

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
SAN FRANCISCO MEDICAL CENTER
LIBRARY



ZEITSCHRIFT
FÜR
HYGIENE
UND
INFEKTIONSKRANKHEITEN.

HERAUSGEGEBEN

VON

PROF. DR. C. FLÜGGE, UND **PROF. DR. G. GAFFKY,**
GEH. MED.-RAT UND DIREKTOR DES
HYG. INSTITUTS DER UNIVERSITÄT BERLIN, WIRKL. GEH. OBERMEDIZINALRAT.

SECHSUNDSIEBZIGSTER BAND.

MIT ZAHLREICHEN ABBILDUNGEN IM TEXT UND ZWÖLF TAFELN.



LEIPZIG

VERLAG VON VEIT & COMP.

1914

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.

WIAO TO VIMU
KORO JAP...
Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Inhalt.

	Seite
A. ELGSTROM und A. ERLANDSEN, Untersuchungen über Woldeckendesinfektion mit Formaldehyd	1
H. NAKANO, Untersuchungen über das Wesen der Wassermannschen Reaktion	39
FELIX KLOPSTOCK und ERICH SELIGMANN, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbazillen im strömenden Blut	77
E. FRIEDBERGER und J. JAMAMOTO, Über den Einfluß von Desinfektionsmitteln auf invisible Virusarten	97
EUG. FRAENKEL, Über metastatische Dermatosen bei akuten bakteriellen Allgemeinerkrankungen. (Hierzu Taf. I—VI.)	133
B. STOLPE, Vergleichende Untersuchungen über die Desinfektionswirkung des Kresepton A. R. Pearson und des Kreolin Pearson, unter besonderer Berücksichtigung des Bacillus pyocyaneus	171
ERICH HESSE, Bemerkungen zu den Ausführungen M. Fickers über den Nachweis von Bakterien durch das Berkefeldfilter	185
FRITZ FERBER, Beiträge zur Biologie der nur auf kulturellem Wege nachweisbaren Flagellaten des Rinderblutes	193
MAX SGALITZER, Über Säureagglutination	209
FRANCESCO SANFELICE, Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum der Tauben. (Hierzu Taf. VII.)	257
A. GEISSE, Die Differenzierung pathogener und saprophytischer Staphylokokken	282
FERDINAND SCHENK, Experimentelles zur Frage der Streptokokkenimmunität. .	307
HIDEZO TOYODA, Über die Entwicklung von Rekurrensspirochäten in der Kleiderlaus. (Hierzu Taf. VIII.)	313

12074

	Seite
E. G. DRESEL und FRITZ MARCHAND, Bakteriologische und klinische Beobachtungen bei Ruhrinfektionen	321
MANTUFEL, 12 Jahre Malaria bekämpfung nach dem von Robert Koch angegebenen Verfahren	350
HARALD HUSS, Zur Kenntnis der biologischen Zersetzung von Arsenverbindungen	361
G. ARNHEIM, Spirochätenuntersuchungen. (Hierzu Taf. IX u. X.)	407
A. A. JURGELUNAS, Über die Wirkung einiger Kaltblütersera auf Warmblüter	443
N. POKSCHISCHESKY, Über Methoden der Schutzimpfung gegen Tollwut.	453
JOHANNES STAMM, Zur Frage der Veränderlichkeit der Choleravibrien in Wasser. (Hierzu Taf. XI u. XII.)	469

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Kopenhagen.]
(Direktor: Dozent Dr. A. Erlandsen.)

Untersuchungen über Woldeckendesinfektion mit Formaldehyd.

Von

A. Elgström und A. Erlandsen.

Die Veranlassung zu den unten berichteten Versuchen war ein vom Reichshospital an das Institut gerichtetes Ersuchen, eine Untersuchung über die Bedingungen für die Desinfektion von Woldecken mit Formaldehyd in einer Desinfektionskammer vorzunehmen, die zu diesem Zweck eingerichtet war.

Die Desinfektion wollener Bettdecken in Dampfdesinfektionsapparaten führt bekanntermaßen nach und nach eine Beschädigung der Decken mit sich, indem diese die Farbe ändern, krimpen, filzartig und steif werden. Selbst wenn in dieser Hinsicht je nach der Qualität der Decken ein bedeutender Unterschied zu sein scheint, und selbst wenn eine sorgfältige Behandlung die Zerstörung der Decken einigermaßen verzögern kann, so werden dieselben doch schnell weniger brauchbar. Die ganze Angelegenheit ist von nicht geringer ökonomischer Bedeutung.

Infolgedessen hat man in verschiedenen Krankenhäusern „Formalin-kammern“ für Woldeckendesinfektion eingerichtet oder geplant, wie man sowohl hier als im Auslande Formalindesinfektion zur Kleiderdesinfektion (Uniformen u. dergl.) in größerem Umfange anwendet.

Da wir selbst ganz befriedigende Aufklärungen für die Ausführung solcher Desinfektionen vermißt haben, so haben wir gemeint, daß eine Veröffentlichung unserer Untersuchungen von Nutzen sein könnte.

In der überwältigend großen Literatur, die die Desinfektion mittels Formaldehyd behandelt, gibt es verhältnismäßig sehr wenige Berichte über Versuche mit Bekleidungsgegenständen, Decken u. dergl. Man findet aller-

dings häufig Bemerkungen über den Wert des Formaldehyds als Desinfektionsmittel von Effekten, die keine Wasserdampfdesinfektion vertragen. Oft aber stützen sich diese Bemerkungen nicht auf eigne Untersuchungen, auf die Desinfektion solcher Stoffe speziell gerichtet, teils sind sie direkt widersprochen durch die bei den Versuchen nachgewiesene geringe Tiefenwirkung der Formaldehyddesinfektion.

Die ersten Untersucher, die versucht haben, Kleider, Decken u. dergl. mit Formaldehyd zu desinfizieren, führten alle ihre Versuche in recht kleinen Räumen aus, wie Kisten, Fässern oder Schränken (0.1 bis 1 ^{cbm}). Hierin suchten sie die Einwirkung des Formaldehyds auf die hineingebrachten Kleidungsstücke dadurch hervorzurufen, daß sie es von durchfeuchtetem Papier oder Zeug oder von aufgestellten Verdampfungsschalen spontan verdampfen ließen, oder daß sie die Objekte mit starker Formaldehydlösung direkt durchfeuchteten. Die Ergebnisse waren schlecht. Freymuth (1894) mußte 800 bis 1200 ^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter anwenden, um Cholera-bakterien in 3 bis 24 Stunden zu töten, und Ermengem und Sugg (1894) hatten nicht einmal befriedigende Ergebnisse mit 2 bis 4000 ^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter in 48 Stunden. Strehl (1896), der das Formaldehyd in einer Kiste mittels Sprays verteilte, vermochte nicht mit 80 bis 160 ^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter in 24 bis 72 Stunden (Temp. 10 bis 20°) Staphylokokken und Milzbrandsporen zu töten, während Walther (1896) und Hammerl und Kermauner (1898), die die Formaldehyddämpfe durch ein Rohr in den Desinfektionsbehälter hineinleiteten, vergebens Formaldehydmengen anwendeten, die zu 100 bis 400 ^{grm} pro Kubikmeter veranschlagt werden müssen. Sie erreichten in 18 bis 52 Stunden keine genügende Desinfektionswirkung, ja Walther äußerte sogar als seine Meinung, daß es nicht möglich sei, Kleider mit Formalin zu desinfizieren.

Wir werden diese Versuche, deren Technik in vieler Hinsicht die Ansprüche der Gegenwart nicht befriedigen kann, nicht näher erörtern. Nur darauf wollen wir aufmerksam machen, daß diese Versuche das gemeinschaftlich hatten, daß sie bei niedriger Temperatur und bei niedrigem Feuchtigkeitsgrad ausgeführt waren. Der erste Untersucher (Rositzky, 1899), der, gemäß den Erfahrungen bei den Raumesinfektionsversuchen, den Versuch dahin modifizierte, daß Wasserdampf von einem Dampftopf außerhalb des Desinfektionsraumes (Holzschrank 1 ^{cbm}) hineingeleitet wurde, erreichte in 9 Stunden schon ein einigermaßen gutes Ergebnis mit 10 bis 40 ^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter. Es war so augenscheinlich, daß der hineingeleitete Wasserdampf die Tiefenwirkung des Formaldehyds vergrößerte. Gleichzeitig versuchten andere Forscher strömende Formaldehyddämpfe anzuwenden, die unter hohem Druck (3 bis 3½ Atm.) vom Trillats-Autoklav in den Desinfektionsraum hineingeleitet wurden.

Die ersten Versuche (Doty, 1897) ergaben jedoch keine zuverlässige Tiefenwirkung, während Hinz und Petruschky (1898 bis 1900) durch Anwendung von 500 bis 800 g^{m} Formaldehyd pro Kubikmeter in 1 bis 2 Stunden befriedigende Ergebnisse erzielten. Diese Verfasser legen Gewicht auf die Bedeutung des Überdrucks für die Tiefenwirkung und geben an, daß bessere Ergebnisse zu erreichen sind, wenn der Überdruck von 3 bis $3\frac{1}{2}$ Atmosphären vergrößert wird. Indessen waren diese Formaldehydmengen so bedeutend, daß sie praktisch gesehen diese Desinfektionsweise unmöglich machten.

Die Hoffnungen, die französischerseits (Soc. chim. des usines des Rhône) geweckt waren, daß man durch eine Kombination der Entwicklung von reinem trockenem Formaldehyddampf mit Anwendung von Vakuum eine Desinfektionsmethode erlangen könnte, die zur Desinfektion von größeren Effekten (Pferdehaar in Ballen verpackt u. dergl.) geeignet war, wurden durch die Versuche von Dunbar und Musehold umgestoßen, welche zeigten, daß das Formaldehyd mangelhaft verteilt wird und ungenügende Tiefenwirkung (14 bis 42 g^{m} pro Kubikmeter, 2 bis 6 Stunden) hatte. Indessen war durch das Studium der desinfizierenden Eigenschaften des Formalins auf anderen Gebieten eine Reihe wichtiger Erfahrungen gewonnen worden, die wir später berühren werden. Dieselben mußten zu der Auffassung führen, daß man sein Ziel nicht allein dadurch erreichte, daß man die Formalinmenge vergrößerte, sondern, daß man die physikalischen Verhältnisse im Raume berücksichtigen mußte, namentlich Temperatur und Feuchtigkeit.

Auf dem hier erwähnten Gebiet hatten v. Esmarch (1902) und seine Schüler einen Fingerzeig gegeben, indem sie zeigten, daß man durch strömenden Wasserdampf (Temp. 70 bis 80° C), dem 1 bis 4 prozentiges Formaldehyd zugemischt war, in kurzer Zeit ($\frac{1}{4}$ bis 1 Stunde) eine weit kräftigere Desinfektionswirkung erreichte, als man früher in den obengenannten Versuchen mit kolossalen Formalindosen erzielt hatte.

Auf dem Gebiet der Kleiderdesinfektion — wie dem der Raumdesinfektion — rechnet man wohl nun überhaupt nicht mehr mit Desinfektion durch Formaldehyd ohne gleichzeitige Wasserverdampfung. Selbst wenn man auf dem ersten Gebiet noch nicht genügend aufmerksam geworden ist oder völlige Klarheit darüber hat, welche ungeheure Bedeutung diesem Moment beizulegen ist, um gute Ergebnisse zu erreichen, so haben alle neueren Untersucher Formaldehyd in Verbindung mit Wasserverdampfung benutzt. Man hat auf diese Weise unter günstigen Versuchsbedingungen befriedigende Ergebnisse erreicht mit weit geringeren Formaldehydmengen als durch obengenannte Versuche. Reichenbachs Untersuchungen (1902), die freilich nicht auf Kleiderdesinfektion gerichtet sind, sondern auf Des-

1*

infektion gepolsterter Eisenbahnwagen, werfen Licht auf einige der Schwierigkeiten bei der Aufgabe. Trotz reichlicher Wasserverdampfung mußte er mindestens 80 g^{m} Formaldehyd pro Kubikmeter verwenden, um eine befriedigende Oberflächenwirkung zu erzielen. Spätere Untersucher haben diese Untersuchungen bestätigt. Walbum (1909) hat es somit für notwendig gefunden, in gepolsterten Coupés neunmal so viel Formaldehyd (Autanmethode) zu benutzen, wie zur allgemeinen Raumdesinfektion als genügend angegeben war. Während der Gebrauch von „Formalinschränken“ zur Desinfektion von Kleidungsstücken sich stets vergrößerte, gaben die Untersuchungen der folgenden Jahre zum Teil sehr ungünstige Beurteilungen über die Zuverlässigkeit der Methode. Kister und Trautmann (1904) suchten nach von Esmarchs Muster Woldecken durch formaldehydhaltige (1 bis 2 Prozent) Wasserdämpfe zu desinfizieren, die jedoch in einem evakuierten Desinfektionsofen entwickelt wurden. Trotz Verdampfung von 20 bis 30 g^{m} Formaldehyd und 2 bis 3 Liter Wasser pro Kubikmeter wurden in $\frac{1}{2}$ Stunde bei einer Temperatur von 70° C befriedigende Ergebnisse nicht erreicht. Die Wirkung war inkonstant und die Tiefenwirkung gering. Hilgermann und Kirchgaesser (1907) versuchten Kleider in einem Holzschrank mittels „Autan“ zu desinfizieren, fanden aber, daß man von diesem Präparat 10 bis 15 mal so große Dosen anwenden mußte, wie zur Raumdesinfektion angegeben war, um nur eine einigermaßen gute Desinfektionswirkung zu erhalten. Eine Bedingung war übrigens, daß der Schrank nicht mit Kleidern überfüllt wurde. Ähnliche Untersuchungen wurden von Boehncke (1909) ausgeführt. Dieser Forscher entwickelte das Formaldehyd aus „Formadolbriketts“ und fand, daß zwölfmal so große Mengen erforderlich waren wie zur Raumdesinfektion, und daß die Desinfektion überhaupt nicht eintrat, wenn nicht gleichzeitig große Wassermengen verdampft wurden.

Aus den späteren Jahren stammen Ax. Jörgensens (1903) und J. Fibigers (1906) Untersuchungen, die besonders sorgfältig und gründlich sind und sich gegenseitig ergänzen. Durch eine Reihe konsequent durchgeführter Versuche haben diese Verfasser die Möglichkeit einer sicheren Desinfektion von Kleidern (Uniformen) in größerem Umfange untersucht.

Die Bedeutung von Jörgensens Untersuchungen liegt namentlich in der genauen Durchprüfung der Einzelheiten bei der Technik und der Ausarbeitung des Planes zu einer Uniformdesinfektion im größeren Umfange. Die bei unseren Versuchen benutzte Desinfektionskammer ist wesentlich in Übereinstimmung mit seinen Forderungen ausgeführt. Was die von Jörgensen angegebenen Formaldehydmengen betrifft, sind sie dadurch beeinflusst, daß die Versuche nicht mit größeren Mengen von

Uniformgegenständen ausgeführt sind. In dieser Hinsicht sind sie von Fibiger ergänzt, der einen Desinfektionsofen (5 Kubikmeter) als Versuchsraum anwendete, und hierin eine große Menge größerer und kleinerer Uniformeffekten anbrachte. Die von Fibiger angewandten Formaldehydmengen (28 bis 36^{gramm} pro Kubikmeter) sind daher fünf- bis sechsmal so groß als die von Jörgensen. Gemeinsam für beide Untersucher ist die Ausführung der Desinfektion in zwei Zeiträumen, zwischen welchen die früher innere Seite der Objekte nach außen gewendet wurde. Es wurden zwei Formaldehydverdampfungen mit gleichzeitiger reichlicher Wasserverdampfung (a. m. Flügge) vorgenommen, indem jedesmal die Hälfte der Formaldehydmenge verwendet wurde.

In Fibigers Versuchen ist die Desinfektionszeit im ganzen zu 7 $\frac{1}{2}$ Stunden berechnet. Die Temperatur im Ofen während der Versuche war 20 bis 40° (niemals über 65° C). Die Ergebnisse der Desinfektion waren befriedigend.

Ein Nachteil bei der von Fibiger und Jörgensen angewandten Desinfektionsmethode ist die erwähnte Ausführung in zwei Abschnitten, was die Arbeit sehr vergrößert. Die Schätzung der Tiefenwirkung des Formalins während der Versuche wird hierdurch außerdem unmöglich gemacht. In dieser Richtung hat Fibiger auch Reservationen vorgesehen und schließt z. B. alle fleckigen und beschmutzten Effekten von der Formalindesinfektion aus.

Es sollen nur noch die interessanten Untersuchungen von Uyama, Tzuzuki, Oshida und Matsuda erwähnt werden, deren Desinfektionsmethode — die sogenannte „japanische“ — sich von den vorerwähnten dadurch unterscheidet, daß die Erwärmung sowohl der Desinfektionskammer als der Objekte durch strömende Wasserdämpfe unter einem Druck von 6 Atmosphären geschieht.

Sobald die Temperatur bis auf etwa 60° C gestiegen und die Objekte mit Wasserdampf gesättigt waren, ließ man den Dampf auf einen Sprayapparat wirken, der im Laufe einer Minute 9^{gramm} Formaldehyd pro Kubikmeter in der Kammer verteilte. 10 Minuten danach war die Desinfektion beendet und hatte im ganzen nur $\frac{1}{2}$ Stunde gedauert. Die Ergebnisse scheinen in bezug auf Tiefenwirkung weit besser zu sein als bei allen bisher angegebenen Methoden. Da Einzelheiten rücksichtlich der Kontrolltechnik fehlen, und die Ergebnisse von anderen Seiten nicht bestätigt sind, läßt sich die Methode nicht endgültig beurteilen.

Vergleicht man nun die erwähnten, unter so verschiedenen Bedingungen ausgeführten Desinfektionsversuche mit den Erfahrungen, die bei Untersuchungen über die Anwendung des Formaldehyds als Raumdesinfiziens erzielt sind, so gewinnt man die Auffassung, daß für eine ökonomisch er-

schwingliche, genügend tiefgehende Desinfektion von Woldecken mit Formaldehyd in nicht evakuierten Kammern erforderlich sind:

1. wesentlich größere Formaldehydmengen als die für Raumdesinfektion gewöhnlich angegebenen, nach Art und Menge (Oberfläche) der Objekte variierend;
2. ein schnelles Verdampfen des Formaldehyds, am besten unter Anwendung eines Überdrucks;
3. eine gleichzeitig reichliche Wasserverdampfung und
4. Anwendung höherer Temperatur als bei der Raumdesinfektion.

Die Bedeutung der Feuchtigkeit.

Es ist zu einem wesentlichen Teil Flügge und seinen Schülern zu verdanken, daß die außerordentliche Bedeutung der Luftfeuchtigkeit für die Formaldehyddesinfektion nun allgemein anerkannt ist. Flügge behauptete (1898) sogar, daß erst eine gewisse Durchfeuchtung der Objekte das Eindringen des Formaldehyds ermöglichte. Daher verlangte er eine Übersättigung des Desinfektionsraumes mit Wasserdampf, so daß eine leichte Kondensation an allen Gegenständen eintrat. Dieser Anschauung wurde von einer Reihe von Verfassern (Novy und Waite, Czaplewsky, Mayer und Wolpert) beigetreten. Diese Fragen wurden übrigens ungefähr gleichzeitig (1898 bis 1899) von Rubner und Peerenboom untersucht. Peerenboom zeigte, daß die Desinfektion bei sehr trockenen, hygroskopischen Objekten und sehr nassen Objekten am leichtesten gelang (das letzte ist jedoch später von Engels bestritten worden), sowie daß die Desinfektion nicht eintritt, wenn man bei Erwärmung der Objekte verhindert, daß der Wasserdampf von diesen aufgesaugt oder verdichtet wird. Rubners und Peerenbooms Experimente sprechen einerseits dafür, daß eine vollständige Wasserdampfsättigung des Raumes nicht notwendig sei. Die Gegenwart des Wasserdampfes wirkt der Polymerisierung der Formaldehyddämpfe entgegen, aber die Gasmoleküle existieren Seite an Seite. Die Desinfektion war daher kein Ergebnis ihrer Vereinigung in Dampfform. Rubner und Peerenboom nahmen an, daß das Formaldehyd von den Objekten absorbiert (beziehungsweise kondensiert) wird und darauf sekundär Wasser anzieht, wodurch die Desinfektion vor sich gehen kann. Die notwendigen Formaldehydmengen und Wasserdampfmengen konnten daher nicht vom Kubikinhalt des Raumes abhängig sein, sondern mußten von der Art der Objekte abhängen, namentlich ihrer Oberflächenausdehnung und ihrer hygroskopischen Eigenschaften. Selbst wenn die letzterwähnten Forscher keine Durchfeuchtung der Objekte verlangen, so sprechen ihre Versuche dafür, daß die Wasserdampfmenge bei hygroskopischen Objekten besonders reichlich sein muß.

