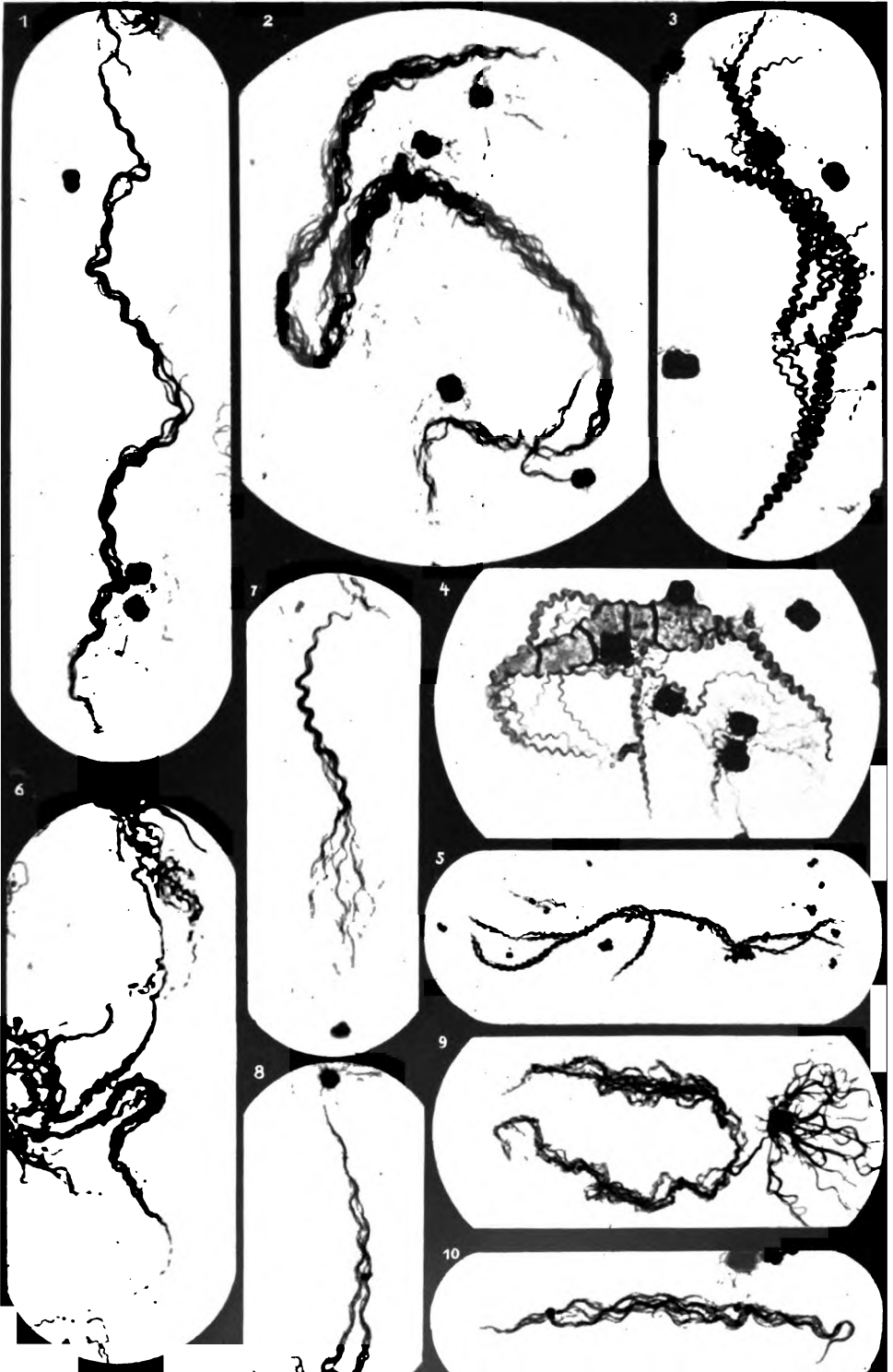
Fig. 36 bis 38 stammen aus einem von Löffler 1890 mit der Reinkultur eines unbenannten Bacteriums hergestellten Präparate; während bei Nr. 36 die Geißelzöpfe Ähnlichkeit besitzen mit Mundspirochäten, zeigt der mittlere Zopf in Fig. 37 eine scheinbare Querteilung und Fig. 38 einen Haufen freier Zöpfe.

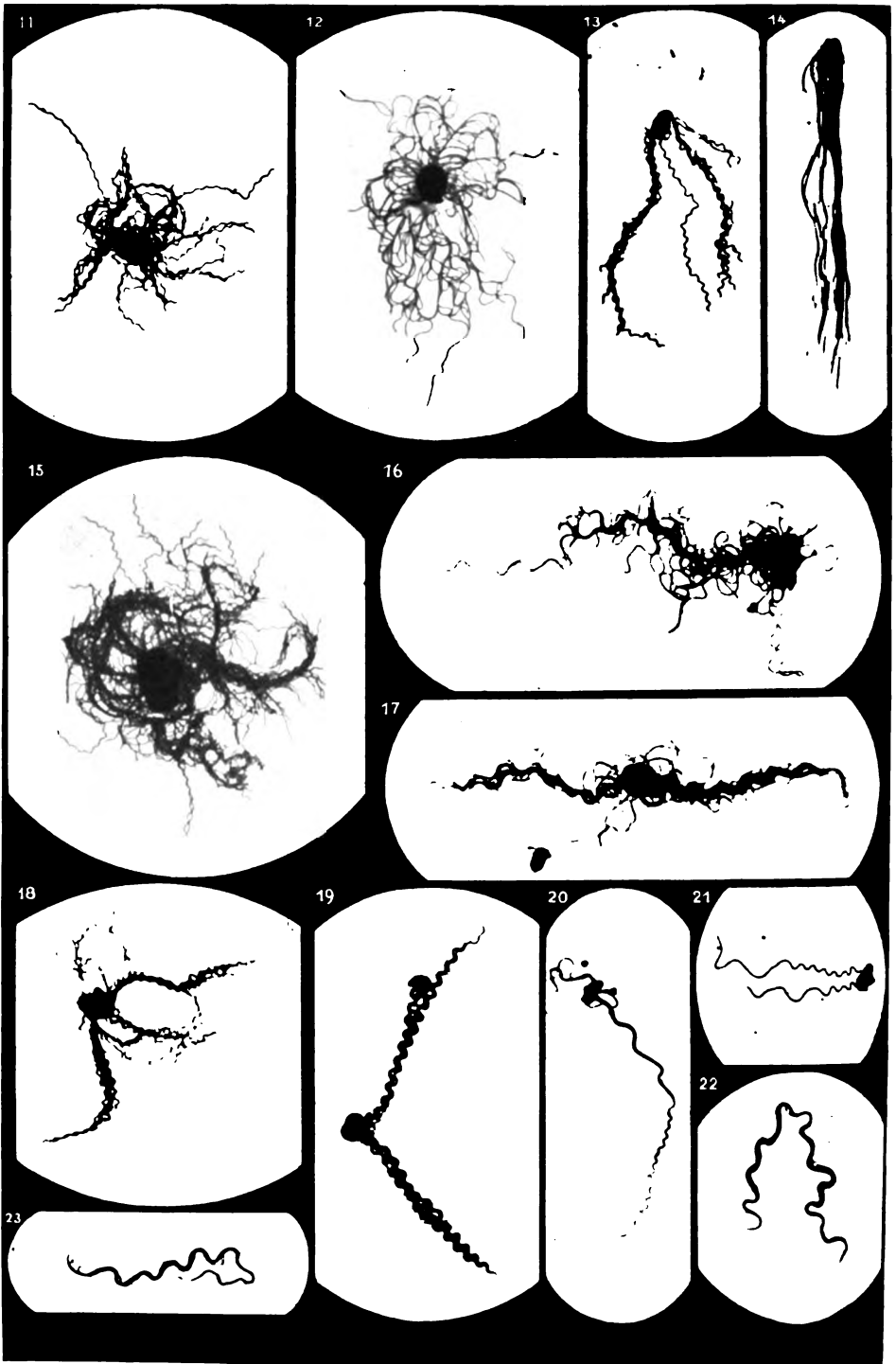
Fig. 39 bis 43 stammen aus einem nach Löfflers Verfahren 1890 hergestellten Präparat von einer Faulflüssigkeit; die Geißelzöpfe sind wahrscheinlich von den Geißeln des *Bacillus flagellotortus* gebildet (Fig. 43). Auch hier tritt wieder die hohe Ähnlichkeit mit Spirochäten bzw. solchen in Längsteilung hervor; sogar der fast ausnahmslos statt einzelner Geißeln am Bacillus vorhandene Geißelzopf zeigt Spirochätenform.

Fig. 44 bis 46. *Bacillus brandenburgensis*. Der reiche Geißelbehang hat sich fast völlig zu Zöpfen verschlungen; ein bereits recht stattlicher befindet sich noch im Zusammenhang mit dem Faden; die freien vereinigen sich leicht zu dickeren Gebilden.

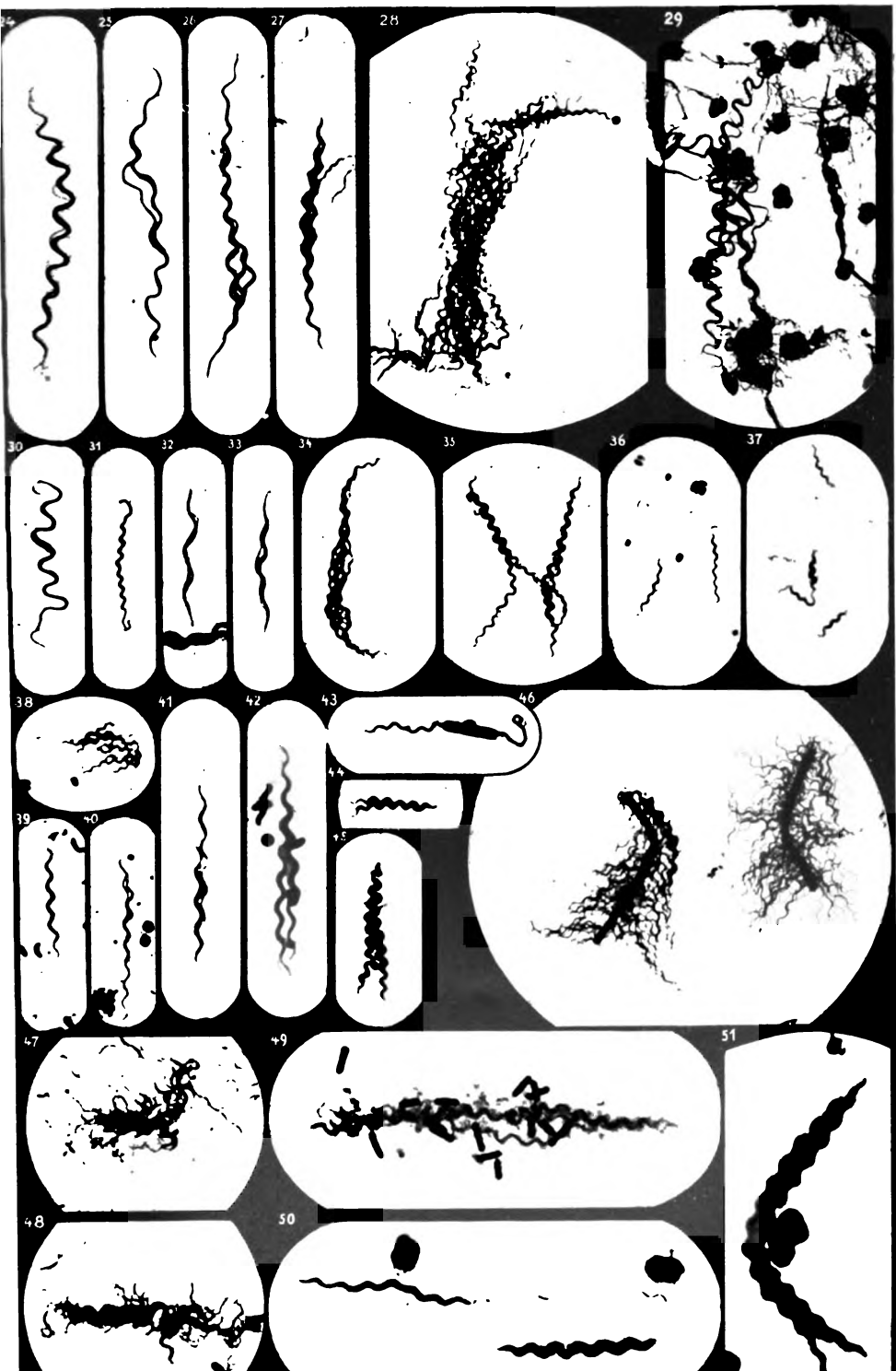
Fig. 47 bis 49. Geißelzöpfe von Rauschbrand aus Bouillonkultur; diese wurde mit Formalin abgetötet, als die Höhe der Entwicklung eben überschritten war und die Flüssigkeit anfang, sich zu klären.

Fig. 50 und 51. *Sarcina agilis*; Geißelzöpfe aus einem zur Trockne verdunsteten Tropfen von Agarflüssigkeit; gefärbt mit Karbolfuchsin; Präparat von Sames 1890.





E. Zettnow phot



Über die Notwendigkeit der Abänderung des Pasteur'schen Verfahrens der Wutbehandlung.

Von

Prof. V. Babes
in Bukarest.

Pasteur hatte behauptet, daß sein Verfahren erst 14 Tage nach Beendigung der Behandlung, also etwa 25 bis 30 Tage nach dem Bisse zur vollen Wirkung gelangt. Seither zählt man zu den Mißerfolgen der Behandlung nur die Fälle, in welchen die Wut später als 14 Tage nach beendigter Behandlung auftritt. Mit anderen Worten, bei allen jenen gebissenen Personen, bei welchen die Inkubation weniger als 1 Monat beträgt, ist die Pasteursche Behandlung wenig wirksam oder unwirksam. Diese Fälle sind aber sehr zahlreich, indem, nach der Statistik Bauers, über 13 Prozent der an Wut Verstorbenen vor dem 30. Tage nach dem Bisse zugrunde gegangen sind. Bei den von wütenden Wölfen Gebissenen sind unter den Verstorbenen über 50 Prozent, welche vor dem 30. Tage nach dem Bisse zugrunde gingen. Deshalb ist eben die Behandlung der von wütenden Wölfen Gebissenen nach Pasteur wenig wirksam, weil die Wut bei vielen derselben zu einer Zeit auftritt, wo die Behandlung noch nicht zu ihrer vollen Wirksamkeit gelangt ist und deshalb hat auch Pasteur für diese Fälle seine Behandlung bedeutend verstärkt. Leider aber habe ich erfahren, daß eine noch viel intensivere Behandlung nach der Pasteurschen Methode gegen Wolfsbisse nicht genügend wirksam ist.

Pasteur glaubte allerdings, daß seine Methode viel wirksamer sei als sie es in der Tat ist. Derselbe stützte sich in der Beurteilung seiner Erfolge auf die frühere Statistik, von Leblanc nach welcher im Seine-departement in den Jahren 1878 bis 1888 jährlich 45 bis 156 Personen, im ganzen 515 gebissen worden sein sollten und 81 an Wut verstarben.

Im ganzen soll von je sechs Gebissenen einer an Wut gestorben sein.¹ Nun aber hat eben die Wirksamkeit der Pasteur-Institute gezeigt, daß diese Statistik ganz falsch ist, indem die Zahl der Gebissenen, welche dem Institute zuströmten, 3 mal ja oft 6 mal so groß ist als dies diese Statistik angab, während die Zahl der an Wut Verstorbenen offenbar besser bekannt war und also der Wirklichkeit nahe kam. Es folgt hieraus, daß nicht von 6 gebissenen Personen, sondern kaum von 20 gebissenen Personen eine an Wut zugrunde geht. Wenn man diese Zahlen mit jenen durch die Pasteursche Behandlung erzielten vergleicht, so findet man, daß allerdings diese Behandlung die Mortalität von etwa 5 Prozent auf 1 oder 0.5 Prozent reduziert, nicht aber von etwa 20 Prozent auf 1 Prozent, wie dies Pasteur annahm. Es erscheint mir zweifellos, daß wenn Pasteur über eine richtige Statistik verfügt hätte, er sich mit diesem Resultate nicht zufrieden gegeben, sondern die Behandlung noch viel intensiver gestaltet hätte.

Auf Grund dieser Erwägungen war ich fortwährend bestrebt, die Behandlung wirksamer zu gestalten, indem ich hierbei die von wütenden Wölfen am Kopfe gebissenen Personen, welche nach meinen Erfahrungen eine Mortalität von über 90 Prozent aufwiesen, zu meinen Versuchen benutzte. Vorher wurden meine systematischen Modifikationen der Methode an zahlreichen Versuchstieren ausprobiert. In der Tat zeigten diese Versuche, daß man durch Injektion reichlicher Mengen von zunächst erwärmtem dann frischem fixem Virus während 7 Tagen schon nach 6 Tagen eine vollständige Immunität gegen Straßenvirus (Trepanation) erzielen kann. Högyes² behauptet eine solche Immunität schon 4 Tage nach Injektion von verdünntem Virus erzielt zu haben. Meine verschiedenen Versuche sowie die endlich erzielten Resultate habe ich in dieser Zeitschrift³ niedergelegt. Zugleich sammelte ich Erfahrungen über unsere zahlreichen Fälle von Hundebissen und änderte systematisch auch die Behandlung der von Hunden gebissenen Personen. Bei denselben besitzen wir allerdings nicht die große Sicherheit in der Beurteilung des Resultates wie bei den ohne Behandlung fast immer tödlichen Wolfsbissen am Kopfe, doch fand ich ein anderes fast ebenso sicheres Kriterium des Erfolges in der Kürze der Inkubationszeit bei den nach der Behandlung Verstorbenen. Ich konnte hierauf begründet folgende Regel aufstellen: Der Erfolg der Behandlung ist in geradem und konstantem Verhältnis zu der Reduktion der Inkubationszeit. In meiner er-

¹ *Compt. rend. de l'Académie des sc.* 25. Febr. 1884.

² *Lyssa.* 1897. S. 133.

³ *Diese Zeitschrift.* 1904. Bd. XLVII.

währten Arbeit über die Behandlung der Wolfsbisse habe ich diese Regel durch folgende Erwägungen klar bewiesen:

1. Nach der intensiven Pasteurschen Behandlung gehen etwa 20 Prozent der von wütenden Wölfen Gebissenen zugrunde und zwar mit 14 bis 30 tägiger Inkubationszeit.

2. Durch systematische Verstärkung der Behandlung mittels reichlicher Injektion und Verabreichung des frischen Virus schon in den ersten Tagen der Behandlung, endlich durch Anwendung meines antirabischen Serums sank die Mortalität auf 10 Prozent und die Inkubationszeit bei den Verstorbenen auf 14 bis 20 Tage.

3. Indem wir endlich die Behandlung noch durch Überschwemmung des Organismus mit erhitztem Virus (Toxine?) verstärkten, gelangten wir zu einer Mortalität von 5 Prozent und die Wut trat nur noch nach 13 bis 15 tägiger Inkubation auf.

Da aber nach unserer Statistik an einem reichen Material ohne Behandlung 60 bis 80 Prozent, nach jener Pasteurs 82 Prozent der von Wölfen gebissenen Personen zugrunde gehen, und da diese Statistik gegenüber jener über Hundebisse ganz sicher ist, indem man immer wußte, wie viele Menschen von wütenden Wölfen, nicht aber wie viele von wütenden Hunden gebissen wurden, ist dieses Resultat wenigstens 3 mal so vorteilhaft als jenes bei Hundebissen erzielte und es würde hieraus folgen, daß man auch gegen Hundebisse so verfahren sollte wie gegen Wolfsbisse.

Diesem Desiderat stehen aber gewisse Bedenken entgegen:

1. Zunächst ist die wirksame Behandlung der Wolfsbisse sehr lange dauernd (etwa 30 Tage) und für die Gebissenen qualvoll, indem dieselben anfangs täglich 6 bis 8 mal mit reichlichen Mengen von Virus geimpft werden müssen.

2. Die Impfinstitute wären kaum imstande, so große Mengen von Virus zu produzieren.

3. Ferner ist die Injektion so großer Mengen von Virus nicht unbedenklich, namentlich Angehörige gebildeter Klassen und besonders Frauen und nervöse Individuen dieser Klassen erkranken, in den verschiedenen antirabischen Instituten selbst bei leichter Behandlung, wenn auch selten, namentlich im Sommer, infolge dieser Injektionen an leichteren, seltener auch an schweren Paresen oder Paralysen (besonders Gesichtsparalysen, seltener an medullären Formen), während allerdings bei unserer viel intensiveren Behandlung der durch Wölfe gebissenen Personen (fast nur Bauern) nie eine derartige Paralyse aufgetreten war.

4. Ist in der Mehrzahl der Fälle die Bißverletzung so unbedeutend oder aber die Aussage des Verletzten so unsicher, daß bei Beginn der

Behandlung es gewöhnlich nicht sicher ist, ob der betreffende Hund wirklich wütend war und ob wirklich eine infizierte Bißwunde vorliegt. In solchen Fällen ist es prekär, eine 30 tagelang dauernde, ziemlich lästige, oft qualvolle Behandlung einzuleiten.

Jedenfalls muß vorher die statistische und experimentelle Basis dieser Behandlung auch für Hundebisse unzweifelhaft festgestellt sein.

Ist es überhaupt sicher, daß die Abkürzung der Inkubationszeit immer einer Vervollkommnung der Behandlung entspricht? Ist die Verkürzung der Inkubationszeit nicht vielmehr verursacht durch den Reiz der starken Behandlung, indem hierdurch die Wut schneller auftritt, als dies ohne Behandlung geschehen wäre. Diese Frage hatte sich Nitsch gestellt¹ und kommt zum Schlusse, daß zwar die heilsame Wirkung der Pasteurschen Methode zweifellos ist, daß es aber heutzutage unmöglich ist, sicher zu entscheiden, ob die Schutzimpfungen nicht manchmal den tödlichen Ausgang beschleunigen, also schädlich wirken können. Diese Möglichkeit ist aber mit aller Sicherheit ausgeschlossen, und Nitsch hätte sich hiervon leicht überzeugen können, wenn derselbe meine Resultate nach Wolfsbissen genau gekannt hätte, aus welchen klar hervorgeht, daß, je besser die Resultate werden, desto mehr auch die Fälle mit kurzer Inkubationsdauer beeinflußt werden, so daß endlich nur mehr die Fälle mit 14 tägiger Inkubationsdauer unbeeinflußt bleiben und also zum Ausbruch der Wut führen. Nach der Statistik von Bouley und Bronardel² gingen (ohne Behandlung) unter 100 an Wut Verstorbenen bloß 4 bis 5 nach 14 tägiger Inkubationsdauer zugrunde.

Nach Wolfsbissen gehen etwa 80 Prozent der Gebissenen zugrunde, aber auch hier bloß etwa 5 Prozent der Verstorbenen nach 14 tägiger Inkubation. (Siehe die Statistik Pasteurs³ und Bronardels, a. a. O.)

Nach meiner stärksten Behandlung gingen ebenfalls von 100 Wolfsbissen 4 Prozent und zwar nach 14 bis 15 tägiger Inkubation zugrunde, während aber ohne Behandlung später noch 70 bis 80 Prozent der Gebissenen an Wut zugrunde gehen, verstarb von den von mir behandelten später kein einziger mehr an Wut.

Dies ist doch ein mathematischer Beweis dafür, daß die vier Personen, welche am 14. Tage an Wut erkrankten, nicht infolge der Behandlung so früh erkrankten, sondern weil alle übrigen Personen, welche

¹ Nitsch, Bemerkungen über die Pasteursche Methode der Schutzimpfung gegen Tollwut. *Centralblatt für Bakteriologie*. Dezember 1896. Hft. 7 u. 8.

² *Diction. encycl. de Déchambre*. 1878.

³ *Compt. rend. de l'Académie des sc.* 12. April 1886.

ohne Behandlung später noch gestorben wären, durch die Behandlung gerettet wurden. Nur eben jene vier Personen, welche auch ohne Behandlung nach 14tägiger Inkubation gestorben wären, gingen noch an Wut zugrunde.

Wenn die Behandlung die Inkubationsdauer der Wut verkürzt hätte, so müßten ferner nach der Behandlung Fälle mit kürzerer Inkubationsdauer als 13 bis 14 Tage vorkommen, was aber nicht der Fall ist oder aber müßten nach der Behandlung mehr Fälle mit 14tägiger Inkubationsdauer vorkommen als ohne Behandlung, was ebenfalls nicht zutrifft.

Es bleibt demnach die von mir aufgestellte Regel zu Recht bestehen, daß bei der Unsicherheit der statistischen Daten über das numerische Verhältnis der Bisse zu den Wuterkrankungen der beste Maßstab zur Beurteilung der Wirksamkeit der Behandlung die Herabdrückung der Inkubationszeit ist.

Nun fragt es sich aber, ob nicht im Gegenteil die Wutimpfungen die Inkubation zu verlängern vermögen? In der Tat geht im Tierversuche eine Abschwächung des Virus oft mit einer Verlängerung der Inkubation einher; es ist dies aber durchaus kein Beweis dafür, nachdem es nicht bewiesen ist, daß die Behandlung das Virus abschwächt. Im Gegenteil hatte ich Gelegenheit, zu Anfang unserer Wutimpfungen mit dem Rückenmark von behandelten Menschen, welche 9 und 14 Monate nach dem Bisse verstorben waren, zu experimentieren, und fand dasselbe durchaus nicht weniger virulent als jenes von behandelten Menschen, welche nach 15 tägiger Inkubation verstorben waren.

In der Tat hatte aber Remlinger¹ bei seinen Wutimpfungen in Konstantinopel den Angaben Nitsch gerade entgegengesetzte Erfahrungen gemacht, indem dort die Behandlung die Inkubation der Wut zu verlängern schien.

Aber auch diese Behauptung ist nicht zulässig. Zunächst stützt sich der Autor auf relativ wenige Fälle, während viel zahlreichere Fälle von Pasteur und aus dem Pasteur-Institut, von Högyes, von Nitsch, von mir selbst im Gegenteil beweisen, daß die nach der Behandlung Verstorbenen im Durchschnitt eine kürzere Inkubation aufweisen, als die nicht Behandelten.

Den klarsten Beweis, daß eine derartige Verlängerung der Inkubationszeit nach Behandlung beim Menschen nicht vorkommt, liefern meine Experimente bei Wolfsbissen.

Wenn die Behandlung den Ausbruch der Wut verzögern würde, wäre es doch ganz unmöglich, daß unter 100 nach Wolfsbissen Ver-

¹ *Société de biologie.* 2 März 1907.

storbenen ohne Behandlung nur 5 Prozent 14 Tage nach dem Bisse erkrankt waren, während 95 später oft nach Monaten erkranken, während alle nach meiner wirksamsten Behandlung Erkrankten eben am 13. bis 15. Tage erkranken und keiner später. Es ist dies ein ebenso mathematischer Beweis für die Unrichtigkeit der Annahme, daß die Behandlung den Ausbruch der Wut verzögert.

Diese Diskussion zwischen Nitsch und Remlinger beweist demnach weder für den einen, noch für den anderen, der beiden bedeutenden Wutforscher, sie beweist aber etwas anderes was uns im höchsten Grade interessieren muß, nämlich, daß die heutige Wutbehandlung gänzlich ungenügend ist, indem überhaupt noch eine Diskussion über diese Frage möglich ist.

Wenn die von mir aufgestellte Regel richtig ist, dürfen nach der Behandlung Fälle von Wut mit langer Inkubationszeit überhaupt nicht vorkommen, während heute in allen anti-rabischen Instituten solche Fälle die Mehrzahl bilden. Man begnügt sich einfach zu sagen, Mißerfolge sind nur jene, wo die Wut später als 14 Tage nach Beendigung der Behandlung auftritt.

Dies ist aber falsch, indem zunächst berechnet werden müßte, wie lange nach dem Bisse die Behandlung einsetzte und wie lange die Behandlung gedauert hatte.

Ohne diese Daten haben die 14 Tage gar keine Bedeutung.

Aber auch abgesehen von diesen Ungenauigkeiten, ist es heute nicht mehr gestattet — namentlich nach unseren Erfolgen bei Wolfsbissen — so zu behandeln, daß die Behandlung erst 30 Tage nach dem Bisse zur Wirkung gelange.

Allerdings ist es nötig, zunächst jene Methode genau zu beschreiben, welche es mir möglich machte, die erwähnte Regel auszusprechen und die Mortalität nach Wolfsbissen derart herabzudrücken. Zwar habe ich schon im Jahre 1904 die Entwicklung der Methode ausgeführt, dort ist aber die wirksamste Methode noch nicht genau beschrieben. Es sei mir gestattet, dies hier nachzuholen und zugleich über die letzten 30 Fälle von Wolfsbissen kurz zu berichten. 22 derselben hatten zahlreiche furchtbare Wunden am Kopfe und Gesichte, so daß deren wahrscheinliche Mortalität auf etwa 90 Prozent geschätzt werden konnte, während die übrigen acht an Händen und Füßen tiefe Verletzungen aufwiesen. (Voraussichtliche Mortalität etwa 50 Prozent.) Ein Mädchen, dessen Körper ganz zerfleischt und dessen Kopfhaut ganz abgerissen war, starb an den Wunden 7 Tage nach dem Bisse. 20 der am stärksten Gebissenen bekamen am 2. Tage nach dem Bisse folgende Behandlung:

Am 30. Mai wurden zunächst die Wunden gereinigt, mit konzentrierter Salpetersäure kauterisiert und verbunden. Dann bekamen sie: 15prozentige Emulsion von Gehirnschubstanz eines an Virus fixe erlegenen Kaninchens auf verschieden hohe Temperaturen erwärmt, sowie verschieden lange getrocknete Rückenmarke der Virus fixe-Kaninchen, endlich große Mengen von Virus fixe.

20^{erm} Immuneserum wurde während der Pause und am 22. Juni gegeben. In anderen Fällen wurde kein Serum verabreicht.

Von diesen 20 Personen verstarb bloß ein 17 jähriges Mädchen mit zerfleisctem Gesichte (Nase, Mund, Ohr, Backe bis an den Knochen), dessen Behandlung am 30. Mai begonnen, nachdem am 12. Juni (15 Tage nach dem Bisse) die ersten Symptome aufgetreten waren, † am 15. Juni.

30. Mai

früh	}	10 ^{erm} Emulsion auf 80° erhitzt,
		10 „ „ „ 75° „
mittags	}	10 „ „ „ 70° „
		10 „ „ „ 65° „
abends	}	10 „ „ „ 8 Tage getr. Mark,
		10 „ „ „ 7 „ „ „
nachts	}	10 „ „ „ 6 „ „ „
		10 „ „ „ 5 „ „ „

im ganzen 8 Injektionen

31. Mai

früh	}	10 ^{erm} Emuls. 6 täg. getr. Mark
		6 „ „ 4 „ „
mittags	}	6 „ „ 3 „ „
		4 „ „ 2 „ „
abends	}	4 „ „ 1 „ „
		3 „ „ 0 „ „

1. Juni

}	10 ^{erm} Emulsion 8 täg. getr. Mark
	10 „ „ 7 „ „
	20 „ „ 80° erhitzt.

2. Juni

früh	}	10 ^{erm} Emuls. 6 täg. getr. Mark
		10 „ „ 5 „ „
abends		2 „ „ 75° erhitzt

3. Juni

}	10 ^{erm} Emulsion 5 täg. getr. Mark
	6 „ „ 4 „ „
	20 „ „ 70° erhitzt

4. Juni

}	10 ^{erm} 4 täg. getr. Mark
	10 „ 3 „ „ „
	20 „ 65° erhitzte Emuls.

5. Juni

}	6 ^{erm} 3 täg. getrocknetes Mark
	4 „ 2 „ „ „
	20 „ 60° erhitzte Emulsion

¹ Zu gleicher Zeit rechts und links.

6. Juni		7. Juni		8. Juni			
{	4 ^{erm} 2 tåg. getr. Mark	20 ^{erm} 50° erhitzt	3 „ 0 (frisches Mark)	P a u s e.			
	4 „ 1 „ „						
	20 „ 55° erhitzt						
9. Juni	10. Juni	11. Juni	12. Juni	13. Juni	14. Juni		
20 ^{erm} 80°	20 ^{erm} 70°	20 ^{erm} 60°	20 ^{erm} 50°	{ 10 ^{erm} 8 getr.	{ 10 ^{erm} 6 getr.		
20 „ 75°	20 „ 65°	20 „ 55°	20 „ 45°			{ 10 „ 7 „	{ 10 „ 5 „
						10 „ 6 „	6 „ 4 „
15. Juni	16. Juni	17. Juni	18. Juni	19. Juni	20. Juni	21. Juni	
6 ^{erm} 4 getr.	6 ^{erm} 3 getr.	4 ^{erm} 2 getr.	4 ^{erm} 1	8 ^{erm} 0	10 ^{erm} 0	20 ^{erm} 0	
6 „ 3 „	4 „ 2 „	4 „ 1 „	4 „ 0	(frisches Mark)			

Alle übrigen so behandelten Gebissenen blieben gesund.