Die Bedeutung der Temperatur.

Pottevin zeigte schon 1894, daß die Desinfektionsfähigkeit des Formaldehyds bedeutend vergrößert wird, wenn man die Temperatur erhöht, was übrigens damit übereinstimmte, was Robert Koch (1881) über andere luftförmige Desinfektionsmittel geäußert hatte. Diese Erfahrungen sind von

einer Reihe von Untersuchern (Fairbanks, Kaup, Mayer und Wolpert u. a.) bestätigt worden, die angaben, daß die Temperatur bei Raumesinfektion mit Formaldehyd über 12 bis 15° C sein sollte und am besten bis 25° C oder mehr zu erhöhen ist. Lassablière hat des weiteren gezeigt, daß die Penetrationsfähigkeit des Formaldehyds mit der Temperatur vergrößert wird, und daß sie für Matratzen, Bettzeug u. dergl. erst vollständig wird, wenn die Temperatur etwa 50 bis 60° C erreicht.

Versuchsbedingungen und Technik.

Da bei der vorliegenden Aufgabe der Desinfektionsraum gegeben war, galt es bei den orientierenden Versuchen herauszufinden, wie die oben-erwähnten Forderungen auf beste Weise erfüllt werden konnten.

Es war im voraus gegeben, daß die Versuche weder in der Richtung der japanischen Methode (dazu war der verfügbare Dampfdruck zu gering), noch in der Richtung der auf Grund von Rubners neueren Untersuchungen ausgearbeiteten Formalinvakuumdesinfektion ausgestaltet werden konnten, da wir jedenfalls mit einem Gemisch von Wasserdampf, Formaldehyd und Luft arbeiten mußten.

Die Desinfektionskammer. Die zur Verfügung stehende Formalinkammer (siehe Fig. 1) ist in die Desinfektionsanstalt des Krankenhauses eingebaut, und zwar so, daß sie durch eiserne Türen (*A* und *B*), die luftdicht zugeschraubt werden können, sowohl von der „reinen“ wie der „unreinen“ Seite der Anstalt zugänglich ist. In der einen Tür ist eine kleine Glasscheibe angebracht, wodurch man ein während der Versuche in der Kammer aufgehängtes Hygrometer ablesen kann. Der etwa 15·74 cbm große Raum ist übrigens von Mauerwerk umgeben. Wände und Decke sind mit Porzellanfliesen, der Fußboden mit Erlanger Fliesen bekleidet. Der Raum kann durch einen Dampferwärmungsapparat (*C*) erwärmt werden oder mittels Durchblasen erhitzter Luft, die durch die auf der Zeichnung angegebene Anordnung bei (*D*) eingesogen und mittels des Motors (*E*) durch einen Erhitzungsapparat in die Kammer getrieben wird, so daß sie in diese durch Öffnungen in der Decke (*F*), welche Öffnungen entlang der einen Längswand der Kammer angebracht sind, eintritt. Wenn das Durchblasen von warmer Luft nicht stattfindet, wird die Luftpassage auf diesem Wege durch das Ventil (*G*) gesperrt. Im Boden der Kammer findet sich eine Öffnung (*H*), durch welche die Luft der Kammer während des Durchblasens von Luft oder Dampf hinausgepreßt werden kann. Diese Öffnung kann durch das Ventil (*I*) geschlossen werden. Die Formaldehydverdampfung geht von dem in einer betongegossenen Grube, dicht innerhalb der einen Tür der Kammer angebrachten Dampftopf vor sich, dessen Inhalt (etwa 6 Liter) dadurch zum Kochen gebracht

werden kann, daß man den Dampf um den Topf leitet. Die Dampfzufuhr sowohl als die Abstellung des Dampfes kann außerhalb der

Formalin-Desinfektionskammer

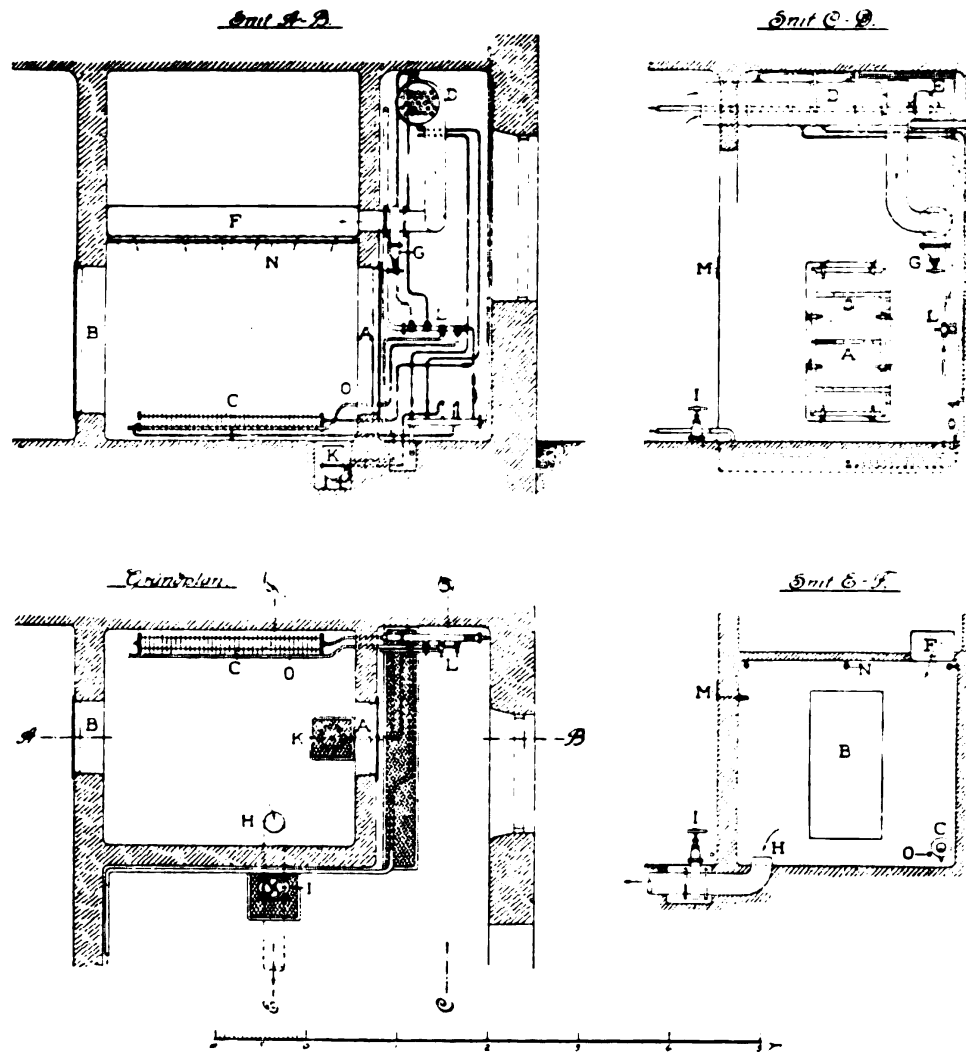


Fig. 1.

Kammer (L) vorgenommen werden. Die Temperatur der Kammer wurde von außen auf einem Thermometer (M) abgelesen, übrigens durch aufgehängte Maximalthermometer und in einer Reihe von Versuchen außerdem mittels eines Thermographen gemessen. Die Luftfeuchtigkeit wurde durch ein Hygrometer gemessen, das häufig geeicht und erneuert werden

mußte, und das durch die erwähnte Glasscheibe abgelesen wurde. In einer Reihe von Versuchen wurden die Feuchtigkeitsschwankungen mittels eines Hygrographen registriert.

Zum Aufhängen der Decken sind unter der Decke der Kammer drei mit Haken versehene Stangen (N) angebracht, so daß die Decken völlig frei in der Luft aufgehängt werden können, ohne einander zu berühren.

Wegen der starken Wasserkondensation, die häufig an den eisernen Türen eintrat, wurden diese später auswendig mit Decken bedeckt, und es wurde empfohlen, dieselben künftig isolieren zu lassen.

Aus obenstehendem geht hervor, daß die Formaldehydentwicklung durch Verdampfen wässriger Formaldehydlösungen vor sich gehen soll. Wegen der Größe des Topfes war es nur möglich, die Formaldehydmenge bis zu 40 bis 45 grm Formaldehyd pro Kubikmeter zu vermehren, ohne stärkere Lösungen als die von Flügge empfohlenen zu benutzen (8 Prozent). Jörgensen hat jedoch ebenso befriedigende Ergebnisse mit 12prozentigen Lösungen erreicht. Bei ganz wenigen Versuchen war die Konzentration höher (am höchsten 17 Prozent), doch müssen die hierbei durch Paraformaldehydbildung entstehenden Verluste unter den übrigen gegebenen Versuchsbedingungen als bedeutungslos angesehen werden (vgl. Rubner und Peerenboom).

Durch Versuche wurde festgestellt, daß die Verdampfung des Inhaltes des Topfes (etwa 6 Liter) etwa 75 Minuten dauerte.

Die Schnelligkeit der Entwicklung des Formaldehyds war hiermit gegeben, gleichwie die Wasserdampfentwicklung begrenzt war (bis später besondere Einrichtungen zum Wasserdampfeinblasen getroffen wurden).

Die Wolldecken. Zu den Versuchen wurden die im Hospital gebräuchlichen Wolldecken benutzt, deren Größe etwa 3.27qm und deren durchschnittliches Gewicht 2.23kg war. Es ließen sich in der Kammer zwei Decken pro Kubikmeter (d. h. 32 Decken) bequem aufhängen und mit etwas Mühe 2.5 Decken pro Kubikmeter.

Die Decken wurden immer zwischen den Versuchen getrocknet. Wechsel von Decken wurde übrigens häufig vorgenommen.

Probeobjekte. Bei der Wahl derselben verwarfen wir die häufig angewendeten Seidenfäden, Granaten u. dergl. (vgl. Otsukis Untersuchungen), um dasjenige Material zu benutzen, das der vorliegenden Aufgabe am besten entspricht, nämlich Wolldeckenzeug (vgl. Ax. Jörgensen, Engels). Teils benutzen wir Proben von völlig ungebrauchtem Wolldeckenzeug (Dicke 2.7mm , Gewicht 7.9grm pro 100qcm), teils von alten abgenutzten Wolldecken (Dicke 1.3mm , Gewicht 4.25grm pro 100qcm). Diese Objekte (Größe etwa 1qcm) wurden auf untenbeschriebene Weise infiziert. Um auch die Desinfektionswirkung gegenüber Teilen der

Decken schätzen zu können, deren Porosität (Hygroskopie) wesentlich herabgesetzt war, haben wir in großem Umfange Objekte aus dichter schwerer Leinwand (Dicke 0.3 mm, Gewicht 1,772 g^{cm} pro 100 q^{cm}) benutzt, die erst zweimal in destilliertem Wasser ausgekocht und danach in Alkohol und Äther ausgewaschen wurden. Trotz dieser Vorbehandlung lassen diese Leinenobjekte sich nur schwierig durchfeuchten, so daß sie etwa 1/2 Stunde in Bakterienaufschwemmung liegen müssen, um durchfeuchtet zu werden; die Objekte aus neuer Wolle werden in etwa 5 Minuten durchfeuchtet, während das gebrauchte Wollenzug augenblicklich durchfeuchtet wird.

Angewandte Bakterien. Bei allen Versuchen benutzten wir als Kontrolle für die Wirksamkeit der Desinfektion: 1. sporenhaltige Kulturen von *B. anthracis*, sowie Kulturen von 2. *B. coli commune* und 3. *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Hr. Abteilungsvorsteher Walbum (Statens Seruminstitut) hat uns wohlwollend Kulturen der Bakterienstämme überlassen, die er bei seinen Formalindesinfektionsversuchen (Hospitalstidende, 1912, S. 585) benutzt hat. Wir benutzen hier die Gelegenheit, ihm dafür zu danken.

Den Anthrax- und Colistamm haben wir bei allen Versuchen benutzt, die sich über den Zeitraum vom Dezember 1911 bis August 1912 erstreckten. Dagegen hat sich die Staphylokokkenkultur weniger zweckmäßig erwiesen. Da sie bei uns schwache blaßgelbe Kolonien auf Agar gab, und da die hiermit hergestellten Proben wenig resistent waren, so daß die Kontrollproben bei verschiedenen Versuchen kein Wachstum zeigten, gaben wir es auf, dieselbe anzuwenden und haben von Versuch Nr. 16 an ausschließlich eine aus frischem Eiter gewonnene Kultur von *Staph. pyog. aureus* angewendet, die sich weit resistenter¹ zeigte (siehe unten).

Als Kulturmaterial sind Nährsubstrate angewendet, die auf gewöhnliche Weise aus frischem Kalbfleisch hergestellt waren.

Zubereitung der Probeobjekte. Da angegeben worden ist, daß die Sporenbildung der Anthraxkulturen besser in Agarkulturen vor sich gehe als in Bouillonkulturen, wurden die Anthraxproben immer von Agarkulturen, in steriler Bouillon aufgeschwemmt, zubereitet. Bei den ersten 30 Versuchen wurden Kulturen verwendet, die 2 bis 5 Tage alt waren, später verwendeten wir bei jeder Zubereitung eine Mischung von mehreren Kulturen, wovon eine mindestens 3 Wochen alt war (vgl. Hewlett und Hall), obwohl unsere unten angeführten Resistenzbestimmungen die Notwendigkeit einer solchen Maßregel nicht bestätigt haben.

¹ Walbum gibt an (*Desinfektion*. Bd. II. S. 694), daß die von ihm angewandten Staphylokokken schon 1909 von 1 prozent. Karbolwasser im Laufe von 10 Minuten getötet wurden.

Von *B. coli comm.* und *Staph. pyog. aur.* wurden anfangs 2 bis 5 Tage alte Bouillonkulturen angewendet, später gingen wir auch hier zur Aufschwemmung von Kolonien aus Agarkultur über. Es wurde hiermit bezweckt, eine klumpigere Emulsion zu benutzen, die vermeintlich den wirklichen Verhältnissen besser entsprach.

Zur Aufschwemmung der Kulturen wurde immer sterile Bouillon verwendet, in der die Kolonien sorgfältig verrieben wurden, da die Aufschwemmung in Wasser (Engels) oder Kochsalzlösung — die sonst häufig benutzt wird — günstigere Bedingungen für die Desinfektion zu geben scheint, als man in der Praxis erwarten darf.

Die mit *B. coli*- und *Staph. pyog. aur.*-Aufschwemmung durchfeuchteten Probeobjekte wurden nach Ausbreiten auf sterilem Filtrierpapier in sterilen Petrischalen im Thermostaten (37° C) getrocknet, während die Anthraxproben, um der Auskeimung der Sporen entgegenzuwirken, bei Stubentemperatur im Exsikkator über Chlorcalcium (im Dunkeln) getrocknet wurden.

In der Regel wurden frische Probeobjekte zu 2 bis 3 Versuchen auf einmal zubereitet; wenn täglich Versuche vorgenommen wurden, bereiteten wir ausnahmsweise Proben zu 5 Versuchen auf einmal zu, so daß die Objekte selten mehr als wenige Tage alt waren. Die fertig getrockneten Objekte bewahrten wir im Dunkeln in geschlossenen Petrischalen bei Stubentemperatur auf.

Als Proben besonders grob infizierter Objekte sind, außer den genannten Leinwandproben, in einigen Versuchen Objekte verwendet worden, die mit unverdünntem oder beinahe unverdünntem Koloniematerial eingerieben waren.

Resistenzuntersuchung. Die Technik war wesentlich übereinstimmend mit der von Walbum (Desinfektion II, S. 694) beschriebenen. Die Resistenz des *B. coli commune* wurde zu verschiedenen Zeitpunkten gegenüber 1prozentiger Phenollösung (Stubentemperatur) probiert. Sie vertrug einen Aufenthalt von 40 bis 50 Minuten.

Die Resistenz des bei den Versuchen Nr. 16 bis 115 angewendeten *Staph. pyog. aureus* vertrug unter denselben Versuchsbedingungen einen Aufenthalt von über 3 Stunden in 1prozentiger Phenollösung und einen Aufenthalt von etwa 5 Minuten in 2prozentiger Phenollösung.

Die Resistenz der Anthraxsporen wurde nach v. Esmarch gegenüber Dampf (98 bis 100° C) in Kochs Dampfsterilisationsapparat¹ probiert.

Die Versuche wurden so ausgeführt, daß die zubereiteten Probeobjekte (s. oben) in einen kleinen Korb aus feinem Metalldraht eingebracht wurden,

¹ Vgl. Dunbar u. Musehold: Die Resistenz der Anthraxsporen gegenüber Formaldehyd variiert parallel mit ihrer Resistenz gegenüber Dampf (100° C).

der an einem Metallhaken aufgehängt wurde oder an letzterem mittels Zwirnfaden. Es wurden Resistenzbestimmungen mit kurzem Zwischenraum durch die ganze Versuchsperiode vorgenommen. Die Ergebnisse waren gewöhnlich etwas, aber nicht viel variierend. Es zeigte sich vielmehr ein geringes Steigen der Resistenz während der Versuchsperiode. Zwölf Resistenzbestimmungen mit infizierten Leinenobjekten zeigten, daß die Sporen einen Aufenthalt von $1\frac{1}{2}$ bis 3 Minuten im Dampf vertrugen, am häufigsten über 2 Minuten, durchschnittlich $2\frac{1}{4}$ Minuten.

Für die Anthraxsporen in Wollobjekten war die Resistenz wesentlich geringer, indem sie in neun Versuchen einen Aufenthalt im Dampf von $\frac{3}{4}$ bis 2 Minuten vertrugen (durchschnittlich $1\frac{1}{2}$ Minute).

Wurden die Versuche mit Objekten ausgeführt, die von dem obenbeschriebenen abgenutzten Woldeckenzeug hergestellt waren, so widerstanden dagegen die aufgesaugten Anthraxsporen dem Dampf 4 bis 5 Minuten (Durchschnitt von sechs Versuchen: $4\frac{1}{3}$ Minuten). Dieser bedeutende Unterschied bei den Woldeckenobjekten, über den wir nicht sofort im klaren waren, hat bewirkt, daß über die Bedeutung dieses Verhaltens besondere Untersuchungen vorgenommen werden mußten. Dies unterstreicht die Bedeutung der detaillierten Darstellung der Versuchstechnik bei Desinfektionsversuchen. Die Schwierigkeit einer völlig gleichen Darstellung der Probeobjekte erklärt übrigens, daß die Ergebnisse in anscheinend gleichen Versuchen abweichend werden können.

In einer speziellen Versuchsreihe haben wir eine Vergleichung der Resistenz der Anthraxsporen in den Objekten vorgenommen, die beziehungsweise im Thermostaten (37° C) und im Exsikkator (Stubentemperatur) getrocknet waren. Es war nicht möglich, einen deutlichen Unterschied nachzuweisen (vgl. Otsuki). Außerdem fanden wir in besonderen Versuchen dieselbe Resistenz für Anthraxsporen in gleichartigen Objekten, sei es, daß sie von Kulturen hergestellt waren, die ein Alter von 2 Tagen oder gut 3 Wochen hatten.

Das Anbringen der Probeobjekte während der Versuche.

Bei ungefähr der Hälfte der Versuche wurden die Objekte in flachen, runden Blechschachteln (Durchmesser 45^{mm}) angebracht, die mit Ösen zum Aufhängen versehen waren. Während des Transportes und des Aufhängens wurden die Schachteln geschlossen gehalten. Nach dem Aufhängen an den Decken (an Sicherheitsnadeln) wurden die Deckel geöffnet, die mit Haspe versehen waren, während ein feines, großmaschiges Metalldrahtnetz, das an der Mündung der Schachtel angebracht ist, die Objekte am Herausfallen hinderte.

Bei 40 Versuchen wurden allein Objekte von abgenutztem Woldeckenzeug verwendet, die mittels eines im voraus angebrachten Fadens aus Zwirn an gebogenen Stecknadeln frei an den Decken aufgehängt wurden.

Bei einzelnen Versuchen brachte man die beschriebenen „grob infizierten“ Wollobjekte auf dem Boden kleiner Säcke (5×7 cm groß) an, die aus Woldeckenzeug genäht, geschlossen und mit Sicherheitsnadeln an der Oberfläche der Decken winkelrecht befestigt wurden, so daß die Probeobjekte nur von einer Schicht Woldeckenzeug auf jeder Seite bedeckt waren.

Die Probeobjekte wurden derart in der Kammer verteilt, daß man die Proben in einem Abstand von etwa $\frac{1}{2}$ m von der Decke und dem Boden anbrachte, teils mitten an der mittelsten Decke (*e, f, g*), teils an der Vorderfläche der nächstvorderen Decke am weitesten nach links (*a, b*), teils an der Hinterfläche der vorletzten Decke, am weitesten nach rechts (*c, d*).

An jeder der angegebenen Stellen wurden drei Objekte angebracht, je mit Anthrax (*A*), Coli (*C*) und Staph. aur. (*S*) infiziert, so daß in jedem Versuche mindestens 18 Proben, außer drei Kontrollobjekten, die man den Formaldehyddämpfen nicht aussetzte, angewendet wurden.

Nachbehandlung, Aussaat, Observationszeit der Objekte.

Nach der Beendigung der Versuche wurden die Schachteln geschlossen (bzw. brachte man die Objekte in sterile Schachteln) und brachte sie schnellstens ins Laboratorium. Die Objekte wurden herausgenommen, etwa 1 Minute in 0.5prozentige sterile NH_3 -Lösung eingelegt, danach in steriler 0.85prozentiger NaCl-Lösung abgespült und in ein Reagensglas mit 15 ccm steriler Bouillon gebracht. Alle Woldeckenobjekte wurden 48 Stunden später in 10 ccm Bouillon umgesät, sofern kein Wachstum eingetreten war. Die Kultivierung wurde bei 37° vorgenommen. Die Coli- und Staphylokokkenkulturen wurden 8 Tage beobachtet, die Anthraxkulturen 3 Wochen. In zweifelhaften Fällen wurden die Bakterien auf gewöhnliche Weise identifiziert.

Bei dieser Behandlung sind wir bestrebt gewesen, in möglichst weitem Grad auf alle Fehlerquellen Rücksicht zu nehmen, die von Geppert, Schumburg, Römer, Hammerl, Kermauner, Ax. Jörgensen, Werner, Reichenbach u. a. nachgewiesen sind.

Übrigens scheint die Aussaat in großen Bouillonmengen und die Umsaat von größter Bedeutung zu sein. Die Bedeutung der Ammoniakbehandlung, die auch von anderer Seite bezweifelt wird, haben wir nicht erkennen können, weshalb wir sie bei den späteren Versuchen wegließen.

um so mehr als wir hier häufig Ammoniakverdampfung in der Kammer benutzten. Die Umsaat scheint namentlich bei den Wollobjekten von Bedeutung zu sein, indem bei diesen häufig erst Wachstum nach der Umsaat eintrat.

Tabelle I.
Woldeckenobjekte.

	Wachstum im ganzen	Wachstum		Wachstum beobachtet nach (durchschnittl.)
		vor der Umsaat	nach der Umsaat	
Anthrax	83	14	69	3·7 Tagen
Coli	35	23	12	3·3 „
Staph. aur.	49	18	31	3·2 „

Dies war (siehe Tabelle I) besonders bei den Anthraxproben der Fall, aber keineswegs selten auch bei Coli und Staph. aur. Obwohl die Anthraxkulturen alle mindestens 3 Wochen beobachtet wurden, haben wir in keinem Fall Wachstum später als 8 Tage (einmal) beobachtet, und im ganzen nur fünfmal mehr als 6 Tage nach der ersten Aussaat. Die durchschnittliche Zeit bis zum Wachsen der Anthraxsporen in Wollobjekten, die dem Formaldehyd bei den Versuchen ausgesetzt gewesen waren, war 3·7 Tage. Wir haben bei Leinenobjekten niemals Wachstum von Coli und Staph. aur. später als 2 Tage nach der Aussaat gesehen, und von Anthrax nur in einem Fall (in dem das Wachsen erst nach Verlauf von 6 Tagen beobachtet wurde, 4 Tage nach der Umsaat).

Die Wachstumsverzögerung ist jedenfalls nicht dadurch verursacht, daß mit den Wollobjekten so große Mengen des Desinfektionsmittels mitgeführt sind, daß das Auswachsen der betreffenden Bakterien absolut gehindert wurde. Denn wir haben durch systematische Untersuchungen gefunden, daß frische Aussaat von Bakterien in die benutzten Bouillon-gläser immer gelang. Dagegen kann die Bedeutung darin liegen, daß doch so viel Formaldehyd mitgeführt wird, daß das Auswaschen der im voraus geschwächten überlebenden Bakterien gehemmt wird. Jedenfalls wurde Wachstum, wenn solches überhaupt eintrat, immer etwas später in den Gläsern beobachtet, in denen formaldehydbehandelte Objekte untergebracht waren (vgl. Tabelle) als in den Kontrollgläsern mit den nicht-formaldehydbehandelten Objekten. Man sollte daher unter keinen Umständen die Umsaat unterlassen.

Orientierende Versuche.

Ehe die eigentlichen Deckendesinfektionsversuche angefangen wurden, wurden einige Versuche von Formaldehyddesinfektion in der leeren Kammer

vorgenommen, namentlich um den Einfluß des Wärmeapparates auf das Desinfektionsresultat zu untersuchen.

Zur Herstellung der Formaldehydlösung für diese und alle folgenden Versuche ist „Formalin“ angewendet, dessen Inhalt von Formaldehyd von 35.5 bis 38 Prozent variierte. Der Einfachheit wegen sind wir in allen folgenden Angaben davon ausgegangen, daß der Inhalt 40 Prozent war, so daß die bei den Versuchen angeführten Werte in der Wirklichkeit ein wenig reduziert werden müssen.

Die Versuche in der leeren Kammer wurden mit größeren Formaldehydmengen ausgeführt als die für die Raumesinfektion gewöhnlich angegebenen, indem von 8 bis 15 ^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter verdampft wurde. Die Probeobjekte wurden in den beschriebenen Blechschachteln frei aufgehängt in etwa $\frac{1}{2}$ m Abstand von Decke und Boden, teils mitten in der Kammer, teils in etwa 15 cm Abstand von den Längswänden. Dabei kamen zwei Satz Probeobjekte ungefähr gerade über den Wärmeapparat, und zwar in verschiedener Höhe zu hängen. Es wurden im ganzen fünf Versuche (Nr. 2 bis 6) angestellt, alle von einer vierstündigen Dauer. Die Kammer wurde von dem Radiator erwärmt, der bei zwei der Versuche (Nr. 2 und 3) in Betrieb gehalten wurde, während der Dampf bei den Versuchen 4 bis 6 vor Anfang des Versuches abgestellt und der Radiator (C) mit einer Wolldecke zugedeckt wurde. Die Anfangstemperatur in der Kammer war 30 bis 37° C, die Schlußtemperatur nicht über 37°. Nach dem Aufhängen der Objekte und dem Schließen der Türen wurden die angeführten Formaldehydmengen von dem Dampftopf verdampft (bei Abdampfung der abgemessenen Mengen 6 bis 10 Prozent wässrige Formaldehydlösung). 4 Stunden nach Beginn der Verdampfung wurde ein Durchblasen von warmer Luft von $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde Dauer vorgenommen (die Maximaltemperatur der Luft dicht bei der Einblasestelle war 52° C).

In den Versuchen, in welchen der Wärmeapparat in Betrieb war, fanden sich die Bakterienproben desinfiziert, mit Ausnahme der Proben, die über den Wärmeapparat angebracht waren. Trotz Verdampfung von 10 bis 15 ^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter gaben hier sowohl Anthrax als Coli und Staphylococcus Wachstum. In den Versuchen, in welchen die Ausstrahlung vom Wärmeapparat, wie beschrieben, verhindert war, wurden dagegen sämtliche Proben desinfiziert. Die Versuche zeigten auf entscheidende Weise, daß der eingebaute Radiator während der Desinfektion nicht benutzt werden durfte oder daß man jedenfalls den Dampf abstellen und den Radiator zudecken mußte. In den folgenden Versuchen haben wir daher Vorwärmung von Decken und Raum mittels eingeblassener warmer Luft vorgenommen.

Da unsere Versuche den Zweck verfolgten, die Formaldehydmengen ausfindig zu machen, die zur Desinfektion einer bestimmten Anzahl Decken und zwar in einer im wesentlichen auf Grund von Jörgensen und Fibigers Untersuchungen gebauten Formalinkammer verlangt werden müssen, so untersuchten wir zuerst, ob es möglich war, eine geringere Anzahl Decken zu desinfizieren und niedrigere Formaldehyddosen als die von den genannten Verfassern angegebenen anzuwenden, indem wir davon ausgingen, daß wir während der Desinfektion höhere Temperatur anwenden konnten.

Wir nahmen daher einige einleitende Versuche mit 14 bzw. 25 Decken in der Kammer vor und ermittelten das Ergebnis vierstündiger Einwirkung von 15^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter (bzw. 20^{grm}), durch Verdampfen einer 10 prozentigen wässerigen Lösung entwickelt. Die Decken wurden vor Beginn des Versuches vorgewärmt, um eine möglichst hohe Temperatur in den Objekten während der Desinfektionsperiode zu erlangen. Die Temperatur der Kammer war 33 bis 37° C. Von den 18 in jedem Versuch aufgehängten Probeobjekten (wovon 15 Leinwandproben waren) wurden 11 bzw. 15 und 12 desinfiziert. In allen Versuchen gab es jedoch sowohl Anthrax- und Coli- als Staphylokokkenproben, die der Desinfektion widerstanden; selbst die Wollproben waren nicht alle desinfiziert. Wir waren hiernach klar darüber, daß wir die hohen Ansprüche, die wir an die Tiefenwirkung des Formaldehyds gestellt hatten, mit so kleinen Formaldehydmengen erfüllt zu sehen, nicht erwarten konnten, und gingen deshalb sofort zu systematischen Versuchen über, die mit so vielen Decken (32 = 2 pro Kubikmeter) ausgeführt wurden, wie in der Kammer bequem aufgehängt werden konnten. Es zeigte sich schnell, daß die bei dem Eindampfen der Formaldehydlösung entwickelten Wasserdämpfe bei weitem nicht genügend waren, eine einigermaßen bedeutende Luftfeuchtigkeit in der Kammer zu erhalten, indem die Feuchtigkeit infolge Kondensation und hygroskopischen Aufsaugens schnell wieder sank.

In zwei Versuchen (Nr. 10 und 11), wo 25 und 20^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter in Verbindung mit 3 bis 4 Liter Wasser der Lösung verdampft wurde, war die Luftfeuchtigkeit am Ende des Versuches nach 4, bzw. 8 Stunden nur 50 Prozent (Temperatur 30° C) bzw. 35 Prozent (Temperatur 33° C). Wenn man sich erinnert, daß 100^{grm} Wolle 28^{grm} hygroskopisches Wasser aufnehmen können (Rubner), so daß die aufgehängten etwa 71^{kg} Wolldecken demnach etwa 20 Liter hygroskopisches Wasser aufnehmen können, wenn sie vor dem Verdampfen völlig trocken sind, kann es nicht wundern, daß eine Wasserdampfmenge wie die erwähnte, die genügend ist, einen 5 bis 6 mal so großen Luftraum zu sättigen, in der mit Wolldecken gefüllten Kammer keinen hohen Luftfeuchtigkeitsgrad

erhalten kann. Die Desinfektion zeigte sich in diesen Versuchen unbefriedigend, obwohl ein nur wenig resistenter Staphylokokkenstamm angewendet und Bouillonkulturen bei der Zubereitung der Objekte benutzt wurden. Beim Versuch Nr. 11 gab sogar eine Wollprobe mit Colibazillen Wachstum nach 20 g^{m} Formaldehyd pro Kubikmeter und 8 stündiger Desinfektionszeit.

Wir versuchten danach die Wasserdampfentwicklung in den folgenden Versuchen dadurch zu vergrößern, daß vor der Formaldehydentwicklung (und der hiermit verbundenen Wasserverdampfung) vom Verdampfungskessel 3 bis 5 Liter Wasser verdampft wurden. Die Versuche sind in nachstehender Tabelle II wiedergegeben, in der außerdem ein Versuch aufgeführt ist, der angestellt ist, um zu zeigen, wie die bei niedrigerem Feuchtigkeitsgrad ausgeführten Versuche den anderen nachstehen.

Diese Versuche zeigen, daß die Desinfektion bei niedrigem Feuchtigkeitsgrad mißlang, selbst wenn die Formaldehydmenge bis zu 60 g^{m} pro Kubikmeter und die Einwirkungszeit auf 23 Stunden bei Temperaturen von 30 bis 50° C gesteigert wurden. Sie zeigen außerdem, daß die Desinfektionsergebnisse wesentlich verbessert werden, wenn man durch vorhergehende Wasserverdampfung sich sichert, daß ein hoher Feuchtigkeitsgrad die ganze Desinfektionszeit hindurch erhalten bleibt. In Anbetracht der strengen Ansprüche muß anerkannt werden, daß bei Steigerung der Luftfeuchtigkeit verhältnismäßig gute Ergebnisse schon bei Anwendung von 25 bis 30 g^{m} Formaldehyd pro Kubikmeter in 4 Stunden und 20 g^{m} pro Kubikmeter in 7 Stunden erzielt werden. Es geht aus den Versuchen hervor, daß Sterilität aller Wollproben erst erreicht wurde, wenn außer der mit dem Formaldehyd verdampften Wassermenge 4 Liter Wasser und darüber verdampft wurden.

Diese Beobachtungen zeigen, wie zurückhaltend man damit sein soll, sich darauf zu verlassen, daß man bei Raumdesinfektion in Wohnungen gleichzeitig Desinfektion von Bettüberzügen, Decken u. dgl. erlangen kann, wenn es sich um resistenter Keime handelt. Hier können weder so hohe Temperaturen noch so große Formaldehydmengen angewendet werden und kaum so große Wassermengen, daß eine genügend tiefgehende Desinfektion erzielt wird.

Nach der hierdurch gewonnenen Erfahrung wurde eine Änderung rücksichtlich der Installation in der Kammer derart vorgenommen, daß man ein direktes Dampfeinblasen vornehmen konnte, wodurch die Luftfeuchtigkeit vergrößert und die Wasserdampfkondensation in den Decken in Gang gebracht werden konnte, ehe die Formaldehydentwicklung begann. Wir gingen hierbei von der Auffassung des Mechanismus der Formaldehydesinfektion aus, die von Rubner (s. o.) dargelegt ist.

Tabelle II.
4 bis 23 Stunden.

Versuch Nr:	15	16	17	12	13	14	34
Dauer:	4 Stunden	4 Stunden	4 Stunden	7 Stunden	7 Stunden	7 Stunden	23 Stunden
Formaldehyd pro Kubikmeter	25 grm	25 grm	30 grm	20 grm	20 grm	20 grm	60 grm
Konzentration der Formalinlösung	8 Prozent	10 Prozent	10 Prozent	8 Prozent	8 Prozent	8 Prozent	17 Prozent
Weiter verdampftes Wasser	4 Liter	4 Liter	3 Liter	3 Liter	4 Liter	5 Liter	—
Anfangstemperatur	32°	38°	39°	35°	37°	43°	47°
Schlußtemperatur	29°	32°	33°	28°	33°	32°	28°
Maximaltemperatur an der Decke (3 Stellen gemessen)	43°	51°	52°	53°	50°	55°	57°
Luftfeuchtigkeit am Anfang der Formalinverdampfung	92 Prozent	73 Prozent	31 Prozent	14 Prozent ¹	20 Prozent ¹	30 Prozent ¹	12 Prozent
Luftfeuchtigkeit am Ende des Versuches	80	60	63	58	60	70	52
Leinenobjekte bei a)	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S
" b)	—	+	—	—	—	—	+
" c)	—	—	—	—	—	—	+
" d)	+	—	+	—	—	—	+
" e)	—	—	—	+	—	—	+
" f)	+	+	+	—	+	—	+
" g)	—	—	—	—	—	—	—
Desinfizierte Proben	7 5 7	5 9 4	3 7 4	0 0 0	9 7 7	7 7 7	9 5 9

Anmerkung: A = Anthrax, C = Coli, S = Stap. pyog. aur., — bezeichnet „kein Wachstum“, + bezeichnet „Wachstum“
0 bezeichnet, daß Probeobjekte nicht an der betreffenden Stelle aufgehängt waren.

¹ Zwischen der Wasserverdampfung und dem Beginn der Desinfektion war 1 Stunde vergangen.

Generated on 2019-08-03 11:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3788958 Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wegen der Verhältnisse, u. a. um zu vermeiden, daß die Dampfstrahlen direkt gegen die Wolldecken gerichtet wurden, mußten wir das Dampfleinblasen dicht über dem Fußboden vor sich gehen lassen, obwohl das Einblasen in der Nähe der Decke vorzuziehen gewesen wäre. Der Dampf wurde durch das auf der Zeichnung gezeigte Rohr (*O*) hineingeleitet, das mit einer Anzahl feiner Löcher versehen war, durch die er verteilt wurde.

Versuche.

Die nachfolgenden Versuche sind (wo nichts anderes angeführt ist) auf folgende Weise ausgeführt:

Die Decken werden einige Stunden vor dem Versuch aufgehängt und durch Durchblasen mit warmer Luft mittels des erwähnten Motors (*L*) vorgewärmt. Danach wird das Ventil (*G*) geschlossen, die Türen zur Kammer werden geöffnet und die Probeobjekte und Maximalthermometer an den früher erwähnten Stellen aufgehängt (in einer Anzahl von Versuchen wurde außerdem ein Thermohygrograph aufgestellt). Die gemessene Menge wässrige Formaldehydlösung wird in den Topf gegossen (immer 5 bis 6 Liter Lösung), wonach die Türen geschlossen und fest zugeschraubt werden. Nach dem Ablesen der Instrumente werden die Türen auswendig mit Decken bedeckt, um der Wasserdampfkondensation auf ihnen entgegen zu wirken. Die Anfangstemperatur in der Kammer variiert von 39 bis 49° C, die relative Feuchtigkeit von 10 bis 20 Prozent.