Ebenso blieben gesund die acht an den Extremitäten und am Rumpfe von wütenden Wölfen zerfleischten Personen, welche eine schwächere Behandlung erhielten, z. B. ein 20jähriges Mädchen, an den Händen drei tiefe Bißwunden; am 3. Tage nach dem Bisse:

12. Juni 1907 abends		13. Juni		14. Juni	
{	15 ^{erm} 12 tåg. getr. Mark	{	10 ^{erm} 8 tåg. getr. Mark	{	10 ^{erm} 6 tåg. getr. Mark
	15 „ 11 „ „		10 „ 7 „ „		6 „ 4 „ „
	15 „ 10 „ „		10 „ 6 „ „		4 „ 2 „ „
	10 „ 9 „ „		10 „ 5 „ „		3 „ 0 „ „
		{	6 „ 4 „ „		
		{	6 „ 3 „ „		
		{	4 „ 2 „ „		
		{	4 „ 1 „ „		
15. Juni		16. Juni		17. Juni	
{	10 ^{erm} 8 tåg. getr. Mark	{	10 ^{erm} 6 tåg. getr. Mark	{	10 ^{erm} 5 tåg. getr. Mark
	10 „ 7 „ „		10 „ 5 „ „		6 „ 4 „ „
	20 „ 80° erhitzt		20 „ 75° erhitzt		20 „ 70° erhitzt
18. Juni	19. Juni	20. Juni	21. Juni	22. Juni	
{	6 ^{erm} 4 getr.	{	6 ^{erm} 2 getr.	{	4 ^{erm} 2 getr.
	6 „ 3 „		4 „ 2 „		10 ^{erm} 50° erhitzt
	20 „ 65° erh.		20 „ 60° erh.		20 „ 55° erh.
23. Juni	24. Juni	25. Juni	26. Juni	27. Juni	28. Juni
{	10 ^{erm} 8 getr.	{	10 ^{erm} 6 getr.	{	6 ^{erm} 4 getr.
	10 „ 7 „		10 „ 5 „		6 ^{erm} 3 getr.
	10 „ 6 „		6 „ 4 „		4 „ 2 „

Keiner der acht so Behandelten erkrankte an Wut.

Nun wird man wohl fragen, ob es denn nötig sei, so viel und so energisch zu impfen. Hierauf gibt einer der Fälle Antwort.

Nic. Bogdan, 27 Jahre alt, wurde am 9. Juni von einem wütenden Wolfe verletzt. Es fand sich an der linken Kommissur des Mundes eine lineare 4^{cm} lange ziemlich tiefe Wunde, ohne die Charaktere eines Bisses. Der Verletzte behauptet mit Bestimmtheit, bloß durch die Tatze des Wolfes verletzt worden zu sein. Leider wurde dieser Behauptung Glauben geschenkt und derselbe etwas schwächer behandelt.

10. Juni

{ 15 ^{grm} 12 Tage getrocknetes Mark { 15 „ 11 „ „ „ „ { 15 „ 10 „ „ „ „ „ { 10 „ 9 „ „ „ „ „	{ 10 ^{grm} 8 Tage getrocknetes Mark { 10 „ 7 „ „ „ „ „ { 10 „ 6 „ „ „ „ „ { 10 „ 5 „ „ „ „ „
---	--

Also fast 100^{grm} Emulsion in 8 Injektionen.

11. Juni	12. Juni	13. Juni	14. Juni	15. Juni	
{ 6 ^{grm} 4 täg. getr. M.	{ 10 ^{grm} 8 täg. getr. M.	{ 10 ^{grm} 6	{ 10 ^{grm} 5	{ 6 ^{grm} 4	
{ 6 „ 3 „ „	{ 10 „ 7 „ „	{ 10 „ 5	{ 6 „ 4	{ 6 „ 8	
{ 4 „ 2 „ „	20 „ 80° erhitzt	20 „ 75°	20 „ 70°	10 „ 85°	
{ 4 „ 1 „ „					
3 „ 0 „ „					
16. Juni	17. Juni	18. Juni	19. Juni	20. Juni	21. Juni
{ 6 ^{grm} 3	6 ^{grm} 2	10 ^{grm} 50°	Pause	{ 10 ^{grm} 8	{ 10 ^{grm} 6
{ 4 „ 2	4 „ 1	3 „ 0		{ 10 „ 7	{ 10 „ 5
10 „ 60°	10 „ 55°	(frisches M.)		10 „ 6	6 „ 4
22. Juni	23. Juni	24. Juni	25. Juni	26. Juni	27. Juni
6 ^{grm} 4	6 ^{grm} 3	4 ^{grm} 2	6 ^{grm} 1	6 ^{grm} 0	8 ^{grm} 0
6 „ 3	4 „ 2	4 „ 1		(frisches Mark)	(frisches Mark)

Diese Behandlung ist offenbar ungemein intensiv und wohl nirgends verwendet man eine so intensive Behandlung: am 1. Tage 100^{grm} Emulsion bis zum 5. Tage getrockneten Marks, am 2. Tage schon ganz frisches Virus fixe, 18 tägige Behandlung, welche mit großen Dosen von Virus fixe abschließt. Dennoch konnte diese Behandlung den Ausbruch der Wut und zwar 29 Tage nach dem Bisse nicht aufhalten. Wenn wir dem Verletzten nicht geglaubt hätten, daß er bloß durch die Klaue des Wolfes verletzt wurde, hätten wir denselben jedenfalls so behandelt, wie die übrigen 20 Personen, welche alle gerettet wurden. Wir hätten also zu Beginn große Mengen erwärmten Markes geben müssen, dann hätten wir die Behandlung auf 28 Tage ausdehnen müssen, täglich noch reichlichere Dosen getrocknetes und erwärmtes Mark, sowie noch größere Dosen Virus fixe und von antirabischem Serum geben müssen.

Es ist also absolut nötig, bei den schwersten Verletzungen den Organismus fortwährend und genau in der angegebenen Weise mit Virus und Toxinen überschwemmt zu halten, wie wir dies auch nach zahlreichen Tierversuchen feststellen konnten.

Hieraus ist zugleich ersichtlich, wie schwer es sein würde, bei Hundebissen so zu verfahren.

Da Hundebisse viel weniger gefährlich sind und also seltener zu so frühem Ausbruch der Wut führen, haben wir gegen dieselben eine weniger intensive, wenn auch noch viel intensivere Behandlung verwendet, als dies in irgend einem anderen Institute gebräuchlich ist. Jeder Fall wird individuell behandelt, damit in ungefährlichen Fällen keine zu schwere Behandlung angewendet werde. Die histologische Diagnose der Wut entscheidet auch über die Art der Behandlung.

Bei schwersten Verletzungen wird nach dem letzten und vorletzten der hier wiedergegebenen Schemata verfahren, indem aber gewöhnlich schon zu Beginn der Behandlung erhitztes Mark, noch in den Pausen oder am Ende der Behandlung antirabisches Serum injiziert wird.

Wir geben hier die Behandlung eines am Kinne durch zwei tiefe Bißwunden von einem wütenden Hunde verletzten Mannes, welcher 3 Tage nach dem Bisse in Behandlung kam, wieder:

1. Tag	{ 10 ^{grm} Emulsion auf 80° erhitzt	5. Tag	20 ^{grm} Emulsion auf 65° erhitzt
	{ 10 „ „ „ 75° „		{ 10 „ „ v. 4 Tage getr. M.
	{ 10 „ „ „ 70° „		{ 6 „ „ v. 3 „
	{ 10 „ „ „ 65° „		
	{ 10 „ „ v. 8 Tg. getr. Mark	6. Tag	20 ^{grm} Emulsion auf 60° erh. M.
	{ 10 „ „ v. 7 Tg. „		{ 4 „ „ v. 2 Tage getr. M.
			{ 3 „ „ v. 1 Tag „
2. Tag	{ 10 ^{grm} Emulsion v. 6 Tg. getr. M.	7. Tag	20 ^{grm} Emulsion auf 55° erh. M.
	{ 10 „ „ 5 „		{ 3 „ „ v. 0 Tage getr. M.
	{ 10 „ „ 4 „		
	{ 6 „ „ 3 „	8. Tag	P a u s e
	{ 4 „ „ 2 „		
	{ 3 „ „ 1 „	9. Tag	20 ^{grm} Emulsion auf 80° erw. M.
3. Tag	{ 20 ^{grm} Emulsion auf 80° erhitzt		{ 20 „ „ „ 75° „
	{ 20 „ „ 75° „	10. Tag	20 ^{grm} auf 70° erwärmtes M.
	{ 6 „ „ v. 3 Tage getr. M.		{ 20 „ „ 65° „
	{ 4 „ „ 2 „		
	{ 3 „ „ 1 „	11. Tag	20 ^{grm} auf 60° erwärmtes M.
	{ 2 „ „ 0 „		{ 20 „ „ 55° „
4. Tag	20 ^{grm} Emulsion auf 70° erhitzt	12. Tag	20 ^{grm} auf 50° erwärmtes M.
	{ 10 „ „ v. 6 Tage getr. M.		{ 20 „ „ 45° „
	{ 10 „ „ v. 5		

13. Tag	{ 10 ^{erm} von 8 Tagen getr. Mark 10 „ 7 „ 10 „ 6 „	15. Tag	6 ^{erm} von 8 Tage getr. Mark 4 „ 2 „	
14. Tag		{ 10 ^{erm} von 5 Tage getr. Mark 10 „ 4 „ 6 „ 3 „		16. Tag
			17. Tag	P a u s e.

Hierauf noch eine Serie wie jene vom 9. bis 16. Tage, dann 0 Tage getr. Mark und am 27. Tage AR.-Serum.

Bei weniger schweren Verletzungen wird bloß 20 oder 14 Tage lang behandelt mit täglich zuerst 4 dann 2 Injektionen. In diesen Fällen wird weniger erhitztes Mark und bloß bis zu 55° gegeben. Auch geben wir in solchen Fällen bloß bis zu 2 oder 1 tägig getrocknetes Mark.

Bei leichten Verletzungen wird kein erwärmtes Mark und kein Serum, sondern nur intensive Pasteursche Behandlung angewendet.

Die Resultate der Behandlung bei Hundebissen sind demgemäß auch bedeutend bessere als in den übrigen Instituten. Wir wollen eine vergleichende Statistik wiedergeben, welche zum Teil in der „Semaine médicale“ 14. November 1906 abgedruckt ist.

In den Jahren 1903, 1904 und 1905, in welchen bei uns größtenteils nach dieser Methode geimpft wurde, kamen 3091 Personen in Behandlung, von welchen 1605 schwer im Gesicht und an den Händen gebissen wurden. Betrachten wir zunächst die Mortalität nach mehr als 14 Tagen nach Beendigung der Behandlung also die sogenannten „Insuccesse oder Mißerfolge“ der antirabischen Institute.

Unter 3091 Fällen hatten wir in Bukarest keinen einzigen Mißerfolg = 0 Prozent.
„ den 2110 Fällen derselben Jahre des Institut Pasteur in Paris hingegen starben 8 mehr als 14 Tage nach Beendigung der Behandlung = 0.37 Prozent.
„ 934 Fällen in Berlin starben 12 „ „ = 0.74 Proz.
„ 762 „ „ Wien „ 4 „ „ = 0.5 „
„ 8658 „ „ Budapest „ 32 „ „ = 0.36 „

Unsere Behandlung ist demnach sicher imstande, in allen Fällen das späte Auftreten der Wut zu verhindern, was die übrigen Behandlungsarten nicht vermögen.

Aber auch den früheren Ausbruch der Wut verhinderte unsere Behandlung besser als die übrigen Methoden.

Während der Behandlung oder bis 14 Tage nach Beendigung derselben Verstorbene:

Bukarest	unter	3091	Behandelten	4	=	0.12	Prozent
Paris	„	2115	„	5	=	0.23	„
Berlin	„	934	„	5	=	0.53	„
Wien	„	762	„	4	=	0.52	„
Budapest	„	8658	„	32	=	0.40	„

Allgemeine Mortalität also während und nach der Behandlung:

Bukarest	unter	3091	Behandelten	4	=	0.12	Prozent
Paris	„	2115	„	13	=	0.61	„
Berlin	„	934	„	12	=	1.28	„
Wien	„	762	„	8	=	1.04	„
Budapest	„	8658	„	67	=	0.77	„

Wenn wir die Mortalität in Bukarest vor und nach der Einführung unserer „Rumänischen Methode“ vergleichen, finden wir, daß früher (vor 1898) unter 3965 Behandelten 18 = 0.45 Prozent während der Behandlung oder bis 14 Tage nach derselben und 6 = 0.16 Prozent später verstarben, im ganzen also 0.60 Prozent, also etwa dieselbe Zahl wie in Paris. Im Vergleiche zu den Resultaten in Paris, Berlin und Budapest hätten in den 3 Jahren in Bukarest etwa 20 der behandelten Personen an Wut sterben müssen, es starben aber nur 4 Personen. Im Vergleich zu den Resultaten von Wien hätten in Bukarest nicht 4, sondern etwa 33 Mißerfolge sein müssen.

Unsere Erfolge rechtfertigen demnach die Forderung, überall eine bedeutend verstärkte Methode der Wutimpfung einzuführen.

Wenn es gelingen sollte, eine noch viel stärkere Methode bei Hundebissen anzuwenden, als die bisher bei uns angewendete, würde sicherlich auch die unbedeutende Zahl der 0.12 Prozent Todesfälle während der Behandlung schwinden, und es werden wie für Wolfsbisse nur jene Todesfälle übrig bleiben, bei welchen die Inkubation 15 Tage nicht überschreitet, was einer noch viel geringeren Mortalität entsprechen würde.

Das Wesentliche in der Verstärkung der Behandlung wird demnach zunächst in reichlicher Anwendung der erwärmten Emulsionen und in der Überschwemmung des Organismus während möglichst langer Zeit mit wirksamen Substanzen — in der angegebenen Weise — bestehen müssen.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.]

Chemische Abteilung.

(Vorsteher: Geheimrat Prof. Proskauer.)

Studien

zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel.

Von

Dr. phil. **H. Schneider**, und Dr. med. **E. Seligmann**,
freiwilligem Hilfsarbeiter am Institute. Assistenten

Die Angaben über die Prüfungsergebnisse an den gleichen chemischen Desinfektionsmitteln sind in der Literatur sehr schwankend, je nach der Prüfungsmethodik der Untersucher. Sie sind infolgedessen nur schwer vergleichbar. Es ging daher von Anfang an, schon seit Robert Kochs¹ bahnbrechenden Untersuchungen, das Bestreben darauf hin, eine einheitliche Methode zur Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln zu finden. Koch selbst gab die Seidenfadenmethode an, die auch heute noch vielfach im Gebrauch ist. Geppert² führte 1889 eine neue Methode ein, die auf der Verwendung von Bakterienemulsionen beruht und die Einwirkung des Desinfiziens auf frisches, feuchtes Bakterienmaterial prüfte. Paul³ ging dann später wieder auf die Prüfung angetrockneten Bakterienmaterials zurück; nur verwendete er statt der Seidenfäden böhmische Granaten. Er gibt in seiner Arbeit eine sehr eingehende Beschreibung des ganzen Verfahrens, das ziemlich umständlich ist und sich schon deshalb nicht recht eingebürgert hat. In England ist ein Verfahren im Gebrauch, der sogenannte „Rideal-Walker-test“, der sich auch behördlicher

¹ *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. I.

² *Berliner klin. Wochenschrift.* 1889. S. 789 u. 819.

³ *Zeitschr. f. angew. Chemie.* 1901. Bd. XIV.

Anerkennung erfreut. Er verwendet gleichfalls Bakterienemulsionen (*Bact. coli*) und benutzt als Prüfungsindex die Wirkung einer Karbolsäurelösung von bekannter Konzentration. Aus der Konzentration des zu prüfenden Mittels, die in gleicher Zeit wie die Karbolsäure-Standardlösung die Testbakterien abtötet, berechnet man in England den „Karbolsäurekoeffizienten“ des neuen Mittels und glaubt, damit direkt vergleichbare Wertbestimmungen zu erhalten.

Alle diese Untersuchungsmethoden kranken aber an einer Anzahl von Fehlerquellen, die schon Gruber¹ ausführlich angeführt hat. Gruber stellte eine Reihe von Leitsätzen auf, die zum größten Teil noch heute ihre volle Berechtigung haben; leider sind in den meisten Desinfektionsversuchen die Gruberschen Mahnungen nicht genügend berücksichtigt worden. Das ist aber um so mehr zu verlangen, als es sich dabei teilweise um Fehlerquellen handelt, die wohl auszuschalten sind.

Einige dieser Fehlerquellen, die auch heute noch erhebliche Schwierigkeiten machen, haben wir in den folgenden Untersuchungen geprüft und nach Möglichkeit zu beseitigen versucht.

1. Die Zusammensetzung der Nährböden.

Von größtem Einfluß auf jeglichen Desinfektionsversuch ist der benutzte Nährboden. Von ihm sind erstens abhängig die Resistenz der Testbakterien und zweitens die Resultate der Desinfektionsversuche selbst. Haben wir einen schlechten, wenig zusagenden Nährboden, so entstehen bei Züchtung der Testbakterien schwächliche Individuen, deren Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse eine geringe ist. Verwendet man bei der Wachstumsprüfung der der Einwirkung eines Desinfektionsmittels unterworfen gewesen Bakterien einen ungünstigen Nährboden, so können geschwächte Bakterien, die unter günstigen Bedingungen noch entwicklungsfähig sind, nicht mehr aufkommen. Hierzu kommt dann noch in vielen Fällen die weitere Verschlechterung des Nährbodens durch mitübertragenes Desinfiziums.

Ohne Berücksichtigung dieser Faktoren erhält man daher falsche Resultate über den Wert eines Desinfektionsmittels; auf die Zusammensetzung des Nährbodens ist deshalb größter Wert zu legen.

Die Herstellung sämtlicher Nährböden im hiesigen Institute erfolgt an einer Zentralstelle. Obwohl diese in sorgfältiger Weise durch einen Apotheker überwacht wird, haben wir es uns doch zum Prinzip gemacht, alle von uns für Desinfektionsversuche benutzten Nährboden selbst her-

¹ *Centralblatt für Bakteriologie*. 1892. Bd. XI. S. 115.

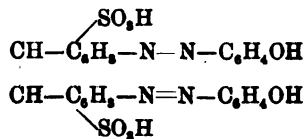
zustellen. Bei der Herstellung der Bouillon verfahren wir folgendermaßen: $1\frac{1}{2}$ kg in einer Fleischmühle frisch gemahlene Rindfleisch werden mit 3 Litern Leitungswasser von gewöhnlicher Temperatur übergossen und in einem lose verschlossenem Gefäß an einem gleichmäßig kühlen Orte 24 bis 48 Stunden stehen gelassen, wobei von Zeit zu Zeit die Masse durchzurühren oder umzuschütteln ist. Dann wird der Fleischkuchen gut abgepreßt, das Fleischwasser $1\frac{1}{2}$ Stunden im Dampftopf erhitzt und von den abgeschiedenen koagulierten Eiweißstoffen abfiltriert. Zu je einem Liter des so erhaltenen Fleischwassers setzen wir 5 g Kochsalz und 10 g Pepton, erhitzen wiederum $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Stunden im Dampftopf und stellen dann mit einer 10 prozentigen Sodalösung (10 g kalziierte Soda in 1 Liter destillierten Wassers) auf den gewünschten Neutral- oder Alkalitätspunkt ein. Nach unseren Erfahrungen gibt die Extraktion des Fleisches bei gewöhnlicher Temperatur durch 24 bis 48 stündiges Stehenlassen im allgemeinen bessere Resultate, als die heiße Auslaugung durch dreistündiges Erhitzen im Dampftopf, wie sie für gewöhnlich geübt wird.

Zur Herstellung des Agarnährbodens verwenden wir sowohl im Sommer wie im Winter 3 Prozent gut trockenen Säulenagar, der dem Fleischwasser nach Auflösung des Peptons und Salzes zugesetzt wird. Im Gegensatz zu Krönig und Paul¹ stellen wir erst nach der Auflösung des Agars mit Alkali ein und verwenden hierzu gleichfalls 10 prozentige Sodalösung. Nach dem Alkalizusatz lassen wir die Bouillonagarauflösung auf 50 bis 55 ° C abkühlen und geben dann zu je 1 Liter eine Auflösung von 10 g Eiweißpulver in ca. 50 cc warmen Wassers von 40 bis 50 °. Der Zusatz der Eiweißlösung hat den Zweck, die Agarlösung zu klären und leicht filtrierbar zu machen. Dies wird erreicht durch weiteres $1\frac{1}{2}$ stündiges Erhitzen im Dampftopf. Die Agarlösung ist erst dann zur Filtration gut, wenn sie im Glas betrachtet klar erscheint und das zugesetzte Eiweiß als Kuchen vollständig abgeschieden ist. 1 Liter der Agarlösung filtriert, wenn heiß aus dem Dampftopf genommen und auf zwei gute Faltenfilter verteilt, innerhalb 10 bis 15 Minuten vollständig und absolut klar, ohne daß ein Heißwassertrichter benötigt wird.

Bei der Neutralisation unserer Nährböden mit 10 prozentiger Sodalösung verwenden wir als Indikator neben Lackmus einen gelben, sehr alkaliempfindlichen, von uns zu diesem Zwecke hier eingeführten Farbstoff mit Namen Brillantgelb. Die Lösung dieses Farbstoffes oder damit getränktes Papier wird durch geringe Mengen sowohl freien wie kohlen-sauren Alkalis orange und durch größere Mengen intensiv rot gefärbt.

¹ *Zeitschr. f. angew. Chemie.* 1901. S. 357.

Zur Herstellung von Brillantgelbpapier verfährt man folgendermaßen. Man schneidet lange Streifen Filtrierpapier von ca. 10^{cm} Breite, färbt dieselben durch langsames gleichmäßiges Durchziehen durch eine Lösung von 1^g Brillantgelb in 1 Liter Wasser und hängt dann die gefärbten Streifen in einem von alkalischen Dämpfen freien Raume auf einer Schnur zum Trocknen auf. Die trockenen Papierstreifen werden dann in kleinere, für den Gebrauch geeignete Stücke geschnitten. Brillantgelb ist ein aus Diamidostilbendisulfosäure und Phenol hergestellter Azofarbstoff von folgender Konstitution:



Wie aus der vorstehenden Formel ersichtlich, hat der Farbstoff vier alkalibindende Gruppen und zeigt von dem intensiven Goldgelb der Farbsäure bis zu den intensiv rotgefärbten gesättigten Alkalisalzen sehr charakteristische, orange gefärbte Zwischenstufen. Brillantgelb ist als Farbstoff nicht im Handel, da es in der Anilinfarbenindustrie nur als Durchgangsprodukt für einen echten gelben Farbstoff, das Chrysophenin, gewonnen wird. Dasselbe wird fabriziert von dem Farbwerk Mühlheim vorm. A. Leonhardt & Co., den Elberfelder Farbenfabriken vorm. Friedrich Bayer & Co. und der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation.¹

Das Brillantgelbpapier hat bei seiner Anwendung zum Alkalisieren der Nährböden vor Lackmus den Vorzug, daß es einen Alkaligehalt deutlicher als letzteres anzeigt und der Laboratoriumsatmosphäre gegenüber nicht so empfindlich wie Lackmus ist. Bei einiger Übung ist die Einstellung mit Brillantgelb eine sehr gleichmäßige und sichere.

Der Alkalizusatz ist abhängig von der Natur des verwendeten Fleisches, schwankt jedoch in nicht allzuweiten Grenzen. Bei Verarbeitung von 3 Pfund Fleisch braucht man gewöhnlich sowohl für schwach alkalische Bouillon, als für Agarnährböden 18 bis 25^{ccm} 10 prozentiger Sodalösung.

Die oft beobachtete übergroße Vorsicht bei Einstellung der Nährböden hat im übrigen, wenn man mit den üblichen Testbakterien, Milzbrandsporen, Staphylokokken und Typhusbazillen arbeitet, nach unserer Erfahrung nicht die Bedeutung, die man ihr vielfach zumißt. Bei Verwendung von 10 prozentiger Sodalösung ist es ziemlich belanglos, ob in einem Quantum von 3 Litern schwach-alkalischer Bouillon oder Agars 3 bis 5^{ccm} mehr oder weniger dieser Alkalilösung enthalten sind. Von groben Fehlern

¹ Es dürfte sich vielleicht empfehlen, den Farbstoff auf seine Brauchbarkeit bei Typhusdifferenzierungsmethoden zu untersuchen.

abgesehen, ist man für gewöhnlich nicht berechtigt, die Ursache eines weniger günstigen Nährbodens in feineren Unterschieden des Alkalitätsgrades zu suchen. Über die wirkliche Ursache, die schwankende Zusammensetzung des Fleisches, soll im folgenden gesprochen werden.

Fleisch, auch derselben Tierart, weist je nach seiner uns meist unbekanntem Herkunft recht erhebliche Unterschiede in seiner Zusammensetzung auf, die chemisch weniger sicher nachweisbar sind, deren Vorhandensein aber in den von uns bereiteten Nährböden sehr deutlich zum Ausdruck kommt. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind die Mineralstoffe des Fleisches von ausschlaggebender Bedeutung. Bereitet man Nährböden aus dem Fleisch verschiedener Tiere der gleichen Spezies unter ganz gleichen Bedingungen, so kann man beobachten, daß dieselben nie völlig gleichwertig sind. Der eine Nährboden wird in einem Falle das Wachstum mehr befördern als der andere und umgekehrt; Unterschiede sind immer vorhanden. Bei den gewöhnlichen kulturellen Arbeiten sind diese Unterschiede jedoch nicht so störend, wie bei Desinfektionsversuchen, wo wir es mit geschwächten Bakterien zu tun haben, die zu ihrer Entwicklung einen voll zusagenden Nährboden gebrauchen. Es ist daher nötig, daß wir uns bei Desinfektionsversuchen nur solcher Nährböden bedienen, die unseren Testbakterien vollkommen zusagen. Wir müssen dieselben vor Ingebrauchnahme auf ihre Eignung prüfen und minderwertige ausschalten. Darüber soll weiter unten ausführlich gesprochen werden.

Es mag hier noch erwähnt werden, daß man bei Herstellung der Nährböden, wie Krönig und Paul¹ es bei ihren Desinfektionsversuchen getan haben, auch von Fleischextrakt ausgehen kann, mit diesem allein wird jedoch nach unseren Erfahrungen ein weniger guter Nährboden als bei Verwendung frischen Fleisches erhalten. Wohl aber läßt sich in vielen Fällen ein minderwertiger Fleischnährboden durch einen Zusatz von 2 bis 3 gr^m Fleischextrakt pro Kilogramm verbessern.

Wir haben eine Reihe von Versuchen angestellt, welche dahin zielten, uns ganz unabhängig von der schwankenden Zusammensetzung des Fleisches zu machen, indem wir Nährböden zusammenstellten, die chemisch einheitliche oder stets gleichmäßig herstellbare Stoffe enthielten, ähnlich, wie dies auch Proskauer und Beck² mit gutem Erfolge für Tuberkelbazillen getan haben. Wir verwendeten: Peptone verschiedener Herkunft, Purinbasen, wie Xanthin, Hypoxanthin, Guanidin, ferner Kreatin, Kreatinin, Asparagin, Traubenzucker und andere Stoffe mehr in Verbindung mit Phosphaten, Chloriden und anderen Salzen und in der verschiedensten Kombination der

¹ A. a. O.

² *Diese Zeitschrift*. 1894. Bd. XVIII.

Stoffe, ohne jedoch zu einem günstigen Resultate zu gelangen. Unsere einzelnen Testbakterien zeigten auf derartigen Nährböden meist nur ein sehr schlechtes oder ein geringeres Wachstum, als auf den Fleischnährböden.

Da auch der verwendete Säulenagar oft Verschiedenheiten zeigt, die sich zum Teil schon in einer besseren oder schlechteren Filtrierbarkeit offenbaren und möglicherweise auch von Einfluß auf das Wachstum der Bakterien sind, so empfehlen die Gärungsphysiologen (Beijerinck, Lindner) den Agar wie folgt zu reinigen: Der Agar wird mit destilliertem Wasser übergossen und längere Zeit, ca. 4 Wochen, sich selbst überlassen, wobei das Wasser öfters erneuert wird. Es findet unter diesen Bedingungen ein Faulprozeß statt und es hinterbleibt ein vollständig klarer Agar, der für Nährböden besser geeignet sein soll als der ungereinigte.

Sehr wichtig ist ferner, was Paul betreffs der zur Bereitung der Nährböden dienenden Gefäße sagt. Nach ihm soll Berührung der Bouillon mit Metall unbedingt vermieden werden; auch wir befolgen streng diesen Grundsatz und bereiten unsere Nährböden entweder in großen Glaskolben oder in gut emaillierten Gefäßen.

Prüfung der Nährböden.

Als Testbakterien verwenden wir bei unseren Desinfektionsversuchen in der Hauptsache Staphylokokken, Milzbrandsporen, Koli- und Typhusbazillen und benutzen zu diesen Versuchen schwach alkalische Bouillon und schwach alkalischen Nähragar. Der schwach alkalische Nähragar dient einerseits zur Fortzüchtung unserer Testbakterien und andererseits bei Milzbranddesinfektionsversuchen neben Bouillon zur Prüfung der Desinfektionswirkung. Bei Versuchen mit Staphylokokken und Typhusbazillen prüfen wir auf Wachstum nach Einwirkung des Desinfektionsmittels ausschließlich mit schwach alkalischer Bouillon.

Unsere, wie früher beschrieben, hergestellten Nährböden prüfen wir nun, bevor wir sie in Gebrauch nehmen, auf ihre Brauchbarkeit. Dies geschieht bei Nähragar in der Art, daß wir die Röhren gleichmäßig mit wenig Material beimpfen und in den Brutschrank von 37° C. bringen. Nach 16 bis 20 Stunden muß dann bereits reichliches, sich über die ganze Agarfläche erstreckendes Wachstum in dicken Schichten erfolgt sein. Es ist aus der Art des Wachstums leicht zu erkennen, ob der Nährboden ein vollwertiger, den Lebensbedingungen der verwendeten Bakterien zusagender oder ob er ein minderwertiger, die natürlichen Kräfte derselben schwächender ist. Kommen z. B. bei Milzbrand trotz gleichmäßiger Beimpfung über Nacht nur einzelne Kolonien auf, so ist der verwendete Nähragar sowohl zur Fortzüchtung als für die eigentlichen

Desinfektionsversuche ungeeignet. Bei farbstoffbildenden Staphylokokken ist neben dem Wachstum in dicken Lagen ein gutes Charakteristikum für einen guten Nährboden, daß sie schon über Nacht im Brutschranke Farbstoff bilden. Die Farbstoffbildung muß bei gewöhnlicher Temperatur nach 2 bis 3 Tagen an Intensität erheblich zunehmen und bei den Aureusstämmen ein wirkliches Goldgelb erreichen. Es mag hier auch bemerkt werden, daß das Wachstum von Staphylokokken auf frischem Nähragar nach unseren Beobachtungen ein schlechteres ist als bei Verwendung eines Nähragars, welcher bereits einige Tage oder selbst Wochen und Monate alt ist und der eine größere Festigkeit und Trockenheit besitzt als der frisch bereitete Agar. Das gewöhnlich geübte Überspülen der beimpften Agarfläche mit dem am Boden des Röhrchens befindlichen Kondenswasser ist bei Staphylokokken überflüssig oder sogar ungünstig, denn sie verlangen zu ihrem Wachstum nur wenig Feuchtigkeit. Dies beobachteten wir sehr deutlich bei einem 5 Monate alten Nähragar, dessen Kondenswasser vollständig verschwunden war. Derselbe zeigte noch das gleich gute Wachstum wie kurz nach seiner Bereitung.

Unsere zur Feststellung der Desinfektionswirkung dienende Nährbouillon prüfen wir in der Art auf ihre Brauchbarkeit, daß wir sie mit einer Bakterienkultur beimpfen, die schon durch ein Desinfektionsmittel geschwächt ist. Bei Staphylokokken, die hauptsächlich bei unseren Versuchen in Frage kommen, verfahren wir folgendermaßen: Wir versetzen eine 24 stündige dichte Staphylokokkenbouillonkultur oder eine dichte Aufschwemmung einer Staphylokokkenagarkultur (1 Agarröhrchen zu 20 physiol. Kochsalzlösung) von bekannter Resistenz zu gleichen Teilen mit einer 1prozentigen Lysollösung, so daß in der Mischung eine Lysolkonzentration von $\frac{1}{2}$ Prozent enthalten ist, lassen bis zu 30 Minuten einwirken, bei welchem Zeitpunkte wir uns der Abtötungsgrenze ziemlich nahe befinden, und beimpfen mehrere Bouillonröhrchen innerhalb dieser 30 Minuten zu verschiedenen Zeiten mit einer großen Öse (ca. 3^{mm} Ø) der Desinfektionsmischung. Sind diese Bouillonröhrchen nach 24 Stunden durch das Wachstum von Staphylokokken so vollständig getrübt, daß wir einen dahinter befindlichen Gegenstand nicht mehr erkennen können, und befindet sich gleichzeitig in den Röhrchen ein reichlicher Bodensatz von Kultur, so ist die geprüfte Bouillon als für Desinfektionsversuche geeignet zu betrachten. In ähnlicher Weise kann man mit anderen zu Desinfektionsversuchen dienenden Testbakterien prüfen. Bei Milzbranddesinfektionsversuchen, bei welchen wir zur Prüfung der Desinfektionswirkung Nähragar und Bouillon verwenden, prüfen wir die beiden Arten von Nährböden mit geschwächtem Milzbrand, der 24 bis 48 stündiger Einwirkung von 5 prozentigem Lysol ausgesetzt war.