Nachdem das Bodenventil geöffnet ist, wird Dampf durch die oben erwähnte Rohrleitung 3 bis 5 Minuten hineingeleitet. Hierbei steigt die Feuchtigkeit der Kammer bis zu 70 bis 95 Prozent, während am Thermometer eine Temperatursteigerung von etwa 8° zu beobachten ist. In den folgenden 10 Minuten nimmt die Feuchtigkeit wegen des Wasseraufsaugens in den Decken aufs neue bis zu 50 Prozent ab, während die Temperatur nur ein wenig nach oben oder unten variiert. Nun wird aufs neue das Dampfleinblasen bewirkt, das je nach dem beobachteten Feuchtigkeitsgrad 2 bis 4 Minuten fortgesetzt wird. Bei einer Temperatursteigerung von einigen Graden wird der Feuchtigkeitsgrad bis zu 95 bis 100 Prozent erhöht. Das Bodenventil wird nun fest geschlossen, und wenn das Hygrometer nach weiteren 10 Minuten sich über 80 Prozent hält, wird mit der Formalinverdampfung begonnen, indem der Dampf zum Topf geleitet wird. (Erforderlichenfalls wird noch ein drittes Dampfleinblasen vorher vorgenommen.)

2 bis 3 Stunden nach Beginn der Formaldehydverdampfung wurde die Dampfleitung zum Topfe abgestellt, außer in den langdauernden (22 stündigen) Versuchen, da wir durch fortgesetztes Erwärmen des leeren Topfes einem zu starken Temperaturfall in der Kammer vorzubeugen suchten.

2*

Eine Anzahl Versuche wurden mit Durchblasen von warmer Luft durch die Kammer abgeschlossen, um so viel von dem Formaldehydgeruch zu entfernen, daß die Kammer zugänglich wurde. Hierbei mußten wir jedoch zur Filtrierung der eingelassenen Luft schreiten, die von einem Raum in der Desinfektionsanstalt genommen wurde, wo zu Zeiten viel Staub aufgewirbelt wurde. Es zeigte sich nämlich, daß etliche der Probeobjekte ohne diese Maßregel bei dem Durchblasen aufs neue (mit anderen Bakterien) infiziert wurden.

In einigen Versuchen (siehe Tabellen), besonders wo große Formaldehydmengen benutzt wurden, wurde zuletzt Verdampfen von Ammoniakwasser (25 Prozent) vom Kessel vorgenommen, um den Formaldehydgeruch schneller aus den Decken zu entfernen.

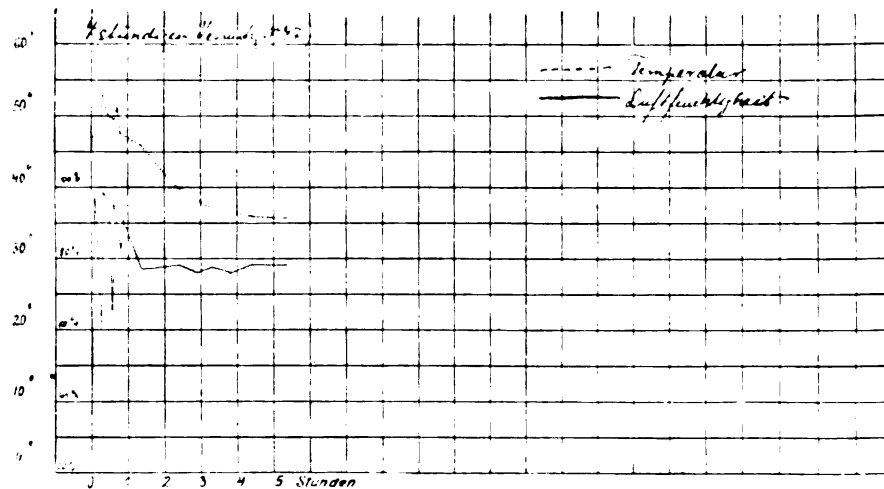


Fig. 2.

Nach unseren Erfahrungen war 1 Liter Ammoniak (25 Prozent) in Verbindung mit 2 bis 3 stündigem Durchblasen von warmer Luft genügend, die Decken zum unmittelbaren Gebrauch geeignet zu machen.

Wenn die Decken zwischen den Versuchen nicht gewechselt wurden, was man so häufig wie möglich machte, wurde ein langdauerndes Durchblasen von warmer Luft vorgenommen, und die Kammer durch Zugluft mehrere Stunden gelüftet. Übrigens wurde die Kammer häufig zwischen den Versuchen gründlich gewaschen.

Die Versuche sind unten in Tabellen gruppiert, die die wichtigsten Einzelheiten aus den Versuchsprotokollen angeben, deren vollständige Wiedergabe wegen Platzmangel unmöglich ist.

Um die typischen Schwankungen der Temperatur und Feuchtigkeit während eines 4 stündigen und eines 22 stündigen Versuches zu illustrieren, werden nachstehende Diagramme angefügt, die den vom Thermohygrographen aufgezeichneten Kurven (in Versuch 47 und 49) entsprechen.

Es wurden im ganzen 115 Desinfektionsversuche vorgenommen (hierin die orientierenden Versuche mitgerechnet). Es wird bemerkt, daß kein Versuch ausgelassen worden ist, es sei denn, daß die Kontrollkulturen kein Wachstum gaben oder daß ein entscheidender Fehler bei der Ausführung nachgewiesen werden konnte. Aus Platzmangel ist dagegen davon abgesehen, einige Versuche in einzelnen Serien aufzuführen, in denen die angewandten Formaldehydmengen wesentlich geringer waren als die, die sich als absolut notwendig gezeigt haben. (Diese Versuche sind Nr. 63, 68, 89, 83, 84, 85, 86 und 94).

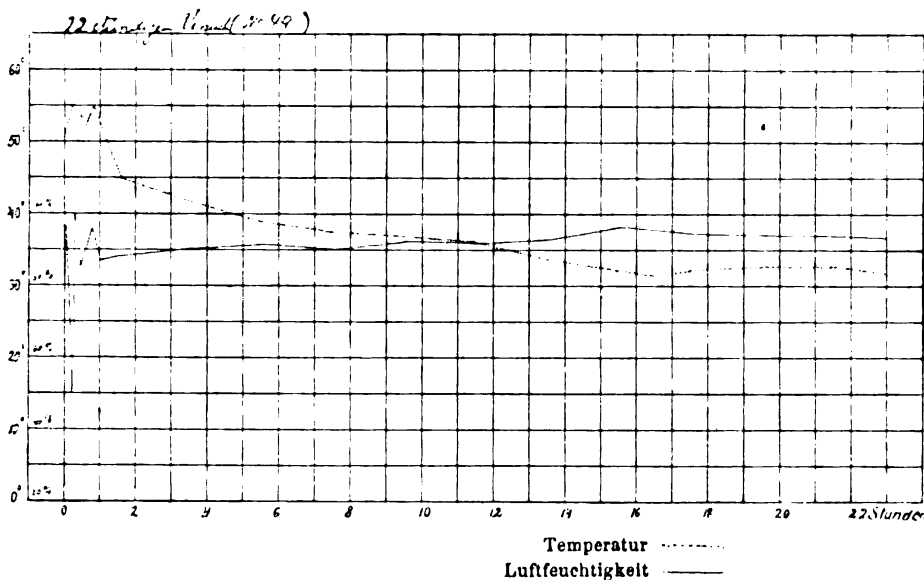


Fig. 3.

Die Versuche sind eingeteilt in:

Gruppe A: Deckenanzahl 32 (2 pro Kubikmeter). Aufhängen von 15 Leinenobjekten und 6 Wollobjekten (neue Wolle) in Blechschachteln.

Gruppe B: Deckenanzahl 32. Aufhängen von 18 Wollobjekten von abgenutztem Woldeckenzeug an den Decken.

Gruppe C: Deckenanzahl 32. Aufhängen von 18 Wollobjekten, die „grob infiziert sind“. Die Probeobjekte teils in Säcken, teils frei aufgehängt.

Gruppe A.

I. Desinfektionszeit 4 Stunden (s. Tabelle III).

Die in diesen Versuchen angewandten Formaldehydmengen variieren von 30 bis 60 g^{m} pro Kubikmeter. Die Temperatur in der Kammer war bei Beginn der Formaldehydverdampfung 36 bis 51° C, beim Abschluß der Versuche 30 bis 40° C, an welchem Zeitpunkt die relative Luftfeuchtigkeit 72 bis 88 Prozent maß.

Tabelle III.
4 Stunden.

Versuch Nr.:	18	19	20	21	23	24	25
Dauer:	4 Stunden	4 Stunden	4 Stunden	4 Stunden	4 Stunden	4 Stunden	4 Stunden
Formaldehyd pro Kubikmeter	30 ^{grm}	30 ^{grm}	30 ^{grm}	30 ^{grm}	40 ^{grm}	50 ^{grm}	60 ^{grm}
Konzentration der Formalinlösung	10 Prozent	10 Prozent	10 Prozent	10 Prozent	12 Prozent	15 Prozent	17 Prozent
Dampfströmung (Minuten)	10	5 + 5	2 + 2 + 1	3 + 2	3 + 2	3 + 2	3 + 3
Anfangstemperatur	36°	40.5°	48°	49°	47°	48.5°	51°
Schlußtemperatur	30°	32°	39°	36°	37°	34°	40°
Maximaltemperatur an der Decke (3 Stellen gemessen)	44°	58°	66°	62°	62°	62°	62°
Luftfeuchtigkeit am Anfang der Formalinverdampfung	63 Prozent	67 Prozent	52 Prozent	80 Prozent	58 Prozent	67 Prozent	95 Prozent
Luftfeuchtigkeit am Ende des Versuches	80 "	88 "	80 "	78 "	88 "	80 "	72 "
Leinobjekte bei a)	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S
" "	-	-	-	-	-	-	-
" "	-	-	-	-	-	-	-
" "	-	-	-	+	-	+	-
" "	-	-	-	-	-	-	-
" "	-	-	-	-	-	-	-
Wollobjekte	-	-	0	-	-	-	-
" "	-	-	0	-	-	-	-
Desinfizierte Proben	7 7 7	7 7 7	3 7 7	7 7 7	7 7 7	7 7 7	7 7 7

In zwei Versuchen (Nr. 20 und 23) wurden alle Probeobjekte desinfiziert. Da aber die Anthrax-Kontrollobjekte kein Wachstum gaben (ungewiß aus welchem Grund), darf dem Ergebnis hier keine entscheidende Bedeutung beigelegt werden. Man muß vielmehr die auffallend guten Ergebnisse dem Anthrax gegenüber in diesen Versuchen bezweifeln.

Übrigens zeigt die Tabelle, daß die Versuchsergebnisse am schlechtesten waren, wo die Luftfeuchtigkeit am Ende des Versuches am niedrigsten war. Für die Wollobjekte waren die Ergebnisse recht gut, indem nur in zwei Versuchen (mit 30 grm Formaldehyd) Wachstum von einer einzelnen Staphylokokkenprobe erfolgte. Rücksichtlich der Leinenobjekte waren die Resultate, wenn man von den Anthraxproben absieht, unbefriedigend gegenüber Staph. aur. (11 von 35 Proben wurden nicht desinfiziert). Von den Colipoben wurden 34 von 35 desinfiziert.

II. Desinfektionszeit 6 bis 8 Stunden (s. Tabelle IV).

Die angewandten Formaldehydmengen variieren von 47.5 bis 60 grm pro Kubikmeter. Die Versuchsbedingungen waren übrigens wesentlich dieselben wie oben. Doch waren die Anthraxobjekte in diesen und späteren Versuchen stärker infiziert.

Die Tabelle zeigt, daß die Wollobjekte desinfiziert wurden mit Ausnahme einer einzelnen Anthraxprobe in einem Versuch (44), wo die Desinfektion 7 Stunden dauerte und 47.5 grm Formaldehyd pro Kubikmeter angewendet wurden. Von Leinenobjekten wurden 31 von 32 Colipoben, 19 von 32 Anthraxproben, 20 von 32 Staphylokokkenproben desinfiziert. Das Ergebnis muß deshalb als unbefriedigend bezeichnet werden.

III. Desinfektionszeit 8 $\frac{1}{2}$ bis 16 Stunden (s. Tabelle V).

Die angewandten Formaldehydmengen variierten von 47.5 bis 50 grm pro Kubikmeter. Die relative Luftfeuchtigkeit war am Ende des Versuches durchweg über 90 Prozent; übrigens waren die Versuchsbedingungen unverändert.

Die Tabelle zeigt, daß sämtliche Wollobjekte desinfiziert wurden. Für die Leinenobjekte waren die Ergebnisse sehr verbessert. Sämtliche (30) Colipoben, sowie 28 von 30 Anthraxproben und 29 von 30 Staphylokokkenproben wurden desinfiziert.

Die wenigen Proben, die nicht desinfiziert wurden, stammen von den Versuchen 75 und 43, wo die Desinfektionszeit nur 8 $\frac{1}{2}$ bis 9 Stunden war. Berücksichtigt man die Strenge der gestellten Forderungen, so müssen die Ergebnisse als befriedigend angesehen werden. Sie zeigen, daß es zur Desinfektion von Leinenobjekten, unter den übrigens gegebenen

Tabelle IV.
6 bis 8 Stunden.

Versuch Nr.:	27	44	45	26	95	100
Dauer:	6 Stunden	7 Stunden	7 Stunden	7 Stunden	8 Stunden	8 Stunden
Formaldehyd pro Kubikmeter	50 grm	47.5 grm	50 grm	60 grm	50 grm	60 grm
Konzentration der Formalinlösung	15 Prozent	11.4 Prozent	13.1 Prozent	17 Prozent	13.1 Prozent	17 Prozent
Dampfströmung (Minuten)	3 + 3	4 + 3	4 + 3	3 + 2	5 + 3	5 + 3
Anfangstemperatur	48°	51°	52°	51.5°	48°	48°
Schlußtemperatur	33°	34°	34°	36°	36°	38°
Maximaltemperatur der Decke (3 Stellen gemessen)	65°	60°	64°	60°	62°	57°
Luftfeuchtigkeit am Anfang der Formalinverdampfung	95 Prozent	81 Prozent	88 Prozent	55 Prozent	80 Prozent	97 Prozent
Luftfeuchtigkeit am Ende des Versuches	75 "	88 "	88 "	77 "	84 "	95 "
Leinenobjekte bei a)	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S
" b)	+ - +	+ - -	- - -	- - -	- - +	- - -
" c)	- - -	- - +	- - -	- - -	- - +	- - -
" d)	+ - +	+ - -	- - -	+ - -	- - -	+ - -
" f)	+ - +	+ - -	- - -	+ - -	- - -	- - +
Wollobjekte " e)	- - -	+ - -	- - -	- - -	+ ¹ - ¹ + ¹	- ¹ - ¹ + ¹
" g)	- - -	- - -	- - -	- - -	0 0 0	0 0 0
Desinfizierte Proben	3 7 3	3 7 3	3 7 7	3 7 3	3 3 3	3 3 3

¹ Leinenobjekte.

Tabelle V.
8 1/2 bis 16 Stunden.

Versuch Nr.:	46	75	43	42	40	41
Dauer:	8 1/2 Std.	8 1/2 Std.	9 Std.	10 Std.	16 Std.	16 Std.
Formaldehyd pro Kubikmeter	50 ^{grm}	50 ^{grm}	47.5 ^{grm}	50 ^{grm}	47.5 ^{grm}	50 ^{grm}
Konzentration der Formalinlösung	13.1 Proz.	13.1 Proz.	10.6 Proz.	15 Proz.	13.5 Proz.	15 Proz.
Dampfeströmung (Minuten)	4 + 2	5 + 4	4 + 3	4 + 3	8 + 3	4 + 3
Anfangstemperatur	50°	51°	55°	51°	56°	58°
Schlußtemperatur	33°	34°	34°	36°	34°	37°
Maximaltemperatur an der Decke (3 Stellen gemessen)	59.5°	63.5°	66°	58°	61°	62°
Luftfeuchtigkeit am Anfang der Formalinverdampfung	84 Proz.	87 Proz.	97 Proz.	100 Proz.	100 Proz.	100 Proz.
Luftfeuchtigkeit am Ende des Versuches	91 "	98 "	90 "	94 "	87 "	92 "
Verdampftes Ammoniak	—	—	—	—	—	—
Leinenobjekte bei a)	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S
" b)	—	+	—	—	—	—
" c)	—	—	—	—	—	—
" d)	—	—	—	—	—	—
" f)	—	+	+	—	—	—
Wollobjekte " e)	—	—	—	—	—	—
" " g)	—	—	—	—	—	—
Desinfizierte Proben	7 7 7	7 7 7	7 7 7	7 7 7	7 7 7	7 7 7

Bedingungen, wichtiger ist, die Desinfektionszeit um einige Stunden zu verlängern, als die Formaldehydmenge über die etwa 45 g^{m} pro Kubikmeter, die absolut notwendig zu sein scheinen, zu vermehren.

IV. Desinfektionszeit 22 bis 24 Stunden (s. Tabelle VI).

Die angewandten Formaldehydmengen variieren von 45 bis 60 g^{m} pro Kubikmeter. Übrigens waren die Versuchsbedingungen wesentlich wie oben, jedoch war die Schlußtemperatur in der Kammer aus verständlichen Gründen eine etwas niedrigere (25 bis 32° C).

Die Tabelle zeigt, wenn man von dem ersten Versuch absehen will (Nr. 30), bei welchem die Feuchtigkeit am Schlusse des Versuches nur 75 Prozent war, und die Desinfektion unbefriedigend (indem 2 von 6 Wollobjekten und 2 von 15 Leinenobjekten nicht desinfiziert wurden), daß die Ergebnisse dem entsprechen, was wir nach den vorhergehenden Versuchen erwarten konnten. Die Desinfektion geht offenbar sicherer vor sich, obwohl die Formaldehydmenge nicht vermehrt ist. Alle Wollobjekte (54) sind glatt desinfiziert. Von den Leinenobjekten sind alle (45) Anthraxproben und alle (45) Colipproben desinfiziert. Von 45 Staphylokokkenproben sind 41 desinfiziert. Die Desinfektion war vollständig in 6 von 9 Versuchen, und vollständig in allen Versuchen, in denen über 46 g^{m} Formaldehyd pro Kubikmeter angewendet wurden.

Dieses Ergebnis darf den Umständen nach als zuverlässige Grundlage für eine praktische Desinfektion angesehen werden.

Gruppe B.

Die Versuche sind wesentlich auf Grund der beobachteten Tatsache (siehe die Resistenzuntersuchung) angestellt, daß es schwieriger war, anthraxinfizierte Objekte von altem, abgenutztem Wolldeckenzeug im Dampf zu desinfizieren als von neuem. Sie sollten daher wesentlich als Ergänzung zu den obengenannten Versuchen dienen, in denen die Wollobjekte aus neuem Wolldeckenzeug bestanden.

Wir stellten Versuche mit wechselnden Formaldehydmengen und wechselnden Desinfektionszeiten (8, 16, 22 Stunden) an. Die Versuche sind in den Tabellen VII bis IX wiedergegeben.

I. Desinfektionszeit 8 Stunden (s. Tabelle VII).

Die angewandten Formaldehydmengen variierten von 25 bis 50 g^{m} pro Kubikmeter. Die Versuchsbedingungen waren in der Hauptsache wie in den obenbeschriebenen Versuchen. Es wurde in der Regel eine Luftfeuchtigkeit von über 90 Prozent am Ende des Versuches gemessen.

Tabelle VI.
22 bis 24 Stunden.