2. Die Resistenzschwankungen der Testbakterien.

Von einer Reihe von Forschern, besonders von Gruber¹ wurde schon darauf hingewiesen, daß die zu Desinfektionsversuchen benutzten Stämme pathogener Bakterien sehr verschiedene Resistenz zeigen. Ganz besonders ist dies bei den üblichen Testbakterien, den Staphylokokken, bemerkt worden. Weniger beachtet wurde, daß auch innerhalb eines und desselben Stammes Resistenzunterschiede vorkommen. Dieselben rühren, wie schon aus dem früher Gesagten hervorgeht, zum Teil von der Verschiedenheit der zur Fortzüchtung benutzten Nährböden her. Es ist daher sehr wichtig, daß zur Fortzüchtung immer nur gute und zusageende Nährböden benutzt werden, damit die Resistenz auf möglichst demselben Niveau erhalten wird. Beschäftigt man sich längere Zeit hindurch fortgesetzt mit Desinfektionsmittelpfungen, so richtet man es sich am besten so ein, daß man zur Fortzüchtung wochen- und monatelang stets ein und denselben Agarnährboden, der sich im Eisschranke lange Zeit brauchbar erhält, benutzt. Es erleichtert das Arbeiten ungemein, wenn man bei seinen Desinfektionsversuchen die Resistenz des benutzten Stammes gegenüber einem bekannten, zum Vergleich dienenden Desinfektionsmittel kennt. Bei Staphylokokken schwankt bei Benutzung verschiedenen Nähragars oft die Resistenz in sehr weiten Grenzen. Wir geben nachstehend einige Zahlen, betreffend die Abtötungszeiten eines *Staphylococcus pyogenes aureus*-Stammes, der während der letzten 3 Jahre ausschließlich zu unseren Versuchen benutzt wurde, durch das gleiche Desinfektionsmittel zu verschiedenen Zeiten. Es handelt sich stets um frisch bereitete Staphylokokken-Seidenfäden.

Wachstum nach Einwirkungsdauer von:

Lysol 1 Prozent		5'	10'	15'	20'	25'	30'	40'	50'	60'	70'
Versuch am	5. V. 05	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
" "	24. V. 05	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
" "	3. VI. 05	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
" "	24. VII. 05	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
" "	16. VIII. 05	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
" "	26. VIII. 05	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
" "	27. X. 06	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

¹ A. a. O.

Wachstum nach Einwirkungsdauer von:

Lysol 2 Prozent			5'	10'	15'	20'	25'	30'	40'	50'	60'
Versuch am	14. I.	05	+	+	+	-	-	-	-	-	-
"	"	15. II.	05	+	+	+	+	-	-	-	-
"	"	5. V.	05	-	-	-	-	-	-	-	-
"	"	24. V.	05	+	+	+	-	-	-	-	-
"	"	3. VI.	05	-	-	-	-	-	-	-	-
"	"	16. VIII.	05	+	-	-	-	-	-	-	-
"	"	20. IX.	05	+	-	-	-	-	-	-	-
"	"	17. II.	03	+	+	-	-	-	-	-	-
"	"	7. III.	06	+	+	+	+	+	-	-	-

Resistenzschwankung bei verschiedenen Stämmen von *Staph. pyog. aur.*, an Seidenfäden angetrocknet, gegenüber 1 prozentigem Lysol, unter gleichen Bedingungen geprüft:

Einwirkungsdauer:	15 Minuten	30 Minuten	45 Minuten	60 Minuten
Stamm S.	+	+	+	-
" K.	+	-	-	-
" M. I	-	-	-	-
" M. II	+	-	-	-
" M. III	-	-	-	-
" T.	-	-	-	-

Nachdem wir die Wichtigkeit besonders zusagender Nährböden zur Fortzucht erkannt hatten, sind die Resistenzschwankungen unserer Stämme innerhalb des letzten Jahres nur geringe gewesen. Die Teststämme sollten immer im Eisschranke aufbewahrt und mindestens alle 14 Tage auf neue Agarröhrchen weiter geimpft werden. Zur Entwicklung der neu geimpften Röhrchen genügt ein 24 stündiges Verweilen im Brutschrank bei 37° C. Ist ein Stamm von Staphylokokken durch Benutzung eines weniger zusagenden Nähragars in seiner Resistenz geschwächt, so läßt sich die ursprüngliche Resistenz durch wiederholte Passage über einen guten, zusagenden Nährboden leicht wieder anzüchten. Bei Milzbrandsporen sind die Resistenzschwankungen bei einem und demselben Stamme geringer als bei Staphylokokken. Jedem Milzbrandstamm ist als eine Rasseigentümlichkeit eine bestimmte Resistenz eigen, die er auf lange Zeit beibehält. v. Esmarch und C. Fraenkel¹ haben hierauf schon vor langer Zeit hingewiesen. Bei Differenzen in der Güte des Nährbodens beobachtet man aber auch hier Resistenzschwankungen, die

¹ Diese Zeitschrift. Bd. VI. 521.

sich jedoch ziemlich rasch wieder ausgleichen. Vorteilhaft ist es, den zu Desinfektionsversuchen benutzten Stamm von Zeit zu Zeit eine Tierpassage durchmachen zu lassen. Gewisse Beziehungen scheinen zwischen Resistenz und Virulenz zu bestehen, denn wir konnten beobachten, daß sehr resistente Stämme auch sehr rasch töteten. Ein von uns seit 3 Jahren benutzter und besonders resistenter Milzbrandstamm tötete Mäuse stets in weniger als 24 Stunden, während bei anderen weniger resistenten Stämmen der Tod gewöhnlich erst nach 2 oder mehreren Tagen eintrat.

Bezüglich der Ausführung von Desinfektionsversuchen ergibt sich aus dem bisher Erörterten die Notwendigkeit, während der Dauer einer Versuchsreihe als Nährbouillon und Nähragar stets den gleichen, aus demselben Fleisch und unter denselben Bedingungen bereiteten Nährboden zu verwenden.¹ Hier ist zweifellos die Fehlerquelle für viele ungleichmäßig ausgefallene Desinfektionsversuche zu suchen, denn es ist, wie oben erörtert, leicht erklärlich, daß die durch Desinfektionsmittel geschwächten Bakterien gegenüber Nährböden verschiedenen Ursprunges ein ungleichmäßiges Verhalten zeigen. Von vielen Bakteriologen wird bei Nähragar und Bouillon die Frage der Herkunft wenig beachtet, und es entstehen dadurch nicht allein bei Desinfektionsversuchen, sondern auch bei manchen anderen Arbeiten Fehler, die man sich gewöhnlich nicht erklären kann. Hier sei auf die sich vielfach widersprechenden und unregelmäßigen Resultate bei Typhusdifferenzierungsuntersuchungen hingewiesen, wo wir es mit ähnlichen Verhältnissen wie bei Desinfektionsversuchen, d. h. mit durch Farbstoffzusätze geschwächten Bakterien zu tun haben.

Gleichfalls wichtig ist, daß die Bouillonröhrchen, die nach der Desinfektion zur Aufnahme des Testmaterials dienen, stets die gleiche Menge Bouillon (bei uns 10^{ccm}) enthalten; denn überall, wo nicht die entwicklungshemmende Wirkung von mitübertragenen Desinfiziens vollständig ausgeschaltet ist, spielt die Menge der Nährflüssigkeit (d. h. also die Größe der Verdünnung) eine wesentliche Rolle.

3. Die Desinfektionsmittel.

Eine weitere Fehlerquelle bei Desinfektionsversuchen bildet in vielen Fällen die Herstellung der Desinfektionslösungen, soweit es sich um flüssige Desinfektionsmittel handelt. Es ist allgemein üblich, Gewicht und Volumen zu identifizieren und stets abzumessen, anstatt abzuwägen.

¹ Vgl. Krönig u. Paul, *Diese Zeitschrift*. Bd. XXV. S. 1 ff.

Bei genauen Untersuchungen ist ein derartiges Verfahren nicht statthaft. Bei leicht flüssigen Desinfektionsmitteln, deren spezifisches Gewicht dem des Wassers gleich oder annähernd gleich ist, können durch das Abmessen an Stelle des Abwiegens nur sehr geringe Fehler vorkommen, doch zeigen die verschiedenen Desinfektionsmittel, die vergleichend untersucht werden, oft die größten Unterschiede in ihrem spezifischen Gewicht. Der Fehler des Abmessens wird bei viskosen, dickflüssigen Desinfektionsmitteln dadurch noch sehr vergrößert, daß an den Wandungen der Pipetten viel Material haften bleibt. Wir verfahren, wenn wir uns mit der eingehenden Untersuchung eines Desinfektionsmittels befassen, so, daß wir eine konzentrierte Lösung, beispielsweise von 5 Prozent, durch genaues Abwägen herstellen und von dieser dann durch Abmessen die notwendigen weiteren Verdünnungen herstellen. Die zu vergleichenden Desinfektionsflüssigkeiten sind ferner ebenso wie die chemischen Normallösungen auf ein bestimmtes Volumen einzustellen. Will man z. B. eine genaue 5 prozentige Lysollösung herstellen, so muß man so arbeiten, daß man 5 ^{cm} Lysol in Wasser löst und dann genau auf 100 ^{ccm} einstellt. Falsch ist es, zu der abgewogenen oder abgemessenen Menge des Desinfektionsmittels ganze 100 ^{ccm} Wasser zur Lösung zuzufügen. Bei Herstellung von $\frac{1}{2}$ - bis 1 prozentigen Lösungen ist natürlich der Fehler, den man bei letzterem Verfahren begeht, ein minimaler.

Es ist des weiteren bei vergleichenden Desinfektionsversuchen darauf zu achten, daß alle Desinfektionsmittellösungen die gleiche Temperatur besitzen, denn hier bedingen oft Unterschiede von wenigen Graden schon beachtenswerte Fehler im Resultate. Bei Formaldehydpräparaten ist das Gesagte besonders wichtig (vgl. Schneider).¹

Diese Fehlerquellen sind aber alle vermeidbar; ein anderer Umstand erschwert jedoch weiterhin die Vergleichbarkeit verschiedener Untersuchungsergebnisse, nämlich die schwankende Zusammensetzung der einzelnen Desinfektionsmittel. Besonders bei den Kresolpräparaten sind diese Schwankungen nicht selten. Versuche von Übelmesser² u. a. haben ergeben, daß die Kresolseifenlösungen des Handels keine gleichwertigen Präparate sind. Ihre desinfektorische Wirksamkeit entspricht daher dem relativen Kresolgehalt der Lösung. Dieselben Resultate ergaben unveröffentlichte Versuche von Croner im hiesigen Institute, der ebenfalls erhebliche Schwankungen des Kresolgehaltes feststellen konnte, die mit einem Schwanken der Desinfektionskraft Hand in Hand gingen.

¹ *Deutsche med. Wochenschrift*. 1906. Nr. 6.

² *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXVII. S. 469.

Und wenn selbst der Kresolgehalt der Lösungen ein annähernd konstanter ist, so ist doch die Zusammensetzung des verwendeten Kresols niemals eine ganz gleichmäßige. Denn der Gehalt an den einzelnen Isomeren im Trikresol (Ortho-, Meta- und Parakresol), die untereinander geringe Verschiedenheiten in ihrer Desinfektionskraft zeigen, ist ein veränderlicher. (Vgl. z. B. Fehrs¹ und Schneider.²)

An sich ist diese Fehlerquelle jedoch von geringerer Bedeutung; wenn es gelingt, die anderen erwähnten Fehlerquellen auszuschalten, so ist sie am Resultate der Desinfektionsversuche leicht zu erkennen, sobald es sich um irgendwie erhebliche chemische Differenzen handelt.

Aus allen diesen Gründen sind die Angaben in der Literatur schlecht verwertbar, die nichts als einen zahlenmäßigen Ausdruck der Desinfektionskraft eines geprüften Mittels geben, ohne genaue Schilderung der Versuchsmethodik, und ohne genaue Charakterisierung der Resistenz des verwendeten Testmaterials.

Desinfektionsversuche sind nur vergleichbar, wenn gleichzeitig ein Versuch mit einem Desinfektionsmittel von bekannter Wirkung unter gleichen Bedingungen ausgeführt wird. An das zum Vergleich herangezogene Desinfektionsmittel ist die Anforderung zu stellen, daß seine chemische Zusammensetzung eine absolut konstante ist. Lysol und andere Kreselseifen sind hierzu aus den eben erörterten Gründen nicht verwertbar, da eine Garantie ihrer gleichmäßigen chemischen Zusammensetzung nicht gewährt ist. Es empfiehlt sich somit als Einheit bei Desinfektionsversuchen chemisch einheitlich zusammengesetzte Desinfektionsmittel zu verwenden. Schon Paul³ hat darauf aufmerksam gemacht, daß es aus physikalisch-chemischen Gründen zweckmäßig ist, zu Vergleichszwecken chemisch verwandte Körper heranzuziehen. Dem können wir uns nur anschließen. Für die Desinfektionsmittel aus der Phenolreihe ergibt sich von selbst das reine Phenol als Vergleichsobjekt. Da Phenol sehr hygroskopisch ist, empfiehlt es sich, frisch umkristallisiertes Phenol zu verwenden und daraus eine Standardlösung, enthaltend 90 Teile Phenol und 10 Teile Wasser herzustellen, welche in ihrer Zusammensetzung dem Acidum carboolicum liquefactum des deutschen Arzneibuches entsprechen würde.

¹ *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXVII. S. 730.

² *Diese Zeitschrift*. Bd. LIII. S. 130.

³ A. a. O.

4. Entwicklungshemmende Eigenschaften der Desinfektionsmittel.

Eine erhebliche Fehlerquelle bei der Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel liegt in den entwicklungs-hemmenden Eigenschaften der meisten Desinfizientien. Der größte Teil der Untersucher hat diesen Punkt überhaupt nicht berücksichtigt; andere haben ihn zwar erkannt, aber mit unzureichender Methodik nicht auszuschalten vermocht, und nur wenige Forscher haben die prinzipielle Bedeutung dieses Faktors eingesehen und ihn planmäßig zu umgehen versucht. Geppert¹ machte zuerst darauf aufmerksam, daß dem Testmaterial anhaftendes Sublimat einen Desinfektionseffekt vortäuschen kann, der in Wirklichkeit gar nicht vorhanden ist. Machte er das Sublimat, das den Testsporen anhaftete, durch Neutralisation mit Ammoniumsulfid unschädlich, so zeigte sich, daß Bakterienwachstum noch bei Konzentrationen auftrat, die in der vorherigen Anwendungsweise scheinbar einen vollkommenen Sterilisationseffekt gehabt hatten. Er schlug deshalb vor, Desinfektionsprüfungen mit Bakterienemulsionen vorzunehmen; zur Entfernung des Desinfektionsmittels die einzelnen Proben stark zu verdünnen und, beim Sublimat, mit Schwefelammonium zu neutralisieren. Gruber² stellte auf dem VII. internationalen Kongreß für Hygiene und Demographie in London 1891 all die Fehlerquellen zusammen, die bei der Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln in Betracht kommen (und die zum Teil auch heute noch nicht auszuschalten sind). Er versuchte gleichfalls die Entwicklungshemmung durch starkes Verdünnen der Proben bei der Entnahme zu umgehen und schrieb eine Beobachtungsdauer von 8 bis 10 Tagen vor, um das nachträgliche Auswachsen in ihrer Entwicklung gehemmter Bakterien noch registrieren zu können. Durch die Verdünnung wird zwar der entwicklungs-hemmende Einfluß des Desinfektionsmittels gemindert, gleichzeitig findet aber auch eine nicht unbedenkliche Verdünnung des Bakterientestmaterials statt. Heider³, ein Schüler Grubers, erzielte die Verdünnung auf etwas andere Weise als Gruber und verwandte zur Ausschaltung der Metallsalze die Sulfidbildung mit H_2S oder K_2S . Bellei⁴ versuchte ebenfalls die Grubersche Methodik zu erweitern, indem er der Verdünnung noch die chemische Neutralisation hinzufügt, allerdings in wenig geeigneter Form, er verwandte Ammoniak zur Unschädlichmachung von Phenolen und Formalin. Wir werden später, bei Besprechung unserer eigenen Versuche sehen, daß Ammoniak zur Neutralisation von Formalin in Bakterienemulsionen nicht

¹ A. a. O.

² A. a. O.

³ *Archiv für Hygiene*. 1892. Bd. XV.

⁴ *Münchener med. Wochenschrift*. 1904. S. 301.

geeignet ist; auch die Einwirkung auf Phenole ist keine ausreichende.¹ Golowkoff² meinte, daß eine chemische Neutralisation der Phenole überhaupt nicht möglich sei, da die Testbakterien hierdurch geschädigt würden. Er arbeitete mit an Seidenfäden angetrockneten Sporen und versuchte das Desinfektionsmittel durch ausgiebiges Wässern der Fäden zu entfernen. Th. Paul³, der in seinem „Entwurf zur einheitlichen Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel mit besonderer Berücksichtigung der neueren Theorien der Lösungen“ seine und Krönigs Erfahrungen über Desinfektionsversuche zusammenfaßt, äußert sich auch zur Frage der Entwicklungshemmung und ihrer Beseitigung. Er schlägt vor: zur Unschädlichmachung der Salze von Schwermetallen Schwefelammonium, das auch in großen Verdünnungen die außerordentlich schwer löslichen Metallsulfide erzeugt; Basen sollen mit verdünnter Essigsäure, Säuren mit verdünntem Ammoniak neutralisiert werden. Für Formaldehyd, Phenol und dessen Homologe weiß er aber auch keine sichere Neutralisation anzugeben.

Es ist streng zu unterscheiden zwischen der Tötungskraft eines Desinfektionsmittels und seinen entwicklungshemmenden Eigenschaften. Die folgenden Untersuchungen gelten ausschließlich der Feststellung dieser entwicklungshemmenden Eigenschaften und ihrer Beseitigung. Erst durch Erkennung und Ausschaltung der entwicklungshemmenden Eigenschaften ist es möglich, die Tötungskraft eines Desinfektionsmittels und damit seinen wahren Desinfektionswert zu bestimmen. Alle Untersucher, die das nicht berücksichtigt haben, müssen daher zu falschen Resultaten gekommen sein.

Unsere Untersuchungen erstreckten sich auf die praktisch so wichtigen Desinfektionsmittel der Phenolgruppe und der Formalinreihe, zumal für die Schwermetalle ja im Schwefelammonium ein vollwertiges Neutralisationsmittel schon zur Verfügung steht.

Die Versuchsmethodik zur Feststellung der entwicklungshemmenden Kraft war folgende: Reagensröhrchen, mit 10^{ccm} Bouillon gefüllt, wurden mit je einer Normalöse Staphylokokkenkultur geimpft (24 stündige Bouillonkultur von *Staphylococcus pyogenes aureus*). Ein Röhrchen diente als Kontrolle, in die anderen kamen die Desinfektionsmittel in bestimmten Konzentrationen. Entsprechend den Verhältnissen, wie sie bei Desinfektionsmittelprüfungen vorliegen, wurde eine große Öse des Desinfiziers der

¹ Schneider, *Diese Zeitschrift*. Bd. LIII. S. 153.

² *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXV. S. 889.

³ *Zeitschr. f. angew. Chemie*. 1901. Bd. XIV.

Bouillon hinzugesetzt (30 Ösen = 1^{cem}), so daß eine Verdünnung von 0.033^{cem} auf 10 oder von 0.33 Prozent der Ausgangslösung des Desinfiziens vorlag, wie sie bei den praktischen Wertbestimmungen gleichfalls gegeben ist. Die Röhrrchen kamen sodann in den Brütschrank bei 37°. Nach 24 Stunden wurde ihr Wachstum kontrolliert. Zeigten sich deutliche Differenzen im Wachstum von Kontrolle und den anderen Röhrrchen, so lag Entwicklungshemmung vor. Daß diese Entwicklungshemmung bei längerer Beobachtungsdauer (8 bis 10 Tage), besonders bei den Formaldehydderivaten, häufig noch überwunden wurde, so daß es zu verspätetem Wachstum kam, hat für die vorliegenden Versuche keine Bedeutung. Wir wollten ja gerade das Vorhandensein der Entwicklungshemmung nachweisen.

Von den Derivaten des Phenols und den Desinfektionsmitteln aus dieser Gruppe verwandten wir folgende Präparate, die wir in der angegebenen Weise untersuchten:

Krelution, ein Kresolseifenpräparat mit angeblich 66 Prozent Kresolen.

Bacillol, " " " " 52 " "

Krenatrol, ein Gemisch von 25 Teilen rohen Kresoles und 25 Teilen Natronlauge (nach privater Mitteilung der A.-G. J. D. Biedel).

Rüböl-Kresol, Thoms, eine Kresolseife mit 50 Prozent Kresol und 50 Prozent Rübölseife.

Icid, ein durch Hydrindensulfosaures Natrium löslich gemachtes Kresol mit 40 Prozent Kresolen.

Solveol, ein durch kresotinsaures Natrium löslich gemachtes Kresol mit 27 Prozent Kresolen.

Lysol, 50 Prozent Kresole, 50 Prozent Seife.

Kresol Hey, ein Kresolseifenpräparat mit 50 Prozent Kresolen.

Sapokarbol I, ein Kresolseifenpräparat mit 50 Prozent Kresolen.

Leinöl-Kresol, Thoms, eine Kresolseife mit 50 Prozent Kresol und 50 Prozent Leinölseife.

Creolin, Pearson, das nach Henle¹ aus Seife, Kreolinöl, Pyridinen und Phenolen besteht.

Cyllin, enthaltend 35 Prozent Phenole und 29 Prozent Kohlenwasserstoffe neben Harz und Fettseife.²

In der folgenden Tabelle sind diese Präparate aufgeführt; in den einzelnen Rubriken ist das Wachstum der Staphylokokkenbouillonkultur registriert nach 24 Stunden und bei Zusatz von 1 Öse (0.03^{cem}) des Antiseptikums in den angegebenen Konzentrationen.

¹ *Archiv für Hygiene.* 1889. Bd. IX.

² *J. Kochs Apotheker-Zeitung.* 1905. S. 885.

Tabelle I.

Konzentration des Ausgangs- materials	Krelution	Bacillol	Krenatrol	Rüböl-Kresol Thoms	Icid	Solveol	Lysol	Leinöl-Kresol Thoms	Sapokarbol I	Kresol Hey	Creolin	Cyllin
15 Prozent	+	+	+	+	±	-	±	±	-	-	-	-
10 ..	+	+	+	+	+	+	±	±	±	+	-	-
5 ..	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±	-
3 ..	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	-
2 ..	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ..	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = kräftiges Wachstum wie die Kontrolle,
± = schwaches Wachstum,

± = sehr geringes Wachstum,
- = kein Wachstum.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß in den angewandten Konzentrationen Krelution, Bacillol, Krenatrol, Rüböl-Kresol gar keine entwicklungshemmenden Eigenschaften aufweisen, daß Icid, Solveol und Lysol nur in geringem Maße die Entwicklung der Bakterien stören, daß dagegen Kresol Hey, Leinöl-Kresol, Sapokarbol und ganz besonders Creolin und Cyllin beträchtliche, entwicklungshemmende Eigenschaften besitzen.

Für praktische Versuche sind diese entwicklungshemmenden Kräfte noch von viel größerer Bedeutung, als sie nach der Tabelle I erscheinen. Diese Tabelle entstand ja aus Versuchen mit frischen, lebensfähigen Bakterienkulturen, die von vornherein schon ein starkes Wachstumsbestreben haben. Bei Wertbestimmungen von Desinfektionsmitteln aber handelt es sich um schwer geschädigte, „angefiftete“ Bakterien, die allen äußeren Schädigungen noch viel leichter unterliegen als frischgezüchtete, lebensfähige Bakterien. Schon Geppert¹ hatte gezeigt, daß Sporen, die einige Zeit in Sublimat gelegen hatten, ohne getötet zu sein, auf schlecht zusagenden Nährböden nicht mehr auskeimten, während normale Sporen auf demselben schlechten Nährboden noch ganz gut zum Wachstum kamen.

Wir selbst versuchten auf folgende Weise festzustellen, ob die durch Desinfektionsmittel geschwächten Bakterien leichter in ihrem Wachstum gehemmt werden als normale:

¹ A. a. O.

8 Bouillonröhrchen mit je 10^{com} Inhalt.

- Röhrchen 1: erhält 1 Öse Staphylokokkenaufschwemmung zugesetzt.
 „ 2: „ 1 Öse Staph.-Aufschwemmung, die 10 Minuten einer 1/2 prozentigen Lysollösung ausgesetzt war.
 „ 3: erhält 1 Öse Staph.-Aufschwemmung, die 30 Minuten einer 1/2 prozentigen Lysollösung ausgesetzt war.
 „ 4: erhält 1 Öse Staph.-Aufschwemmung, die 50 Minuten einer 1/2 prozentigen Lysollösung ausgesetzt war.
 „ 5: wie Nr. 2 + Zusatz von 1 Öse Kresol Hey (5 Prozent).
 „ 6: „ „ 3 + „ „ 1 „ „ „ (5 „).
 „ 7: „ „ 4 + „ „ 1 „ „ „ (5 „).
 „ 8: „ „ 1 + 1 Öse Lysol 1/2 Prozent + 1 Öse Kresol Hey (5 Prozent).

Wachstum nach 24 Stunden:

Röhrchen 1:	+	Röhrchen 5:	—
„ 2:	±	„ 6:	—
„ 3:	±	„ 7:	—
„ 4:	+	„ 8:	±

Dieser Versuch zeigt also: die normale Staphylokokkenkultur wächst gut (Nr. 1); die mit Lysol vorbehandelten Kokken zeigen zwar geschwächtes, aber doch deutliches Wachstum in der ihnen zusagenden Nährbouillon (Nr. 2 bis 4); dieselben Kokken wachsen aber nicht mehr, wenn der Nährbouillon etwas Kresol Hey hinzugesetzt ist (Nr. 5 bis 7). Normale Staphylokokken wachsen dagegen in dieser mit Kresol Hey versetzten Bouillon noch ganz gut (Nr. 8).

Der weitere Zusatz einer Öse 1/2 prozentigen Lysols zu Nr. 8, der das Wachstum nicht weiter behinderte, zeigt, daß bei Röhrchen 5 bis 7 nicht etwa eine Summation von Kresol und Lysol vorliegt.

Der Versuch bestätigt also, daß durch Desinfektionsmittel geschwächte Bakterien den entwicklungshemmenden Einflüssen der Antiseptika in sehr viel stärkerem Maße unterliegen als normale Bakterien.

Es muß daher bei praktischen Versuchen der Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln die wachstumshemmende Konzentration noch erheblich tiefer liegen, als Tabelle I sie anzeigt.

Daraus ergibt sich ferner, wie völlig unzureichend eine Kontrolle ist, die viele Untersucher angewandt haben: fanden sie nach ihren Desinfektionsversuchen in einzelnen Röhrchen kein Wachstum; so impften sie frische Bakterien in das Nährmedium. Erhielten sie jetzt Wachstum, so dedu-

zierten sie, daß die Anwesenheit des Desinfektionsmittels nicht entwicklungshemmend gewirkt haben könne. Dieser Schluß ist ganz unberechtigt, wie schon Geppert hervorhob und die eben mitgeteilten Versuche beweisen: wenn frische normale Bakterien in dem Nährmedium, das noch Spuren des Antiseptikums enthält, wachsen, so ist damit noch gar nicht gesagt, daß auch geschwächte „angegiftete“ Bakterien in ihm zur Entwicklung gelangen können. Unsere Versuche beweisen vielmehr das Gegenteil.

Wir haben weiterhin nach der oben beschriebenen Methode auch die entwicklungshemmenden Eigenschaften von Formaldehydpräparaten bestimmt:

Tabelle II.

Konzentration des Ausgangsmaterials	Imperol	Lysoform	Parisol	Melioform	Festoform	Formalin (40 Proz.)
15 Prozent	+	±	—	—	—	—
10 „	+	+	—	—	—	—
5 „	+	+	+	±	—	—
3 „	+	+	+	+	±	—
2 „	+	+	+	+	+	±
1 „	+	+	+	+	+	+

Imperol ist ein inzwischen aus dem Handel zurückgezogenes Formaldehydseifenpräparat.

Lysoform: Formaldehydseifenpräparat mit 60 Prozent Kaliseife und 6 bis 8 Prozent Formaldehyd.

Parisol ist nach W. Lenz und R. Lucius¹ eine alkoholische Kaliseifenlösung, die etwa 10 Prozent Formaldehyd, ferner Karbolsäure, Menthol und Kohlenwasserstoffe enthält.

Melioform ist ein Gemisch von Formaldehyd (25 Prozent), essigsaurer Tonerde und Glycerin.²

Festoform ist ein durch Zusatz von stearinsauerm Natrium in feste Form gebrachtes Formalinpräparat mit ungefähr 30 Prozent Formaldehyd.

Formalin, 40prozentige Formaldehydlösung, Marke Schering.

Nach dieser Tabelle zeigt Imperol gar keine Hemmungswirkung, Lysoform sehr geringe, die anderen Präparate dagegen eine recht beträchtliche, besonders das käufliche 40prozentige Formalin.

¹ *Apotheker-Zeitung*. 1907. Nr. 40.

² Jacobson, *Medizin. Klinik*. 1905. Nr. 15.

Wir haben bereits früher erwähnt, daß man den wahren Desinfektionswert eines chemischen Körpers nur dann bestimmen kann, wenn man seine wachstumshemmenden Eigenschaften auszuschalten vermag. Da dem Creolin und Cyllin in Untersuchungen nach der bisher geübten, fehlerhaften Methode besonders hohe Desinfektionskraft zugeschrieben wird, da ferner in unseren Versuchen diese beiden Präparate besonders starke entwicklungshemmende Eigenschaften besitzen, so wäre es wohl möglich, daß mit Ausschaltung der Entwicklungshemmung ein viel geringerer Desinfektionswert zurückbleiben könnte. Da sich solche praktischen Konsequenzen überhaupt für alle Desinfektionsmittel ergeben, die gleichzeitig entwicklungshemmend wirken, so versuchten wir, die Ausschaltung des Desinfektionsmittels im Nährmedium zu erreichen, und zwar auf chemischem Wege.

Die Bedingungen, die ein solches Neutralisationsmittel erfüllen muß, wenn es brauchbar sein soll, sind die folgenden:

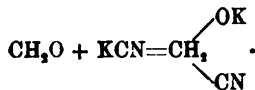
1. Es darf an sich keine entwicklungshemmenden oder bakterienschädigenden Eigenschaften haben.

2. Es muß im Überschuß vorhanden sein, um eine sichere Bindung der ganzen Menge des Desinfektionsmittels zu gewährleisten.

3. Es muß sofort beim Zusammenbringen eine feste, nicht reversible Bindung eingehen.

4. Der aus der Bindung neu entstehende chemische Körper darf keine entwicklungshemmenden oder bakterienschädigenden Eigenschaften haben.

Hierzu einige Erläuterungen: die erste der angeführten Bedingungen „das Neutralisationsmittel darf an sich keine Entwicklungshemmung ausüben“ ist begründet durch die Notwendigkeit, es im Überschuß anzuwenden (2. Bedingung). Z. B.: es gelingt, mit Hilfe von Cyankali den Formaldehyd zu neutralisieren nach der Gleichung:



Trifft man nun genau die Cyankalimenge, die zur Neutralisation des anhaftenden Formaldehyds ausreicht, wie es uns ein paarmal gelang, so könnte man diese Neutralisierungsmethode auch für Desinfektionsprüfungen verwerten. Im allgemeinen gelingt das aber nicht; entweder man wendet zu wenig Cyankali an, dann wird die durch Formaldehyd bedingte Wachstumshemmung nicht völlig aufgehoben, oder man wendet zu viel Cyankali an, dann wirkt der Überschuß von CNK an sich entwicklungshemmend.

Aus diesem Grunde ist daher jedes Neutralisationsmittel zu verwerfen, das an sich entwicklungshemmende Eigenschaften hat.

Die zweite Bedingung „das Neutralisationsmittel muß im Überschuß angewendet werden“ ist eine Sicherheitsmaßnahme, die keiner weiteren Erläuterung bedarf.

Die dritte Bedingung „sofortiges Entstehen einer festen, nicht reversiblen Verbindung“ wird am besten wieder durch einen unserer Versuche illustriert:

Formaldehyd geht mit Anilin unter Wasseraustritt einer Verbindung ein, nach folgender Gleichung:

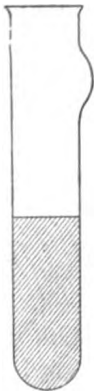


diese Verbindung ist in alkalischer Lösung unbeständig und zerfällt wieder unter Wasseraufnahme in ihre Komponenten; so daß also in der alkalisch reagierenden Bouillon Formaldehyd wieder frei würde.

Ein Neutralisationsmittel ferner, das sich nur langsam mit dem Desinfiziens kuppelt, ist für unsere weiter unten zu beschreibende Versuchsanordnung unbrauchbar. Es muß in kürzester Zeit die Bindung eingetreten sein, sonst ist die Neutralisation nicht ausführbar.