Versuch Nr.:	30	32	35	38	37	39	36	29	33	28
Dauer:	23 1/3 Std.	23 Std.	23 Std.	23 Std.	23 Std.	23 Std.	23 Std.	24 Std.	22 1/3 Std.	23 Std.
Formaldehyd pro Kubikmeter	45 grm	45 grm	45 grm	45 grm	46 grm	46 grm	47.5 grm	50 grm	50 grm	60 grm
Konzentration der Formalinlösung	13 Proz.	13 Proz.	14.2 Proz.	12.9 Proz.	18 Proz.	12.5 Proz.	13.5 Proz.	15 Proz.	15 Proz.	17 Proz.
Dampfströmung (Min.)	3+3+1	3+2	3+2	5+3	3+3	4+8	3+3+1	3+3	3+2	3+2
Anfangstemperatur	46°	46°	46°	44.5°	54°	51°	48°	41°	53°	44°
Schlusstemperatur	27°	29°	26°	27°	29°	30°	33°	27°	32'	30.5°
Maximaltemperatur an der Decke (3 Stellen gemessen)	69.5°	63°	66°	55°	68°	66°	67°	57°	65°	68.5°
Luftfeuchtigkeit am Anfang der Formalinverdampfung	70 Proz.	85 Proz.	83 Proz.	100 Proz.	84 Proz.	75 Proz.	67 Proz.	100 Proz.	80 Proz.	85 Proz.
Luftfeuchtigkeit am Ende des Versuches	75 "	87 "	82 "	94 "	93 "	89 "	87 "	91 "	85 "	81 "
Verdampftes Ammoniak (25 Prozent)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leinenobjekte bei a)	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S
" b)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" c)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" d)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" e)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wollobjekte	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" f)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" g)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Desinfizierte Proben	5 7 7 7 7	7 7 7 7 7	7 7 7 7 7	7 7 7 7 7	7 7 7 7 7	7 7 7 7 7	7 7 7 7 7	7 7 7 7 7	7 7 7 7 7	7 7 7 7 7

Tabelle VII.
8 Stunden.

Versuch Nr.:	64	67	69	93	73	74	76	106	112	115
Dauer:	8 Std.	8 Std.	8 Std.	8 Std.	8 Std.	8 Std.	8 Std.	8 Std.	8 Std.	8 Std.
Formaldehyd pro Kubikmeter	25 grm	30 grm	30 grm	32 grm	35 grm	35 grm	35 grm	40 grm	45 grm	50 grm
Konzentration der Formalinlösung	10 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	10·5 Proz.	11·9 Proz.	13·4 Proz.
Dampfströmung (Min)	4 + 4	5 + 3	5 + 2	5 + 5	5 + 4	5 + 2	5 + 2	5 + 3	5 + 2	5 + 3
Anfangstemperatur	54·4°	56°	54°	47°	47°	42°	49°	50°	48°	47°
Schlußtemperatur	38°	39°	30°	—	34°	33°	35°	39°	36°	35°
Maximaltemperatur an der Decke (3 Stellen gemessen)	68°	68°	—	60°	60°	56°	61°	61°	60°	57°
Luftfeuchtigkeit am Anfang der Formalinverdampfung	85 Proz.	95 Proz.	96 Proz.	85 Proz.	91 Proz.	92 Proz.	90 Proz.	98 Proz.	99 Proz.	97 Proz.
Luftfeuchtigkeit am Ende des Versuches	90 "	93 "	95 "	—	100 "	100 "	100 "	91 "	98 "	97 "
Verdampftes Ammoniak (25 Prozent)	A C S	A C S	A C S	2 Liter A C S	A C S	A C S	A C S	1 Liter A C S	1 Liter A C S	1 Liter A C S
Wollobjekte bei a)	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—
" b)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" c)	+	—	—	+	—	—	+	—	+	—
" d)	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" e)	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" f)	+	—	+	+	—	—	+	—	—	—
Desinfizierte Proben	3 3 3	6 6 6	3 3 3	3 3 3	6 6 6	6 6 6	3 3 3	6 6 6	3 3 3	6 6 6

Die Tabelle zeigt, daß Desinfektion mit Formaldehydmengen unter 30 grm pro Kubikmeter nicht erzielt wurde, unsichere Ergebnisse unter 35 grm pro Kubikmeter, während wir mit 35 bis 50 grm alle Coliprüben zu desinfizieren vermochten, 34 von 36 Anthraxproben und 35 von 36 Staphylokokkenproben. Von den letztgenannten sechs Versuchen war die Desinfektion vollständig in vier, während in einem Versuch (Nr. 112) Wachstum am fünften Tage von einer Anthraxprobe und in einem Versuch (Nr. 76) Wachstum am fünften Tage von einer Anthraxprobe und am vierten Tage von einer Staphylokokkenprobe erfolgte. Außerdem wurden drei Versuche (Nr. 78, 80 und 82) mit 40 Wolldecken in der Kammer ausgeführt, hier waren aber die Ergebnisse mit 35 bis 42 grm Formaldehyd pro Kubikmeter schlecht, die Desinfektion unvollständig bei 50 grm (2 von 18 Proben wurden nicht getötet).

II. Desinfektionszeit 16 Stunden (s. Tabelle VIII).

Hier wurden im ganzen 18 Versuche ausgeführt, und Formaldehydmengen von 20 bis 45 grm pro Kubikmeter angewendet. Da es wider Erwarten nicht gelang, bessere Ergebnisse mit 20 bis 35 grm Formaldehyd als bei den erwähnten 8 stündigen zu erhalten, werden in der Tabelle nur die zehn Versuche mit Formaldehydmengen von 35 bis 45 grm pro Kubikmeter wiedergegeben.

Die Tabelle zeigt, daß die Desinfektion überhaupt recht befriedigend vor sich ging, aber noch bei 35 grm Formaldehyd etwas unsicher (in jedem Versuch gab es einzelne Anthrax- oder Staphylokokkenproben, die nicht getötet wurden). In den Versuchen mit 37 grm und darüber wurden dagegen alle Coli- und Staphylokokkenproben desinfiziert, und es gab nur bei zwei Versuchen einzelne Anthraxproben, die der Desinfektion widerstanden.

Die Merkwürdigkeit, daß 16 stündige Versuche völlig so große Formaldehyddosen erfordern wie die 8 stündigen Versuche und sogar ein wenig ungünstiger scheinen rücksichtlich der Desinfektion von Milzbrand, kann von der höheren Resistenz herrühren, die die Anthraxsporen gerade bei den letzten Versuchen zeigten.

III. Desinfektionszeit 22 Stunden (s. Tabelle IX).

Es wurden acht Versuche ausgeführt und von 20 bis 30 grm Formaldehyd pro Kubikmeter angewendet. Die Versuchsbedingungen übrigens unverändert. Die Tabelle zeigt, daß die Versuche mit 20 grm Formaldehyd pro Kubikmeter unsichere Ergebnisse lieferten, während die Versuche mit 25 bis 30 grm pro Kubikmeter bei fünf von sechs Versuchen völlig gelangen (bei dem sechsten kam Wachstum von einer einzelnen Anthraxprobe).

Tabelle VIII.
16 Stunden.

Versuch Nr.:	87	88	98	101	102	107	109	110	113	114
Dauer:	16 Std.	16 Std.	16 Std.	16 Std.	16 Std.	16 Std.	16 Std.	16 Std.	16 Std.	16 Std.
Formaldehyd pro Kubikmeter	35 ^{grm}	35 ^{grm}	35 ^{grm}	35 ^{grm}	37 ^{grm}	38 ^{grm}	40 ^{grm}	40 ^{grm}	40 ^{grm}	45 ^{grm}
Konzentration der Formalinlösung	10 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	9·6 Proz.	9·9 Proz.	10·5 Proz.	10·5 Proz.	10·5 Proz.	11·9 Proz.
Dampfströmung (Minuten)	5 + 2	6 + 2	5 + 3	5 + 3	5 + 3	5 + 3	5 + 3	5 + 3	5 + 3	5 + 3
Anfangstemperatur	49°	53°	52·5°	49°	52°	53°	54°	55°	52°	50°
Schlußtemperatur	—	—	87°	39°	39°	35°	41°	36°	34°	34°
Maximaltemperatur an der Decke (3 Stellen gemessen)	57°	68°	65°	60°	—	68°	66°	67°	61°	64°
Luftfeuchtigkeit am Anfang der Formalinverdampfung .	—	—	96 Proz.	95 Proz.	94 Proz.	88 Proz.	89 Proz.	97 Proz.	90 Proz.	91 Proz.
Luftfeuchtigkeit am Ende des Versuches	—	—	94 "	94 "	95 "	95 "	93 "	96 "	99 "	99 "
Verdampftes Ammoniak . . .	2 1/4 Liter	3 Liter	2 1/2 Liter	2 1/2 Liter	2 Liter	—	—	—	—	—
Wollobjekte bei a)	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S
" b)	—	—	—	+	—	+	—	+	—	—
" c)	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—
" d)	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
" e)	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" f)	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—
Desinfizierte Proben	3 3 3	3 3 3	3 3 3	3 3 3	3 3 3	3 3 3	3 3 3	3 3 3	3 3 3	3 3 3

Tabelle IX.
22 Stunden.

Versuch Nr.:	62	90	61	72	77	57	103	111	79 ¹	81 ¹
Dauer:	22 Std.	22 Std.	22 Std.	22 Std.	22 Std.	22 Std.	22 Std.	22 Std.	22 Std.	22 Std.
Formaldehyd pro Kubikmeter	20 g ^m	20 g ^m	23 g ^m	25 g ^m	25 g ^m	30 g ^m	30 g ^m	30 g ^m	25 g ^m	30 g ^m
Konzentration der Formalin-	10 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	9.4 Proz.	10 Proz.	10 Proz.	9.4 Proz.
Dampfströmung (Minuten)	4 + 2	5 + 2 + 1	4 + 3	5 + 2	5 + 2	5 + 3	5 + 2	5 + 3	5 + 3	5 + 3
Anfangstemperatur	50.5°	47.5°	48°	50°	42°	51.5°	50.5°	55°	50°	50°
Schlußtemperatur	26°	28°	27°	32.5°	25°	29.5°	30°	35°	28°	28°
Maximaltemperatur an der	61°	63°	62°	63°	55°	61°	62°	66°	63°	63°
Decke (3 Stellen gemessen)	98 Proz.	93 Proz.	—	100 Proz.	100 Proz.	—	96.5 Proz.	89 Proz.	—	—
Luftfeuchtigkeit am Anfang	90 "	89 "	—	100 "	100 "	—	94 "	98 "	—	—
der Formalinverdampfung.	—	2 Liter	—	—	—	—	2 Liter	—	—	—
Luftfeuchtigkeit am Ende des	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S
Versuches	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Verdampftes Ammoniak	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Wollobjekte bei a)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" b)	—	—	0	—	—	—	—	—	—	—
" c)	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" d)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" e)	—	0	—	—	—	—	—	—	—	—
" f)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Desinfizierte Proben	3 5 3	4 3 3	5 3 3	6 6 6	6 6 6	6 6 6	6 6 6	6 6 6	6 6 6	6 6 6

¹ 40 Decken aufgehängt.

Die Tabelle umfaßt außerdem zwei Versuche (Nr. 79 und 81), in denen 40 Woldecken in der Kammer aufgehängt waren (d. h. $2\frac{1}{2}$ Decke pro Kubikmeter). Das Ergebnis war übereinstimmend so, daß 30 ^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter als ausreichend angesehen werden müssen, wenn die Desinfektionszeit bis zu 22 Stunden ausgedehnt wird.

Gruppe C.

Die Versuche wurden angestellt, um zu probieren, ob die Desinfektion auch durchgeführt werden konnte, wenn die Objekte mit den betreffenden Bakterienkulturen noch gröber verunreinigt waren als bei den früheren Versuchen, oder wenn sie mit einer Schicht Woldeckenzeug ganz bedeckt waren. Die Versuche wurden teils mit Leinenobjekten ausgeführt, die mit einer dicken Emulsion von Bakterienkulturen durchfeuchtet und danach getrocknet, teils mit Wollobjekten, die mit unverdünnten Agarplattenkulturen eingerieben waren, so daß die Verunreinigung dicke Borken an den Objekten bildete (s. Technik).

I. Desinfektionszeit 4 Stunden. Die Objekte in Säcken aus neuem Woldeckenzeug.

Verdampfung von 30 ^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter (Versuche Nr. 22, 47) lieferte sehr schlechte Ergebnisse sowohl für Leinen- als Wollobjekte. 60 ^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter vermochten jedoch durchzudringen und alle in den Säcken eingeschlossenen Coli- und Staphylokokkenproben (Woldeckenobjekte) zu töten, während drei von sieben Anthraxproben widerstanden. Der Versuch zeigt indessen sehr deutlich, daß die Formaldehyddämpfe bei der angewandten Versuchsanordnung eine ziemlich gute Tiefenwirkung hatten. Dies wird durch folgende Versuche bestätigt.

II. Desinfektionszeit 16 bis 22 Stunden. „Grob infizierte“ Wollenproben in Säcken von neuem Woldeckenzeug aufgehängt (s. Tabelle X).

Bei den sechs Versuchen wurden 45 bis 60 ^{grm} Formaldehyd pro Kubikmeter angewandt. Die Tabelle zeigt, daß der Versuch mit 45 ^{grm} mißlang, während mit 50 bis 60 ^{grm} Formaldehyd in zwei Versuchen Desinfektion aller Proben erzielt wurde. In zwei anderen Versuchen widerstanden nur einzelne Anthrax- und Staphylokokkenproben der Desinfektion. Der in der Tabelle zuletzt angeführte Versuch (Nr. 66) ist mit Objekten von „abgenutztem“ Woldeckenzeug ausgeführt, während

Tabelle X.
16 bis 22 Stunden.

Versuch Nr.:	51	50	52	54	49	66
Dauer:	22 Stunden	22 Stunden	22 Stunden	16 Stunden	22 Stunden	22 Stunden
Formaldehyd pro Kubikmeter	45 ^{errn}	50 ^{errn}	55 ^{errn}	60 ^{errn}	60 ^{errn}	60 ^{errn}
Konzentration der Formalinlösung	11.8 Prozent	13.1 Prozent	14.4 Prozent	15.7 Prozent	15.7 Prozent	15.7 Prozent
Dampfstromung (Minuten)	4 + 3	4 + 3	4 + 4	4 + 3	4 + 4 + 3	5 + 3
Anfangstemperatur	49.5°	52°	47.5°	50°	53°	56°
Schlußtemperatur	27°	30°	27.5°	31°	32°	34°
Maximaltemperatur an der Decke (drei Stellen gemessen)	56°	61°	55°	64°	60°	70°
Luftfeuchtigkeit am Anfang der Formalinverdampfung	84 Prozent	100 Prozent	91 Prozent	86 Prozent	95 Prozent	90 Prozent
Luftfeuchtigkeit am Ende des Versuches	93 "	93 "	97 "	95 "	95 "	92 "
Verdampftes Ammoniak	-	-	-	-	-	-
Wollobjekte bei a) (in Säcken)	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S	A C S
" " b) (" ")	+	-	-	-	-	+
" " c) (" ")	+	-	-	-	-	+
" " d) (" ")	+	-	-	-	-	-
" " e) (" ")	+	-	+	-	-	-
" " f) (" ")	+	-	-	+	-	+
" " g) (in Schachteln)	+	-	-	-	-	-
" " h) (" ")	+	-	-	+	-	-
" " i) (" ")	+	-	-	-	-	+
Desinfizierte Proben	3 3 3	3 3 3	3 3 3	3 3 3	3 3 3	3 3 3

Zeitschr. f. Hygiene. LXVI

33

die Objekte in den übrigen Versuchen aus neuem Woldeckenzeug bestanden. Das ungünstige Ergebnis in diesem Versuch zeigt wieder, welche große Bedeutung das Objektmaterial für die Tiefenwirkung hat.

Das Hauptergebnis der Versuche ist der Nachweis, daß das Formaldehyd imstande ist, eine Schicht frei aufgehängten Woldeckenzeugs ganz zu durchdringen und grob infizierte Objekte (aus neuem Woldeckenzeug) völlig zu desinfizieren, wenn 50 bis 60 ^gm Formaldehyd pro Kubikmeter angewendet werden, wenn die Temperatur 30 bis 50° C, die relative Feuchtigkeit etwa 90 Prozent und die Einwirkungszeit etwa 22 Stunden ist.

III. Desinfektionszeit 22 Stunden. „Grob infizierte Objekte“ aus Leinwand und abgenutzter Wolle, frei aufgehängt.

Durch diese Versuchsreihe (Versuche Nr. 60, 58, 59, 65, 70, 92, 99, 108) wird das früher nachgewiesene Verhalten bestätigt, daß Objekte von abgenutztem Wollenzeug und Leinwand schwieriger zu desinfizieren sind als Objekte aus neuem Wollenzeug.

Die Objekte waren „grob infiziert“ mit Agarplattenkulturen. Obwohl die Proben bei diesen Versuchen frei an den Decken aufgehängt wurden, und die Versuchsbedingungen übrigens ganz unverändert waren, gelang es hier in 22 Stunden nur die Coliprobe (im ganzen 43) zu desinfizieren, während 17 von 43 Anthraxproben und 22 von 43 Staphylokokkenproben der Desinfektion widerstanden.

Man darf daher nicht erwarten, mit einigermaßen mäßigen Formaldehydmengen innerhalb einer kürzeren Zeit auf diese Weise Decken desinfizieren zu können, die mit infektiösem Material so stark beschmutzt sind, daß Wasserdämpfe und Formaldehyddämpfe (wegen herabgesetzter Porosität oder Hygroskopie) schwieriger auf die Infektionsstoffe eindringen als z. B. auf die von uns angewandten Leinenobjekte. Daher muß es als notwendig angesehen werden, daß alle solche stark beschmutzten Decken in der Desinfektionsanstalt von den übrigen ausgesondert und einer zweckmäßigeren Behandlung überwiesen werden. Andererseits zeigen unsere Versuche, daß man nicht so sehr genau zu rechnen braucht, indem die Tiefenwirkung des Formaldehyds unter den genannten Bedingungen (namentlich hoher Feuchtigkeitsgrad und lange Einwirkungszeit) genügt, Woldecken zu durchdringen und sogar sehr resistente Keime zu desinfizieren, selbst wenn die Woldecken mit infektiösen Flüssigkeiten durchfeuchtet sind.

Übersicht.

Die Ergebnisse der berichteten Versuche zeigen, daß man Woldecken in einer guten „Formalinkammer“ mit genügender Sicherheit desinfizieren kann. Die Versuche beleuchten außerdem die Schwierigkeiten des Eindringens des Desinfektionsmittels und lassen uns daran zweifeln, ob es möglich sein wird, in dieser Beziehung die Formaldehyddesinfektion nach dieser Methode noch zu verbessern, wenn den Anforderungen genügt werden soll, die der praktische Zweck in verschiedener Hinsicht (Zeit, Kosten usw.) stellt.

Diese Erfahrungen dürften bei Formaldehyddesinfektion anderer Effekten ähnlicher Art benutzt werden können, u. a., wenn es sich um die Frage der Wohnungsdesinfektion handelt.

Die Versuche haben die außerordentliche Bedeutung gezeigt, die der Fähigkeit der Effekten zugeschrieben werden muß, Wasserdampf und Formaldehyddämpfe schnell aufzunehmen, falls eine einigermaßen schnelle und tiefgehende Desinfektion mit mäßigen Formaldehydmengen erzielt werden soll. Wo diese Fähigkeit geringer ist, muß in erster Linie die Einwirkungszeit vergrößert werden, während es dagegen nicht besonders nützt, die Formaldehydmenge zu vergrößern. Andererseits erfordern langdauernde Einwirkungen, daß man mit relativ großen Formaldehydmengen beginnt, damit die Formaldehydkonzentration — die infolge der Kondensation usw. allmählich vermindert wird — doch genügend bleibt, die Desinfektion zu bewirken, wenn der Desinfektionsstoff schließlich in die Tiefe der Objekte gelangt.

Die Versuche haben ferner gezeigt, daß man bedeutende Wasserdampfmengen anwenden muß, teils um einen genügend hohen Feuchtigkeitsgrad in der Kammerluft zu erhalten (Gegenwirkung von Polymerisation?), teils um dem Desinfektionsmittel das Eindringen in die Decken zu erleichtern.