Und schließlich die vierte Bedingung „das neuentstandene Neutralisationsprodukt darf keine entwicklungshemmenden Eigenschaften besitzen“:

Ammoniak ist schon deshalb für eine Neutralisation von Formaldehyd nicht brauchbar, wie zahlreiche Versuche auch mit alkoholischen NH_3 -Lösungen uns lehrten, weil die Bildung von Hexamethylentetramin nicht sofort erfolgt, sondern einige Zeit in Anspruch nimmt. Aber selbst, wenn dieser Fehler nicht vorhanden wäre, bliebe Ammoniak unbrauchbar; denn das entstehende Hexamethylentetramin hat selbst entwicklungshemmende Eigenschaften, und zwar so beträchtliche, daß es vielfach schon zu Konservierungszwecken benutzt worden ist. Man würde also bei einer Neutralisation des Formaldehyds mit Ammoniak zwar die Entwicklungshemmung des Formaldehyds vielleicht ausschalten können, aber nur, um sie durch die des Hexamethylentetramins zu ersetzen. — Für die Ausführung der Neutralisation wie für unsere Wertbestimmungsversuche von Desinfektionsmitteln bedienen wir uns einer neuen Form von Reagensröhrchen, die wir „Buckelröhrchen“ nennen wollen. Der Name wird durch die Abbildung erklärt. Es handelt sich um gewöhnliche, etwas starkwandige Reagensgläser, die 1 bis 2^{cm} unterhalb ihres oberen Randes nach einer Seite hin eine sackförmige Ausbuchtung



— Für die Ausführung der Neutralisation wie für unsere Wertbestimmungsversuche von Desinfektionsmitteln bedienen wir uns einer neuen Form von Reagensröhrchen, die wir „Buckelröhrchen“ nennen wollen. Der Name wird durch die Abbildung erklärt. Es handelt sich um gewöhnliche, etwas starkwandige Reagensgläser, die 1 bis 2^{cm} unterhalb ihres oberen Randes nach einer Seite hin eine sackförmige Ausbuchtung

zeigen, die gerade tief genug ist, um den Inhalt von 3 bis 4 unserer großen Ösen in sich aufzunehmen. Wir haben die ersten Gläser selbst geblasen, die späteren uns von F. u. M. Lautenschläger blasen lassen. Die Röhrchen haben sich für unsere Zwecke bestens bewährt, eignen sich aber auch für andere Zwecke, so für das Verreiben von Bakterien in Flüssigkeiten (Agglutination) u. a. m.

Zu jedem unserer Neutralisierungsversuche benutzten wir fünf Röhrchen, die mit je 10^{ccm} Bouillon gefüllt waren. Die ersten vier wurden mit je einer Normalöse einer 24 stündigen Staphylokokkenbouillonkultur beimpft. Das fünfte Röhrchen blieb unbeimpft.

Röhrchen 1 erhielt keinen weiteren Zusatz (Kontrolle).

Röhrchen 2 erhielt Zusatz von einer Öse (0.03^{ccm}) der Desinfizienmittellösung.

Röhrchen 3 erhielt den gleichen Zusatz wie 2 und außerdem eine Öse des Neutralisierungsmittels. Die Vereinigung von Desinfizien und Neutralisationsmittel wurde in folgender Weise vorgenommen: in den Buckel des schräggehaltenen Röhrchens wurde eine Öse des Desinfizien gebracht, die infolge der Konstruktion des Röhrchens dort liegen bleibt. Mit einer zweiten, gleichgroßen Öse wurde das Neutralisationsmittel hinzugebracht und durch energisches Verreiben der chemische Prozeß in Gang gebracht. Durch stärkeres Neigen des Röhrchens wurde sodann das neutrale Gemisch von der Bouillon heruntergespült.

Röhrchen 4 erhielt Zusatz von einer Öse des Neutralisationsmittels (zur Prüfung auf etwaige Wachstumshemmung).

Röhrchen 5, das ungeimpft war, erhielt denselben Zusatz wie Röhrchen 4 (als Sterilitätskontrolle des Neutralisationsmittels).

Ehe wir nun zu den eigentlichen Resultaten unserer Neutralisierungsversuche übergehen, seien kurz noch einige Nebenergebnisse erwähnt, die sich bei unseren zahlreichen Versuchen ergaben. Wir stellten bei einer ganzen Reihe von chemischen Körpern das Fehlen oder Vorhandensein wachstumshemmender Kräfte fest. Wenn diese chemischen Körper auch für unsere Zwecke schließlich nicht alle in Frage kamen, so können sie doch für andere Versuche von Bedeutung sein; ihre entwicklungshemmenden Eigenschaften sind daher wohl des Interesses wert.

In der von uns angegebenen Versuchsanordnung (Zusatz einer Öse des Materials zu 10^{ccm} frisch geimpfter Bouillon)

Es gelang uns aber auch, die Entwicklungshemmung, die diese Körper bedingen, zum größten Teile auszuschalten, und zwar mit Hilfe einer Emulsionierung und Lösung in Ölen. Als besonders geeignet erwies sich das Rüböl. Bringt man in den Buckel unserer Röhren zum Desinfektionsmittel das Rüböl und sorgt man durch tüchtiges Verreiben für eine gute Durchmischung, so geht der größte Teil des Desinfektionsmittels in das Öl über und schwimmt mit der Ölschicht auf der Bouillon. Eine Diffusion der wirksamen Bestandteile in die Bouillon hinein scheint nicht stattzufinden.

III.

Anordnung wie oben.

Röhren 1:	ohne weiteren Zusatz	+
„ 2:	+ 1 große Öse Cyllin 5 Prozent	-
„ 3:	+ 1 „ „ „ + 1 große Öse Rüböl	+
„ 4:	+ 1 „ „ „ Rüböl	+
„ 5:	1 große Öse Kreolin 5 Prozent	-
„ 6:	1 „ „ „ + 1 große Öse Rüböl	+
„ 7:	1 „ „ „ Kresol Hey 15 Prozent	-
„ 8:	1 „ „ „ + 1 große Öse Rüböl	+
„ 9:	ungeimpft + 1 große Öse Rüböl	-

Mit dieser Methode gelingt es also, die entwicklungshemmenden Eigenschaften des Cyllins und Creolins vollkommen zu beseitigen; sowohl die Kresole (wie der Versuch mit Kresol Hey zeigt) als auch die anderen erwähnten wachstumshemmenden Stoffe gehen in das Öl über.

Welche Unterschiede die Ausschaltung der Entwicklungshemmung bei praktischen Desinfektionsversuchen macht, ergeben die folgenden Versuchsprotokolle. Geprüft wurde die Desinfektionswirkung einer Cyllin- bzw. Creolinlösung auf Staphylokokken (in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt). Je 2 Proben wurden zur Feststellung des Effekts in Bouillon gebracht nach 3, 6, 9 usw. Minuten. Die eine dieser Testproben blieb unbehandelt, die andere wurde vor der Einbringung in Bouillon mit Rüböl neutralisiert. Das Ergebnis war folgendes:

1 prozent. Creolinlösung		Einwirkungsdauer:											
		3'	6'	9'	12'	15'	18'	20'	25'	30'	35'	40'	
Prüfung	ohne Rübölzusatz	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	mit „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

3/4 prozent. Creolinlösung		Einwirkungsdauer								
		10'	20'	30'	40'	50'	60'	70'	80'	90'
Prüfung	ohne Rübölzusatz	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	mit „	+	+	+	+	+	+	+	+	-

$\frac{1}{4}$ Prozent. Cyllinlösung		Einwirkungsdauer										
		3'	6'	9'	12'	15'	18'	20'	25'	30'	35'	40'
Prüfung	ohne Rübölzusatz	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	mit „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Beim Lysol und anderen Desinfektionsmitteln, deren entwicklungs-hemmende Eigenschaften geringer sind, bleiben die Unterschiede nach 24 Stunden noch sehr deutliche; im Verlauf einiger Tage gleichen sie sich etwas aus, weil dann in den nicht neutralisierten Proben die geschwächten Bakterien nachwachsen. Immerhin bleiben auch dann noch Unterschiede von ca. 10 Minuten in den Abtötungszeiten bestehen (bei Konzentrationen von ca. $\frac{1}{2}$ Prozent).

Auf Grund dieser praktischen Versuchsergebnisse müssen wir alle Desinfektionsmittelprüfungen, die auf die entwicklungs-hemmenden Eigenschaften des Desinfiziens keine Rücksicht nehmen, für unzureichend halten. Wenn von englischer Seite z. B. gerade dem Cyllin besonders hohe Desinfektionswirkung zugeschrieben wird, so beruhen diese Angaben nur auf den Prüfungsergebnissen einer Methodik, die auf entwicklungs-hemmende Eigenschaften keine Rücksicht genommen hat. Bei den Desinfektionsmitteln, die sich als Formaldehydpräparate charakterisieren, gelang es uns nicht, eine sichere Neutralisation zu erzielen. Wohl war es möglich, in den Vorversuchen, wo wir mit konzentrierten Lösungen (5 bis 10 Prozent) arbeiteten, die Wachstumshemmung aufzuheben, indem wir den Formaldehyd mit Metatolulendiaminbase kuppelten. Bei den praktischen Versuchen aber, die mit geringeren Konzentrationen des Formaldehyds vorgenommen wurden, fanden wir nicht nur keine Aufhebung der Wachstumshemmung, sondern im Gegenteil eine erhöhte entwicklungs-hemmende Kraft. Wahrscheinlich dissoziiert die entstandene Verbindung in der verdünnten Lösung leicht, so daß Formaldehyd in Bouillon wieder frei wird, oder es handelt sich um verschiedene chemische Prozesse bei der Kuppelung in verdünnten und konzentrierten Lösungen. Im übrigen ist die Entwicklungshemmung des Formaldehyds insofern nicht von sehr großer praktischer Bedeutung, weil sie fast regelmäßig durch verspätetes Wachstum der geschwächten Bakterien wieder ausgeglichen wird. Es erscheint daher zweckmäßig, bei Prüfung von Formaldehydpräparaten die Beobachtungsdauer zu verlängern, solange man den Formaldehyd nicht neutralisieren kann. Oder aber man wendet, wie bei allen Desinfektionsmitteln, deren Wachstumshemmung man nicht völlig ausschalten kann, zur sicheren Bestimmung des Desinfektionswertes die Seidenfadenmethode Kochs an.

Diese Methode ist bei richtiger Anwendung heute noch neben der modifizierten Granatmethode von Krönig und Paul¹ die zuverlässigste zur Bestimmung des wirklichen Desinfektionswertes eines Desinfektionsmittels, denn sie gestattet, das anhaftende Desinfiziens fast vollständig zu entfernen und damit den Einfluß der Entwicklungshemmung so gut wie auszuschließen. Als besonders wesentlich bei der Herstellung der Testfäden ist hervorzuheben, daß dieselben, wie es im Institut für Infektionskrankheiten üblich ist, nach Geheimrat Proskauer, vor der Sterilisation von etwaigen Fettsubstanzen befreit werden, was durch ca. 1/2 stündiges Einlegen in Äther geschieht. Die Sterilisation kann entweder in einem Mullsäckchen im Dampftopf oder im Heißluftschrank geschehen. Die Imprägnierung geschieht mit einer Aufschwemmung von Agarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung (gewöhnlich 4 Agarkulturen auf 50 bis 60 ^{cm}). Die Aufschwemmungen werden durch sterile Glaswolle filtriert. Will man besonders resistente Testfäden erzielen, so empfiehlt sich eine Kulturaufschwemmung in einem Gemisch von physiologischer Kochsalzlösung und Serum. Hierdurch werden für Desinfektionsversuche Verhältnisse geschaffen, wie sie in der Praxis vielfach vorkommen: Bakterien mit Eiweißsubstanzen gleichzeitig angetrocknet. Die Imprägnierungsflüssigkeit soll die Fäden vollständig bedecken und ca. 1 Stunde einwirken. Die an den Fäden sich zeigenden Luftbläschen müssen mit einer Platinoase entfernt werden. Die imprägnierten Fäden läßt man bei dem Herausnehmen abtropfen, breitet sie in einer großen Glasschale gut aus und trocknet dann im Exsikkator über reiner konzentrierter Schwefelsäure 24 bis 48 Stunden. Will man rascher trocknen, so bringt man die bedeckte und an einer Seite gelüftete Schale in den Brutschrank von 37°. Am besten ist es, wenn die Fäden noch eine Spur von Feuchtigkeit besitzen und noch einen gewissen Grad von Weichheit behalten, denn die zu scharf getrockneten und spröden Fäden netzen sich meist schwer in der Desinfektionsflüssigkeit. Verwendet man bei den Desinfektionsversuchen auf 1 Röhrchen Nährbouillon stets die gleiche Anzahl von Fäden, so hat man überall annähernd die gleiche Dosierung von Bakterienmaterial, die in bezug auf Genauigkeit der Dosierung von Krönig und Paul keineswegs nachsteht. Die Desinfektionsversuche mit Fäden haben deshalb erhöhte praktische Bedeutung, weil sie den natürlichen Verhältnissen mehr Rechnung tragen, als es die Granatmethode mit der oberflächlichen Antrocknung tut. Bei der letzteren Methode fällt die Tiefenwirkung fort, und diese ist gerade überall da in Betracht zu ziehen, wo z. B. infektiöses Material an Wäsche, Kleidungsstücken usw. angetrocknet ist.

¹ Diese Zeitschrift. Bd. XXV. S. 1 ff.

Wenn bei der Fadenmethode ungleichmäßige Resultate erhalten wurden¹, so ist dies in folgenden Ursachen zu suchen:

1. in der ungleichmäßigen Imprägnierung der Fäden,
2. in der ungleichmäßigen Benetzung der Fäden durch die Desinfektionslösungen (sämtliche sich zeigende Luftbläschen müssen mit einer Platinöse entfernt werden),
3. in der Mitübertragung von Desinfiziens und
4. in der Verwendung nicht zusagender Nährböden.

Alle vier Ursachen können leicht ausgeschaltet werden. Über 1., 2. und 4. ist schon gesprochen worden. Zu 3. sei bemerkt, daß sich das Desinfektionsmittel durch Spülung der Fäden stets gut entfernen läßt, wenn man dazu die richtigen chemischen Mittel wählt. Für Säuren sind verdünnte Alkalien, für Alkalien verdünnte Säuren zur Neutralisation zu verwenden. Bei phenol- oder kresolhaltigen Desinfektionsmitteln, gleichviel, ob dieselben saure, neutrale oder alkalische Reaktion zeigen, sowie bei den kresol- und teerölenthaltenden Desinfektionsmitteln, wie Creolin oder Cyllin, wird mit verdünnter Natron- oder Kalilauge in einer Verdünnung von 1 bis 5 Promille gespült. Die Spülung muß immer mehrere Minuten dauern, auf 3 Fäden nehmen wir ca. 15 bis 20^{cem} Spülflüssigkeit. Bei Desinfektionsmitteln, welche andere phenolartige Körper enthalten, wie es z. B. bei dem Chinosol, das Oxychinolin enthält, der Fall ist, spült man gleichfalls mit gutem Erfolge mit verdünnten Alkalien. Formaldehyd, dessen entwicklungshemmende Eigenschaften bei der Emulsionsmethode kaum auszuschalten sind, läßt sich leicht durch Einlegen der Fäden während einiger Minuten in sterile ca. 1/2 prozentige Ammoniaklösung und reichliches Spülen in Wasser entfernen. Das sich bildende Hexamethylentetramin bleibt im Spülwasser. Prüft man nach den vorstehenden Angaben, so wird man finden, daß die Resultate bei Benutzung der Fadenmethode in vielen Fällen ganz erheblich anders ausfallen als bei der gewöhnlichen Methode des Abimpfens, bei welcher die Entwicklungshemmung unberücksichtigt bleibt. Wir stellten z. B. auch auf diese Weise fest, daß das seiner hohen Desinfektionskraft wegen viel gepriesene Cyllin schwächere Desinfektionskraft als die Karbolsäure besitzt, der es, nach Angaben der Fabrik, die sich auf wissenschaftliche, experimentelle Untersuchungen stützen, um das Dreißigfache an Desinfektionskraft überlegen sein soll. Auch bei Chinosol, dem eine, dem Sublimat annähernd gleich große Desinfektionswirkung zugeschrieben wird, erhielten wir nach der Fadenmethode schlechte Resultate. Während z. B. erst die 10 prozentige Chinosollösung in knapp 1 Stunde an Fäden angetrocknete Staphylokokken

¹ Vgl. Heider, *Archiv für Hygiene*. Bd. XV. S. 841.

abzutöten vermochte, täuscht die gewöhnliche Methode der Überimpfung von Bakterien-Desinfektionsmittelgemisch in die Nährbouillon bei ungefähr gleicher Beobachtungszeit schon Abtötung durch die 1 bis 2 prozentige Chinosollösung vor. Daß das letztere Resultat nur auf einer Entwicklungshemmung beruht, braucht nicht besonders betont zu werden.

Desinfektionsversuche mit Chinosol.

I. Entwicklungshemmung nicht ausgeschaltet.

Staph. pyog. aur. Agarkultur mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit dem gleichen Volumen einer 4 bzw. 6 prozentigen Chinosollösung versetzt. Desinfektionsgemisch direkt in Nährbouillon verimpft.

Einwirkungsdauer:		5'	10'	15'	20'	25'	30'
Chinosol	2 Prozent	—	+	—	—	—	—
„	3 „	—	—	—	—	—	—

Hier liegt eine scheinbare Abtötung infolge von Entwicklungshemmung vor. In dem folgenden Versuche ist bei Verwendung von Staphylokokken an Seidenfäden die Entwicklungshemmung durch Spülung mit 2 promilliger Natronlauge ausgeschaltet und es ergibt sich eine sehr mäßige Desinfektionswirkung.

II. Staphylokokkenfäden. Entwicklungshemmung ausgeschaltet.

Einwirkungsdauer:		10'	20'	30'	40'	50'	60'
Chinosol	3 Prozent	+	+	+	+	+	+
„	5 „	+	+	+	+	+	+
„	7 „	+	+	+	+	+	+
„	10 „	+	+	+	—	—	—

Desinfektionsversuche mit Cyllin.

I. Entwicklungshemmung nicht ausgeschaltet.

Staph. pyog. aur. Agarkultur mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit dem gleichen Volumen des doppelt konzentrierten Desinfektionsmittels versetzt. Desinfektionsgemisch direkt in Nährbouillon verimpft.

Einwirkungsdauer:		5'	10'	15'	20'	25'	30'
Phenol	1 Prozent	+	+	+	+	+	+
„	1 1/3 „	+	—	—	—	—	—
Lysol	1/2 „	+	+	+	+	+	—
Cyllin	1/2 „	—	—	—	—	—	—

Im vorstehenden Versuche ist die Abtötung durch Cyllin gleichfalls eine scheinbare infolge von Entwicklungshemmung durch mitübertragenes Desinfiziens.

Die beiden folgenden Versuche zeigen den wahren Desinfektionswert von Cyllin.

II. Entwicklungshemmung ausgeschaltet.

Staph. pyog. aur. An Seidenfäden angetrocknet. Spülung mit 1 promilliger NaOH.

Einwirkungsdauer:		5'	10'	15'	20'	25'	30'
Phenol	2 Prozent	—	—	—	—	—	—
Lysol	2 „	+	+	—	—	—	—
Cyllin	1 „	+	+	+	+	+	+
„	2 „	+	+	+	+	+	—

III.

Staph. pyog. aur. Mit Eiweißstoffen an Seidenfäden angetrocknet.

Fäden imprägniert mit einer Aufschwemmung von 24 stündiger Agarkultur in einer Mischung von gleichen Teilen Rinderblutserum und physiologischer Kochsalzlösung. Spülung mit verdünnter NaOH (3^{cem} von 33 Prozent auf 1 Liter destilliertes Wasser).

Einwirkungsdauer:		10'	20'	30'	40'	50'	60'
Phenol	1.5 Prozent	+	+	—	—	—	—
„	2.0 „	—	—	—	—	—	—
Lysol	1.5 „	+	+	+	—	—	—
„	2.0 „	+	—	—	—	—	—
Cyllin	1.5 „	+	+	+	+	+	+
„	2.0 „	+	+	+	+	+	+

Die Desinfektionswirkung des Cyllins geht hiernach bei Gegenwart von Eiweißsubstanzen ganz bedeutend zurück, es zeigt somit ein dem Creolin analoges Verhalten (vgl. v. Behring, Bekämpfung der Infektionskrankheiten, Infektion und Desinfektion).

Analog dem Cyllin verhält sich bei der Prüfung auf seinen Desinfektionswert das etwas weniger entwicklungshemmende Eigenschaften zeigende und infolge seines geringeren Kresolgehaltes auch schwächer desinfizierende Creolin.

Es empfiehlt sich deshalb, in allen den Fällen, wo eine sichere Neutralisierung des Desinfektionsmittels im Buckelröhrchen nicht ausführbar ist, die Kochsche Seidenfadenmethode zu verwenden und die Ausschaltung der Entwicklungshemmung durch Spülung in zweckentsprechenden Lösungen zu erzielen.

Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Darmbakterien, mit besonderer Berücksichtigung der Typhusbazillen.

Von

Ober-Med.-Rat Bezirksarzt Dr. W. Hesse
in Dresden.

Ein Verfahren, das geeignet sein soll, binnen kurzem ($\frac{1}{2}$ bis 1 Tag) festzustellen, wieviel Typhusbazillen eine abgemessene oder abgewogene Stuhlprobe enthält, setzt voraus, daß 1. in dem zur Anwendung kommenden Nährboden alle in der Stuhlprobe enthaltenen Typhusbazillen zu Kolonien auswachsen, und daß 2. diese Kolonien mit Sicherheit als Typhusbazillenkolonien zu erkennen sind.

Diese zwei Forderungen sucht mein Verfahren dadurch zu erfüllen, daß die Typhusbazillen einerseits in einen Nährboden gelangen, in dem sie sicher und schnell wachsen, und daß die Typhusbazillen andererseits eine zweckmäßige Lagerung erhalten, bei der sich die Kolonien, die sie bilden, durch ihr eigentümliches Aussehen von Kolonien anderer Darmbakterienkolonien unterscheiden.

A. Der Nährboden.

Der von mir benutzte Nährboden weicht von dem gewöhnlichen Nähr-Agar Agar nur insofern ab, als er nur 0.5 Prozent Agar Agar enthält und ihm kein Alkali zugesetzt wird.

1 Liter des Nährbodens hat also folgende Zusammensetzung:

Agar Agar.	5	grm
Pepton Witte	10	„
Liebigs Fleischextrakt.	5	„
Kochsalz	8.5	„
Dest. Wasser.	1000	„

Es empfiehlt sich, einerseits den Agar Agar für sich in $\frac{1}{2}$ Liter destilliertem Wasser einzuweichen, zu kochen und in dem von mir angegebenen Fünfrichterapparat zu filtrieren, andererseits Pepton, Fleischextrakt und Kochsalz zusammen in $\frac{1}{2}$ Liter destilliertem Wasser zu verquirlen, zu kochen und (in einem Faltenfilter) zu filtrieren, dann die zwei Filtrate zusammenzumischen, das Gemisch mittels destillierten Wassers auf 1 Liter zu bringen, nochmals aufzukochen, mittels Abfüllapparat in Portionen von genau 10^{ccm} in Reagiergläser, die beim Sterilisieren kein Alkali abgeben, zu verfüllen und zu sterilisieren. (Ich pflege 20 Minuten lang im Autoklaven bei zwei Atmosphären Überdruck zu sterilisieren.)

Der Nährboden ist schwach sauer und weich, läßt sich aber eben noch gut zu Platten ausgießen, die nach dem Erstarren des Nährbodens das Umwenden vertragen.

Enthält eine solche Platte nur einen oder nur einige wenige Typhusbazillen, so wachsen dieselben binnen $\frac{1}{2}$ Tag zu Kolonien von etwa 1^{cm}, binnen 1 Tag zu Kolonien von mehreren Zentimetern Durchmesser aus.

Die bei isolierter Lage kreisrunden Kolonien besitzen ein kleines, weiß gefärbtes Zentrum und einen ebenso gefärbten schmalen Rand, dazwischen eine breite, nahezu farblose Zone. Typhus- und Paratyphusbazillen verhalten sich hierin ganz ähnlich, nur daß der Paratyphusbacillus B schneller wächst, daher größere Kolonien bildet.

B. Die zweckmäßige, systematische Lagerung der Bakterien (Verdünnungsplatten).

Sie geschieht folgendermaßen:

Es werden acht große, starkwandige Reagiergläser, deren jedes 9^{ccm} sterilisierte physiologische Kochsalzlösung enthält, in einer Reihe aufgestellt und numeriert, desgleichen acht sterilisierte Petrische Doppelschalen. In das Glas I kommt 1^{ccm} der zu untersuchenden Stuhlprobe; nach sorgfältigem Auflösen und Durchmischen des Inhaltes des Glases I kommt je 1^{ccm} davon in das Glas II und die Platte I; nach sorgfältigem Durchmischen des Glases II kommt je 1^{ccm} davon in das Glas III und die Platte II usw. bis zum Glase VIII und zur Platte VIII. Nun werden der Reihe nach jeder Schale 10^{ccm} verflüssigter, auf 40° C. abgekühlter Nährboden zugesetzt und mit der darin enthaltenen Menge verdünnten Stuhles innig gemischt. Nach dem Erstarren des Gemisches werden die Schalen $\frac{1}{2}$ bis 1 Tag im Brütoven aufbewahrt.

Schale	I	enthält	0.1	} ^{gram} Stuhl.
"	II	"	0.01	
"	III	"	0.001	
"	IV	"	0.0001	
"	V	"	0.00001	
"	VI	"	0.000001	
"	VII	"	0.0000001	
"	VIII	"	0.00000001	

Findet sich nach $\frac{1}{2}$ bis 1 Tag in Schale VIII 1 Kolonie, so gestattet dies den Rückschluß, daß

in Schale	VII	10	} Keime
"	VI	100	
"	V	1 000	
"	IV	10 000	
"	III	100 000	
"	II	1 000 000	
"	I	10 000 000	
"	"	"	

derselben Art gelangt sind, daß also 1 ^{gram} der Stuhlprobe 100 Millionen Keime derselben Art enthielt.

Ist die Stuhlprobe flüssig, so wird mit je 1 ^{cem} derselben die Verdünnung I hergestellt und die Platte I gegossen. Um in einem Bakterienmisch, wie es eine Stuhlprobe in der Regel darstellt, die Typhusbazillen herausfinden zu können, ist es ratsam, sich zunächst mit Typhusbazillenreinkultur, später mit frischem Stuhle, dem man Typhusbazillenreinkultur zugesetzt hat, Verdünnungsplattenserien anzulegen, und sich daran auf das Arbeiten mit Typhusstühlen einzüben.

C. Verdünnungsplatten von Typhusbazillenreinkultur.

Man verfährt, wie unter B. beschrieben, nur mit dem Unterschiede, daß man dem Glase I 1 ^{cem} Typhusbouillonkultur oder 1 Öse Nähr-Agar Agarkultur zusetzt. Die Serie kann nach $\frac{1}{2}$ oder 1 Tage langem Verweilen im Brütöfen dadurch haltbar gemacht werden, daß man in den Deckel der umgewendeten Doppelschale einige Tropfen Formalin gibt und die Schale mittels Kautschukband verschließt. Die Serie kann dann lange Zeit als Paradigma zum Vergleich dienen.

Da die Typhusbazillen wie viele andere Bakterien die Eigenschaft haben, sich im Brütöfen binnen $\frac{1}{2}$ bis 1 Tag zu um so größeren Kolonien zu entwickeln, je weicher der Nährboden ist und je weniger Bazillen in der Platte sind, werden die bewachsenen Platten je nach der Zahl der

in ihnen vorhandenen Bazillen ein sehr verschiedenes Aussehen aufweisen. In der Tat lassen sich in den ersten Platten einer mit Typhusbazillen ausgegossenen Plattenserie nach $\frac{1}{3}$ - bis 1 tägigem Aufenthalt im Brüt-Ofen infolge der dichten Lagerung der Keime und der hierdurch bedingten Wachstumsbehinderung Kolonien kaum mit dem Mikroskope erkennen, während in den letzten Platten die Kolonien bereits einen Durchmesser von mehreren Zentimetern aufweisen. Während die dicht gelagerten Kolonien kaum etwas Charakteristisches darbieten¹, zeigen die weit auseinandergelagerten das oben geschilderte, eigentümliche Bild. Unter dem Mikroskope erscheinen die großen Kolonien bei schwacher Vergrößerung als blaßbräunliche Nebel, häufig mit durchscheinendem, glänzendem bernsteinfarbenem, geschlossenem Zentrum, in dessen Nähe sich unregelmäßig gerandete dunkelbraune Flecke (Satelliten oder Trabanten) angehäuft finden, die offenbar daher rühren, daß einzelne Bazillen auf ihrer Wanderung liegen geblieben sind und sich an Ort und Stelle vermehrt haben. Verwendet man zufällig besonders weichen, z. B. frisch hergestellten oder noch weniger als 0.5 Prozent Agar Agar enthaltenden oder überhitzten Nährboden, so geschieht es leicht, daß ein einziger in die letzte noch bewachsene Platte gelangter Bacillus binnen 24 Stunden die ganze Platte über- und durchwächst.

Bemerkenswert ist, daß im allgemeinen mit der Größe der Kolonien die Größe und Beweglichkeit der Bazillen zunimmt, daß also in spärlich bewachsenen Platten die Bazillen größer und beweglicher sind als in dicht bewachsenen, ferner, daß in größeren Kolonien die Bazillen des Saumes die zwei- bis dreifache Länge der Bazillen des Zentrums besitzen.

D. Verdünnungsplatten von normalem Stuhl mit künstlichem Zusatz von Typhusbazillenreinkultur.

Wenn man 1^{cm} frischen normalen Stuhl in 9^{cm} sterilem, destilliertem Wasser auflöst und Verdünnungsplatten anlegt, so erhält man in der Regel in der Platte VI Einer von Kolonien, während die Platten VII und VIII unbewachsen bleiben. Bei Verwendung flüssigen und älteren Stuhles enthält nicht selten die Platte VIII noch Zehner von Kolonien. Setzt man nun dem Glase, in dem 1^{cm} Stuhl aufgelöst wurde, eine Öse Typhusbazillenreinkultur zu und gießt man damit Verdünnungsplatten aus, so werden sich die Typhusbazillen in den Platten in der angegebenen

¹ Bei Anwendung alkalischen Nähr-Agar Agars verhält sich dies anders; ich habe es aber aufgegeben, damit zu arbeiten, weil weit voneinandergelagerte Typhusbazillen Kolonien bilden, die sich von Kolonien gewisser, ebenso gelagerter Darmbakterien nur schwer unterscheiden lassen.

Weise lagern und entwickeln und in den Platten, wo nur Einer oder Zehner von Kolonien, darunter Typhusbazillenkolonien zum Vorschein kommen, schon ihrem Aussehen nach mit bloßem Auge erkennen lassen. Ihre Feststellung ist nur in solchen Fällen erschwert, in denen der Stuhl entweder Darmbakterien enthält, die ähnlich wie Typhusbazillen wachsen, oder der Stuhl sehr reich an Darmbakterien ist, z. B. in altem, flüssigem Stuhle, so daß die Darmbakterien die Typhusbazillen an Zahl erheblich übertreffen.

Ist die Zahl der Typhusbazillen im Stuhle so gering, und überwiegen die Darmbakterien derart, daß die Typhusbazillen überhaupt nur in den ersten Verdünnungsplatten vorhanden sind, so fallen die Typhusbazillenkolonien in den Platten, in denen sie nur als Einer oder Zehner enthalten sind, schon durch ihre Größe (1 bis 2^{cm} Durchmesser) auf; sie bilden dann gleichmäßige milchfarbene Flecke, indem ihr bei isolierter Lage charakteristisches Aussehen infolge des Einschlusses von Darmbakterienkolonien verloren gegangen ist. Da es, wenn auch nur wenige Darmbakterien gibt, die ähnlich wachsen, wie Typhusbazillen, entscheidet in solchen Fällen, wie überhaupt, das Mikroskop und die Serumprobe.

Man bringt zu dem Zweck ein mittels Glaskapillare einer verdächtigen Stelle der Platte entnommenes Tröpfchen im hohlgeschliffenen Objektträger unter das Mikroskop (Immersion); finden sich nach Aussehen und Beweglichkeit typhusähnliche Bakterien, so fügt man ein etwa ebenso großes Tröpfchen Typhusserum in der Verdünnung von 1:1000 hinzu; tritt sofortiger Stillstand der Bewegung der verdächtigen Bazillen ein, so hat man es mit Typhusbazillen zu tun.

Auf den Eintritt von Agglutination darf man nicht sicher rechnen, weil die Typhusbazillen einerseits zu vereinzelt liegen, andererseits durch die an Zahl weit überwiegenden Darmbakterien, die in der Platte in kleinen geschlossenen Kolonien dicht beisammen lagern, auseinandergehalten zu werden pflegen. Dies ist auch der Grund, warum es mitunter schwer oder gar nicht gelingt, die Typhusbazillen aus solchen Gemischen mittels Verdünnungsverfahrens herauszuzüchten.

Nur in seltenen Fällen bleibt der Nachweis der Typhusbazillen überhaupt aus, und zwar dann, wenn sich in dem typhusbazillenarmen Stuhle Darmbakterien befinden, die in Aussehen und Bewegung den Typhusbazillen gleichen.

E. Verdünnungsplatten vom Stuhl Typhuskranker oder Typhusverdächtiger.

Man verfährt genau wie unter B. beschrieben.

Bei Überwiegen oder reichlicher Anwesenheit von Typhusbazillen

findet man neben den Kolonien der Darmbakterien die schon für das bloße Auge charakteristisch gewachsenen isolierten Kolonien in der letzten Platte, bez. in den letzten Platten, und in den vorhergehenden Platten dieselben Bilder, wie in einer zum Vergleich aufgestellten mit Typhusbazillenreinkultur hergestellten Plattenserie. Im übrigen befindet man sich denselben Verhältnissen und Aufgaben gegenüber, wie sie Plattenserien, die mit Stuhl und Typhusbazillenkulturzusatz hergestellt wurden, darbieten (vgl. D.).

Man verfährt also zweckmäßigerweise folgendermaßen:

Man gießt die Plattenserie und durchmustert die Platten nach $\frac{1}{2}$ - bis 1 tägigem Aufenthalte im Brütöfen. Befanden sich zahlreiche Typhusbazillen in der Stuhlprobe, so erkennt man in der letzten oder in den letzten Platten isoliert liegende Kolonien an ihrem charakteristischen Aussehen. Fehlen isolierte Typhusbazillenkolonien, so sucht man nach 1 bis 2^{cm} Durchmesser besitzenden milchig gefärbten Kolonien und prüft dieselben mittels starker Vergrößerung und Typhusserum, und zwar beginnt man damit in der Platte, worin sich nur Einer der verdächtigen Kolonien befinden. Enthalten diese Kolonien keine Typhusbazillen, so fahndet man in den dichter bewachsenen Platten in derselben Weise auf ähnliche Kolonien.

Das Verfahren, das im gegebenen Falle bis zur Fertigstellung der Platten nur etwa 20 Minuten beansprucht, eignet sich demnach im allgemeinen vortrefflich zum Nachweise der Typhusbazillen im Stuhle, und es verdient namentlich in Fällen Anwendung, in denen die sonst üblichen Methoden versagen. Es ist somit als eine Bereicherung der zur Züchtung der Typhusbazillen aus dem Stuhle bekannten Methoden anzusehen.

Die Unvollkommenheit des Verfahrens liegt in der mitunter schwierigen Feststellung der Typhusbazillen infolge Anwesenheit sich ähnlich verhaltender Darmbakterien. Dem stehen als Vorzüge gegenüber, daß

1. die in 0.1st Stuhl enthaltenen Typhusbazillen insgesamt zu Kolonien auswachsen, die in der Regel erkennbar sind,

2. die Zahl der in 0.1st Stuhl enthaltenen Typhusbazillen annähernd genau festgestellt wird,

3. die ganze Flora von 0.1st Darminhalt, soweit sie sich in dem gegebenen Nährboden entwickelt, quantitativ vor Augen geführt wird. Schematisch betrachtet, legt die letzte Verdünnungsplatte ziffernmäßig dar, welches Bacterium in der Stuhlprobe bez. in dem betreffenden Darm vorherrscht, und in welchen Mengen es vorhanden ist; die vorletzte Verdünnungsplatte gibt denselben Anschluß über das nächst häufige Bacterium usw. Bei Betrachtung der Verdünnungsplatten wird man nicht

selten finden, daß ein Bacterium, das sich durch besonderes Wachstum, z. B. Größe, Farbe, Gestalt auszeichnet, in Platte I zu Hunderten, in Platte II zu Zehnern, in Platte III zu Einern auftritt, in den folgenden Platten naturgemäß fehlt, demnach derselbe Vorgang, falls er sich in den Platten IV bis VI wiederholt, durch ein anderes Bacterium bedingt sein muß.

Das Verfahren eignet sich demnach überhaupt zur quantitativen Bestimmung der Darmbakterien. Wenngleich ich dasselbe in den letzten 5 Jahren bei vielen Hunderten von Stuhlproben angewandt habe, so bin ich doch weit davon entfernt, das Material genügend ausgenutzt zu haben. Abgesehen von äußeren Umständen, liegt dies einerseits daran, daß es mir hauptsächlich auf das Herauszüchten von Typhusbazillen ankam, andererseits daran, daß mir die Stuhlproben meist erst einen oder mehrere Tage nach ihrem Ausscheiden und meist auch von einem Kranken nur eine oder nur wenige Stuhlproben zuzingen. Krankenhausärzte sind in dieser Hinsicht wesentlich besser gestellt, indem sie die Stühle frisch und nach Bedarf wiederholt in Untersuchung nehmen können.

Ich benutze aber freudig die Gelegenheit, den Herren Vorständen und Assistenten der hiesigen Krankenhäuser, die mich mit Stuhlsendungen und auch sonst durch ihr Interesse an meiner Studie unterstützt haben, an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Ich erwarte, daß in ihren Händen sich mein Verfahren fruchtbringend erweisen wird.

Meine eigenen Wahrnehmungen will ich in folgenden Sätzen kurz zusammenfassen:

1. Die Typhusbazillen fanden sich im Stuhle Typhuskranker im allgemeinen auf der Höhe der Krankheit und in dünnflüssigen Stühlen am zahlreichsten, bis zu Reinkulturen in Platte VIII, d. i. zu Hunderten von Millionen in 1 cm^3 , bzw. 1 ccm ;
2. sie pflegten mit dem Ablauf des Fiebers aus dem Stuhle zu verschwinden;
3. sie waren mitunter schon in den ersten Fiebertagen, ja schon vor Eintritt des Fiebers nachweisbar;
4. ihre Zahl schwankte bei ein und demselben Kranken innerhalb kurzer Zeitabstände beträchtlich;
5. sie wurden in klinisch sicheren Typhusfällen wiederholt gänzlich vermißt, namentlich in der 2. Hälfte der Krankheit; im Rezidiv stellten sie sich wiederholt ein;
6. in einigen Fällen wurde einerseits die klinisch zweifelhafte Diagnose durch den Nachweis der Typhusbazillen gesichert, andererseits die anscheinend sichere klinische Diagnose durch die Abwesenheit der Typhusbazillen in Frage gestellt;

7. zweimal gelang es, aus einer Anzahl von Personen, unter denen ein Dauerträger vermutet wurde, denselben ausfindig zu machen.

In beiden Fällen waren die Typhusbazillen so reichlich vorhanden, daß ihre Kolonien in den letzten Verdünnungsplatten nach $\frac{1}{2}$ - bis 1 tägigem Aufenthalte im Brütöfen schon mit bloßem Auge sicher zu erkennen waren.

8. Das Verfahren eignet sich, wie zur quantitativen Bestimmung der Darmbakterien, bei Anwendung der erforderlichen Versuchsabänderungen auch zur quantitativen Bestimmung der Bakterien in Flüssigkeiten, z. B. Wasser, Milch, Abwasser.

Über Schutzimpfung gegen Pest auf Formosa.

Von

Dr. K. Tsukiyama,

Direktor des staatlichen Kilung-Hospitals auf Formosa (Japan).

Seitdem Haffkine¹ im Jahre 1897 in Ostindien zwecks des Pest-schutzes beim Menschen ein aktives Immunisierungsverfahren eingeführt hatte, wurde auch von der deutschen Pestkommission und von Lustig-Galeotti die Schutzimpfung gegen Pest empfohlen.

Wenn auch eine endgültige Beurteilung der gewonnenen Resultate bisher noch nicht möglich ist, so wird doch anerkannt, daß die Schutzimpfung als Vorbeugungsmittel gegen die Pest nicht mehr zu entbehren ist. Es ist also notwendig, daß beim Ausbruch der Pest diese Schutzimpfung bei allen Personen ausgeführt wird, die direkt der Infektionsgefahr ausgesetzt sind, so namentlich bei Ärzten, dem Wartepersonal von Pestkranken, bei Dienern in Pestuntersuchungsinstituten und bei Desinfektoren, ferner bei Bewohnern kleinerer Gemeinwesen, bei Mannschaften auf Schiffen und in Kasernen.

In Japan selbst wurde im Jahre 1899 von Prof. Dr. Kitasato, Direktor des Regierungsinstituts für Infektionskrankheiten in Tokio, ein besonderer Impfstoff hergestellt, mit dem von Prof. Dr. Shiga, Prof. Dr. Shibayama (beide Sektionschef des obengenannten Institutes) und Dr. Hada in Osaka, Kobe und Wakayama praktische Versuche angestellt wurden. Auch von Prof. Dr. Jokote wurde die Schutzimpfung einer Prüfung unterworfen.

¹ Kolle u. Wassermann, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*. Bd. II. T. II. S. 932 ff. Jena 1904.

Zeitschr. f. Hygiene. LVIII.

Die Ergebnisse dieser aktiven Schutzimpfung, die sowohl in Indien wie in Japan vorgenommen wurde, sind im wesentlichen folgende:

In dem Byculla-Gefängnis zu Bombay erkrankten innerhalb vier Jahren (1897 bis 1901) von 188 Nichtgeimpften 12, davon starben 6. Dagegen erkrankten von 154 unter denselben Verhältnissen lebenden geimpften Personen nur 2.

In dem portugiesischen Damaun wurden vom 23. bis 26. März 1897 1017 Personen geimpft, davon erkrankten bis zum 23. April 23 und starben 6 (= einer Sterblichkeit von 0.58 Prozent). Von den 7213 Ungeimpften starben in demselben Zeitraum 716 (= einer Sterblichkeit von 9.9 Prozent). Von 1639 Personen, geimpft vom 17. April bis 2. Mai, erkrankten vom 2. bis 19. Mai 64, es starben davon 27 = 1.6 Prozent. Von den nicht geimpften Personen sind in der gleichen Zeit 5869 Krankheitsfälle mit 674 Todesfällen (= 11.5 Prozent) zu verzeichnen. Ferner wurden vom 21. bis 23. Mai 364 Personen der Schutzimpfung unterworfen, davon erkrankten bis Ende Mai 4 und starben 3 (= 0.14 Prozent). Von den Ungeimpften erkrankten 4643 und starben 93 (= 2.0 Prozent).

In Lanowli erkrankten von 377 Ungeimpften 78 und starben 57, von 323 Geimpften dagegen erkrankten nur 14 und starben 7; der Unterschied in der Zahl der Todesfälle beträgt also 85.7 Prozent.

In Artillerie-Kantonement zu Kirkee kamen unter 671 Geimpften 32 Erkrankungen (4.7 Prozent) und 17 Todesfälle (2.5 Prozent) vor, unter den 859 Ungeimpften dagegen 143 Erkrankungen (16.6 Prozent) und 98 Todesfälle (11.4 Prozent).

In dem Umerkadi-Gefängnis zu Bombay erkrankten unter 147 Geimpften 3, unter 127 Ungeimpften 10, davon starben 6.

In Undhera fand man bei 71 Geimpften 8 Krankheitsfälle und 3 Todesfälle und bei 64 Ungeimpften 27 Krankheitsfälle und 26 Sterbefälle, also unter den Geimpften 89.6 Prozent weniger Mortalität.

In Hublini verminderte sich auch bedeutend die Zahl der Todesfälle durch Impfung.

In Japan war weder ein Erkrankungsfall noch ein Todesfall unter den Geimpften der obengenannten Städte zu verzeichnen.

Neben der Wirksamkeit dieses Impfstoffes muß noch konstatiert werden, wie lange die durch die Impfung erlangte Immunität andauert? Die Antwort auf diese Frage ist je nach den Autoren verschieden:

Nach Haffkine wird die Immunitätsdauer auf wenigstens eine Epidemieperiode (4 bis 6 Monate) festgesetzt.¹

¹ *Lancet*. 1899.

Die deutsche Pestuntersuchungskommission fand, daß die Immunität 7 Tage nach der Impfung auftritt und 5 bis 6 Monate dauert.¹

Calmette berichtet über die Ergebnisse der Schutzimpfung mit Haffkines Impfstoff bei Affen, Meerschweinchen und Mäusen. Danach wurden von einer 1 Monat alten Bouillonkultur, die durch einstündiges Erwärmen auf 70° abgetötet war, 3^{cem} auf einmal den genannten Tieren injiziert. Nach 7 Tagen wurde erst der Beginn der Immunität erkennbar und dieselbe dauerte bei Meerschweinchen 3 Wochen, bei Affen 1 Monat, und bei Mäusen hielt sie sogar durch die einmalige Impfung mit 2^{cem} 3 Monate an. Zwar können diese Versuchsergebnisse nicht ohne weiteres auf die Immunität beim Menschen übertragen werden. Dennoch darf man danach annehmen, daß beim Menschen, der sehr empfänglich für das Pestgift ist, die Immunität von längerer Dauer sein wird, analog den Versuchsergebnissen bei Mäusen, die ebenfalls sehr empfänglich für Pest sind und bei denen die Immunität viel länger anhält, wie bei den weniger empfänglichen Meerschweinchen.²

Prof. Dr. Shibayama und Dr. Hada (Japan) haben folgenden Bericht über den Impfversuch mit Kitasatos Impfstoff bei Meerschweinchen erstattet:

Es ist sicher, daß die Versuchstiere nach der Impfung mit Impfstoff unter bestimmten Bedingungen Widerstand gegen die Pestinfektion zeigen und dadurch dem Tode entgehen und länger am Leben bleiben. Betreffs der Dauer der vorbeugenden Wirkung können zwar die beiden Herren zuverlässige Resultate nicht aufstellen, denn sie mußten wegen anderweitiger Arbeiten die Untersuchungen zeitweise einstellen. Aber so viel sei festgestellt, daß die Immunität beinahe 3 Monate anhalten könne, ja sogar nach 4 Monaten dieselbe mehr oder weniger vorhanden sein könne. Sie behaupten ferner, daß die Immunität erst 10 Tage nach der Impfung auftritt.³

Wie oben angeführt ist, kann die Immunitätsdauer nicht einheitlich festgestellt werden. Es unterliegt aber keinem Zweifel, daß die Ansichten über die präventive Wirkung der seit etwa 10 Jahren ins Leben gerufenen Schutzimpfung gegen Pest mannigfaltig sind, wie auch bei der Pockenlymphe, die seit 100 Jahren überall verbreitet ist, die Immunitätsdauer noch nicht einheitlich festbestimmt ist.

¹ *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXIII. Nr. 16/17.

² *Zeitschrift für Bakteriologie*. (Japan.) Nr. 58.

³ A. a. O. Nr. 65.

Was die Pestepidemie in Formosa speziell anbelangt, so ist es hier eigentümlich, daß in jedem zweiten Jahre seit der Annektion durch Japan (1895) große Epidemien geherrscht haben, während in anderen Jahren nur sporadische Pestfälle vorkamen; so trat die Pestinfektion in den Jahren 1897, 1899 epidemisch und in den Jahren 1896, 1898, 1900 sporadisch auf.

Eine genaue Erörterung über alle diese Epidemiejahre kann nicht gegeben werden, denn die vorliegende Abhandlung beschäftigt sich nur mit den Resultaten der Schutzimpfung, welche erst in den beiden letzten Epidemiejahren (1901 und 1904) ausgeführt worden ist.

Aus dieser regelmäßig wiederkehrenden Epidemieperiode, zumal aus dem Vorhandensein der massenhaft gestorbenen Ratten, vom Winter 1900 bis Frühling des folgenden Jahres in Tainan sah man voraus, daß in diesem Jahre (1901) wieder eine Epidemie herrschen würde. Wie vermutet kamen schon am 29. November 1900 im Zollamt Anping ein Fall und am 25. Dezember im Gefängnis auch ein Fall vor. Seit dieser Zeit verbreitete sich die Pest mit großer Geschwindigkeit in der Umgebung, so daß vom Januar bis Mitte April 1901 541 Pestfälle in dem Regierungsbezirk von Tainan gezählt wurden.

Zur Zeit dieser Epidemie hatte das Gouvernement von Tainan eine gründliche desinfizierende Reinigung der Straßen und Wohnungen und zugleich die Schutzimpfung mit Kitasatos Impfstoff energisch empfohlen. Der Verfasser dieser Abhandlung beschäftigte sich hauptsächlich mit der Schutzimpfung. Zu diesem Zwecke wurden folgende Maßregeln getroffen:

1. In den Epidemiegegenden muß nicht bloß bei den Leuten in dem Hause, wo der Erkrankte wohnt, sondern auch bei der ganzen Einwohnerschaft in der Umgebung die Schutzimpfung ausgeführt werden.
2. Die sämtlichen Beamten der Regierung und Privatkorporationen der Epidemiegegend müssen unbedingt geimpft werden.
3. Außerdem können die Leute, die aus eigenem Antrieb die Schutzimpfung wünschen, zu jeder Zeit geimpft werden.

Zur Impfung wurde der konzentrierte Impfstoff gebraucht. Das Quantum dieses Impfstoffs wurde mit Rücksicht auf die körperliche Beschaffenheit und das Alter genau der von dem Institut für Infektionskrankheiten in Tokio vorgeschriebenen Gebrauchsanweisung entsprechend differenziert.

Für die Anwendung des Impfstoffs wurden folgende Regeln festgesetzt:

1. Die Impfung soll bei jeder Person zweimal ausgeführt werden.
2. Die Menge des Impfstoffs ist folgendermaßen bemessen; sie kann aber nach Körperbeschaffenheit nach oben und nach unten einige Abweichungen erleiden. a) Bei der ersten Impfung soll die Menge nach

dem Lebensalter bestimmt werden, und zwar bei den Impfungen von 16 bis 50 Jahren 1.0^{ccm}, bei solchen von 11 bis 15 und über 50 Jahren 0.7^{ccm}, und bei den 6 bis 10-jährigen 0.5^{ccm}. Es kann auch bei den 5 bis 1/2-jährigen Kindern die Impfung vorgenommen werden. In diesem Falle nehme man je nach dem Alter nicht über 0.3^{ccm} Impfstoff. b) Bei der zweiten Impfung soll je nach dem Grad der Reaktion 2 bis 3-fach mehr als die Menge bei der ersten Impfung genommen werden.

3. Die zweite Impfung soll 5 bis 10 Tage nach der ersten Impfung ausgeführt werden.

4. Zur Impfung wähle man die weichen Hautteile der Subskapular-gegend, halte die Impfnadel schräg und steche tief unter die Haut. Es kann auch je nach dem Beruf in andere Körperteile geimpft werden. Die zu impfende Gegend soll vor und nach der Ausführung mit Alkohol sorgfältig gereinigt werden. Die Impfnadel soll nach dem Gebrauch mit 5-prozentigem und nachher nochmals mit 0.5-prozentigem Karbolwasser gründlich desinfiziert werden.

5. Der Impfstoff soll vor dem Gebrauch jedesmal geschüttelt werden.

6. Der Impfstoff soll im kalten und dunklen Raum aufbewahrt werden; derselbe soll über zwei Monate nach der Herstellung nicht verwendet werden.

7. Hat der Behälter das Zeichen „konzentriert“, so nehme man von dessen Inhalt die Hälfte des oben genannten Quantum.

Der Verfasser hat von August 1900 bis Februar 1901 regelmäßig zweimal geimpft, von da an aber erschienen die erst Geimpften nicht zur zweiten Impfung, da die Geimpften sich wegen der reaktiven Erscheinungen (Kopfweg, Fieber usw.) nach der ersten Impfung fürchteten, nochmals geimpft zu werden. Aus diesem Grunde wurde seit Februar 1901 ein solches Quantum auf einmal geimpft, wie es für zweimalige Impfungen gelten soll.

Das Resultat der Impfung konnte der Verfasser wegen der angehäuften Arbeit nicht bei allen Geimpften konstatieren. So viel ist aber sicher, daß bei den 1358 geimpften Beamten und anderen Korporationsmitgliedern, die er selbst genau betrachtet hat, eines oder mehrere von nachstehenden Symptomen als Reaktionserscheinungen zu beobachten waren: Müdigkeit, Kopfschwere, Kopfweg, Temperatursteigerung, lokaler Schmerz, selten Anschwellung der Hals- und Achseldrüsen. Die reaktionslos Gebliebenen betragen 3 Prozent von den beobachteten Geimpften.

Zur übersichtlichen Darstellung der Ergebnisse der Schutzimpfung gegen Pest diene Tabelle I. Die Impfung seit August 1900 ist, wenn auch damals die Pest nicht epidemisch auftrat, in der Tabelle mitgezählt.

K. TSUKIYAMA:

Nr.	Städte und Dörfer	Häuser	Einwohner	Golmpfte Ungeimpfte	Krankheitsfälle	Krankheitsfälle in Promille	Sterbefälle	Sterbefälle in Promille
1	Stadt Tainan	10871	47882	18678 81895	80 1180	1.01 86.41	18 948	0.9 29.9
2	" Anping	1124	5978	605 4778	1 21	1.65 4.40	1 17	1.7 8.6
3	" Takao	989	4862	1247 3615	—	—	—	—
4	Dorf Kyoshito	51	198	187 61	—	—	—	—
5	Stadt Taiko	204	691	124 507	2 87	16.13 171.60	2 69	16.1 186.9
6	" Wanzi	690	2765	27 2738	—	—	—	—
7	Dorf Söbun	34	158	72 86	1 8	13.89 98.02	1 5	13.9 58.1
8	" Mato	1892	10095	55 10040	—	—	—	—
9	" Kanahi	45	347	273 74	3	—	2	—
10	Stadt Jemsuko	1475	6701	1821 5880	1	—	—	—
11	Dorf Shinyei	789	3656	209 3447	1	—	1	—
12	Stadt Kagi	4610	19039	2075 16964	2 291	0.96 13.62	2 199	1.0 11.7
13	Dorf Hoteishi	499	3886	436 2800	—	—	—	—
14	Stadt Bokushi	1412	6677	2097 4580	5 170	2.88 97.12	3 148	1.4 92.3
15	" Shinko	806	4505	44 4461	—	—	—	—
16	Dorf Rokkiak Den	288	1527	380 1157	—	—	—	—
17	" Giorjo	140	701	213 488	—	—	—	—

Um die Zahl der Krankheitsfälle und Sterbefälle bei Geimpften und Ungeimpften genau zu vergleichen, werden die Krankheits- und Sterbefälle ausschließlich bei den Geimpften von der Tabelle I herausgenommen und in der Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

Vergleichende Zusammenstellung der Krankheits- und Sterbefälle bei Ungeimpften und Geimpften.

Nr. der Tabelle I	Ortschaften	A. Krankheitsfälle in ‰			B. Sterbefälle in ‰		
		Ungeimpfte	Geimpfte	weniger bei Geimpften	Ungeimpfte	Geimpfte	weniger bei Geimpften
1	Tainan	86.41	1.91	34.5	29.88	0.82	29.7
2	Anping	4.40	1.65	2.8	8.56	1.65	1.9
5	Taikao	171.60	16.13	155.5	136.09	16.13	120.0
6	Sobun	93.02	13.89	79.1	58.14	13.89	44.3
12	Kagi	13.62	0.96	12.7	11.73	0.96	10.8
14	Bokushi	37.12	2.88	34.7	32.82	1.43	30.9

Wenn diese einzelnen Fälle nicht in Prozenten, sondern zahlenmäßig zusammengestellt werden, so bekommt man folgendes Bild:

Tabelle III.

	Krankheitsfälle	Sterbefälle	Prozente
Geimpfte	41	22	53.7
Ungeimpfte	1511	1265	83.7

Hieraus ist zu ersehen, daß die Krankheitsfälle bei Geimpften weniger als den 36. Teil wie von den Ungeimpften betragen und daß sich die Sterbefälle bei ersteren um etwa 30 Prozent vermindert haben.

Diese bedeutende Differenz der Krankheits- und Sterbefälle zwischen den Geimpften und Ungeimpften, wie sie die Tabellen II und III zeigen, ist auf die Wirkung der Schutzimpfung zurückzuführen.

Bei diesen 41 Krankheitsfällen der Geimpften ist ferner zu untersuchen, wie lang die Zeitdauer von der Impfung bis zum Beginn der Krankheit ist und in welchem Zeitabschnitt, in dem die Krankheit auftritt, die erkrankten Fälle die meisten Sterbefälle zeigen. Dazu wird die Tabelle IV zusammengestellt.

Tabelle IV.

Geimpfte	Tage nach Impfung	Krankheitsfälle	Sterbefälle	Prozentzahl der Erkrankten
20 455	innerhalb 10 Tagen	6	2	0·03
	zwischen 10— 30 Tagen	12	7	0·05
	„ 31— 60 „	12	6	0·05
	„ 61— 90 „	4	3	0·02
	„ 91—120 „	4	2	0·02
	„ 121—150 „	1	0	0·004
	über 150 „	2	2	0·004

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß in der Zeit vom 30. bis 60. Tag nach der Impfung sowohl die Krankheitsfälle, wie auch Sterbefälle am häufigsten auftreten.

Außerdem ist noch merkwürdig, daß, wie in der Tabelle I angeführt ist, in den 11 Orten (Nr. 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 16, 17) bei Geimpften gar keine Krankheitsfälle zu verzeichnen sind. Insbesondere sind in den Orten Nr. 8, 11, 15, wo diejenigen Leute geimpft wurden, welche von Pestkranken umgeben waren oder direkt in Berührung kamen, keine Pestkranken zu finden.

Die bis jetzt gegebene Darstellung betrifft die Schutzimpfung sowohl bei den Einheimischen¹ als auch bei den von Japan (Mutterland) Eingewanderten. Da aber die Lebensweise, Pflege und Behandlung der Krankheit der Einheimischen von den Eingewanderten wesentlich verschieden sind, so bedarf es einer weiteren Untersuchung für diejenigen Menschen, die eine echt japanische Lebensweise usw. führen (nicht einheimisch formosaische). Zum Zwecke dieser Untersuchung wurden die Beamten, Mitglieder verschiedener Gesellschaften und Vereine und Schüler, welche in einer einheitlichen, dem Mutterland entsprechenden, Weise und in den anderen gleichen Verhältnissen leben, in einer Tabelle zusammengefaßt. Unter den genannten Beamten und Gesellschaftlern nehmen 90 Prozent Japaner ein, während die anderen 10 Prozent zwar Einheimische (meistens Unterbeamte, Diener und andere Untergeordnete) sind, aber dieselbe Lebensweise usw. wie die Japaner haben. In den Schulen (Nr. 10, 11, 16, 19, 20, 21, 22 in der Tabelle V) sind außer Lehrer und Beamten ausschließlich Einheimische, welche unter strengster Aufsicht und Pflege die mutterländische Lebensweise führen.

¹ Hier versteht man unter Einheimischen diejenigen Einwohner, welche von jeher, vor Annektion von Formosa durch Japan, dort leben und chinesischen Ursprungs sind.

Tabelle V.

Resultate der Schutzimpfung bei Beamten der Regierung und der anderen Korporationen einschließlich Schüler in Tainan und anderen Städten.

N a m e	Person	Geimpfte		Krankheitsfälle	Krankheitsfälle in Promille	Sterbefälle	Sterbefälle in Promille
		Geimpfte	Ungeimpft.				
Zollamt in Anping	218	217	1	—	—	—	—
Zweigamt in Anping v. Tainan Verwaltung	45	35	10	1	2.8	1	—
Hospital in Tainan	130	130	—	—	—	—	—
Gefängnis in Tainan	699	696	3	3	1000.0	2	—
Landgericht in Tainan	74	72	2	1	13.9	—	—
Verwaltung in Tainan	303	303	—	—	—	—	—
Landesamt in Tainan	343	342	1	1	2.9	—	—
Seminar in Tainan	138	114	24	—	—	—	—
Volksschule in Tainan	204	164	40	1	25.0	—	—
I. Volksschule für Einheimische	161	49	112	—	—	—	—
II. „ „ „	71	56	15	—	—	—	—
Postamt in Tainan	230	230	—	—	—	—	—
Waffenbureau in Tainan	42	7	35	—	—	—	—
Observatorium in Tainan	10	8	2	—	—	—	—
Salzamt in Tainan	11	9	2	—	—	—	—
Armenhaus in Tainan	68	65	1	1	1000.0	—	—
Bahnhof in Tainan	77	26	51	—	—	—	—
Infektionskrankenhaus in Tainan	25	20	5	2	400.0	2	—
Webschule in Tainan	61	61	—	—	—	—	—
Volksschule für Einheimische in Kagi	217	130	87	2	15.3	2	15.4
„ „ „ Bokushi	176	55	121	11	126.4	7	80.5
„ „ „ Takao	79	35	44	8	66.1	—	—
		44	2	2	45.5	1	—

Seit in dem Jahre 1896 zuerst in dem Regierungsbezirk Tainan die Pestepidemie herrschte, sah man alljährlich die Pest epidemisch oder sporadisch auftreten. In dieser Zeit wurde vorübergehend ein Quarantäneamt errichtet. Unter den Quarantänebeamten erkrankten (mit Ausnahme der Pestperiode von 1896 und 1900) 7 bis 8 an Pest. In diesem Jahre (1901) wurde das sämtliche Personal, welches zum Quarantänedienst angestellt war, von vornherein geimpft. Die Folge dieser Maßnahme war, daß nur 2 Personen davon erkrankten. In der Tabelle VI werden die Krankheits- und Sterbefälle der Quarantänebeamten im laufenden Jahre in Prozent tabellarisch zusammengestellt.

Tabelle VI.
Krankheitsfälle der Beamten des vorübergehenden Quarantäneamtes
im laufenden Jahre:

J a h r	Quarantänebeamte	Krankheitsfälle	Proz. d. Erkrankten
1896	68	—	—
1897	224	2	0.09
1898	103	3	0.23
1899	272	17	0.62
1900	89	—	—
1901	295	2	0.07

Tabelle VII.
Krankheitsfälle der geimpften und ungeimpften Quarantänebeamten
in Prozenten im Jahre 1901.

	Personen	Krankheitsfälle	Prozente
Geimpfte	258	1	0.04
Ungeimpfte	39	1	0.26

Zum Schluß der Betrachtung der Pestepidemie im Jahre 1901 werden hier verschiedene Fälle in der Tabelle VIII angeführt werden, um die Wirksamkeit des Impfstoffs von Kitasato darzutun.

Tabelle VIII.
Zusammenstellung der bedeutsamsten Fälle, die durch Impfung vor der Pestinfektion geschützt wurden.

Fall 1.

Da am 25. Dezember 1900 ein Gefängnisbeamter, namens T. K. (34 Jahre alt), welcher in der Dienstwohnung der Gefängnisbeamten zu Tainan wohnt, an Pest erkrankt war, wurde am 26. Dezember er und sämtliche Personen

in dieser Dienstwohnung geimpft; damals waren zwei (S. K., 40 Jahre alt, und K. M., 9 Jahre alt) wegen Abwesenheit ungeimpft geblieben. Am 29. des 1. Mon. wurde einer dieser ungeimpft gelassenen S. K. und am 31. der andere K. M. von Pest befallen. Während dieser Zeit hatte der zuerst an Pest erkrankte und durch Impfung geheilte Gefängnisbeamte T. K. in der Wohnung dieser Pestkranken übernachtet, ohne an Pest zu erkranken. Ebenso waren alle Geimpften von der Ansteckung verschont geblieben.

Fall 2.

Ein Schutzmann J. K. (40 Jahre alt), einer der Bewohner der Dienstwohnung für mehrere Schutzmannfamilien in Anping, erkrankte am 16. Jan. 1901 an Pest, ebenso am 19. sein Sohn M. (16 Jahre alt) und am 26. des 1. Mon. seine Frau T. (22 Jahre alt); alle diese Patienten wurden in das Hospital für Infektionskrankheiten geschickt. Die sämtlichen Familien in dieser Dienstwohnung waren bereits geimpft worden. Diese erkrankte Familie hat sich vor kurzem, d. h. nachdem bei anderen Familien die Schutzimpfung ausgeführt worden war, von einer anderen Gegend ungeimpft hierher niedergelassen. Deshalb waren alle Familienangehörige infiziert worden, während bei den anderen Familien, die mit der erkrankten stets in Berührung kommen, kein Pestfall zu verzeichnen war.

Fall 3.

Ein Mann namens T. U. wurde am 12. Januar 1901 geimpft. Er bekam in der Dunkelheit der Küche von einer mit Pest infizierten Ratte einen Biß in den Fuß, dennoch ist er von der Pest verschont geblieben.

Fall 4.

In einer Wohnung in Tainan waren alle drei ungeimpfte Familienangehörige an Pest erkrankt, während die Familien der dicht an ihr anschließenden beiderseitigen Nachbarwohnungen, wegen ihrer bereits durchgeführten Impfung, von Pest nicht angesteckt waren.

Fall 5.

Am 8. Januar 1901 wurden alle bei dem Gouvernement zu Tainan dienenden Beamten, Diener usw., sowie alle ihre Familienangehörige und Dienstboten geimpft, die zusammen 342 Personen ausmachen. Ein Hilfsbeamter F. (40 Jahre alt) wurde nach dieser Impfung von dem Mutterlande ungeimpft hierher versetzt. Er erkrankte am 11. April an Pest und starb sofort. Bei anderen Geimpften war keine Spur von Pest nachzuweisen.

Fall	Familie und Dienstboten	Geimpfte Ungeimpfte	Datum der Impfung	Zahl der Erkrankten	Beginn der Krankheit
6	2	1	5. I.	—	—
		1	—	1	25. I.
7	5	4	16. II.	—	—
		1	—	1	21. II.

Tabelle VIII. (Fortsetzung.)

Fall	Familie und Dienstboten	Geimpfte Ungeimpfte	Datum der Impfung	Zahl der Erkrankten	Beginn der Krankheit
8	5	4 1	15. II. —	— 1	— 9. III.*
9	6	4 2	15. II. —	— 1	— 16. III.*
10	5	3 2	25. II. —	— 1	— 15. III.*
11	4	3 1	25. II. —	— 1	— 13. III.*
12	5	— 5	— —	— 2	— 13. IV. 13. IV.
13	5	8 2	25. II. —	— 1	— 15. IV.
14	8	2 1	1. IV. —	— 1	— 18. IV.
15	5	4 1	30. IV. —	— 1	— 21. IV.
16	6	5 1	27. I. —	— 1	— 11. IV.
17	4	1 3	4. IV. —	— 2	— 26. IV. 26. IV.
18	4	2 2	10. I. —	— 1	— 21. IV.
19	5	3 2	27. IV. —	— 1	— 28. IV.
20	4	2 2	7. IV. —	— 1	— 29. IV.
21	2	— 2	— —	— 2	— 29. IV. 29. IV.
22	2	1 1	7. IV. —	— 1	— 30. IV.
23	8	2 1	7. IV. —	— 1	— 7. IV.
24	4	1 3	1. IV. —	— 2	— 23. IV. 23. IV.
25	3	2 1	1. IV. —	— 1	— 29. IV.
26	3	1 2	1. IV. —	— 1	— 21. IV.
27	4	1 3	19. IV. —	— 2	— 27. IV. 30. IV.
28	3	2 1	1. IV. —	— —	— 27. IV.
29	8	4 4	2. IV. —	— 2	— 29. IV. 29. IV.