Nach unseren Beobachtungen meinen wir nämlich der Dampfeströmung eine Rolle bei der Tiefenwirkung der Desinfektion zuschreiben zu müssen. Die Poren der Decken werden unmittelbar vor der Formaldehydentwicklung von dem einströmenden Dampf gefüllt, und zwar unter teilweisem Austreiben der Luft. Beim Aufhören der Einströmung und als Folge der eintretenden hygroskopischen Wasserdampfkondensation in den Decken werden die nun entwickelten formaldehydgemischten Wasserdämpfe in die Decken aspiriert. Die Schnelligkeit dieses Aufsaugens hängt natürlich von den physikalischen Eigenschaften der Decken ab (Hygroskopie, Porengröße u. v. a.); es dauert an, solange die Decken bei der betreffenden Temperatur imstande sind, Wasserdampf zu absorbieren und zu kondensieren und Formaldehyd anzuziehen.

3*

Vergleichen wir diese Auffassung mit den Erfahrungen früherer Untersucher: 1. verhältnismäßig gute Wirkung des Einblasens von Formaldehyd und Wasserdampf unter hohem Druck; 2. schnelle Desinfektion bei der „japanischen Methode“ und 3. günstige Desinfektionsergebnisse von strömenden Wasserdämpfen mit einem geringen Formaldehydgehalt, bei niedriger Temperatur und hohem Druck (v. Esmarch, Rubner), so müssen wir annehmen, daß die Schwierigkeiten bei der Desinfektion von Kleidern, Decken u. dergl. mit geringen Formaldehydmengen in der „Formalkammer“ wesentlich darauf beruhen, daß die Luft nur unvollständig aus den Poren der Decken herausgetrieben wird, weshalb das Eindringen des Desinfektionsmittels nur langsam vor sich geht.

Wir bezweifeln daher nicht, daß eine rationelle Formaldehyddesinfektion solcher Effekten im größeren Umfange auf Methoden bauen soll, durch die den oben angedeuteten Mängeln bei der „Formalkammer“-desinfektion abgeholfen ist, um so mehr als der Betrieb sicher billiger werden wird.

Die Desinfektion von Woldecken kann indessen in der beschriebenen Formalkammer auf eine — praktisch gesehen — sichere Weise vorgenommen werden, wenn der beschriebenen Versuchsanordnung gefolgt wird, und man namentlich beobachtet, daß die relative Feuchtigkeit in der Kammerluft während der ganzen Desinfektionsperiode auf mindestens 80 bis 90 Prozent gehalten wird.

Bei einer Füllung, die zwei (3·27^{qm} großen) Woldecken pro Kubikmeter entspricht, können folgende Desinfektionszeiten und Formaldehydmengen als genügend angesehen werden:

Die Desinfektionszeit muß auf nicht weniger als etwa 9 Stunden festgesetzt werden und soll, wo es möglich ist, noch etwas länger gewählt werden. Bei dieser Desinfektionszeit sind für neue Woldecken 20 bis 25^{gmm} Formaldehyd pro Kubikmeter erforderlich, für ältere, abgenutzte Woldecken mindestens 35 bis 37^{gmm} Formaldehyd pro Kubikmeter.¹

Wird die Desinfektionszeit auf etwa 22 Stunden ausgedehnt, so geht die Desinfektion abgenutzter Woldecken schon zuverlässig vor sich, wenn 25 bis 30^{gmm} Formaldehyd pro Kubikmeter verdampft werden.

Will man strengere Ansprüche stellen und sichere Desinfektion herbeiführen, selbst wenn auf den Decken Stellen zu finden sind, deren Aufsaugungsfähigkeit durch Aufnahme infektiösen Materials (vergl. Leinenobjekte) herabgesetzt ist, so soll die Formaldehydmenge bis auf mindestens

¹ Die Angaben der Formaldehydmengen sind aus praktischen Gründen (wie bei den Versuchen) auf einen angenommenen Durchschnittsgehalt von 40 Prozent Formaldehyd im allgemeinen Handelsformalin basiert, obgleich die wirklich angewandten Formaldehydmengen zuweilen etwas geringer sind.

45^gm pro Kubikmeter vermehrt, und die Einwirkungszeit auf mindestens 22 Stunden verlängert werden.

Stark besudelte und beschmutzte Decken können jedoch auf diese Weise nicht sicher desinfiziert werden, und man soll sie daher aussondern und auf andere Weise desinfizieren.

Stärkere Füllung der Kammer als die erwähnte erfordert eine Vermehrung der Formaldehydmenge.

Die Kosten für Chemikalien (Formalin, Ammoniak) und Dampf können zu 5 bis 6 Öre die Decke veranschlagt werden. Sie sind also nicht gering, aber doch nicht unverhältnismäßig hoch. (Das Waschen einer Wolldecke kostet z. B. etwa 35 Öre.)

Die Desinfektion ist für die Decken überaus schonend und daher ökonomisch für Krankenhäuser, wo die Decken häufig desinfiziert werden müssen, selbst wenn sie nur wenige Tage im Gebrauch waren.

Literatur-Verzeichnis.

1. Boehncke, *Hyg. Rundschau*. 1909. S. 773.
2. Czaplewsky, *Ebenda*. 1900. S. 97.
3. Doty, *New York med. Journ.* 1897. Bd. II. S. 517.
4. Dunbar u. Musehold, *Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte*. Bd. XV. S. 114.
5. Engels, *Archiv f. Hygiene*. Bd. XLIX. S. 129.
6. Ermengem u. Sugg, *Arch. intern. pharmacodyn.* 1894. Bd. I.
7. v. Esmarch, *Diese Zeitschrift*. Bd. V. S. 67.
8. Derselbe, *Hyg. Rundschau*. 1902. S. 961.
9. Fairbanks, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1899. I. Abt. Bd. XXIII.
10. Fibiger, J., *Militärlägen*. 1906. Bd. XIV.
11. Flügge, *Diese Zeitschrift*. Bd. XXIX. S. 276. — Bd. I. S. 381.
12. Freymuth, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1894. Nr. 32.
13. Geppert, *Berliner klin. Wochenschrift*. 1889 Nr. 36. — 1890. Nr. 11.
14. Hammerl u. Kermauner, *Münchener med. Wochenschrift*. 1898. Nr. 47.
15. Hewlet u. Hall, *Journ. of Hygiene*. Vol. XI. S. 473.
16. Hilgermann u. Kirchgässer, *Klin. Jahrbuch*. 1907. Bd. XVIII. S. 47.
17. Hinz, *Inaugural-Dissertation*. Kiel 1900.
18. Jörgensen, Ax., *Diese Zeitschrift*. Bd. XLV. S. 237.
19. Kaup, *Wiener med. Wochenschrift*. 1899. Nr. 42—44.
20. Kister u. Trautmann, *Diese Zeitschrift*. 1904. Bd. XLVI. S. 379.
21. Kokubo, *Centralblatt f. Bakteriologie*. Bd. XXXII. I. Abt. S. 234.
22. Koch, Rob., *Mitteilungen a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte*. 1881. Bd. I.
23. Lassablière, *Arch. internat. pharmacodyn.* Vol. XX. S. 1.
24. Mayer u. Wolpert, *Hyg. Rundschau*. 1901. S. 153. — *Archiv f. Hygiene*. Bd. LIII. S. 157 u. 221.
25. Novy u. Waite, *New York Med. News*. 1898.
26. Otsuki, *Hyg. Rundschau*. 1900. S. 153.
27. Peerenboom, *Ebenda*. 1898. S. 769.
28. Petruschky u. Hinz, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1898. S. 527.
29. Pottevin, *Annales de l'Institut Pasteur*. Bd. VIII. S. 796.
30. Reichenbach, *Diese Zeitschrift*. Bd. XXXIX. S. 428.
31. Rositzky, *Münchener med. Wochenschrift*. 1899. Nr. 42.
32. Rubner, *Archiv f. Hygiene*. Bd. LVI. S. 209 u. 241.
33. Rubner u. Peerenboom, *Hyg. Rundschau*. 1899. S. 265.
34. Schumburg, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1898. S. 834.
35. Strehl, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1896. Bd. XIX.
36. Uyama, Tzuzuki, Oshida u. Matsuda, *Diese Zeitschrift*. Bd. LVIII. S. 465.
37. Walbum, *Desinfektion*. Bd. II. S. 693. — *Hospitalstidende*. 1912. Nr. 21.
38. Walther, *Diese Zeitschrift*. Bd. XXI. S. 421.
39. Werner, G., *Archiv f. Hygiene*. Bd. I. S. 305.

[Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.]
(Vorstand: Prof. O. Bail.)

Untersuchungen über das Wesen der Wassermannschen Reaktion.

Von

H. Nakano,
Tokio.

Die ursprüngliche Anschauung über das Wesen der Wassermannschen Reaktion, die auch zur Entdeckung derselben geführt hatte, ging dahin, daß das in den Extrakten enthaltene Antigen die *Spirochaeta pallida* sei, und die komplementbindenden Stoffe desluetischen Serum Spirochätenantikörper darstellen. Diese Vorstellung wurde jedoch von den meisten Autoren fallen gelassen, als man auch mit spirochätenfreien Antigenen die typische Reaktion erzielte.

Als durch die Auffindung der nichtspezifischen Antigene der erste Umschwung in den Anschauungen eintrat, hat man insbesondere, nachdem die lipoiden Natur des Antigens festgestellt war, fast allgemein die Ansicht vertreten, daß die komplementbindenden Stoffe bei Lues überhaupt keine Antikörper seien, sondern daß das Blut von Luetikern infolge physikalischer Veränderungen derart umgewandelt werde, daß die Lipide desselben mit den Lipoidbestandteilen der Extrakte zusammen eine Veränderung des Gesamtmilieus hervorrufen, die zur Adsorption des Komplementes führt.

Man hat eine ganze Reihe derartiger Milieuveränderungen, welche Komplement adsorbierend wirken, durch chemische Stoffe künstlich zu erzeugen versucht und sie mit den Vorgängen der bei Wassermannschen Reaktion verglichen.

Die Antikörpernatur der imluetischen Serum wirksamen Stoffe wurde von Weil und Braun verfochten, jedoch nicht in dem ursprünglichen Wassermannschen Sinne. Auf Grund der von Weil gefundenen Tat-

sache, daß die in den wässerigen Extrakten hereditär luetischer Organe vorkommenden antigenen Stoffe nicht von der *Spirochäta pallida* herrühren, sondern von den in diesen Organen vorhandenen pathologisch veränderten Zellen, gelangten sie zu der Ansicht, daß im luetischen Serum Antikörper gegen diese Stoffe auftreten, die ihre Ausbildung den im luetischen Organismus stets zugrunde gehenden Organzellen verdanken. Das Hauptgewicht wurde bei dieser Anschauung stets darauf gelegt, daß nicht jeglicher Gewebszerfall eine Antikörperbildung auslöst, sondern nur ein in ganz bestimmtem Sinne verändertes Gewebe. Es wurde dabei auf analoge Vorgänge hingewiesen, so auf die amyloide Degeneration, welche eine derartige charakteristische Gewebsalteration darstellt, die jedoch nicht einen spezifischen Erreger zur Ursache hat, sondern durch die verschiedensten Umstände entstehen kann.

Wenn demnach Citron in dem Antigen einen durch den Lueserreger „heterologisierten Eiweißkörper“ sieht und Sachs annimmt, „daß Organantigene durch den Einfluß des syphilitischen Virus derart alteriert werden, daß sie neue antigenen Eigenschaften annehmen, die für die Veränderung durch das syphilitische Agens spezifisch sind“, so sind das Anschauungen, welche sich mit der von Weil und Braun geäußerten dem Sinne nach in jeder Hinsicht vollkommen decken.

Ich selbst habe mich für die Natur der komplementbindenden Stoffe bei Lues aus dem Grunde interessiert, weil mir infolge der durch meine Methode gelungenen Reinzüchtung der *Spirochaeta pallida* die Möglichkeit geboten war, die spezifischen Eigenschaften, die dieser Erreger bei künstlicher Immunisierung hervorruft, genau zu studieren; so konnte ich zeigen, daß im Blute von Kaninchen, welche mit mehreren Injektionen abgetöteter *Spirochätenleiber* vorbehandelt waren, spezifische Immunstoffe auftreten, welche die Fähigkeit haben, in Kulturaufschwemmungen Agglutination hervorzurufen und die lebende *Spirochaeta pallida* in der Bauchhöhle von Meerschweinchen zur Auflösung zu bringen. Es war sonach gelungen, spezifische Agglutinine und Bakteriolyse zu erzeugen, und damit war gleichzeitig der Beweis erbracht, daß die *Spirochaeta pallida* antigenen Eigenschaften besitzt.

So war es naheliegend zu prüfen, wie sich der luetische Mensch, der unter dem Einfluß einer frischen *Spirochäteninvasion* steht, dem spezifischen Erreger gegenüber verhält.

Von vornherein mußte erwartet werden, daß das Blutserum sekundär syphilitischer Menschen dieselben Eigenschaften aufweisen werde, wie die oben erwähnten Kaninchenimmunsere, indem es die *Spirochaeta pallida* agglutiniert und in der Bauchhöhle von Meerschweinchen das Pfeiffersche Phänomen hervorruft.

Dies trat jedoch zu meiner Überraschung nicht ein, denn die Sera sekundär syphilitischer Menschen, welche ausnahmslos starke Wassermannsche Reaktion aufwiesen, verhielten sich der *Spirochaeta pallida* gegenüber nicht anders als die Sera normaler Individuen.

Ich konnte also keine Beziehung der komplementbindendenluetischen Sera zu dem Erreger der Lues finden, und war demnach zu der Ansicht gedrängt, daß die komplementbindenden Stoffe Antikörper ganz anderer Natur darstellen.

Da sich in neuerer Zeit die Anschauungen immer mehr und mehr Bahn brechen, daß die körpereigenen Gewebe, wenn sie eine Veränderung (Abbau) erfahren, im Organismus eine Reaktion hervorrufen, welche zur Erzeugung von Antistoffen (Fermenten) führt (Abderhalden), so schien es von Interesse, die oben erwähnte Ansicht von Weil und Braun, die diese Vorstellungen seit langem vertreten, einer experimentellen Untersuchung zu unterziehen.

Wenn die Ansicht, daß die komplementbindenden Stoffeluetischer Sera durch die Resorption von veränderten Gewebszellen bedingt seien, zu recht besteht, so mußten sich zwischen diesen und den Antikörpernluetischer Sera bestimmte Beziehungen aufdecken lassen.

Das Wichtigste, was seit dem grundlegenden Versuch Ehrlichs stets als Hauptcharakteristikum einer gegenseitigen spezifischen Einwirkung betrachtet wurde, ist die Bindung zwischen Antigen und Antikörper; bereits Tojosumi hat die Tatsache festgestellt, daß Zellemlösungen die Fähigkeit zukommt, die komplementbindende Kraftluetischer Sera abzuschwächen; es erwiesen sich zwar in bezug auf die verschiedenen Zellen Differenzen in der Art, daß z. B. rote und weiße Blutkörperchen keine Bindungskraft aufwiesen, nicht aber in bezug auf die Zellen der verschiedenen Tiere, so daß es ganz gleichgültig war, ob er Zellemlösungen vom Meerschweinchen, Hund oder Menschen verwendete; alle waren gleich wirksam.

Meine Untersuchungen nahmen zunächst ihren Ausgang von den eben erwähnten Experimenten Tojosumis und machten es sich zur Aufgabe, zu sehen, ob es sich hierbei tatsächlich um eine spezifische Bindung handelt, welche mit der bei anderen Immunitätsreaktionen identisch ist, und wenn dies der Fall ist, die Natur der antigenen Stoffe in den Zellen genauer zu erforschen.

Betreffs der Versuchstechnik hielt ich mich genau an die Angaben Tojosumis¹.

Um die Bindungskraft der verschiedenen Organe des Meerschweinchens zu illustrieren, wurde folgender Versuch angestellt (s. Versuch 1).

¹ *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1909. Bd. LI.

Versuch 1.

Die Behandlung wurde in diesem Versuche mit Meerschweinchenorganen vorgenommen.

Menge des Serums	Unbeh. Luesserum		Mit behandelt																	
			Herz		Leber		Niere		Milz		Lunge		Fett		Hirn		Embryo		Haut	
	30 Min.	2 Std.	30 Min.	2 Std.	30 Min.	2 Std.	30 Min.	2 Std.	30 Min.	2 Std.	30 Min.	2 Std.	30 Min.	2 Std.	30 Min.	2 Std.	30 Min.	2 Std.	30 Min.	2 Std.
0.2	0	0	st.	st.	k.	k.	w.	m.	w.	m.	Sp.	w.	0	0	0	0	w.	m.	0	0
0.1	0	0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	st.	k.	k.	k.	0	0	st.	k.	k.	k.	0	0
0.05	0	0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	0	w.	k.	k.	k.	k.	w.	w.
0.01	st.	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	f. k.	f. k.
0.2 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	w.	m.	w.	m.	st.	k.	k.	k.	w.	w.	st.	k.	k.	k.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Zeichenerklärung: 0 bedeutet keine Hämolyse,
 k. „ komplette Hämolyse.
 f. k. „ fast komplette Hämolyse,
 st. „ starke Hämolyse,
 m. „ mäßige „
 w. „ geringe „
 Sp. „ Spur „

Dieser Versuch lehrt, daß mit Ausnahme des Fettgewebes und der Haut sämtliche Organe in hohem Maße befähigt sind, die komplementbindenden Stoffe des luetischen Serums zu binden. Im folgenden Versuche wurde die Bindungsfähigkeit von Meerschweinchen-, Kaninchen- und Menschenorganen vergleichend geprüft (s. Versuch 2).

Versuch 2.

Die Behandlung wurde in diesem Versuche mit A. Meerschweinchen-, B. Kaninchen-, C. Menschenorganen gleichzeitig vorgenommen u. verglichen.

A.

Menge des Serums	Unbehandeltes Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.3	0	0	0	0	0
0.2	0	0	0	0	0
0.1	0	w.	w.	Sp.	Sp.
0.05	0	k.	k.	f. k.	w.
0.3 ohne Extrakt	k.	f. k.	k.	f. k.	k.

B.

Menge des Serums	Unbehandeltes Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.3	0	0	0	0	0
0.2	0	0	0	0	0
0.1	0	w.	m.	w.	Sp.
0.05	0	k.	k.	f. k.	Sp.
0.3 ohne Extrakt	k.	k.	k.	k.	k.

C.

Menge des Serums	Unbehandeltes Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.3	0	0	0	0	0
0.2	0	Sp.	w.	0	
0.1	0	k.	k.	Sp.	
0.05	0	k.	k.	k.	
0.3 ohne Extrakt	k.	f. k.	k.	f. k.	

Auch hier ist eine starke Abschwächung durch die Zellen aller drei Tierarten hervorgerufen worden; dieselbe scheint in diesem Versuche nur deshalb geringer, weil das unbehandelte Serum nicht bis zur Titergrenze untersucht wurde und offenbar viel stärker als in der Dosis von 0.05 Komplement gebunden hätte; auch zeigt sich hier, daß die Milz deutlich schwächer wirksam war als die übrigen Organe, und zwar aus dem Grunde, weil sie zum großen Teile aus Leukozyten besteht, welche, wie wir dem Versuch von Tojosumi entnehmen, in bezug auf Bindung unwirksam sind.

Zunächst sollte geprüft werden, wie sich die bindenden Gruppen in den Zellen verschiedenen chemischen Substanzen gegenüber verhalten; dies war aus dem Grunde von Interesse, weil wir wissen, daß die Antigene bzw. die bindenden Gruppen derselben der Einwirkung schädigender Substanzen meist nicht widerstehen. So zerstört z. B. das Osmium die haptophoren Gruppen der roten Blutkörperchen vollständig und nimmt ihnen auch ihre antigenen Eigenschaften.