Tabelle VIII. (Fortsetzung.)

Fall	Familie und Dienstboten	Geimpfte Ungeimpfte	Datum der Impfung	Zahl der Erkrankten	Beginn der Krankheit
30	3	2 1	28. IV. —	— 1	— 6. V.
31	5	4 1	11. IV. —	— 1	— 3. V.
32	2	1 1	8. IV. —	— 1	— 6. V.
33	2	1 1	8. IV. —	— 1	— 2. V.
34	3	1 2	7. IV. —	— 2	— 5. V. 5. V
35	6	5 1	8. IV. —	— 1	— 7. V.
36	4	2 2	10. IV. —	— 1	— 7. V.
37	2	1 1	9. IV. —	— 1	— 10. V.
38	4	2 2	10. IV. —	— 1	— 26. IV.
39	7	3 4	10. IV. —	— 4	— 25. IV. 25. IV. 25. IV. 25. IV.
40	4	2 2	9. IV. —	— 1	— 7. V.
41	4	2 2	27. IV. —	— 1	— 5. V.
42	16	7 9	23. IV. —	— 3	— 18., 19., 19. IV.
43	4	3 1	9. IV. —	— 1	— 25. IV.
44	4	3 1	7. IV. —	— 1	— 1. V.
45	6	6 —	10. IV. —	— —	— —
46	2	1 1	7. IV. —	— 1	— 23. IV.
47	4	2 2	1. IV. —	— 1	— 27. IV.

- Anmerkung. 1. Die Fälle 1 bis 5, welche der Eigentümlichkeit der Tatsachen halber nicht tabellarisch abgekürzt werden können, werden einzeln behandelt.
 2. Die Fälle von 6 bis 47 fallen in das Jahr 1901.
 3. Die bis zur Abfassung dieses Berichtes bekannt gewordenen Todesfälle sind mit * versehen.

Im nächsten Jahre dieser Pestepidemie (Januar 1902) wurde innerhalb des Gouvernements zu Tainan ein Amt gegen die Pestseuchen errichtet. Die erste Aufgabe dieses Amtes war die möglichst vollständige Vertilgung der Ratten in den Städten Tainan und Anping. Infolgedessen herrschte in den Jahren 1902 bis 1903 keine Epidemie. Als am 23. Februar 1904 in einem Stadtteil in Tainan ein Pestfall ausbrach, verbreitete sich die Seuche mit rapider Geschwindigkeit, so daß die Ausdehnung der Epidemie fast die gleiche wie im Jahre 1901 war. Da also bis jetzt die präventiven Maßregeln gegen Pest nur minimalen Erfolg hatten, wurde auch diesmal wieder die Schutzimpfung vorgenommen. Am 1. September erlosch die Epidemie.

Die Impfung wurde am 12. April begonnen und hat am 7. Juni geendet. Sie wurde erst in dem Stadtteil, wo die Epidemie am stärksten herrschte, vorgenommen, und dann allmählich in den weniger betroffenen Gegenden. Der Impfstoff ist nach wie vor im Institut für Infektionskrankheiten zu Tokio hergestellt. Es wurde von diesem Impfstoff bei Erwachsenen 1.5 bis 3.0 gebraucht, zur Injektion bei Kindern je nach dem Alter weniger. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die zweimalige Impfung bedeutende Erfolge erzielt, da aber in Tainan es die Umstände nicht erlaubten, bei einer und derselben Person zweimal zu impfen, so wurde hier nur eine einmalige Impfung ausgeführt.

Da die Art und Weise der Impfung und die anderen Maßnahmen dieses Jahres von dem Jahre 1901 keine Abweichung bieten, so werden hier nur die Resultate der Schutzimpfung tabellarisch aufgestellt.

Die Tabelle IX zeigt das Ergebnis der Schutzimpfung der Stadt Tainan.

Tabelle IX.

Resultate der Schutzimpfung gegen Pest in Tainan im Epidemiejahre 1904.

Einwohner	Geimpfte Ungeimpfte		Krankheits- fälle	Dieselben in Promille	Sterbefälle	Dieselben in Promille
46 264	9 906		45	0.5	31	3.1
	36 358		1417	39.0	1159	31.9

In der Tabelle X wird das Verhältnis der Krankheits- und Sterbefälle bei den Geimpften in pro Mille zusammengefaßt.

Tabelle X.

Krankheits- und Sterbefälle bei den Geimpften im Epidemiejahre 1904.

Beginn der Krankheit nach der Impfung	Zahl der Erkrankten	Geheilt	Gestorben	Sterbefälle in Promille
Nach dem 1. Tag	1	—	1	100.0
„ „ 2. „	6	1	5	833.3
„ „ 3. „	2	—	2	100.0

Tabelle X. (Fortsetzung.)

Beginn der Krankheit nach der Impfung	Zahl der Erkrankten	Geheilt	Gestorben	Sterbefälle in Promille
Nach dem 4. Tag	1	—	1	100·0
„ „ 5. „	3	—	3	100·0
über 6. „	32	13	19	593·8
total	45	14	31	688·9

Da die Sterbefälle bei Ungeimpften 817·92 pro Mille betragen, so vermindern sie sich bei den Geimpften um 129·04 pro Mille. Daß die Sterbefälle nach 6 Tagen bedeutend abnehmen, beweist, daß der Impfstoff, wie Calmette richtig sagt, nach 6 Tagen erst seine volle Wirkung zeigt.

In der Tabelle XI werden, wie in der Tabelle VIII, die bedeutsamsten Fälle in bezug auf die Wirkung der Schutzimpfung zusammengestellt.

Tabelle XI.

Zusammenstellung der verschiedenen Fälle, die durch Schutzimpfung von der Pestansteckung befreit sind (1904).

Fall	Datum der Impfung	Beginn der Krankheit	Name der Familienangehörigen	Geschlecht	Alter	Fall	Datum der Impfung	Beginn der Krankheit	Name der Familienangehörigen	Geschlecht	Alter
1	—	23. V.	K. S.	m.	71	4	9. V.	—	S. K.	m.	31
	—	17. VI.	T. T.	w.	58		15. V.	—	T. T.	m.	13
	—	25. V.	Y. S.	w.	37		15. V.	—	S. K.	w.	50
	10. V.	—	G. S.	m.	9		—	—	K. H.	m.	35
2	28. IV.	—	T. J.	m.	44	—	—	3. V.	S. H.	w.	30
	—	—	T. S.	w.	2	—	—	6. V.	K. S.	w.	3
	—	6. VI.	T. G.	w.	8	—	—	4. V.	S. B.	m.	2
	2. VI.	—	T. S.	w.	5	—	—	3. V.	F. M.	m.	19
	—	—	T. S.	w.	2	5	9. V.	—	S. T.	m.	50
	—	6. VI.	K. R.	m.	18		—	14. IV.	S. T.	w.	49
	2. VI.	—	G. S.	w.	29		13. V.	—	K. K.	w.	43
	—	8. VI.	G. K.	w.	30		—	22. IV.	G. Z.	w.	26
3	—	—	S. O.	m.	43	—	—	6. VI.	Y. D.	w.	10
	17. IV.	—	K. B.	w.	41	6	18. V.	—	K. S.	m.	50
	15. V.	—	S. R.	w.	31		—	23. IV.	S. K.	m.	17
	—	18. V.	K. K.	m.	24	7	—	—	O. S.	m.	18
	—	23. V.	O. K.	m.	40		26. IV.	—	O. T.	m.	14
	—	—	—	—	—		—	14. VI.	O. T.	m.	8
	—	—	—	—	—		—	—	S. S.	w.	38

Tabelle XI. (Fortsetzung.)

Fall	Datum der Impfung	Beginn der Krankheit	Name der Familienangehörigen	Geschlecht	Alter	Fall	Datum der Impfung	Beginn der Krankheit	Name der Familienangehörigen	Geschlecht	Alter
8	—	—	K. T.	m.	41	15	6. VI.	—	H. Y.	m.	29
	26. IV.	—	O. T.	w.	67		—	5. V.	S. K.	w.	40
	—	23. V.	T. S.	w.	35		—	14. IV.	H. T.	m.	5
	—	17. V.	T. Z.	m.	35		6. VI.	—	H. R.	m.	8
9	12. V.	—	S. B.	m.	31	16	—	2. V.	S. H.	m.	8
	—	—	K. D.	w.	28		30. IV.	—	Z. K.	w.	58
	—	18. VI.	K. M.	w.	68		—	—	S. K.	w.	15
	—	1. V.	S. K.	m.	14		30. IV.	—	K. K.	m.	8
—	25. V.	K. Y.	w.	32	17	17. V.	—	S. B.	m.	34	
10	9. V.	—	S. A.	m.		25	—	2. VI.	S. K.	w.	8
	—	16. V.	R. R.	w.		15	—	4. VI.	K. S.	w.	37
	11	22. IV.	—	S. T.		m.	12	—	14. IV.	Z. S.	m.
		—	17. V.	T. S.	w.	18	18	9. V.	—	O. S.	m.
—		26. V.	K. K.	w.	18	—		29. V.	S. Y.	w.	52
12		24. IV.	—	T. S.	m.	17		—	—	O. D.	w.
	—	17. IV.	R. S.	w.	4	27. IV.		—	K. B.	w.	35
	—	—	R. T.	m.	48	19	—	—	Y. S.	m.	13
	—	1. V.	R. S.	w.	4		27. IV.	—	S. S.	w.	54
13	24. IV.	—	R. T.	m.	51		—	24. V.	S. K.	w.	13
	12. V.	—	K. R.	w.	38		—	27. V.	Y. Y.	m.	15
	—	—	R. T.	m.	23	27. IV.	—	K. S.	m.	45	
	—	18. VII.	S. G.	w.	18	20	30. IV.	—	G. S.	m.	15
12. V.	—	G. D.	w.	80	—		—	K. B.	w.	12	
12. V.	—	T. D.	m.	9	—		21. V.	K. H.	w.	17	
12. V.	—	R. M.	m.	9	—		1. V.	G. S.	w.	28	
14	—	—	S. B.	m.	50	21	17. V.	—	S. B.	m.	40
	—	—	K. S.	w.	30		—	16. V.	S. S.	m.	34
	26. IV.	—	R. K.	w.	26		—	16. V.	O. K.	w.	26
	—	29. IV.	R. K.	m.	13		—	16. V.	S. R.	m.	41
—	—	B. K.	m.	16	22	—	—	S. R.	m.	39	
24. IV.	—	B. K.	m.	16		—	12. V.	B. R.	w.	69	
—	—	—	—	—		13. V.	—	S. K.	m.	8	
—	—	—	—	—	—	—	—	S. T.	m.	5	

Über die Schnell- und Massendesinfektionsmethode mit Formalin-Wasserdampf, das japanische Verfahren.

Von

Dr. Uyama, Dr. Tsuzuki, Dr. Oshida und Dr. Matsuda.
Generalarzt. Oberstabsarzt. Oberarzt. Assistenzarzt.

Während der Tätigkeit der japanischen Militärquarantäne im Kriege 1904/05 hat eine Schnell- und Massendesinfektionsmethode mit Formalin-wasserdampf, das sogenannte japanische Verfahren, in der Desinfektionspraxis die Hauptrolle gespielt. Es war dies ein Verfahren, womit man verschiedenen Anforderungen an die Quarantäneanstalten gerecht werden konnte. Wir nennen hier nur die beiden wichtigsten: erstens mußte die Massendesinfektion für die vielen Wintersachen, darunter auch Pelzsachen, unschädlich sein, und zweitens mußten die Gegenstände ebenso schnell desinfiziert werden, wie die Personen, denen sie angehörten, und die gleichzeitig mit desinfiziert wurden. Sehr lange bemühten wir uns vergeblich um eine Methode, welche den obenerwähnten Anforderungen genügen sollte, bis das japanische Verfahren endlich als eine solche erkannt wurde. Im folgenden sei der Verlauf der diesbezüglichen Untersuchungen in ihren Hauptpunkten skizziert.

A. Verlauf der Untersuchung.

Schon Ende April 1904 war eine Militärquarantäne geplant worden; im Juni trat sie in Tätigkeit. Die Quarantäneanstalten in Ninoshima und in Dairi waren im September schon so weit eingerichtet, daß die Desinfektion der Gegenstände beginnen konnte. Der Arbeitsplan der Quarantäneanstalt bestand also in einer gleichzeitigen Desinfektion der Personen und der ihnen zugehörigen Gegenstände. Die Dampfdesinfektion erwies

sich bald zweckentsprechend; aber ist sie die einzige Methode? Kann nicht mit der Chemikaliendesinfektion das gleiche erzielt werden? Zunächst wurde die Bespritzung mit der betreffenden Chemikalienlösung vorgeschlagen, mußte aber wegen der Beschmutzung der Gegenstände und wegen der für das Trocknen erforderlichen Zeit als nicht allgemein durchführbar aufgegeben werden. Das hier einzig in Betracht kommende Mittel ist das Formalin, obgleich es zwei Hauptfehler hat: es übt nämlich bei dieser Anwendungsweise keine Tiefenwirkung aus und es erfordert lange Zeit zu seiner Wirkung. Probeweise wurden vier Formalindesinfektionszimmer in Ninoshima und in Dairi, welche wir die alten Formalinzimmer nennen wollen, hergestellt. Die Verdampfungsmethode mittels Okadas Apparat, der dem Breslauer Apparat ähnlich ist, wurde zuerst in Anwendung gebracht. Man brauchte aber damit mindestens 4 Stunden zur einmaligen Desinfektion und $\frac{1}{2}$ Stunde zur Verdampfung, ohne daß man eine genügende Tiefenwirkung erzielte. Einer von uns, Uyama, zog deshalb die Spray-Methode der Verdampfung vor, und stellte mit Yonesawa einen Sprayapparat her. Dieser wurde außerhalb des Zimmers an die Wand gehängt; eine bestimmte Menge darin enthaltenen Formalins wird von dem aus dem Zentralkessel hergeleiteten Dampf mitgerissen und ins Zimmer hineingespritzt. Die Zeit der Verteilung des Formalins im Zimmer wurde dadurch wesentlich verkürzt. Sie dauerte nämlich höchstens 1 Minute. Außerdem nahm die Desinfektion eine wesentlich kürzere Zeit in Anspruch, und zwar höchstens 2 Stunden, da die Konzentration des Formalins in der Zimmerluft leicht bis zum Maximum gebracht werden kann. Mit dieser Abkürzung der Desinfektionsdauer auf 2 Stunden waren wir noch nicht zufriedengestellt. Wir forschten weiter. Einer von uns, Tsuzuki, kam auf den Gedanken, die Esmarchsche Beobachtung, daß die Desinfektionskraft des Formalins unter Mitwirkung des Wasserdampfes von niedriger Temperatur wesentlich erhöht wird, unserem Zwecke dienstbar zu machen. Nach vielfachen Bemühungen gab er dem Verfahren folgende Gestaltung: Der Wasserdampf in hoher Temperatur und mit Überdruck wird in ein verschlossenes Formalinzimmer, worin zu desinfizierende Gegenstände vorhanden sind, eingelassen, bis eine Temperatur von 60°C erreicht ist. Gleichzeitig wird die Luft des Formalinzimmers durch ein kleines Loch am Boden desselben hinausgelassen, was eine heftige Dampfströmung im Zimmer hervorruft, so daß alle Ecken des Zimmers nebst den darin enthaltenen Gegenständen mit Wasserdampf gesättigt werden. Dann läßt man Formalin mit dem Dampfstrom ins Zimmer einströmen. Von diesem Zeitpunkte an wird die eigentliche Desinfektionszeit berechnet. Die Dampfzufuhr wird erst eingestellt, wenn die nach der Erfahrung bestimmte Desinfektionszeit vorüber ist, oder wenn die Temperatur des

Raumes 65° übersteigt. Das Verfahren ist also eine Desinfektionsmethode mittels Zusammenwirkung von Formalin und dem 60 bis 65° warmen Wasserdampf unter starker Strömung des letzteren. Die allgemeine Annahme dieser Methode in den Quarantäneanstalten fand erst statt, nachdem sie wiederholt versuchsweise in Anwendung gebracht worden war. Die eigentliche Desinfektionszeit beträgt gewöhnlich 10 Minuten, und die Gesamtprozedur dauert nicht über $\frac{1}{2}$ Stunde, obgleich zur Vorwärmung und zum Ein- und Ausladen der Gegenstände nicht unbedeutende Zeit in Anspruch genommen wird.

B. Das Formalinzimmer.

Ende August 1904 waren die Anstalten in Ninoshima und Dairi mit je vier Formalinzimmern versehen. Jedes Zimmer hat 4.5^m Länge, 2.7^m Breite, 2.7^m Höhe und 32.8^{cbm} Raum, abgesehen von einem Zimmer IV in Ninoshima, welches bloß 19.7^{cbm} Raum hat. Das Formalinzimmer hat an allen Seiten eine doppelte Holzwand, deren innere Fläche dicht mit Lavaloid, amerikanischem, gasdichtem Wollblatt, überzogen ist. An einer Seitenwand befindet sich ein Eingang und an der Vorderwand ein Ausgang; beide sind mit Türen versehen. Mitten im Zimmer steht ein Gestell, auf welches die zu desinfizierenden Objekte gelegt oder an welchem sie aufgehängt werden. Vor der Annahme dieses Verfahrens, Mitte Dezember 1904, wurden die Uyama-Yonesawa'schen Apparate in den sogenannten alten Formalinzimmern aufgestellt, womit wir uns bis Juli 1905 begnügten. Die neuen Formalinzimmer standen uns erst vom August 1905 zur Verfügung.

Die vier neuen Formalinzimmer in der ersten Station zu Ninoshima hatten je 5.3^m Länge, 3.5^m Breite, 2.4^m Höhe und 44.52^{cbm} Raum. Der Zwischenraum der doppelten Holzwand wurde mit Stroh gefüllt und die innere Fläche derselben mit Lavaloid überzogen. Der Eingang an der Vorderwand und der Ausgang an der Hinterwand sind mit Türen versehen. Am Boden hat das Zimmer zwei Löcher und eine Röhre. Die ersteren werden zur Entleerung des verdichteten Wassers nach der Desinfektion gebraucht, während die letztere zum Auslassen der Zimmerluft bei der Vorwärmung verwendet wird. Innerhalb des Zimmers sind mehrere Gestelle, auf welche die zu desinfizierenden Objekte gelegt oder an denen sie aufgehängt werden. Im Zimmer hängen zwei Sprayapparate an der Vorderwand.

Die neuen Formalinzimmer in der zweiten Station zu Ninoshima und in den Anstalten zu Dairi und Wadanomisaki, je zwei an der Zahl, haben 4.7^m Länge, 2.77^m Breite, 2.08^m Höhe und 27.08^{cbm} Raum.

Am Boden des Zimmers sind Schienen gelegt, welche durch den Ein- und Ausgang auswärts führen und sich mit denen des Schienennetzes verbinden. Die zu desinfizierenden Objekte werden auf das zu diesem Zwecke am Wagen angebrachte Gestell geladen oder an dasselbe aufgehängt und auf den Schienen ins Zimmer gebracht. Das Zimmer hat zwei Löcher am Fußboden zur Entleerung des Verdichtungswassers und zum Aussaugen der Zimmerluft. Die sonstige Einrichtung des Zimmers gleicht dem neuen Formalinzimmer der ersten Station zu Ninoshima.

Sowohl das alte als auch das neue Formalinzimmer hat an einer Wand eine Öffnung, durch welche ein Thermometer gesteckt wird, damit die Temperatur des Raumes von außen beobachtet werden kann. Außerdem befindet sich im neuen Formalinzimmer ein Heizkörper einer Dampfheizung, womit die etwa erfolgende Abkühlung des Zimmers in der Zwischenzeit zwischen zwei Desinfektionen mit Leichtigkeit vermieden wird.

C. Formalinsprayapparat von Uyama und Yonesawa.

Der Formalinsprayapparat Uyamas und Yonesawas besteht aus vier Teilen, nämlich dem Formalingefäß (Fig. 1 bis 4), der Dampfrohre (Fig. 5), der Formalinrohre (Fig. 5) und der Sprayvorrichtung (Fig. 6).

Das Formalingefäß (Fig. 1 bis 4) wird aus vernickeltem Kupfer hergestellt und hat eine flache trichterförmige Gestalt. An der flachen Seite des Gefäßes befindet sich ein Loch zum Anhängen, und auf der gewölbten Seite ein Handgriff. Am oberen, breiteren Ende sind ein Deckel und ein Bogendraht angebracht, am unteren, schmälere Ende ein Hahn, durch welchen der Inhalt des Gefäßes beliebig ausgelassen werden kann. Das Gefäß ist am Boden mit einem Sieb versehen, um zufällige Verunreinigungen mechanisch zurückhalten zu können.

Die Formalinrohre (Fig. 5) ist aus vernickeltem Messing hergestellt und hat 0.45^{cm} Durchmesser und 37.8^{cm} Länge. Sie erreicht mit ihrem Vorderende die Sprayvorrichtung und mit ihrem hinteren Ende den Gummischlauch, welcher andererseits mit dem Hahn des Gefäßes in Verbindung gebracht ist. Der hintere Teil der Formalinrohre ist mittels Schrauben an der Dampfrohre befestigt.

Die Dampfrohre (Fig. 5) ist auch aus vernickeltem Messing hergestellt. Ihr hinteres Ende steht durch eine Schraube mit der Dampfleitungsröhre des Zentralkessels und das vordere Ende mit der Sprayvorrichtung des Apparates in Verbindung. An dem hinteren Ende hat die Dampfrohre ein Ventil, durch welches die Röhre beliebig geöffnet und geschlossen wird.

Die Sprayvorrichtung besteht aus einer inneren, kleineren und einer äußeren, größeren Röhre. Die innere Röhre hat einen senkrechten (α)

Sprayapparat

von Uyama und Yonesawa.

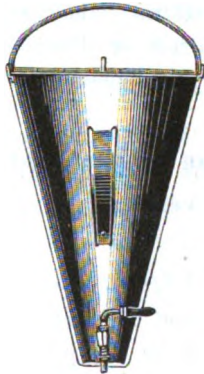


Fig. 2. Gefäß (Vorderansicht).



Fig. 1. Gefäß (Seitenansicht).

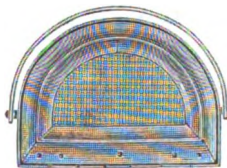


Fig. 4. Gefäß (von oben gesehen).

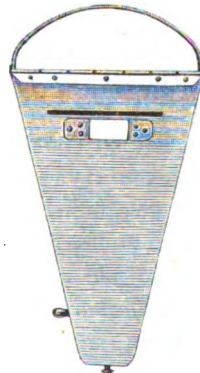
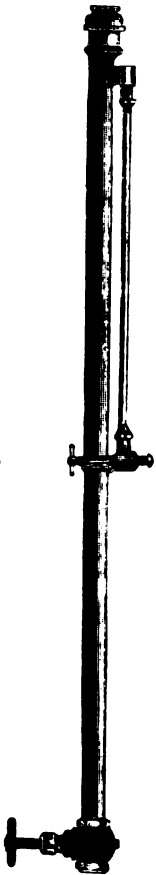


Fig. 3. Gefäß (von hinten gesehen).



Formalinröhre

Dampfrohre.

Fig. 5.

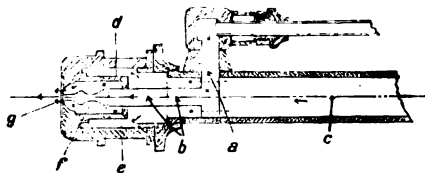


Fig. 6. Sprayapparat.

und einen horizontalen Ast (δ) und läßt die von der Formalinröhre kommende Formalinlösung herunterfließen. Die äußere Röhre hat eine besondere Konstruktion, wie sie aus Fig. 6 ersichtlich ist. Der Dampf kommt von der Dampfrohre c in die äußere Röhre der Sprayvorrichtung, trifft ein Diaphragma d und strömt mit erhöhtem Druck durch ein kleines Loch e in den Raum f , von wo aus er durch das Sprayloch g mit der zerstäubten Formalinlösung sich vermischend ins Formalinzimmer eintritt.

D. Die bei der Desinfektion zu beobachtenden Bedingungen.

Bei der Ausführung unseres Verfahrens müssen folgende Bedingungen eingehalten werden:

1. Druck, Temperatur und Quantität des Wasserdampfes.

Der vom zentralen Dampfkessel kommende Wasserdampf muß einen Druck von 6 Atmosphären und hohe Temperatur haben, in genügender Quantität vorhanden sein, um an Ort und Stelle die erforderliche Strömung hervorzubringen, und die bezweckte Temperatur binnen 20 Minuten zu erzeugen.

2. Menge und Zerteilungsweise des Formalins.

Die erforderliche Menge des Formalins (40 Prozent) beträgt 22.5^{cm} (9^{cm} Formaldehyd) pro 1^{cm} Raum. Dieses Formalin muß in kurzer Zeit (ca. 1 Minute) in dem Zimmer zerstäubt werden, um die nötige Dichtigkeit zu erzielen. Zum Hineinspritzen ins Zimmer wird der Sprayapparat von Uyama und Yonesawa gebraucht. Ein einfacher Sprayapparat gewöhnlicher Konstruktion leistet aber hier dasselbe. Die Sprayvorrichtung des Apparates muß den oberen Teil der Vorderwand durchbohren, so daß der eintretende Dampfstrom erst durch den oberen freien Raum hindurch an die Hinterwand des Raumes stößt, worauf er nach allen Richtungen reflektiert wird und die zu desinfizierenden Objekte überall umflutet.

3. Konstruktion des Zimmers.

Das Zimmer muß luftdicht gebaut sein. Der Ein- und Ausgang muß durch dichte Verschlüsse, die Luftausströmungsröhre durch den Hahn und die Entleerungslöcher des Kondensationswassers durch einen Pfropfen verschließbar sein. Außerdem muß das Zimmer aus Nichtwärmeleitern gebaut sein.

4. Zustand der zu desinfizierenden Objekte.

Die Objekte müssen einzeln auf oder an dem Gestell bzw. Schiebergestell angeordnet werden. Dabei braucht man aber keinen so großen Wert auf die Lockerheit des Arrangements zu legen, wie es bei der

früheren Formaldehydesinfektion zu geschehen pflegte, denn die neue Methode übt eine Tiefenwirkung aus. Selbst ein Paket kann als solches desinfiziert werden, falls es nicht gar zu groß und in einen nicht zu dicken Stoff eingewickelt ist. Die Tiefenwirkung ist noch unter fünf Schichtendecken nachweisbar, wenn die Desinfektion unter guten Bedingungen ausgeführt wird, wie es das Resultat der später zu erwähnenden Versuche beweist. Der Dicke der zu desinfizierenden Objekte wird also hiermit eine Grenze gesetzt.

E. Versuche unter verschiedenen Bedingungen.

a) Versuche in der Anstalt zu Dairi.

Von November 1904 bis April des folgenden Jahres beschäftigten sich Tsuzuki und Oshida in Dairi mit Versuchen zur Formalin-desinfektion. Als Objekte dienten Pilzpapier und Sporenfäden. Das Pilzpapier wurde jedesmal frisch hergerichtet, indem man mehrere Stückchen sterilisierten Fließpapiers in die bakterienhaltige Lösung taucht und trocknet. Sporenfäden wurden wie gewöhnlich hergestellt und die ganze Zeit hindurch gebraucht. Die Versuchsobjekte wurden entweder offen der Desinfektion unterworfen oder erst in ein zusammengerolltes Stück Flanell mit einer bestimmten Anzahl Lagen gewickelt, worauf die beiden Öffnungen des Flanellstückes mit Schnur fest zugebunden wurden. Der hierzu gebrauchte Flanell hatte ein Gewicht von 6^g pro 10^{cm}. Hier seien beispielsweise einige wichtige Versuchsreihen erwähnt:

1. Versuche über die Desinfektionskraft von Formalin ohne Mitwirkung des Dampfes.

Datum		20. XII. 1904.			
Formaldehydmenge		7 ^g pro 1 ^{ebm}		12 ^g pro 1 ^{ebm}	
Desinfektionszimmer		Altes II	Altes II	Altes III	Altes III
Desinfektionszeit		15 Min.	30 Min.	15 Min.	30 Min.
Atmosphärendruck des Dampfes		5·5	5·5	5·5	5·5
Zimmertemperatur vor der Desinfektion		10°	12°	12°	9°
Zimmertemperatur nach d. Desinfektion		15°	17°	15°	14°
Uneingewickelt	{ B. prodig.	+	—	—	—
	{ B. typhi	±	—	—	—
Bedeckt mit einer einfachen Flanellschicht	{ B. prodig.	+	+	+	—
	{ B. typhi	+	±	—	—
Zweifach	{ B. prodig.	++	++	++	+
	{ B. typhi	++	+	+	±
Dreifach	{ B. prodig.	+++	+++	+++	++
	{ B. typhi	+++	++	++	+
Vierfach	{ B. prodig.	+++	+++	+++	++
	{ B. typhi	+++	++	++	++
Kontrolle	{ B. prodig.	+++	+++	+++	+++
	{ B. typhi	+++	+++	+++	+++

Bemerkung: — zeigt keine, + spärliche, ++ mäßige, +++ starke Entwicklung der Bazillen auf dem Nährboden.

Hieraus ist zu ersehen, daß das Formalin ohne Mitwirkung des Dampfes für bedeckte Objekte keine ausreichende Desinfektionskraft mehr entfaltet.

2. Versuche über die Desinfektionskraft des Wasserdampfes, ohne Mitwirkung von Formalin im Desinfektionszimmer.

Datum		27. III. 1905.	
Formalinzimmer		Altes II	Altes II
Desinfektionszeit		15 Min.	30 Min., darunter 10 Min. in 60°
Atmosphärendruck des Dampfes		5.7	5.5
Zimmertemperatur vor der Desinfektion		12°	12°
Zimmertemperatur nach d. Desinfektion		58°	60°
Ueingewickelt	B. prodig.	++	—
Bedeckt mit einer einfachen Flanellschicht	B. prodig.	+++	—
Zweifach	B. prodig.	+++	—
Dreifach	B. prodig.	+++	±
Vierfach	B. prodig.	+++	+
Kontrolle	B. prodig.	+++	+++

Hierdurch wurde bewiesen, daß der Wasserdampf unter 60° im Desinfektionszimmer keine nennenswerte Desinfektionskraft hat, daß aber der Wasserdampf über 60° schon eine bemerkbare Desinfektionskraft hat — auch ohne Mitwirkung des Formalins.

3. Versuche über die Desinfektionskraft von Formalin unter Mitwirkung des Wasserdampfes im Formalindesinfektionszimmer.

Datum		6. I. 1905.			
Formaldehydmenge		7 ^{cm} pro 1 ^{cbm} Raum	12 ^{cm} pro 1 ^{cbm} Raum		
Formalinzimmer		Altes II	Altes II	Altes III	Altes III
Desinfektionszeit		15 Min.	30 Min., darunter 10 Min. in 60°	15 Min.	30 Min., darunter 10 Min. in 60°
Atmosphärendruck des Dampfes		5.5	5.5	5.5	5.5
Zimmertemperatur vor der Desinfektion		8°	10.5°	11°	12°
Zimmertemperatur nach d. Desinfektion		51°	60°	60°	60°
Ueingewickelt	B. prodig.	—	—	—	—
Bedeckt mit einer einfachen Flanellschicht	B. prodig.	—	—	—	—
Zweifach	B. prodig.	±	—	—	—
Dreifach	B. prodig.	+	—	+	—
Vierfach	B. prodig.	++	—	++	—
Fünffach	B. prodig.	+++	—	+++	—
Sechsfach	B. prodig.	+++	—	+++	—
Siebenschfach	B. prodig.	+++	—	+++	—
Achtfach	B. prodig.	+++	—	+++	—
Neunfach	B. prodig.	+++	—	+++	—
Zehnfach	B. prodig.	+++	—	+++	—
Kontrolle	B. prodig.	+++	+++	+++	+++

Hiermit wurde bewiesen, daß Formalin unter der Mitwirkung des Wasserdampfes unter 60° eine schon bemerkbare, und unter der des Wasserdampfes von 60° ein bedeutende Desinfektionskraft erhält.

4. Versuche über die Schädigung von Pelz und Leder durch den Wasserdampf.

Um den Beschädigungsgrad der Pelz- und Ledersachen bei der Dampfdesinfektion festzustellen, wurde folgende Versuchsreihe im Desinfektionszimmer angestellt.

Datum		10. VI. 1905.				
Versuchsobjekte		Leder an der Fußbekleidung d. Mannschaften	Leder des Tornisters	Pelz des Tornisters	Pelz als Mantelfutter	
Einwirkungszeit	Eine Stunde im ganzen	darunter 29 Min. in 65°	—	—	—	
		darunter 12 Min. in 70°	+	+	+	
		darunter 5 Min. in 75°	+	+	++	++
	Zwei Stunden im ganzen	darunter 82 Min. in 65°	—	—	—	—
		darunter 66 Min. in 70°	++	++	+++	++
		darunter 61 Min. in 75°	++	++	+++	+++

Bemerkung: In dieser Tabelle zeigt — keine, + geringe, ++ mäßige, +++ starke Beschädigung.

Es wurde hiermit bewiesen, daß der 65° nicht überschreitende Wasserdampf Leder und Pelz nicht beschädigt.