Wir haben zunächst die Einwirkung des Alkohols geprüft, und zwar in der Weise, daß wir zu 1 ^{strm} Organemulsion neun Teile 96 prozent. Alkohol hinzufügten, denselben entweder 24 Stunden bei Zimmertemperatur oder 1 Stunde bei 60° auf die Zellen einwirken ließen und ihn vor Ausführung der Bindungsversuche durch fünf- bis sechsmaliges Waschen der Organemulsion entfernten (s. Versuche 3, 4, 5).

Versuch 3.

Die Meerschweinchen- und Menschenorgane wurden 24 Stunden bei Zimmertemperatur mit Alkohol behandelt, dann mit NaCl 5 mal gewaschen.
Meerschweinchenorgane.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung					Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.2	0	m.	k.	m.	0	0	0	0	0
0.1	0	f. k.	k.	k.	m.	0	m.	0	0
0.05	0	k.	k.	k.	k.	w.	k.	st.	0
0.01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.2 ohne Extr.	k.	m.	k.	m.	m.	0	k.	0	0
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Menschenorgane.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung					Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.2	0	m.	st.	0	0	0	0	0	0
0.1	0	st.	f. k.	m.	0	w.	0	w.	0
0.05	0	k.	k.	k.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	0
0.01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.2 ohne Extr.	k.	m.	st.	m.	m.	0	0	w.	k.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Wir sehen, daß die intensive Behandlung mit Alkohol den Organzellen nicht ihre Immunkörper bindende Fähigkeit nimmt, ja wie aus Versuch 5 hervorgeht, kommt es nicht einmal zu einer Abschwächung der mit Alkohol behandelten Organe, denn sie verhalten sich, wie der vergleichende Versuch mit den unbehandelten Organzellen zeigt, genau wie diese.

Versuch 4.

Die Meerschweinchenorgane wurden 24 Stunden bei Zimmertemperatur mit Alkohol behandelt, dann mit NaCl 5 mal gewaschen.

Menge des Serums	Unbehand. Luesserum		Mit Herz behandelt		Mit Leber behandelt		Mit Niere behandelt		Mit Milz behandelt		Mit Hirn behandelt	
	30 Min.	1 Std.	30 Min.	1 Std.	30 Min.	1 Std.	30 Min.	1 Std.	30 Min.	1 Std.	30 Min.	1 Std.
0.2	0	0	0	m.	0	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0	0	m.	f. k.	0	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	st.	k.	Sp.	w.	m.	f. k.	0	0	0	0
0.01	m.	m.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	0	st.	m.	f. k.
0.2 ohne Extr.	k.	k.	0	w.	st.	k.	st.	k.	k	k.	st.	k.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Versuch 5.

Die Menschenorgane wurden 24 Stunden bei Zimmertemperatur mit Alkohol und NaCl behandelt, dann mit NaCl 5 mal gewaschen.
Wässrige Emulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung						Zweite Behandlung mit der Emulsion der ersten Behandlung				
	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Hirn behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Hirn behandelt
0.2	0	st.	st.	st.	0	0	st.	m.	st.	0	0
0.1	0	k.	k.	k.	0	0	k.	k.	k.	0	0
0.05	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	f. k.	f. k.
0.01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.2 ohne Extr.	k.	st.	k.	f. k.	k.	k.	st.	st.	st.	k.	f. k.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

In einer folgenden Versuchsreihe wurden die Organzellen mit Aceton behandelt, in der Weise, daß der Kontakt 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur dauerte, worauf durch mehrmaliges Waschen das Aceton entfernt wurde. Auch die mit Aceton behandelten Organzellen erweisen sich nach diesen Versuchen als geeignet zu Antikörperbindung. Ebenso wie

Alkoholische Emulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung						Zweite Behandlung mit der Emulsion der ersten Behandlung				
	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Hirn behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Hirn behandelt
0·2	0	st.	f. k.	st.	0	0	f. k.	f. k.	m.	0	0
0·1	0	k.	k.	f. k.	0	m.	k.	k.	f. k.	0	0
0·05	f. k.	k.	k.	k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	f. k.	k.
0·01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0·2 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0·2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

der Alkohol bewirkt dieses keine wesentliche Abschwächung der Bindungskraft, außerdem zeigen die bisherigen Versuche, daß die Organemulsionen, welche bereits einmal mit dem luetischen Serum in Kontakt waren, das zweite Mal viel weniger Immunkörper binden, da infolge der einmaligen Behandlung eine Sättigung bereits eingetreten ist (Versuche 3, 5, 6, 7 und 8).

Versuch 6.

Die Menschenorgane wurden 24 Stunden bei Zimmertemperatur mit NaCl, Alkohol und Aceton behandelt, dann mit NaCl dreimal gewaschen.

Wässrige Emulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung						Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	
0·2	0	f. k.	st.	0	0	st.	f. k.	0	0	
0·1	0	k.	k.	k.	m.	k.	k.	m.	0	
0·05	w.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	
0·01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	
0·2 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	
0·2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Alkoholische Emulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung					Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Lues- serum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0·2	0	f. k.	st.	w.	0	st.	st.	0	0
0·1	0	k.	f. k.	k.	m.	k.	f. k.	m.	Sp.
0·05	w.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0·01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0·2 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.	k.	st.	st.	k.	k.
0·2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Acetonemulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung					Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Lues- serum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0·2	0	f. k.	st.	k.	0	st.	w.	m.	0
0·1	0	k.	f. k.	k.	m.	k.	f. k.	k.	0
0·05	w.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0·01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0·2 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.	k.	st.	k.	k.	k.
0·2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Sehr wichtig ist es, die Frage zu entscheiden, ob die in diesen Versuchen festgestellte Bindungsfähigkeit der Organzellen eine spezifische ist, oder ob es sich dabei um nicht spezifische Adsorption handelt; denn daß letztere bei Immunkörpern eine nicht unwesentliche Rolle spielt, wissen wir insbesondere durch die Arbeiten von Landsteiner und seinen Mitarbeitern, welche durch Kasein und andere nicht spezifische Stoffe die normalen Immunkörper entfernen konnten.

Versuch 7.

Die Meerschweinchenorgane wurden 24 Stunden bei Zimmertemperatur mit NaCl, Alkohol und Aceton behandelt und 5 mal mit NaCl gewaschen.

Wässrige Emulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung			Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Lues- serum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt
0.2	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0	Sp.	Sp.	0	0	0	0
0.05	0	w.	m.	m.	w.	m.	w.
0.01	0	st.	k.	k.	st.	k.	f. k.
0.2	k.	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.
ohne Extr.							
0.2 ohne Kompl.	k.	0	0	0	0	0	0

Alkoholische Emulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung			Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Lues- serum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt
0.2	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0	Sp.	Sp.	Sp.	0	0	0
0.05	0	w.	w.	m.	w.	m.	m.
0.01	0	st.	k.	k.	f. k.	k.	st.
0.2	k.	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.
ohne Extr.							
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0

Für eine nicht spezifische Adsorption würde auch die Tatsache sprechen, daß wir eine Artspezifität der Antigene nicht finden konnten, da die Organe des Menschen in derselben Weise wirksam waren, wie die des Kaninchens und Meerschweinchens; allerdings muß man dem sofort entgegenhalten, daß sich die Organe verschiedener Tiere in ganz gleicher Weise als Antigen für Wassermannsche Reaktion verwenden lassen, so daß es nicht wunderlich erscheint, wenn diese in gleicher Weise die komplementbindenden Stoffe verankern.

Acetonemulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung				Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung		
	Unbehand. Luceserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt
0.2	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0	Sp.	Sp.	Sp.	0	0	0
0.05	0	m.	w.	w.	w.	w.	Sp.
0.01	0	st.	k.	k.	st.	Sp.	st.
0.2 ohne Extr.	k.	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.	st.	Sp.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0

Versuch 8.

Die Meerschweinchenorgane wurden in NaCl, Alkohol und Aceton 1 Stunde auf 60° erhitzt, hierauf 24 Stunden bei Zimmertemperatur belassen, dann mit NaCl 6 mal gewaschen.

Wässrige Emulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung					Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Luceserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0	sp.	f. k.	0	0	0	w.	0	0
0.05	0	k.	k.	st.	0	0	k.	0	0
0.01	0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	m.	w.
0.2 ohne Extr.	k.	w.	m.	w.	0	0	w.	w.	Sp.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Zeitschr. f. Hygiene. LXXVI

4

Alkoholische Emulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung					Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0	0	Sp.	0	0	0	0	0	0
0.05	0	m.	f.	m.	0	0	Sp.	Sp.	0
0.01	0	f.	f.	f.	w.	f. k.	f. k.	f. k.	0
0.2 ohne Extr.	k.	0	w.	0	f.	0	m.	m.	f.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Acetonemulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung					Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0	Sp.	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	k.	f. k.	w.	0	0	0	0	0
0.01	0	k.	k.	k.	0	f.	f. k.	0	0
0.2 ohne Extr.	k.	0	0	0	k.	0	0	m.	f.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Weiter würde gegen eine nicht spezifische Adsorption die interessante Erscheinung sprechen, daß sich nicht alle Organzellen gleich verhalten; so sahen wir in unserem ersten Versuche, daß Fettgewebe und Haut gar nicht, Milz meist nur schwach wirksam war, weiter zeigen die Versuche von Tojosumi, daß rote und weiße Blutkörperchen nahezu vollkommen unwirksam waren, ferner daß Kaolin, welches als nicht spezifisches Adsorbens insbesondere für Eiweißkörper sehr wirksam ist, hier ebenfalls nahezu vollkommen versagte. Wir lassen anbei Versuche, welche diese Tatsache zeigen, folgen (Versuche 9 und 10).

Versuch 9.

Die Behandlungen wurden in diesem Versuche mit Meerschweinchenorganen, Leukozyten, Erythrozyten, Kaolin und Kreide vorgenommen.

A.

Menge des Serums	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Leukozyten behandelt	Mit Erythrozyten behandelt	Mit Kaolin behandelt	Mit Kreide behandelt
0.1	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	w.	w.	0	0	0	0
0.01	0	k.	k.	0	0	0	0
0.1 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

B.

Menge des Serums	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Leukozyten behandelt	Mit Erythrozyten behandelt	Mit Kaolin behandelt	Mit Kreide behandelt
0.1	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	st.	m.	0	0	0	0
0.01	0	st.	st.	0	0	w.	0
0.005	0	f. k.	f. k.	0	0	st.	m.
0.1 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

C.

Menge des Serums	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Erythrozyten behandelt	Mit Kaolin behandelt	Mit Kreide behandelt
0.2	0	st.	st.	0	0	0	0	0
0.1	0	f. k.	f. k.	w.	w.	0	0	0
0.05	m.	k.	k.	st.	f. k.	st.	st.	w.
0.025	st.	k.	k.	k.	k.	f. k.	f. k.	m.
0.01	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.005	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.2 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Dieser Versuch zeigt die eben erwähnte Tatsache, daß rote und weiße Blutkörperchen und auch Kaolin und Kreide, erstere vollkommen, letztere nahezu vollkommen unwirksam sind. Wir werden unten diese interessante Tatsache noch besprechen.

4*

Versuch 10.

Die Behandlungen wurden mit Meerschweinchenorganen, Kaolin und Kreide vorgenommen.

A.

Menge des Serums	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Erythrozyten behandelt	Mit Kaolin behandelt	Mit Kreide behandelt
0.2	0	k.	st	m.	0	0	0	0
0.1	0	k.	f. k.	st.	m.	0	0	0
0.05	w.	k.	k.	k.	st.	m.	0	w.
0.025	m.	k.	k.	k.	k.	st.	m.	m.
0.2 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	f.

B.

Menge des Serums	Unbehand. Luesserum	Mit Kaolin behandelt	Mit Kreide behandelt
0.2	0	0	0
0.1	0	0	0
0.05	0	f. k.	m.
0.025	Sp.	k.	st.
0.2 ohne Extr.	k.	k.	k.

C.

Die Meerschweinchenorgane wurden 1 Stunde mit Alkohol und NaCl auf 60° erhitzt und 5 mal mit NaCl gewaschen.

Menge des Serums	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Leukozyten behandelt	Mit Erythrozyten behandelt	Mit Erythrozyten (wässrig) behandelt
0.2	0	m.	Sp.	0	0	0	0	0
0.1	0	m.	Sp.	Sp.	0	0	0	0
0.05	0	k.	f. k.	k.	0	0	0	0
0.025	Sp.	k.	k.	k.	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.
0.2 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Spricht schon diese Ermittlung gegen eine gewöhnliche Adsorption, so sind wir durch folgenden Umstand in die Lage versetzt, diese Frage zu prüfen. Es ist bekannt, daß sensibilisierte Zellen in spezifischer Weise zur Komplementbindung befähigt sind, auch nach Entfernung des betreffenden Immuserums und selbst nach mehrmaligem Waschen. Die Komplementbindung bleibt jedoch aus, wenn durch einen nicht spezifischen Vorgang Immunkörper von irgend einem Stoffe adsorbiert werden.

Nach den Untersuchungen von Weil und Spät besitzt jedes durch Kochen zum Gerinnen gebrachte Eiweiß die Fähigkeit, spezifische Eiweißpräzipitine in hohem Maße zu adsorbieren, jedoch in völlig unspezifischer Weise. Dieses mit den Präzipitinen beladene Eiweiß ist jedoch nicht imstande, Komplement zu binden, während bekanntlich die spezifischen Präzipitate stark komplementbindend wirken. Wenn nun in unserem Falle eine nicht spezifische Adsorption aus den luetischen Seren vorliegt, so werden die Zellen nach der Entfernung der letzteren ihrerseits keine Komplementbindung geben. Liegt jedoch ein der spezifischen Bindung analoger Vorgang vor, so muß die Organemulsion, welche die komplementbindenden Stoffe verankert hat, eine Antigenantikörperverbindung darstellen, mit einem sensibilisierten Antigen identisch und in spezifischer Weise zur Komplementbindung befähigt sein.

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß eine bestimmte Menge der Organemulsion teils mit luetischen, teils mit Kochsalzlösung oder normalem Serum 1 Stunde bei 37° gehalten und hierauf zentrifugiert wurde. Die Bodensätze wurden, um das anhaftende Serum zu entfernen, in NaCl zweimal gewaschen; dann erfolgte Zusatz des Komplements und nach abermaligem einstündigen Aufenthalt bei 37° wurden die abzentrifugierten Abgüsse auf ihren Komplementgehalt geprüft; die sonstigen Details sind aus dem Versuchsprotokoll ersichtlich (Versuche 11, 12, 13, 14A und B).

Versuch 11.

Die Behandlungen wurden in diesem Versuche mit Meerschweinchenorganen vorgenommen, und zum Bodensatzversuche wurden die Emulsionen mit Luesserum einerseits, andererseits mit normalem Menschenserum 2 mal behandelt, dann mit NaCl 2 mal gewaschen.

Serumuntersuchung.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung			Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbeh. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt
0.2	0	k.	0	f. k.	0	0	0
0.1	0	k.	w.	k.	0	0	0
0.05	0	k.	k.	k.	k.	0	w.
0.01	0	k.	k.	k.	k.	f. k.	k.
0.2 ohne Extr.	k	k.	k.	k.	k.	st.	k.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0

Bodensatzuntersuchung.

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Die Emulsion 2 mal mit Luesserum behandelt			Die Emulsion 2 mal mit Normal-Menschenserum behandelt		
		Emulsion von Herz	Emulsion von Leber	Emulsion von Niere	Emulsion von Herz	Emulsion von Leber	Emulsion von Niere
0·5	0·05	0	0	0	st.	m.	0
0·25	0·05	st.	m.	0	k.	k.	m.
0·1	0·05	f. k.	f. k.	0	k.	k.	f. k.
0·05	0·05	k.	k.	st.	k.	k.	k.

Die Versuche 11 bis 14 lehren, daß die mit luetischem Serum behandelten Bodensätze deutlich stärker komplementbindend wirken als die mit NaCl behandelten. Daß diese stärkere Komplementbindung auf die Verankerung der komplementbindenden Stoffe des luetischen Serums zurückzuführen ist, beweist Versuch 11, aus dem hervorgeht, daß sich die mit normalem Serum behandelten Zellemlusionen nicht anders verhalten als die, welche mit NaCl in Berührung waren.

Ein großes Gewicht mußten wir auf die komplementbindende Wirkung der mit Alkohol und Aceton behandelten Organzellen legen. Obgleich sich diese als sehr geeignet für die Antikörperbindung erwiesen haben, war es doch nicht sicher, ob diese Bindung eine spezifische sei. Da durch die Versuche von Coca gezeigt wurde, daß rote Blutkörperchen durch Osmiumbehandlung ihre hämolysinbindende Fähigkeit nicht verlieren, so nahm dieser Autor an, daß diese intensiv schädigende Substanz die spezifischen Rezeptoren nicht zerstört.

Szily konnte jedoch den Nachweis erbringen, daß die mit Osmium behandelten Blutkörperchen die Hämolysine in völlig unspezifischer Weise adsorbieren. Es waren nämlich nicht nur osmierte Hammelblutkörperchen, sondern auch osmierte Meerschweinchenblutkörperchen befähigt, in ganz gleicher Weise das Hammelbluthämolysin zu adsorbieren. Das Osmium bedingt also eine nicht spezifische Bindungsfähigkeit der Blutkörperchen für die Hämolysine. Es entsteht nun die Frage, ob nicht auch der Alkohol und das Aceton in derselben Weise wirken. Darüber mußte nun die Untersuchung der Bodensätze Aufschluß geben; liegt hierbei ähnlich wie bei den osmierten Blutkörperchen ein nicht spezifischer Prozeß vor, so werden voraussichtlich die mit luetischen Seris behandelten Bodensätze der mit Alkohol und Aceton versetzten Zellen sich nicht anders verhalten, als unbehandelte oder mit normalem Serum behandelte; wirkt jedoch das Aceton und der Alkohol auf die spezifisch bindenden Gruppen der Organzellen nicht schädigend, so werden diese nach ihrem Kontakt mit luetischem Serum starke Komplementbindung geben, im Gegensatz zu dem mit normalem Serum oder mit NaCl behandelten.

Versuch 12.
In diesem Versuche wurde die Behandlung mit Meerschweinchenorganen wie in Versuch 11 vorgenommen.
Serumuntersuchung.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung						Zweite Behandlung mit der Emulsion der ersten Behandlung						
	Unbeh. Lues-serum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Hirn behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Hirn behandelt		
	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.
	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.
0.2	0	k.	st.	0	0	0	m.	0	0	0	0	0	0
0.1	0	k.	k.	0	0	0	f. k.	0	0	0	0	0	0
0.05	0	k.	k.	k.	w.	k.	k.	0	0	0	0	0	0
0.01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	st.	k.	k.	k.	k.
0.2 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	st.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Bodensatzuntersuchung.

Menge der Emulsion	Menge des Komplements	Die Emulsion 2 mal mit Luesserum behandelt						Die Emulsion 2 mal mit Normal-Menschenserum behandelt										
		Herz	Leber	Niere	Milz	Hirn	Herz	Leber	Niere	Milz	Hirn							
		30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.
		2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.	2 Std.
0.5	0.05	0	0	0	0	0	m.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.25	0.05	0	0	0	0	0	st.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0.05	Sp.	w.	0	0	0	k.	0	m.	st.	0	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0.05	w.	m.	0	0	0	k.	0	f. k.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Versuch 13.

Die Behandlung wurde mit Kaninchenorganen vorgenommen, im Bodensatzversuche wurden die mit Luesserum vorbehandelten Emulsionen mit unbehandelten Emulsionen verglichen.

Serumuntersuchung.