5. Versuche mit Sporenfäden von Milzbrandbazillen.

Datum		5. IV. 1905.		
Formaldehydmenge		12 ^{cm} pro 1 ^{cbm} Raum		
Formalinzimmer		Altes II	Altes II	Altes II
Im Formalin-Wasserdampf von 60°		10 Min.	15 Min.	20 Min.
Atmosphärendruck des Dampfes . . .		5·7	5·7	5·7
Zimmertemperatur vor der Desinfektion		13°	13°	13°
Ueingewickelt		—	—	—
Bedeckt m. einer einfach. Flannelschicht		—	—	—
Zweifach		+	+	+
Dreifach		+	+	+
Vierfach		++	++	+
Fünffach		+++	++	++
Kontrolle		+++	+++	+++

b) Versuche in der Anstalt zu Ninoshima.

Von April 1905 bis Juni 1906 beschäftigten sich Tsuzuki und Matsuda in Ninoshima mit den Versuchen über die Formalindesinfektion. Um die Tiefenwirkung derselben zu prüfen, bedienten sie sich gerollter Mannschaftsdecken. Dieselben hatten folgendes Gewicht:

Gerollte Decken in	2 Schichten	. . .	570 ^{grm.}
"	"	" 4	" 1 100 "
"	"	" 5	" 1 130 "
"	"	" 10	" 1 640 "
"	"	" 20	" 4 680 "
"	"	" 30	" 8 700 "
"	"	" 40	" 17 900 "
"	"	" 50	" 28 000 "

Als Versuchsobjekt brauchten sie Pilzpapier von Staphylococcus aureus und von Bacillus typhi. Selbiges wurde direkt, d. h. offen in die Mitte einer gerollten Decke gebracht. Die beiden Enden der gerollten Decken werden fest zugeschnürt. Einige unter zahlreichen Versuchen seien hier mitgeteilt:

1. Versuche über die Desinfektionskraft von Formalin unter Mitwirkung des Wasserdampfes von 60 bis 65° Temperatur und verschiedenem, ursprünglichem Druck.

Datum	2. XII. 1905.	
Formaldehydmenge	9 ^{grm} pro 1 ^{cbm} Raum	
Desinfektionszimmer	Neues I	Neues I
Im Formalinwasserdampf von 60–65°	10 Min.	10 Min.
Atmosphärendruck des Wasserdampfes	4·8	6·0
Zimmertemperatur vor der Desinfektion	12°	12°
Unter 2 Schichten	{ Staph. aureus	—
	{ B. typhi	—
" 4 "	{ Staph. aureus	+
	{ B. typhi	—
" 5 "	{ Staph. aureus	++
	{ B. typhi	++
" 10 "	{ Staph. aureus	+++
	{ B. typhi	+++
Kontrolle	{ Staph. aureus	+++
	{ B. typhi	+++

Es wurde hiermit bewiesen, daß der ursprüngliche Druck des Wasserdampfes die Infektionskraft beeinflußt.

Ein Wasserdampf von niedrigem Druck kann keine genügende Strömung im Zimmer hervorbringen, um den Formalinwasserdampf zu den Objekten gelangen zu lassen. Man muß daher in der Desinfektionspraxis Wasserdampf von über fünf Atmosphären ursprünglichem Drucke anwenden.

2. Versuche über die Desinfektionskraft von Formalin in verschiedenen Mengen unter der Mitwirkung des Wasserdampfes von 60 bis 65° Temperatur und sechs Atmosphärendruck.

		4. XII. 1905.	
		9 ^{grm} pro 1 ^{cbm} Raum	4·5 ^{grm} pro 1 ^{cbm} Raum
Datum		Neues I	
Formaldehydmenge		Neues II	
Desinfektionszimmer		10 Min.	
Im Formalinwasserdampf von 60–65°		10 Min.	
Atmosphärendruck des Dampfes . . .		6	
Zimmertemperatur vor der Desinfektion		11°	
Unter 2 Schichten	{ Staph. aureus	—	—
	{ B. typhi	—	—
„ 4 „	{ Staph. aureus	—	—
	{ B. typhi	—	—
„ 5 „	{ Staph. aureus	—	+
	{ B. typhi	—	+
„ 10 „	{ Staph. aureus	++	+++
	{ B. typhi	++	+++
Kontrolle	{ Staph. aureus	+++	+++
	{ B. typhi	+++	+++

Es wurde hiermit bewiesen, daß bei einer 10 Minuten dauernden Desinfektion unter sonst günstigen Bedingungen eine bestimmte Formalinmenge erforderlich ist, um eine genügende Tiefenwirkung zu gewinnen. Diese erforderliche Menge von Formalin war in diesem Falle 9^{grm} Formaldehyd pro 1^{cbm} Raum.

3. Versuche über die Desinfektionskraft des Formalinwasserdampfes bei verschieden langer Dauer der Einwirkung.

		8. XII. 1905.			
		9 ^{grm} pro 1 ^{cbm} Raum			
		Neues I	Neues II	Neues III	Neues IV
		10 Min.	20 Min.	1 Stunde	2 Stunden
Datum		6·0			
Formaldehydmenge		6·0			
Desinfektionszimmer		6·0			
Im Formalinwasserdampf von 60–65°		6·0			
Atmosphärendruck des Dampfes . . .		12			
Zimmertemperatur vor der Desinfektion		12			
Unter 2 Schichten	{ Staph. aureus	—	—	—	—
	{ B. typhi	—	—	—	—
„ 4 „	{ Staph. aureus	—	—	—	—
	{ B. typhi	—	—	—	—
„ 5 „	{ Staph. aureus	—	—	—	—
	{ B. typhi	—	—	—	—
„ 10 „	{ Staph. aureus	++	—	—	—
	{ B. typhi	++	+	—	—
„ 20 „	{ Staph. aureus	+++	+++	—	—
	{ B. typhi	+++	+++	+	—
„ 30 „	{ Staph. aureus	+++	+++	++	—
	{ B. typhi	+++	+++	++	—
„ 40 „	{ Staph. aureus	+++	+++	+++	+
	{ B. typhi	+++	+++	+++	+
„ 50 „	{ Staph. aureus	+++	+++	+++	++
	{ B. typhi	+++	+++	+++	++
Kontrolle	{ Staph. aureus	+++	+++	+++	+++
	{ B. typhi	+++	+++	+++	+++

Es wurde hiermit bewiesen, daß Formalin und Wasserdampf zusammen unter günstigen Bedingungen bei längerer Zeitdauer eine bedeutende Tiefenwirkung ausüben. Der höchste Triumph war die Vernichtung der Staphylokokken und Typhusbazillen unter 30 Deckenschichten. Dieses Ergebnis vermochten wir trotz vielfacher Versuche mit gesteigertem Formalinverbrauch nicht mehr zu überbieten.

Die Temperatur innerhalb der gerollten Decken hatten wir oft geprüft und dabei konstatiert, daß sie im Falle der gelungenen Desinfektion immer 40° überschritten hatte. Selbst bei der sehr langen Einwirkungs-dauer überstieg die Temperatur unter 40 bis 50 Deckenschichten niemals 35°.

F. Praktische Anwendung des japanischen Verfahrens in den Quarantäneanstalten.

Die praktische Desinfektion mittels des japanischen Verfahrens in den Quarantäneanstalten geschah unter folgenden Bedingungen:

Desinfektionszeit	10 Minuten.
Vorwärmezeit	15 bis 20 Minuten.
Menge von Formaldehyd	9 ^{gramm} pro 1 ^{cubm} Raum.
Ursprünglicher Atmosphärendruck des Dampfes	6.
Desinfektionstemperatur	60 bis 65°.
Tiefenwirkung	bis unter 5 Deckenschichten.

Eine 15 bis 20 Minuten dauernde Vorwärmung ist erfahrungsgemäß die zweckmäßigste. Wenn die Vorwärmung zu schnell vor sich geht, so werden die Objekte zuweilen beschädigt, denn der Temperatenausgleich im Zimmer kann nicht in einem Augenblicke stattfinden. Wenn umgekehrt, so hat der Dampf keine genügende Kraft mehr, um die erforderliche Luftströmung im Zimmer hervorzubringen. Eine zu lange dauernde Vorwärmung kann entweder durch die Vermehrung der Dampfmenge oder durch die Erhöhung des Dampfdruckes vermieden werden.

Das tatsächliche Verfahren im neuen Formalinzimmer der ersten Station zu Ninoshima war, wie folgt:

Die zu desinfizierenden Objekte werden je nach dem Zustande derselben entweder verteilt oder aufgehäuft ins Zimmer gebracht, auf das Gestell gelegt oder an demselben aufgehängt, so daß zwischen den einzelnen Objekten und längs der Wände ein Spielraum übrig bleibt. Die Türen werden fest verschlossen. Der Dampf wird hineingeleitet unter Kontrolle der Temperatur, bis diese 60° erreicht (Vorwärmung). 1 Liter

Formalin wird nun mittels des Dampfstromes ins Zimmer eingeführt, während die bis dahin offengebliebene Luftausflußröhre jetzt geschlossen wird. Der Dampf wird nun weiter eingeleitet, bis die Desinfektionszeit vorüber ist, oder bis die innere Temperatur 65° überstiegen hat. Durch das Ventil an der Dampfrohre kann die Temperatur leicht reguliert werden, so daß sie immer eine Höhe von 60 bis 65° beibehält. Nach Beendigung der Desinfektion werden 500^{ccm} 25 prozentiger Ammoniaklösung mittels des Sprayapparates ins Zimmer gebracht, um das vorhandene Formaldehyd zu neutralisieren. Die Türen werden geöffnet und die desinfizierten Gegenstände durch den Ausgang herausgeholt. Das kondensierte Wasser wird durch das Loch am Fußboden entleert. Das Zimmer kann nun wieder zur neuen Desinfektion gebraucht werden.

G. Retrospektives über die Formalindesinfektion und die Vorteile des japanischen Verfahrens.

Seit Formaldehyd zuerst von Hoffmann dargestellt und seine bakterientötende Eigenschaft von Loew und Trillat konstatiert wurde, erfreute sich seine Wertschätzung als Desinfiziens einer raschen Steigerung, so daß es jetzt in der Desinfektionspraxis nicht mehr zu entbehren ist. Auf die zahlreichen Namen der beteiligten Forscher und auf die verschiedenen Lampen, Spray- und Verdampfungsapparate betreffenden Erfindungen wollen wir hier nicht weiter eingehen; wir wollen als das Ergebnis aller dieser an sich wertvollen Versuche nur die einzige Tatsache hervorheben, daß eine oberflächliche, doch sichere Desinfektion mit der Anwendung von 2.5 bzw. 5^{gmm} Formaldehyd pro 1^{cbm} Raum innerhalb 7 bzw. $3\frac{1}{2}$ Stunden erzielt werden kann. Eine höhere Desinfektionskraft ist aber unter der Mitwirkung des Wasserdampfes von niedriger Temperatur erreichbar. Diese wichtige Beobachtung Esmarchs diente als Grundlage der Ausarbeitung des japanischen Verfahrens. Die Methode Esmarchs, bei welcher man Formalin ins Kesselwasser tut und mit demselben verdampfen läßt, ist bei größeren Dampfkesseln, deren Dampf auch zu anderweitigen Zwecken verwendet wird, nicht brauchbar. Sie erfordert außerdem längere Zeit zur Verdampfung von Formalin; eine genügend starke Luftströmung im Desinfektionsraum ist in dieser Weise nicht erreichbar; die Menge des in jedem Zeitabschnitte einwirkenden Formaldehyds ist hierbei nicht immer gleichmäßig. Es sind dies Nachteile, die durch das japanische Verfahren vollkommen beseitigt werden. Das Verfahren ist deshalb zur Schnell- und Massendesinfektion in der Praxis am meisten geeignet, was von keiner anderen Methode zu behaupten ist.

Die Einrichtung ist allerdings beim japanischen Verfahren kostspieliger als bei allen anderen Methoden. Auch ist die zur einmaligen Desinfektion notwendige Menge von Formalin bei ihm größer als bei sonstigen Methoden. Wenn man aber die Anzahl der desinfizierten Objekte in Betracht zieht, so findet man, daß die Desinfektionskosten inklusive Anlagekosten für jeden Einzelposten beim japanischen Verfahren sich nicht teurer stellen, als bei irgend einer Formalindesinfektionsmethode. Die Anwendung des japanischen Verfahrens ist daher in der Zukunft sehr zu empfehlen, besonders bei großen Anstalten, welchen große Zentraldampfkessel zur Verfügung stehen.

Untersuchungen zur Pellagrafrage.

A. Über Maisfütterung.

(Mit Unterstützung des Landesauschusses des Herzogtums Bukowina.)

Von

Doz. Dr. **Franz Lucksoch**,
Prosektor in Czernowitz.

Es war bei dem häufigen Auftreten von Pellagraerkrankungen in unserer Provinz selbstverständlich, daß man sich früher oder später mit dem Problem dieser Erkrankung befasste. Als Neuling in diesen Dingen mußte ich mich zunächst an die über diesen Gegenstand erschienene Literatur halten, und es erschienen mir von den Publikationen, die während meines Hierseins herauskamen, zwei Mitteilungen besonders beachtenswert und geeignet an sie eigne Untersuchungen anzuschließen. Die erste dieser Mitteilungen stammt von M. Otto.¹ Dieser fand, daß deutsche und italienische Schimmel sich in bezug auf ihre Giftigkeit vollkommen verschieden verhalten, da die deutschen *Aspergillus*-Stämme sich ungiftig erwiesen zum Unterschiede von den stark giftigen von Ceni isolierten italienischen Stämmen; ein ähnlicher aber nur quantitativer Unterschied fand sich bei den *Penicillium*-Stämmen.

Die zweite Arbeit, die von Wichtigkeit erschien, war die von C. Bezzola in dieser Zeitschrift veröffentlichte.² Er teilt mit, daß ausschließliche Ernährung mit Maismehl bei Meerschweinchen den Tod durch Inanition herbeiführt; mischt man aber Maismehl, ob gut oder schlecht,

¹ M. Otto, Über die Giftwirkung einiger Stämme von *Aspergillus fumigatus* und *Penicillium glaucum* nebst einigen Bemerkungen über Pellagra. *Zeitschrift für klin. Medizin.* Bd. LIX.

² C. Bezzola, Beitrag zur Kenntnis der Ernährung mit Mais. *Diese Zeitschr.* Bd. LVI.

mit der gewöhnlichen Nahrung (Grünfutter, Rüben) zu gleichen Teilen, dann treten bei den so ernährten Tieren Abmagerung, Haarausfall, Neigung zu Fehlgeburten usw. auf. Diese beiden Arbeiten sind auch zugleich charakteristisch für die beiden Richtungen, welche bei der Untersuchung nach der Ursache der Pellagra eingeschlagen werden. Die einen sehen nämlich die Pellagra als eine Infektionskrankheit an und suchen ihren Erreger, die anderen sehen den Grund für das Auftreten der Pellagra in der Ernährung mit Mais. Da ich vollkommen unvoreingenommen war, schien es mir gut, beide Arbeiten nachzuprüfen bzw. ähnliche Untersuchungen anzustellen. Die Versuche mit der Maisfütterung haben schon zu einigermaßen verwertbaren Resultaten geführt und sollen, daher hier mitgeteilt werden.

Es erschien von besonderem Interesse, daß auch ganz gesundes Maismehl die eigentümlichen Erscheinungen bei der Verfütterung hervorrief, und habe ich deshalb bei meinen Versuchen stets nur gutes Maismehl benützt, das trocken aufbewahrt wurde und frei von Verschimmelung war und blieb; ich bin der Überzeugung, daß unsere Bauern nicht immer derartig gutes Mehl zur Verfügung haben, wenn sie ihre Mamaliga herstellen. In den Versuch wurden einbezogen 70 Meerschweinchen, 30 Kaninchen und 5 Hunde.

Versuche an Meerschweinchen.

Mit den Fütterungsversuchen wurde Mitte Mai 1907 begonnen. Zunächst wurde mit 12 Tieren der Versuch gemacht, sie nur mit Maismehl zu füttern. Das Mehl wurde zu diesem Zwecke mit Wasser zu einem dicken Brei angerührt und den Tieren vorgesetzt; die Schüsselchen, welche zur Aufnahme dieses Breies bestimmt waren, wurden nach einiger Zeit aus den Käfigen entfernt, gereinigt, und erst nach einigen Stunden mit frischem Maismehlbrei angefüllt den Tieren wieder vorgesetzt. Die auf diese Weise gefütterten Tiere zeigten sehr rasch eine beträchtliche Gewichtsabnahme und schon nach 2 bzw. 3 und 10 Tagen starben 5 Tiere. Das Futter wurde von den Tieren nicht gerne genommen, und es blieb ziemlich viel übrig. Bei den überlebenden Tieren zeigte sich schon nach 8 Tagen beginnender Haarausfall. Es sollten nun einige Tiere wegen dieses Haarausfalles zur Untersuchung kommen und dabei zeigte sich als die Tiere narkotisiert werden sollten, eine auffallende Widerstandsunfähigkeit insofern, als die Tiere nach kurzer Einwirkung des Chloroforms zugrunde gingen, ohne daß es gelungen wäre, sie dauernd in Narkose zu halten.

Die Autopsie ergab bei den 5 spontan in der ersten Zeit eingegangenen Tieren: bei einem Tuberkulose, bei zweien eine herdweise Rotfärbung der Lungen (die bakteriologische Untersuchung der Lungen fiel negativ aus). Das vierte nach 8 Tagen zugrunde gegangene Tier zeigte nur starke Abmagerung und Haarausfall, sonst keine Veränderungen der inneren Organe. Das fünfte Tier zeigte außer den gleichen Veränderungen wie das vierte noch Rötung der Dünndarmschleimhaut und eine leichte Vergrößerung der Nebennieren. Bei den beiden in der Narkose gestorbenen Tieren fand sich ebenfalls starke Abmagerung, Ausfall der Rückenhaare und der Tasthaare in der Umgebung der Schnauze, außerdem Rötung der Magenschleimhaut und der des oberen Dünndarmes, Vergrößerung der Nebennieren. Mit denselben Veränderungen starben noch drei, so daß nach 20 Tagen über die Hälfte der Tiere spontan eingegangen war.

Dieselben Fütterungsversuche mit reinem Maismehl ergaben im September desselben Jahres ausgeführt weniger bemerkenswerte Resultate. Es wurden 8 Tiere aus der gesunden Zucht 3 Wochen nur mit Maismehl gefüttert, um die dabei auftretenden Veränderungen am Berliner hygienischen Kongresse demonstrieren zu können. Keines von den Tieren ging ein; der Haarausfall stellte sich zwar ein, war aber geringer. Im Oktober und November¹ angestellte Versuche ergaben noch geringere Erfolge; der Haarausfall war nur für den Kundigen zu erkennen; nur bei einem Tiere trat er sehr stark auf, dieses ging auch zugrunde, und zwar, wie die Autopsie zeigte, an allgemeiner Tuberkulose. Das Blut der toten untersuchten Tiere war steril.

Es wurde im Frühjahr noch eine weitere Reihe von Versuchen an- gestellt, nämlich mit gemischter Maisfütterung und zwar so, daß ein Gewichtsteil Maismehl und ein Gewichtsteil Grünfütter den Tieren gereicht wurde. Auch diese Tiere nahmen an Gewicht ab. Nach 14 Tagen oder 3 Wochen begannen auch bei den derartig ernährten Tieren die Haare schütterer zu werden; zwei von den Tieren wurden am Rücken ganz kahl und schleppten schließlich die hinteren Extremitäten nach. Von den so gefütterten Tieren starben mehrere an Tuberkulose; eines (mit Paralyse der hinteren Extremitäten) wies eine Uterus- entzündung auf.

¹ Bei diesen Versuchen wurde das aus dem frisch geernteten Mais hergestellte Mehl verwendet. Der Umstand, daß ich ebenso wie Bezzola im Winter geringere Versuchsergebnisse erhielt, könnte eventuell einen Schluß auf die Verschiedenheit des Maismehles je nach seinem Alter zulassen.

Die Fortpflanzung dieser Tiere wies keinen Unterschied gegenüber der der gesunden Zuchttiere auf, ein gehäuftes Auftreten von Fehlgeburten konnte nicht bemerkt werden. Interessant war, daß auch die jungen, frischgeworfenen Tiere in den Maiskäfigen sehr schütteres Haar zeigten.



Fig. 1.



Fig. 2.

Wenn sich auch das Haarkleid der mit gemischter Maisnahrung gefütterten Tiere nach einiger Zeit wieder etwas verdichtete, so war im allgemeinen an diesen Tieren während der ganzen Zeit des Fütterungsversuches die geringere Behaarung auffällig. Wurde die Maisnahrung ausgesetzt, trat bald wieder die normale Haarfülle ein. Dies konnte ich besonders deutlich an zwei Tieren sehen, die ich nach Berlin mitgenommen hatte, um sie dort zu demonstrieren; der Haarausfall war bei ihnen trotz

ausschließlicher Maisnahrung nicht so bedeutend gewesen, wie bei den im Frühjahr so behandelten Tieren; als ich sie 8 Tage nach meiner Abreise von hier demonstrieren wollte, hatten die Tiere fast ihr normales Haarkleid wiedererlangt, da sie auf der Reise mit allem Möglichen gefüttert worden waren.

Was die Beschaffenheit der Haut dieser Tiere anbelangt (siehe Fig. 1 und 2), muß hervorgehoben werden, daß der Haarausfall insbesondere am Rücken und am Kopf, aber auch an den Extremitäten auftrat; die haarlosen Stellen wiesen keinerlei Grind oder sonstige Veränderungen auf, die Haut der haarlosen Stellen war vollkommen glatt und blaß. Die mikroskopische Untersuchung ergab das Abgebrochensein der Haarschäfte knapp im Niveau der Hautoberfläche; Entzündungserscheinungen fehlten auch mikroskopisch in diesen Hautpartien. Hr. Kollege Prof. Dr. Botezat, der die Liebenswürdigkeit hatte einige derartige Hautstückchen zu untersuchen, fand bezüglich der Endverzweigungen der Nerven keine krankhaften Veränderungen.

Die vorstehend mitgeteilten Untersuchungsergebnisse stehen in gutem Einklang mit den von C. Bezzola mitgeteilten. Etwas abweichend von den Ausführungen des genannten Autors habe ich diesen noch hinzuzufügen, daß auch bei den ausschließlich mit Maismehl genährten Tieren die charakteristischen Erscheinungen wie Haarausfall, Dünndarmkatarrh auftreten. Einen Einfluß der Maisnahrung auf die Fortpflanzungsfähigkeit der Meerschweinchen konnte ich, wie erwähnt, nicht beobachten.

Weitere Untersuchungen, die ich im nächsten Frühjahr vorzunehmen hoffe, sollen besonders darauf gerichtet sein, ob es sich bei den beobachteten Erscheinungen um eine besondere Giftwirkung oder um bloße Unterernährung handelt und soll dabei insbesondere dem chromaffinen System der Versuchstiere Beachtung geschenkt werden. Sehr interessant scheinen mir die von Bezzola und mir erhobenen Befunde zu sein im Hinblick auf die von Tizzoni und Panighi mitgeteilten Beobachtungen.¹ Diese Forscher erhielten bei ihren Tierversuchen mit den von ihnen als Erreger der Pellagra angesprochenen Bacillus nur dann Resultate, wenn sie die Versuchstiere mit Mais fütterten. Die von Tizzoni und Panighi dabei erzielten Resultate sind: starke und fortschreitende Abmagerung, Diarrhöe, Stupor und Kraftlosigkeit, spastische und schlaffe Paralyse der hinteren Extremitäten, Rötung der Haut und Haarausfall an den Extremitäten. Die meisten dieser Erscheinungen konnten Bezzola und ich bei Tieren, die mit Mais gefüttert wurden, konstatieren, ohne daß die

¹ Tizzoni und Panighi, Weitere experimentelle Untersuchungen über die Pellagra. *Centralblatt für Bakteriologie*. Abt. I. Bd. XLIV.

Tiere irgendwie absichtlich infiziert worden wären. Bezzola fand dabei die Organe der Tiere steril. Auch ich habe in den bakteriologisch untersuchten Fällen die Organe und das Blut der verendeten Tiere steril gefunden. Doch soll diesem Punkt bei weiteren Untersuchungen noch spezielle Aufmerksamkeit zugewendet werden. Soviel über die Versuche Tizzonis und Panighis an Meerschweinchen, ich will bei den Kaninchenversuchen nochmals auf die Publikation der beiden Autoren zurückkommen.

Von Wichtigkeit erscheinen die Untersuchungen mit Maisfütterung auch deshalb, weil sie ein Analogon darstellen, zu den Untersuchungen über den Zusammenhang der Beriberi mit der Reismahrung. So berichtet Fletcher¹, daß Irre, die mit sog. „uncured rice“ genährt wurden, in großer Zahl an Beriberi erkrankten, während die mit „cured rice“ genährten von der Krankheit verschont blieben. Fletcher führt diese Tatsachen darauf zurück, daß entweder der Reis ein Gift enthält oder seine Armut an Proteiden die Krankheit erzeugt, bzw. den Körper für die supponierte Infektion empfänglicher macht.

Diese Untersuchungsergebnisse Fletchers bezüglich der Reismahrung würden sehr gut mit Resultaten bei der Maismehlnahrung der Tiere, wie sie Bezzola und ich gefunden haben, übereinstimmen, und kommt Fletcher auf Grund seiner Untersuchungen zu denselben Anschauungen, wie ich sie oben ausgesprochen, nämlich: entweder Giftwirkung oder Unterernährung. Ich hoffe, auch Versuche mit Reismahrung an Meerschweinchen in nächster Zeit anzustellen.

Zu erwähnen wären ferner auch die Versuche von Holst und Fröhlich², die Beriberi an Meerschweinchen künstlich hervorriefen.

Versuche an Kaninchen.

Ebenso wie die Meerschweinchen, wurden zunächst 15 Kaninchen nur mit Maismehl genährt. Es stellte sich auch bei diesen Tieren rasch ein Gewichtsverlust ein. In kurzer Zeit (2 bis 5 Tage) gingen drei Tiere ein. Sie zeigten ein aufgetriebenes Abdomen, Magen und Darm waren prall mit Maismehlmassen gefüllt, zeigten aber sonst keine Veränderungen, auch die übrigen Organe waren unverändert; ein Ausfallen der Haare war nicht zu konstatieren. Nach 10 Tagen wurde die ausschließliche Maisfütterung aufgegeben, und im ganzen 26 Tiere ebenso wie die Meerschweinchen mit Maismehl und Grünfutter gemischt genährt.

¹ *Lancet*. 29. Juli 1907.

² Undersøgelse i anledning af shibs-beri-beri. II. *Norsk. mag. for Laegevid.* 1907. Nr. 7. — Ref. im *Centralblatt für die gesamte Medizin*. 1907. Nr. 45.

Von den mit gemischter Maisnahrung gefütterten Tieren starben mehrere, die Coccidiose aufwiesen. Ein deutlicher Haarausfall war zunächst auch bei diesen Tieren nicht zu sehen, und erst nach 2 monatlicher Versuchsdauer fanden sich zwei Tiere, denen am ganzen Rücken und am Halse die Haare vollständig verloren gingen; die nackte Haut dieser Tiere war blaßrosa, ganz fein abschuppend und erwies sich mikroskopisch als nicht entzündet (siehe Fig. 2). Beide Tiere erhielten nach einiger Zeit ihr Haarkleid wieder, doch waren die Rückenhaare des einen früher schwarzen Tieres nunmehr blaßgrau. Bei den übrigen überlebenden Tieren war ein Haarausfall auch nach mehrmonatlicher Maismehlfütterung nicht mit Sicherheit zu konstatieren.

Das eigentümliche Verhalten der beiden obengenannten Tiere wurde zunächst auf die Maisnahrung bezogen. Später fand sich dann auch unter den abseits gehaltenen Zuchttieren ein junges, einige Wochen altes Tier, das die Haare in gleicher Weise verlor, wie die beiden obenerwähnten und zugrunde ging. Ich kann danach das Ausfallen der Haare bei den erstgenannten Tieren nicht mit Sicherheit auf die Maisfütterung beziehen. Es scheint, daß die Kaninchen bei verschiedenen Erkrankungen die Haare verlieren (ebenso wie die Meerschweinchen übrigens), so im Gefolge insbesondere chronischer Infektionen.¹

Die Versuche mit der Maisfütterung an den Kaninchen sind eigentlich — abgesehen von der Gewichtsabnahme und dem Tod einiger Tiere bei ausschließlicher Maisnahrung — resultatlos geblieben.

Interessant ist, daß Tizzoni und Panighi bei den Infektionsversuchen mit ihren Pellagrabazillen an Kaninchen ebenfalls keine Resultate außer vorübergehender Diarrhœe zu erzielen vermochten.

Versuche mit Hunden.

Diese können ganz kurz behandelt werden. Es zeigte sich, daß Maismehl allein zur Ernährung dieser Tiere nicht genügt, sie nehmen an Gewicht ab. Die Darreichung von Maismehl mit anderem Futter gemischt, ruft außer vorübergehender Gewichtsabnahme keine krankhaften Erscheinungen hervor.

¹ Da ich nachträglich noch an mehreren Tieren, die spontan eingegangen waren, diesen Haarausfall beobachten konnte, glaube ich nunmehr denselben doch als eine Folge der durch die Maisernährung gesetzten Schädigung auffassen zu dürfen.

Schlußsätze.¹

1. Gutes Maismehl ist als ausschließliche Nahrung verwendet unzureichend für Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde. Alle diese Tiere nehmen an Gewicht ab und gehen, wenn diese Ernährungsart längere Zeit fortgesetzt wird, an Entkräftung zugrunde. Bei den auf diese Weise ernährten Meerschweinchen konnten außerdem bedeutender Haarausfall, Dünndarmkatarrh, Vergrößerung der Nebennieren und schlaffe Paralyse der hinteren Extremitäten konstatiert werden.

2. Die Verabreichung von gutem Maismehl mit anderer Nahrung (bei Meerschweinchen und Kaninchen Grünfutter, bei Hunden Fleischabfälle) zu gleichen Teilen rief nach längerer Zeit (als bei ausschließlicher Maisfütterung) bei Meerschweinchen dieselben Erscheinungen, die früher aufgezählt worden sind, hervor; bei Kaninchen und Hunden konnte bei dieser Ernährungsart nur Gewichtsabnahme konstatiert werden.

3. Die bei den obengenannten Ernährungsverhältnissen beobachteten krankhaften Erscheinungen waren im Frühjahr sehr deutlich, im Herbst dagegen kaum wahrzunehmen.

4. Ein Einfluß der Maisnahrung auf die Fortpflanzungsfähigkeit der betreffenden Tiere konnte nicht konstatiert werden.

5. Die Organe und das Blut der Tiere, die während der Maisfütterung zugrunde gegangen waren, ohne anderweitige krankhafte Veränderungen als Todesursache aufzuweisen, erwiesen sich steril.

¹ Mitgeteilt am XIV. Kongreß für Hygiene und Demographie. Berlin 1907. 1. Sektion.

[Aus der chem. Abteilung des Königl. Instituts für Infektionskrankheiten.]
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)

Sterilisierung von Mineralwässern und Brauselimonaden mit Magnesiumsuperoxyd.

Von

Dr. phil. nat. **Fr. Croner,**
Assistenten am Institut.

Unter dem 29. September 1903 wurde Hrn. Alfred Krause in Berlin „ein Verfahren zur Herstellung keimfreier Getränke“ durch Patent geschützt. (Patentschrift Nr. 184 643, Klasse 85a, Gruppe 7, ausgegeben den 8. Mai 1907.) Der Patentanspruch wird folgendermaßen formuliert:

„Viele der täglich in großen Mengen verbrauchten flüssigen Nahrungs- und Genußmittel leiden an dem Übelstand, daß sie infolge ihres Gehaltes an Mikroorganismen (Bakterien usw.) nur kurze Zeit haltbar sind, und daß ihre Aufnahme in den menschlichen Körper, wenn die Anzahl jener Kleinlebewesen eine bestimmte Grenze überschritten hat, unzutraglich ist und nicht selten auch geradezu gesundheitsschädlich wirken kann.

Beispielsweise gerinnt Milch wegen ihres hohen Bakteriengehaltes unter gewöhnlichen Umständen schon in kürzester Zeit, und fast alle künstlichen Mineralwässer und sonstige kohlenensäurehaltigen Erfrischungsgetränke, die aus Leitungs- und Brunnenwasser hergestellt werden, sind mit zahlreichen Keimen verunreinigt und nur eine vergleichsweise kurze Zeit haltbar und genießbar. Selbst, wenn man sich zur Herstellung dieser Erzeugnisse des destillierten Wassers bedient, ist damit noch keine Gewähr für ihre Keimfreiheit gegeben, denn die bisherige Art ihrer Herstellung, insbesondere die Unmöglichkeit, die Flaschen bis zu ihrem Verschuß steril zu halten, erlaubt es nicht den Eintritt von Keimen in die Flüssigkeit zu verhindern.

Das vorliegende Verfahren bezweckt nun, diesen gewiß erheblichen Übelstand auf eine einwandfreie, leichte und wohlfeile Weise zu beseitigen. Hiernach verwendet man zur vollkommenen Sterilisation der genannten Flüssigkeiten die Superoxyde des Calciums und des Magnesiums, die man in sehr geringer Quantität zusammen mit Kohlensäure oder anderen milden Säuren oder sauren Substanzen (sauren Salzen, wie sauren Tartraten, Citraten, Malaten usw.) oder mit Substanzgemischen, die diese Säuren entwickeln, wie z. B. Brausepulver in der Flüssigkeit verteilt. Die genannten Superoxyde werden unter Entwicklung von Wasserstoffsuperoxyd vollständig umgesetzt, und zwar entweder durch die in den Flüssigkeiten schon enthaltenen milden Säuren, wie Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure usw., oder aber durch die beigefügten Säuren oder Substanzgemische. Die entstehenden Kalk- und Magnesiasalze sind dem Organismus durchaus zuträglich, das freiwerdende Wasserstoffsuperoxyd aber übt im Entstehungszustande eine so bedeutende sterilisierende Wirkung aus, daß sämtliche in der Flüssigkeit enthaltenen Keime abgetötet werden. Hierbei wird das Wasserstoffsuperoxyd in bedeutend stärkerem Maße verbraucht, als wenn man es der Flüssigkeit in freiem Zustand zugesetzt hätte, so daß nach Beendigung des Vorgangs nur eine äußerst geringe und jedenfalls unbedenkliche Menge davon zurückbleibt. Auch der Umstand, daß die Einwirkung der milden Säuren auf die genannten Superoxyde nicht augenblicklich, wie bei etwaiger Anwendung von Natriumsuperoxyd, sondern im Verlauf längerer Zeit stattfindet, trägt dazu bei, die Sterilisation zu einer sehr wirksamen und vollkommenen zu machen.

Wenn man das Sterilisieren in geschlossenen Gefäßen vornimmt, so wird nicht nur die darin enthaltene Flüssigkeit, sondern auch das gesamte Gefäßinnere, einschließlich der Dichtungsarmatur usw. von Keimen befreit, so daß die eingeschlossene Flüssigkeit dauernd haltbar bleibt.

Die beschriebene Wirkung tritt schon in der Kälte ein, was für Aroma, Geschmack und Bekömmlichkeit der zu konservierenden Nahrungs- und Genußmittel von erheblicher Bedeutung ist; will man gleichwohl bei dem Prozeß eine gelinde Erwärmung in Anwendung bringen, so ist es möglich mit noch geringeren Mengen der sterilisierenden Substanz auszukommen.“

Chemische Zusammensetzung des Magnesiumsuperoxyds.

Die für die Versuche notwendigen Mengen Magnesiumsuperoxyd wurden mir von dem Fabrikanten, Hrn. Krause-Berlin (Oxydin-Sterilisierungswerke G. m. b. H.), zur Verfügung gestellt. Das Präparat stellt ein weißes, lockeres Pulver dar, das sich in Wasser nur zum geringsten Teil löst. Es soll gegen 30 Prozent Magnesiumsuperoxyd enthalten.

Zur Bestimmung des Superoxydgehaltes wurde das Pulver in Wasser aufgeschwemmt, mit Schwefelsäure versetzt und die Menge des reduzierbaren übermangansauen Kali bestimmt. Von zwei untersuchten Präparaten entsprach das erste 19.2 Prozent, das zweite 18.8 Prozent Wasserstoffsuperoxyd, was 31.7 bzw. 31.0 Prozent Magnesiumsuperoxyd gleichkommen würde.

Von dem ersten Präparat wurde der Wassergehalt durch Trocknen im Vacuumexsiccator in Höhe von 8.5 Prozent ermittelt.

Bestimmt wurde ferner das Magnesium durch Lösen des Präparates in verdünnter Salzsäure, Eindampfen bis fast zur Trockne, Versetzen mit Chlorammonium, Alkalisieren mit Ammon und Ausfällen des Magnesiums mit phosphorsaurem Ammon als Magnesiumammoniumphosphat. Aus dem durch Glühen erhaltenen Magnesiumpyrophosphat ergab sich eine Magnesiummenge von 29.0 Prozent Magnesium (Mg).

Ein Teil des Magnesiums ist an Kohlensäure gebunden.

Eine direkte Kohlensäurebestimmung ließ sich nicht ausführen, da die Versuche, die Kohlensäure durch Einwirkung von Salzsäure frei zu machen und in Kalilauge aufzufangen, stark voneinander abweichende Werte ergaben. Dagegen konnte die Kohlensäure auf indirektem Wege durch die Boraxschmelze bestimmt werden. Es mußte hierbei nur in Betracht gezogen werden, daß bei der hohen Schmelztemperatur das in dem Präparat enthaltene Wasser gleichzeitig verdampft und das Magnesiumsuperoxyd sein eines Sauerstoffatom abgibt. Zwei Untersuchungen gaben sehr gut übereinstimmende Resultate (46.6 und 46.8 Prozent Glühverlust). Von diesem Gesamtglühverlust sind abzuziehen 9.1 Prozent für Sauerstoff und 8.5 Prozent für Wasser, so daß sich 29.1 Prozent Kohlensäure ergeben. Rechnet man diese 29.1 Prozent Kohlensäure in Magnesiumkarbonat um, so erhält man 55.6 Prozent Magnesiumkarbonat. Für diese 55.6 Prozent Magnesiumkarbonat wären theoretisch 15.9 Prozent Magnesium notwendig. Von den analytisch gefundenen 29.0 Prozent Magnesium sind nun 13.3 an die Superoxydgruppe gebunden, und es bleiben tatsächlich 15.7 Prozent für die Kohlensäure übrig.

Die Zusammensetzung des nicht ganz einheitlichen Präparats ist also ungefähr folgende:

31.7	Prozent	Magnesiumsuperoxyd,
55.6	„	Magnesiumkarbonat,
8.5	„	Wasser und etwa
4.0	„	Natronsalze und geringe Mengen Eisen.

Das Präparat ändert seine Zusammensetzung bei trockener Aufbewahrung nicht. Auch vermindert sich der Gehalt an dem wirksamen

Bestandteil, dem Superoxyd, nur wenig, wenn man es unverschlossen stehen läßt. 31.0 prozentiges Magnesiumsuperoxyd verlor nach 5tägigem Stehen in offener Schale nur 1.1 Prozent.

Literatur.

Publikationen über das Krausesche Magnesiumsuperoxyd sind zurzeit noch nicht erschienen. Doch sind bereits mehrmals Untersuchungen damit angestellt worden. So wurde mir ein Gutachten des chemischen Laboratoriums von Dr. P. Fernandez-Krug und Dr. W. Hampe-Berlin von Hrn. Krause zur Verfügung gestellt. Hiernach konnte Selterwasser, welches unzählige Keime im Kubikzentimeter enthielt, bei einem Zusatz von 0.1^{cm} Magnesiumsuperoxyd¹ auf 100^{cm} Selterwasser (d. h. ein Zusatz 1:1000) vollkommen keimfrei gemacht werden. Reines Wasserstoffsuperoxyd, in entsprechender Menge zugesetzt, gab einen bedeutend geringeren Sterilisationseffekt.

Ebenso bestätigt Piorkowsky-Berlin in einem Gutachten vom 17. X. 07, daß er durch einen Magnesiumsuperoxydzusatz im Verhältnis von 1 und $\frac{1}{2}$ Promille mit Coli- und Typhuskulturen infiziertes Selterwasser nach 24 bzw. 48 Stunden steril fand.

Der Gedanke, Wasserstoffsuperoxyd zur Wassersterilisation heranzuziehen, ist nicht neu.

Schumburg (Veröff. aus dem Gebiete des Militärsanitätsw. 1900, Heft 15, S. 29 bis 112 konnte 1 Liter Spreewasser erst durch Zusatz von 10^{cm} einer 10 prozentigen Wasserstoffsuperoxydlösung keimfrei machen, d. h. durch einen Zusatz von 1 Teil Wasserstoffsuperoxyd auf 1000 Teile Wasser oder mehr als dreimal soviel, wie in Form von Magnesiumsuperoxyd verwendet werden soll.

Bonjean (Die bakterizide Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd in statu nascendi auf die Keime des Wassers C. r. de l'Acad. des Sciences CXL, 50—52) brauchte 0.291^{cm} Wasserstoffsuperoxyd, um 1 Liter Seinenwasser in 6 Stunden zu sterilisieren. Entwickelte er das Superoxyd aber aus Calciumsuperoxyd, so erreichte er schon bei Entwicklung von 0.060^{cm} Wasserstoffsuperoxyd in 4 Stunden Sterilisation.

Hetsch (Heutiger Stand der Trinkwassersterilisation durch Chemikalien. Gedenkschrift f. Leuthold 1906) beschäftigte sich unter anderem mit dem Bicalcityverfahren von Freyssinge und Roche. Hierbei wird aus Calciumsuperoxyd durch Alaun das Wasserstoffsuperoxyd freigemacht. 1 Liter steriles Wasser, mit $\frac{1}{10}$ Ose Typhus geimpft, erwies sich erst

¹ Wenn nichts anderes ausdrücklich bemerkt wird, ist unter Magnesiumsuperoxyd immer ein etwa 30 prozentiges Präparat gemeint.

bei einem Zusatz von 0.5^{grm} Bicalcitpulver und einer Einwirkung von 20 Minuten als keimfrei, 0.5^{grm} Bicalcit = 45^{mg} Wasserstoffsperoxyd. Verbessert wird hier der bakteriologische Effekt dadurch, daß das sich bildende Aluminiumhydroxyd gleichzeitig sedimentierend wirkt. Auch stark verunreinigtes Kanalwasser wurde von der gleichen Dosis sterilisiert. Im Gegensatz zu Bonjean fand Hetsch aber, daß dieselbe Menge Wasserstoffsperoxyd, in Form einer 30prozentigen Lösung (Perhydrol-Merck) zugesetzt, gleichfalls ausreicht, um dieselben Wirkungen hervorzurufen. Wurde eine ganze Öse Typhus pro Liter Wasser zugegeben, so versagte das Calciumsperoxyd, auch bei Anwendung der doppelten Mengen.

Der Vorzug des Magnesiumsperoxyds gegenüber dem Calciumsperoxyd soll darin bestehen, daß sich eine gesteigerte Sterilisationswirkung erzielen läßt, und der Geschmack des behandelten Wassers nicht beeinträchtigt wird. Da das Magnesiumsperoxyd in Wasser nicht ohne weiteres löslich ist, so ist es nur unter bestimmten Verhältnissen anwendbar. Man beabsichtigt, es in großem Maßstabe zur Sterilisierung von Selterwasser und Brauselimonaden zu benutzen, da die in ihnen enthaltene Kohlensäure aus dem Magnesiumsperoxyd Wasserstoffsperoxyd freizumachen vermag.

Arbeitsplan und Methoden.

Der Prüfung des genannten Verfahrens galten die angestellten Versuche.

Diese wurden zuerst im Laboratorium ausgeführt, später stellte mir eine Selterwasserfabrik ihre Räume zur Verfügung, so daß alle Operationen in der Weise ausgeführt werden konnten, wie sie für die Praxis gedacht sind.

Die mit dem Magnesiumsperoxyd anzustellenden Versuche erstreckten sich:

1. auf die bakterizide Wirkung;
2. „ „ eventuelle Geschmacksänderung;
3. „ „ chemische Veränderung des Wassers;
4. „ Einwirkung auf die Flaschenverschlüsse.

Das für die Laboratoriumsversuche notwendige Selterwasser wurde von einer bekannten Berliner Fabrik bezogen. Es konnten nur Flaschen mit sogenanntem Patentverschluß benutzt werden.

Von denjenigen Flaschen, bei denen die Sterilisationswirkung auf die schon im Wasser vorhandenen Bakterien, d. h. ohne Zusatz von Testbakterien geprüft werden sollte, wurden sofort nach dem Öffnen der Flasche Gelatineplatten zu 0.1; 0.5 und 1.0^{cem} angelegt. Das Abmessen

der Wassermengen gelang gut, wenn man dem in einer nicht zu engen Pipette aufgesaugten Selterwasser einige Sekunden Zeit ließ, den Hauptteil der freiwerdenden Kohlensäure in den oberen Teil der Pipette entweichen zu lassen. Als dann erhielt jede Flasche den vorgeschriebenen Zusatz von 1:1000 Magnesiumsuperoxyd, wurde sofort wieder geschlossen und einige Minuten umgeschüttelt. Das Umschütteln wurde in kurzen Zwischenräumen noch 2- bis 3 mal wiederholt.

Eine andere Gruppe von Flaschen wurde künstlich mit Bakterien infiziert und dann mit Magnesiumsuperoxyd versetzt.

Da bei dem später vorzunehmenden Öffnen der Flaschen ein Herausspritzen des kohlenensäurehaltigen Wassers unvermeidlich war, so verbot es sich von selbst mit pathogenen Bakterien zu arbeiten. Benutzt wurde deshalb als Testobjekt ein dem Prodigiosus nahestehendes Bacterium, in der Institutssammlung als Roter S. bezeichnet, und ein Colistamm, der bei 46° Wachstum zeigte und auf diese Weise wieder identifiziert werden konnte.

Nach 24 stündigem Stehen wurden die Flaschen wieder geöffnet, und je drei Gelatineplatten mit 0.1, 0.5 und 1.0^{ccm} Flüssigkeit gegossen.

Bei den Versuchen in der Fabrik wurden die leeren, gut gespülten Flaschen mit wechselnden Mengen (0.67 bis 1.28 Promille) Magnesiumsuperoxyd versetzt und entweder direkt mit Selterwasser gefüllt oder nach vorheriger Zugabe von $\frac{1}{20}$ Kultur der beiden obengenannten Testbakterien. Nach verschiedenen Zeiträumen wurden sie auf ihren Bakteriengehalt untersucht. Es war deshalb notwendig sich stets einen größeren Vorrat von Flaschen gleicher Beschickung anzulegen, um die schon einmal geöffnet gewesenen Flaschen nicht nochmals benutzen zu müssen.

Bei diesen Versuchen wurden zunächst auch Platten von 0.1, 0.5 und 1.0^{ccm} gegossen, später jedoch nur Platten zu 1.0^{ccm}.

Im Anfang wurden die Platten nach 48 Stunden gezählt, später jedoch wurden sie 4 Tage im Brütschrank (22°) stehen gelassen. Es zeigte sich nämlich, daß manche von ihnen nach 2 Tagen noch steril waren, sich dagegen nach weiteren 2 Tagen noch Kolonien entwickelt hatten. Diese Bakterien waren wahrscheinlich durch die Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds in ihrer Entwicklungsfähigkeit gehemmt und beanspruchten deshalb eine längere Bebrütungszeit. Dazu kam noch, daß, wie später gezeigt werden wird, das zur Prüfung genommene Wasser noch Wasserstoffsuperoxyd enthielt, und so beim Herstellen der Platte der Nährgelatine ein Wachstum hinderndes Mittel anhaftete. Nach welcher Zeit die anderen obengenannten Untersucher ihre Platten gezählt haben, ist mir nicht bekannt.

Bakteriologische Ergebnisse.

Versetzt man Selterwasser mit Magnesiumsuperoxyd, so tritt eine äußerst lebhafte Kohlensäureentwicklung ein. Zum Teil setzt sich die Substanz am Boden ab und ist häufig noch nach 24 Stunden ungelöst; dagegen war nach 2 Tagen der Bodensatz stets verschwunden.

Zunächst sollte die Wirksamkeit des Präparates gegen Selterwasser ohne Testbakterien untersucht werden. Die tatsächlich erzielte Abtötung war jedoch deswegen ohne Belang, weil, wie sich herausstellte, das benutzte Wasser auch fast steril war.

Deshalb wurden bei einem zweiten Versuch die 200^{ccm} fassenden Flaschen mit 0·1^{ccm} einer in 10^{ccm} physiologischen Kochsalzlösung aufgeschwemmten Kultur des roten S. infiziert. Eine Flasche wurde im Laboratorium (20°) aufbewahrt, eine zweite im Brutschrank (37°), eine dritte in einer Dunkelkammer (18°), eine vierte im Eisschrank (8°). Die im Laboratorium und im Brutschrank aufbewahrten Flaschen waren nach 24 Stunden steril, dagegen enthielt die in der Dunkelkammer aufbewahrte unzählige Keime, die im Eisschrank aufbewahrte 31 Keime pro Kubikzentimeter. Kontrolle: ∞.

Bei einem dritten Versuch erhielten vier Flaschen neben Magnesiumsuperoxyd 1:1000 je 0·1^{ccm} einer in 10^{ccm} Kochsalzlösung aufgeschwemmten 24 stündigen Colikultur. Die einzelnen Flaschen wurden wie beim vorhergehenden Versuch bei verschiedenen Temperaturen und Lichteinwirkungen stehen gelassen. Abweichend von den vorigen Resultaten war keine Flasche steril:

Flasche 1 (Zimmer) 33 Keime, Flasche 2 (Dunkelkammer) 350 Keime, Flasche 3 (Brutschrank) 27 Keime, Flasche 4 (Eisschrank) 12 Keime. Kontrolle: ∞.

Diese Laboratoriumsversuche wurden nun in größerem Maßstabe in der Selterwasserfabrik wiederholt.

Die ungünstigen Resultate im Laboratorium wurden nämlich von Hrn. Krause darauf zurückgeführt, daß bei dem erstmaligen Öffnen der Flasche zwecks Zufügung des Magnesiumsuperoxyds zuviel Kohlensäure verloren ginge; dadurch wäre die Umsetzung in Wasserstoffsuperoxyd erschwert, und die schwere Löslichkeit des Präparates erklärt.

Das Selterwasser der Fabrik enthielt im Mittel aus acht untersuchten Flaschen 600 Keime pro Kubikzentimeter. Die Flaschen wurden teils ohne, teils mit Bakterienzusatz (s. o.) mit Magnesiumsuperoxyd (0·67 bis 1·28 Promille) versetzt und bei der in der Fabrik fast konstant herrschenden Temperatur von 8° aufbewahrt. Jedoch auch hier löste sich das Pulver in den meisten Fällen erst nach 48 Stunden vollständig auf.

Die einzelnen Proben wurden nach 1, 2, 8 und 14 Tagen entnommen und verarbeitet. Die einzelnen Protokolle aufzuführen, erübrigt sich. Es sei nur das Endergebnis mitgeteilt:

Nach 24 Stunden war weder das Selterwasser ohne Zusatz, noch das mit rotem S. oder Coli versetzte steril.

Nach 48 Stunden waren sämtliche Rotbildner abgetötet, dagegen waren selbst in den Flaschen, die keinen Kulturzusatz erhalten hatten und 1.28 Promille Magnesiumsuperoxyd enthielten, nach 8 Tagen noch 26 Keime (Mittelwert) im Kubikzentimeter nachweisbar. Im übrigen schwankten die Keimzahlen bei diesem und den anderen Versuchen innerhalb ziemlicher Grenzen. Neben Platten, die praktisch als keimfrei zu betrachten waren, fanden sich andere, die über 100 Keime enthielten; ein Teil der Platten war mehr oder weniger verflüssigt.

Bemerkenswert ist jedoch, daß durch einen Zusatz von 0.67 Promille ein fast gleich großer Effekt erreicht wird wie mit 1.28 Promille. Selterwasser allein übt auf die genannten Testbakterien innerhalb 8 Tagen bei Eisschranktemperatur keinen erkennbaren Einfluß aus. Sämtliche Kontrollen: ∞.

Zusammenfassend sei also bemerkt:

Das Magnesiumsuperoxyd besitzt schon bei Zusatz von 0.67 Promille eine bedeutende bakterizide Kraft, eine vollkommene Abtötung sämtlicher im Selterwasser vorkommenden Keime ist jedoch nicht gewährleistet, selbst wenn man die Dosis auf fast das Doppelte steigert.

Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß, wenn man den Superoxydzusatz noch weiter steigert, vollständige Sterilität zu erreichen ist.

Einwirkung des Magnesiumsuperoxyds auf den Geschmack des Wassers.

Für die eventuell praktische Verwendung von weitester Tragweite ist die Frage, ob der Geschmack des Selterwassers unter dem Zusatz von Magnesiumsuperoxyd leidet. Ich selbst habe eine Änderung des Geschmacks nicht bemerken können, und dies wurde mir auch von verschiedenen Seiten bestätigt; von anderen dagegen, die von dem Wasser tranken, wurde behauptet, daß es einen widerlich bitteren Nachgeschmack hinterließe. Diese Frage muß also noch offen bleiben.

Chemische Veränderung des Wassers durch Magnesiumsuperoxyd.

Wie die Patentschrift angibt, soll nach Beendigung der Sterilisation das zugesetzte Magnesiumsuperoxyd fast vollkommen verschwunden sein. Diese Behauptung hat sich nicht bestätigt.

Es wurden Selterwasserflaschen mit 1 Promille und 0.67 Promille versetzt und bei 20° aufbewahrt; es wurde nach 2, 3, 4, 5 und 7 Tagen das noch vorhandene Superoxyd bestimmt:

Flaschen mit 1 Promille Zusatz (Mittel aus je zwei Flaschen) nach					
2	Tagen	noch	vorhanden	90.6	Proz. des zugesetzten Magnesiumsuperoxyds
3	"	"	"	80.6	" " " "
4	"	"	"	70.6	" " " "
5	"	"	"	68.8	" " " "
7	"	"	"	60.2	" " " "

Flaschen mit 0.67 Promille (Mittel aus je zwei Flaschen) nach					
2	Tagen	noch	vorhanden	87.7	Proz. des zugesetzten Magnesiumsuperoxyds
3	"	"	"	56.6 ¹	" " " "
4	"	"	"	82.1	" " " "
5	"	"	"	78.1	" " " "
7	"	"	"	75.7	" " " "

Bei beiden Versuchsreihen ist eine deutliche Abnahme des Wasserstoffsuperoxyds zu erkennen; doch ist selbst nach 7 Tagen noch im Mittel $\frac{2}{3}$ des zugesetzten Superoxyds vorhanden.

Bedeutend ungünstiger liegen aber die Verhältnisse, wenn das Selterwasser bei niedrigeren Temperaturen aufbewahrt wird.

Es wurden nämlich auch Selterwasserflaschen mit Magnesiumsuperoxydzusatz untersucht, die 4 bzw. 5 $\frac{1}{2}$ Woche bei der etwa 8° betragenden Temperatur der Selterwasserfabrik gelagert hatten.

Die erste Serie (nach 4 Wochen) enthielt im Mittel aus 23 Untersuchungen noch 87.5 Prozent unverändertes Wasserstoffsuperoxyd, und zwar schwankten die Zahlen zwischen 98.8 und 65.0 Prozent. Bei der zweiten Serie (nach 5 $\frac{1}{2}$ Woche) wurden im Mittel aus 18 Untersuchungen noch 68.7 Prozent gefunden. Die Grenzwerte waren 82.0 und 23.7 Prozent.

Die letztgenannten Verhältnisse dürften wohl die für die Praxis gegebenen sein. Denn die Fabriken müssen ihr Wasser möglichst kühl halten, um den Druck der Kohlensäure zu vermindern und Verluste daran zu vermeiden; ebenso verfahren die Zwischenhändler und die Hausfrau.

Selten aber wird das eingefüllte Selterwasser erst nach 4 Wochen genossen werden. Wie mir der Fabrikleiter mitteilte, werden im Sommer häufig die eben erst fertig gestellten Flaschen sofort verkauft. Man kann annehmen, daß in diesem Fall noch so gut wie gar kein Superoxyd zersetzt ist, die zugesetzte Substanz sich sogar noch teilweise ungelöst am Boden befindet.

¹ Die eine Flasche enthielt 85.1 Prozent, die zweite 78.1 Prozent.

Nun entspricht 1^{cm} des Präparates mit ungefähr 30 Prozent Magnesiumsuperoxyd ca. 180^{ms} Wasserstoffsuperoxyd; eine gewöhnliche Selterwasserflasche von 350^{cm} Inhalt beherbergte folglich 63^{ms} Wasserstoffsuperoxyd. Wenn mir auch der Fabrikchemiker versichert, daß er das Präparat löffelweise unverdünnt genossen habe, ohne die geringste unangenehme Wirkung dabei zu verspüren, so fehlen bisher noch exakte Untersuchungen darüber, ob Wasserstoffsuperoxyd in den angegebenen Mengen im allgemeinen für den Menschen, besonders aber für Kranke und Kinder, besonders bei fortgesetztem Genuß unschädlich ist. Denn man darf nicht vergessen, daß das Wasserstoffsuperoxyd ein energisches Oxydationsmittel ist, welches von den Geweben sofort unter Sauerstoffspaltung zerlegt wird.

Ähnliche Bedenken dürften auch Freyssinge und Roche (s. oben) vorgeschwebt haben. Dort wird das Wasser nach Beendigung der Sterilisation durch Filter geschickt, die Braunstein, ein wasserstoffsuperoxydspaltendes Mittel, enthalten. Und doch wird bei diesem Verfahren viermal weniger Wasserstoffsuperoxyd, nämlich 45^{ms} pro Liter, zugefügt als bei dem Krauseschen. Bis die Frage von der absoluten Unschädlichkeit der in Frage kommenden Mengen Superoxyd nicht gelöst ist, wäre auf jeden Fall ein Deklarationszwang zu verlangen, was hier wie in ähnlichen Fällen mit Schwierigkeiten verknüpft wäre.

Einwirkung des Superoxydzusatzes auf die Flaschenverschlüsse.

Von nicht zu unterschätzender Bedeutung für die Fabriken ist die Frage, wie sich die Patentverschlüsse gegenüber dem Magnesiumsuperoxyd verhalten. Der Direktor der Selterwasserfabrik, der sich für diese Frage besonders interessierte, hatte bereits einige Wochen, bevor ich meine Untersuchungen begann, mehrere Flaschen mit Magnesiumsuperoxyd versetzt und machte mich darauf aufmerksam, daß die Gummiverschlüsse ihre rote Farbe, soweit das Wasser damit in Berührung gekommen war, eingebüßt hatten. Nach meinen Beobachtungen genügte ein Zusatz von 0.67 Promille und Einwirkung von 24 Stunden, um diese Ätzung hervorzurufen. Andere, wahrscheinlich etwas ältere Gummistopfen, waren stark rissig geworden.

Es geht daraus hervor, daß bei Anwendung des Magnesiumsuperoxyds die Abnutzung der Gummiverschlüsse eine größere sein wird, und daß durch Undichtwerden derselben Kohlensäureverluste entstehen können.

Der Preis des Präparates soll sich auf 25 Mk. pro Kilogramm stellen, d. h. ein Liter Selterwasser würde sich um 2.5 Pfg. teurer stellen.

Hierzu kämen dann Kosten für den Zusatz des Magnesiumsuperoxyds, sei es, daß dies durch Arbeiter oder Maschinen geschehen soll. Alle diese Mehrausgaben hätte das Publikum zu tragen.

Einwirkung des Magnesiumsuperoxyds auf Brauselimonaden.

Es sei noch kurz über einige Versuche berichtet, die mit Brauselimonaden angestellt wurden. Ein besserer bakteriologischer Effekt als beim Selterwasser ließ sich hier von vornherein nicht erwarten. Denn der Grundsubstanz, dem Selterwasser, werden bei der Fabrikation organische Substanzen, Zucker, Fruchtaroma und Farbstoffe zugesetzt, und es war anzunehmen, daß ein Teil des Superoxyds diese Substanzen oxydieren und die Sterilisationswirkung verloren gehen würde. Es erübrigte sich auch diese Versuche vom bakteriologischen Standpunkte weiter fortzuführen, da bei Zusatz von 1 Promille Magnesiumsuperoxyd das Aussehen der Limonaden bereits nach 24 Stunden stark gelitten hatte. Die gelbe Farbe der Citronenlimonade war fast verschwunden, die rote der Himbeerlimonade vollkommen mißfarbig geworden.

Diesem Übelstande ließe sich zwar abhelfen, wenn die Fruchtlimonaden keinen Farbstoffzusatz erhielten; es scheint jedoch zweifelhaft, ob sich das Publikum an farblose Brauselimonaden, besonders Himbeerlimonaden gewöhnen wird.

Es bleibt nun noch die Frage zu erörtern, wie man sich vom hygienischen Standpunkte aus überhaupt gegenüber dem Zusatz von Sterilisationsmitteln zu Mineralwässern zu verhalten hat.

Nach meiner Meinung ist es ein gewaltiger Unterschied, ob der Soldat im Felde ein verdächtiges Wasser möglichst schnell trinkbar machen will, oder ob eine Fabrik, die einwandfreies Wasser zur Herstellung von Selterwasser zur Verfügung hat, Chemikalien zusetzt. Sind diese Mittel wirklich bakterizid, so werden sie auch für den Menschen nie ganz ungefährlich sein. Zu verlangen ist also, daß sie, nachdem sie ihre Schuldigkeit getan haben, aus dem Wasser wieder entfernt oder in eine unschädliche Form übergeführt werden. In offenen Gefäßen läßt sich dies auch ausführen; die Frage, wie dies in geschlossenen Flaschen geschehen soll, ist noch nicht gelöst.

Noch eine zweite Gefahr würde durch die Erlaubnis, sterilisierende Chemikalien dem Selterwasser zuzusetzen, heraufbeschworen. Darf der Fabrikant nicht künstlich sterilisieren, so muß er durch Anwendung größter Sauberkeit und Benutzung besten Ausgangsmaterials auf eine möglichst geringe Keimzahl seines Produktes hinarbeiten. Ist ihm da-

gegen der Zusatz von Chemikalien gestattet, so tritt leicht die Versuchung an ihn heran, schlechteres Wasser zu verwenden und die Flaschen weniger gut zu spülen.

Nun konnte Haenle¹ nachweisen, daß der Keimgehalt des Selterwassers in erster Linie von der Sauberkeit der Flaschen abhängig ist. Er fand, daß in Straßburg das von den Selterwasserfabriken benutzte Wasser, bis es in die Flaschen gefüllt wurde, fast keimfrei war. Von den untersuchten Flaschenproben zeigten stets die Syphonflaschen den niedrigsten Keimgehalt, weil sie vom Publikum nicht geöffnet und durch Verwendung für allerlei häusliche Zwecke verunreinigt werden können. Einen beträchtlich höheren Keimgehalt weisen die Flaschen mit Patentverschluß auf, den höchsten die sogenannten Kugelverschlußflaschen, die sich besonders schwer reinigen lassen. Je besser die Flaschenspülungen waren, um so keimärmer war das Selterwasser.

Auch ich habe an einer Reihe von Selterwasserproben, die ich von einer renommierten Berliner Fabrik bezog, beobachten können, daß man auch ohne Chemikalienzusatz keimarmes Wasser herstellen kann.

¹ Bakteriologische Studien über künstliches Selterwasser. *Centralbl. f. Bakt.* I. 1906. Bd. XL.

Bemerkungen zur Abhandlung des Hrn. Dr. Heck:

„Untersuchungen über das Vorkommen und die Lebensdauer von Typhusbakterien in den Organen gegen Typhus aktiv immunisierter und nicht immunisierter Tiere.“

Von

Prof. Tizzoni und Dr. Panichi.

Hr. Dr. Heck erwähnt in seiner Abhandlung „Untersuchungen über das Vorkommen von Typhusbakterien in den Organen gegen Typhus aktiv immunisierter und nicht immunisierter Tiere“¹ unter den Angaben anderer Tatsachen, die sich mit denen seines Gegenstandes mehr oder minder direkt verknüpfen, auch einige von uns festgestellte Beobachtungen bezüglich des Fortbestehens des Pneumococcus im Blute von Tieren, die der antipneumonischen Impfung unterworfen worden waren.

Dem betreffenden Zitat geht allerdings ein Urteil des Autors voran mit den folgenden Worten: „Mit großer Skepsis sind wohl die Versuche von Tizzoni und Panichi aufzunehmen.“

Hr. Dr. Heck wäre nun zu dieser Behauptung nicht gelangt, wenn er, anstatt eine getrennte Stelle zu berücksichtigen, die gesamte Arbeit und die ganze Reihe unserer diesbezüglichen Untersuchungen gewürdigt hätte. Denn in derselben Abhandlung, ja in derselben Seite, aus der sein Verdacht stammt (einige Zeilen früher, als die von ihm erwähnte Stelle), hätte er so deutliche und genaue Angaben gefunden, daß er nicht zweifeln konnte.

Hier hatten wir gerade folgendes geschrieben: „Derartige Kulturen nehmen bei darauffolgender Passage durch Bouillon oder Blut ihr normales Aussehen hinsichtlich ihrer mikroskopischen und bakteriologischen Charaktere wieder an.“

¹ Diese Zeitschrift. Bd. LVI.

Eine ähnliche Identifizierung konnte andererseits nicht ausbleiben bezüglich der pathogenen Eigenschaften des Keimes, wie sich daraus ergibt, was etwa zwei Seiten unterhalb der von Hrn. Heck angegebenen Stelle geschrieben wurde. Nämlich „man braucht dann im gegebenen Falle der Kultur nur mittels einer Tierpassage ihre pathogene Wirkung wiederzuerteilen.“

Unsere Ergebnisse stimmen ferner mit denjenigen Neufelds¹ überein, der uns im Jahre 1902 voranging, und mit denjenigen Dionisis,² der uns 1905 folgte. Beide beschäftigten sich mit dem Gegenstande auf anderem Wege als wir.

In anderen Abhandlungen von uns hätte Hr. Dr. Heck schließlich noch weitere Einzelheiten gefunden. In dem Bericht „Sulla permanenza dello pneumococco del Fränkel nel sangue degli individui guariti di polmonite fibrinosa“³ wurde z. B. nachgewiesen, daß der während 15 Monate latent lebende Pneumococcus der ödematogenen Varietät angehörte, und in einem „Contributo sperimentale alla conoscenza della eredità nella infezione pneumococcica latente“⁴ fügte der eine von uns noch ausführlichere Kenntnisse über die Biologie des latenten Keimes hinzu.

¹ Über die Agglutination der Pneumokokken und über die Theorien der Agglutination. *Diese Zeitschrift*. 1902. Bd. XL. S. 57.

² Sulla persistenza del diplococco di Fränkel nel sangue del cane. *Memorie della R. Accad. delle Scienze*. 1905. Vol. VI.

³ *Memorie della R. Accad. delle Scienze dell' Istituto di Bologna*. Tomo II (Serie VI).

⁴ Panichi, *Rendiconti della R. Accad. dei Lincei*. 1905. Vol. XIV. Serie V.

419
50+