Menge des Serums	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt
0.2	0	0	0	0
0.1	0	w.	w.	Sp.
0.05	0	m.	m.	w.
0.02 ohne Extr.	k.	k.	k.	k.

Bodensatzuntersuchung.

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Mit Luesserum behandelter Bodensatz			Unbehandelter Bodensatz			
		Herz	Leber	Niere	Herz	Leber	Niere	Kompl. allein
0.5	0.15	0	0	0	k.	k.	st.	k.
0.5	0.075	0	0	0	st.	st.	w.	k.
0.5	0.03	0	0	0	Sp.	Sp.	Sp.	k.
0.5	0.015	0	0	0	0	0	0	st.

Versuch 14A.

In diesem Versuche gelangte eine $\frac{1}{4}$ Stunde gekochte und dann 3 mal gewaschene Emulsion zur Anwendung.

Wässrige Emulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung					Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0	st.	st.	Sp.	st.	0	0	0	0
0.05	Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	f.k.	Sp.	f.k.
0.01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.2 ohne Extr.	k.	st.	k.	k.	k.	k.	k.	st.	k.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Gekochte Emulsion.

Menge des Serums	Erstmalige Behandlung					Zweite Behandlung mit der Emulsion d. ersten Behandlung			
	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.2	0	0	k.	m.	0	0	0	0	0
0.1	0	st.	k.	k.	st.	0	m.	0	0
0.05	Sp.	k.	k.	k.	k.	f. k.	k.	k.	f. k.
0.01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.2 ohne Extr.	k.	st.	k.	k.	k.	0	k.	0	k.
0.2 ohne Kompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Versuch 14B.

Die Behandlungen wurden in diesem Versuche mit Kaninchenorganen vorgenommen, und zum Bodensatzversuche die mit Luesserum behandelte Emulsion mit der unbehandelten Emulsion verglichen.

Serumuntersuchung.

Menge des Serums	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt
0.2	0	0	0	0
0.1	0	st.	st.	m.
0.05	0	f. k.	f. k.	f. k.
0.025	0	k.	k.	k.
0.2 ohne Extr.	k.	f. k.	k.	f. k.

Bodensatzuntersuchung.

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Die mit Luesserum behandelte Emulsion			Unbehandelte Emulsion			
		Herz	Leber	Niere	Herz	Leber	Niere	Kompl. allein
0.5	0.2	0	0	0	k.	st.	w.	k.
0.5	0.1	0	0	0	k.	m.	Sp.	k.
0.5	0.075	0	0	0	st.	w.	0	k.
0.5	0.01	0	0	0	0	0	0	k.

Versuch 15.

Die Meerschweinchenorgane wurden mit NaCl, Alkohol und Aceton 1 Stunde bei 60°, hierauf 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten, dann fünfmal mit NaCl gewaschen und die eine der Emulsionen zweimal mit Luesserum und die andere mit normalem Menschen Serum behandelt; die Bodensätze zweimal mit NaCl gewaschen.

Wässrige Emulsion.

Menge der Emulsion	Menge des Komplements	Die mit Luesserum behandelte Emulsion				Die mit Normalmenschenserum behandelte Emulsion			
		Herz	Leber	Niere	Milz	Herz	Leber	Niere	Milz
0.5	0.05	0	0	0	0	Sp.	0	0	0
0.25	0.05	0	0	0	0	st.	m.	0	m.
0.1	0.05	0	0	0	0	f. k.	st.	st.	st.
0.05	0.05	0	0	0	0	k.	k.	k.	k.

Alkoholische Emulsion.

Menge der Emulsion	Menge des Komplements	Die mit Luesserum behandelte Emulsion				Die mit Normalmenschenserum behandelte Emulsion			
		Herz	Leber	Niere	Milz	Herz	Leber	Niere	Milz
0.5	0.05	0	0	0	0	Sp.	0	m.	st.
0.25	0.05	0	0	0	Sp.	m.	m.	st.	st.
0.1	0.05	0	0	0	k.	st.	f. k.	k.	k.
0.05	0.05	0	0	m.	k.	k.	k.	k.	k.

Acetonemulsion.

Menge der Emulsion	Menge des Komplements	Die mit Luesserum behandelte Emulsion				Die mit Normalmenschenserum behandelte Emulsion			
		Herz	Leber	Niere	Milz	Herz	Leber	Niere	Milz
0.5	0.05	0	0	0	0	Sp.	st.	Sp.	Sp.
0.25	0.05	0	0	0	0	m.	f. k.	w.	m.
0.1	0.05	0	0	0	0	st.	k.	f. k.	f. k.
0.05	0.05	0	0	Sp.	Sp.	k.	k.	k.	k.

Versuch 16 (A.).

Die Meerschweinchenorgane wurden mit NaCl, Alkohol und Aceton 24 Stunden bei Zimmertemperatur belassen.

Wässrige Emulsion.

Menge der Emulsion	Menge des Komplements	Die mit Luesserum zweimal behandelte Emulsion			Die mit Normalmenschenserum zweimal behandelte Emulsion		
		Herz	Leber	Niere	Herz	Leber	Niere
0.5	0.05	0	0	0	0	0	0
0.25	0.05	0	0	0	m.	m.	0
0.1	0.05	0	0	0	st.	k.	m.
0.05	0.05	k.	w.	Sp.	k.	k.	k.

Alkoholische Emulsion.

Menge der Emulsion	Menge des Komplements	Die mit Luesserum zweimal behandelte Emulsion			Die mit Normalmenschenserum zweimal behandelte Emulsion		
		Herz	Leber	Niere	Herz	Leber	Niere
0.5	0.05	0	0	0	m.	Sp.	0
0.25	0.05	0	0	0	f. k.	f. k.	Sp.
0.1	0.05	0	0	0	k.	k.	k.
0.05	0.05	Sp.	k.	f. k.	k.	k.	k.

Acetonemulsion.

Menge der Emulsion	Menge des Komplements	Die mit Luesserum zweimal behandelte Emulsion			Die mit Normalmenschenserum zweimal behandelte Emulsion		
		Herz	Leber	Niere	Herz	Leber	Niere
0.5	0.05	0	0	0	Sp.	f. k.	0
0.25	0.05	0	0	0	st.	f. k.	Sp.
0.1	0.05	0	w.	0	k.	k.	k.
0.05	0.05	0	k.	Sp.	k.	k.	k.

Versuch 16 (B).

Die Meerschweinchenorgane wurden in diesem Versuche teils mit NaCl, teils mit Osmium (1 Prozent) $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur belassen, hierauf mit NaCl sechsmal gewaschen.

Absorptionsversuch.

Menge des Serums	Wässrige Emulsion				Osmierte Emulsion		
	Unbeh. Luesser.	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt
0.2	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0	w.	w.	0	0	0	0
0.05	0	f. k.	f. k.	st.	w.	st.	m.
0.025	0	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.01	st.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.005	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.2 ohne Extr.	k.	k.	k.	st.	0	0	0

Bodensatzversuch.

Die Meerschweinchenorgane wurden in diesem Versuche mit Luesserum behandelt, hierauf abzentrifugiert und dann mit NaCl zweimal gewaschen.

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Mit Luesserum behandelte Emulsion			Unbehandelte Emulsion			
		Herz	Leber	Niere	Herz	Leber	Niere	Komplement allein
0.5	0.3	Sp.	w.	0	k.	k.	k.	k.
0.5	0.15	0	Sp.	0	k.	k.	k.	k.
0.5	0.1	0	0	0	k.	k.	k.	k.
0.5	0.05	0	0	0	st.	st.	st.	k.

Diese beiden Versuche lehren, daß die mit Alkohol und Aceton behandelten Organzellen sich genau so verhalten wie die wässerigen Organemulsionen, denn nach dem Kontakt mit dem luetischen Serum wirken sie stark komplementbindend, während sie nach dem Kontakt mit normalem Serum diese Fähigkeit nicht aufweisen; daraus geht hervor, daß weder der Alkohol noch das Aceton die bindenden Gruppen der Organzellen schädigen.

Nachdem wir auf Grund der bisherigen Versuche gesehen haben, daß die Organzellen verschiedener Arten (Meerschweinchen, Kaninchen und Mensch) die komplementbindenden Stoffe des luetischen Serums binden, und daß mit Ausnahme der fehlenden Art und Organspezifität diese Bindung mit der spezifischen Bindung korpuskulärer Antigene völlig identisch ist, so haben wir es für notwendig erachtet, zu untersuchen, wie sich Organzellen anderen Antikörpern gegenüber verhalten.

Bereits Tojosumi hat gezeigt, daß die Organzellen die komplementbindenden Antikörper von Typhus- und Choleraimmunserum vollkommen intakt lassen, was ja auch von vornherein zu erwarten war. Da wir jedoch insbesondere durch die Versuche von Landsteiner und seinen Mitarbeitern wissen, daß in Gegensatz zu dem Immunantikörper die normalen Antikörper leicht von Adsorbentien aller Art gebunden werden, so wollten wir die Organzellen nach dieser Richtung hin prüfen. Am geeignetsten hierzu schienen uns die hammelblutlösenden normalen Hämolyse des menschlichen Blutserums, weil diese einerseits daselbst konstant in großer Menge vorhanden sind, andererseits weil wir zu unseren sämtlichen Bindungsversuchen mit Organzellen menschliche Sera verwendet haben.

Die Versuchsanordnung war der Art, daß wir die übliche Menge der Organemulsionen mit normalem Menschen Serum behandelten und vorher und nachher den Hämolyse titer mit 0.05 Komplement prüften (Versuch 17).

Versuch 17.

Die verschiedenen Menschen sera wurden mit Meerschweinchenleber 1 Stunde bei 37° behandelt (1 γ Serum je 1 γ Emulsion).

A.

Menge des Serums	Das behandelte Serum						Das unbehandelte Serum					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0.2	0	0	0	0	0	0	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.1	0	0	0	0	0	0	k.	k.	f. k.	f. k.	k.	k.
0.05	0	0	0	0	0	0	f. k.	st.	m.	w.	w.	k.
0.025	0	0	0	0	0	0	m.	0	0	0	0	st.

B. (Wiederholung des Versuches.)

Menge des Serums	Das behandelte Serum						Das unbehandelte Serum					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0.2	Sp.	w.	0.	0	0	0	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.1	0	0	0	0	0	0	k.	k.	f. k.	f. k.	f. k.	k.
0.05	0	0	0	0	0	0	f. k.	m.	m.	w.	0	f. k.
0.025	0	0	0	0	0	0	m.	0	0	0	0	m.

Dem vorangehenden Versuche entnimmt man, daß die Meerschweinchenleber die Hammelbluthämolyse des Menschenserums vollständig bindet; es verhält sich also in der Tat die Meerschweinchenleber den Normalhämolyse gegenüber genau so wie dem luetischen Antikörper. Dabei muß jedoch folgender Umstand in Betracht gezogen werden. Die in jüngster Zeit veröffentlichten Versuche von Forssmann haben die Tatsache aufgedeckt, daß Kaninchen, welche mit Meerschweinchenorganzellen vorbehandelt werden, ein hoch wirksames spezifisches hämolytisches Immuneserum für Hammelblutkörperchen liefern, und es konnte in der Tat gezeigt werden, daß die Meerschweinchenorgane eine spezifische Bindungskraft für die Hammelblutambozeptoren des Immuneserums besitzen.

Unsere hier mitgeteilten Versuche würden nun insofern eine Bestätigung der Forssmannschen Versuche bilden, als sie zeigen, daß auch die normalen Hammelblutambozeptoren von den Meerschweinchenorganzellen gebunden werden. Es war von Interesse und Wichtigkeit, auch die Organe anderer Tiere nach dieser Richtung hin zu prüfen.

Wir wählten Kaninchen und Mensch und haben damit die nachfolgend mitgeteilten Versuche angestellt. Gleichzeitig haben wir Menschen und Meerschweinchenorgane bezüglich ihre Bindungskraft für luetische Antikörper geprüft (Versuch 18 A und B).

Versuch 18 A.

Die Behandlung wurde mit Menschen- u. Kaninchenorganen vorgenommen.
Hämolyseadsorptionsversuch.

Menge des Serums	Mit Menschenorganen					Mit Kaninchenorganen				
	Unbehand. Serum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Unbehand. Serum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.2	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.1	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.05	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	f. k.	k.
0.025	k.	k.	k.	k.	k.	k.	st.	st.	w.	f. k.
0.01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	0	0	0	w.
0.005	k.	k.	k.	f. k.	f. k.	0	0	0	0	0

Bodensatzuntersuchung.
1. Emulsion von Menschen.

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Die behandelte Emulsion				Die unbehandelte Emulsion				
		Herz	Leber	Niere	Milz	Herz	Leber	Niere	Milz	Kompl. allein
0.5	0.15	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.5	0.075	st.	f. k.	f. k.	f. k.	k.	k.	f. k.	st.	k.
0.5	0.025	0	0	Sp.	0	0	w.	w.	0	k.
0.5	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0	k.

2. Emulsion von Kaninchen.

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Die behandelte Emulsion				Die unbehandelte Emulsion				
		Herz	Leber	Niere	Milz	Herz	Leber	Niere	Milz	Kompl. allein
0.5	0.2	k.	k.	st.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.5	0.1	k.	f. k.	m.	k.	k.	k.	st.	k.	k.
0.5	0.05	m.	0	w.	f. k.	m.	0	w.	f. k.	k.
0.5	0.025	0	0	0	0	0	0	0	0	st.

Versuch 18B.

Die Behandlungen wurden in diesem Versuche mit Meerschweinchen- und Menschenorganen vorgenommen und verglichen.

A. Luesserumadsorptionsversuch.

Menge des Serums	Meerschweinchenorganemulsion					Menschenorganemulsion			
	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	k.	k.	f. k.	k.	k.	f. k.	f. k.	f. k.
0.025	0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.01	st.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.005	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.2 ohne Extrakt	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

B. Luesserumadsorptionsversuch.

Menge des Ser.	Meerschweinchenorganemulsion						Menschenorganemulsion					Kaolin u. Kreide	
	Unbehand. Luesserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Erytr. behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Erytr. behandelt	Mit Kaolin behandelt	Mit Kreide behandelt
0.2	0	m.	m.	0	0	0	m.	w.	0	0	0	0	0
0.1	0	st.	f. k.	m.	st.	0	st.	st.	0	0	0	0	w.
0.05	0	k.	k.	k.	k.	0	k.	k.	k.	f. k.	0	0	f. k.
0.025	m.	k.	k.	k.	k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	m.	m.	k.
0.2 ohne Extr.	k.	k.	k.	st.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Der vorangehende Versuch 18, in welchem ein ungemein stark wirksames normales Menschenserum zur Untersuchung gelangte, zeigt, daß weder die Organe des Kaninchens noch die des Menschen die Fähigkeit besitzen, die normalen Ambozeptoren für Hammelblut zu binden, auch die Bodensätze erweisen sich in bezug auf die Komplementbindung vollkommen unwirksam. Die Menschenorgane jedoch, welche für hämolytische Ambozeptoren keine Bindungsfähigkeit aufweisen, besitzen dieselbe für die Luesantikörper in demselben Maße wie die Meerschweinchenorgane. Im folgenden Versuche wurde Kaninchen- und Meerschweinchenorgan bezüglich ihrer Bindungskraft verglichen (Versuch 19).

Versuch 19.

Die Behandlungen wurden mit Meerschweinchen- und Kaninchenorganen vorgenommen und verglichen.

Hämolysinadsorptionsversuch.

Menge des Serums	Meerschweinchenemulsion (A.)					Kaninchenemulsion (B.)		
	Unbehand. Serum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt
0.1	k.	0	0	0	0	k.	k.	k.
0.05	k.	0	0	0	0	k.	k.	k.
0.025	k.	0	0	0	0	f. k.	k.	k.
0.01	k.	0	0	0	0	st.	f. k.	f. k.
0.005	Sp.	0	0	0	0	0	Sp.	0

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Die behandelte Emulsion von Meerschweinchen (A.)				Die unbehandelte Emulsion von Meerschweinchen (A.)				
		Herz	Leber	Niere	Milz	Herz	Leber	Niere	Milz	Kompl. allein
0.5	0.15	f. k.	k.	0		w.	k.	w.	Sp.	k.
0.5	0.075	m.	f. k.	0	0	0	f. k.	Sp.	Sp.	k.
0.5	0.025	0	0	0	0	0	0	0	0	k.
0.5	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0	st.

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Die behandelte Emulsion von Kaninchen (B.)			Die unbehandelte Emulsion von Kaninchen (B.)			
		Herz	Leber	Niere	Herz	Leber	Niere	Kompl. allein
0.5	0.15	f. k.	0	0	w.	0	0	k.
0.5	0.075	w.	0	0	Sp.	0	0	k.
0.5	0.025	0	0	0	0	0	0	k.
0.5	0.01	0	0	0	0	0	0	st.

Mit Kaninchenemulsion.

Menge des Serums	Unbehand. Serum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.2	k.	k.	k.	k.	k.
0.1	k.	k.	k.	k.	k.
0.05	k.	k.	k.	k.	k.
0.025	k.	k.	k.	k.	k.

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Die behandelte Emulsion von Kaninchen				Die unbehandelte Emulsion von Kaninchen				
		Herz	Leber	Niere	Milz	Herz	Leber	Niere	Milz	Kompl. allein
0.5	0.15	k.	k.	k.	k.	k.	0	f. k.	k.	k.
0.5	0.075	k.	f. k.	k.	k.	f. k.	0	m.	f. k.	k.
0.5	0.025	m.	0	0	0	0	0	0	0	k.
0.5	0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	f. k.

Diesem Versuche ist zu entnehmen, daß Meerschweinchenorgane sehr stark, Kaninchenorgane gar nicht den normalen Ambozeptor binden; trotz dieser differenten Ergebnisse der Ambozeptorbindung verhalten sich jedoch die Bodensätze auffallender Weise bezüglich der Komplementbindung ganz gleich negativ.

Um zu prüfen, ob die hämolysinbindenden Gruppen der verschiedenen Organe durch chemische oder thermische Einflüsse geschädigt werden, wurden Organemulsionen mit Alkohol und Aceton behandelt und schließlich $\frac{1}{2}$ Stunde auf 100° erhitzt (Versuch 20 und 21).

Versuch 20.

Die Meerschweinchenleber wurde mit NaCl, Alkohol und Aceton 24 Stunden bei Zimmertemperatur belassen.

Hämolysinadsorptionsversuch.

Menge des Serums	A.				B.			
	Unbehand. Serum	Mit wässriger Emulsion behandelt	Mit alkohol. Emulsion behandelt	Mit Aceton-Emulsion behandelt	Unbehand. Serum	Mit wässriger Emulsion behandelt	Mit alkohol. Emulsion behandelt	Mit Aceton-Emulsion behandelt
0.2	k.	k.	k.	k.	k.	0	k.	m.
0.1	k.	st.	k.	k.	k.	0	m.	w.
0.05	k.	m.	st.	f. k.	f. k.	0	Sp.	0
0.025	k.	0	0	m.	m.	0	0	0
0.01	st.	0	0	0	0	0	0	0
0.005	0	0	0	0	0	0	0	0

Bodensatz.

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Die behandelte Emulsion von A.			Die unbehandelte Emulsion			
		Wässer. Emuls.	Alkohol. Emuls.	Aceton. Emuls.	Wässer. Emuls.	Alkohol. Emuls.	Aceton-Emuls.	Kompl. allein
0.5	0.4	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.5	0.2	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.5	0.1	k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.5	0.05	k.	m.	f. k.	f. k.	st.	f. k.	f. k.

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Die behandelte Emulsion von A.			Die unbehandelte Emulsion			
		Wässer. Emuls.	Alkohol. Emuls.	Aceton-Emuls.	Wässer. Emuls.	Alkohol. Emuls.	Aceton-Emuls.	Kompl. allein
0.5	0.8	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.5	0.15	f. k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0.5	0.1	st.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	k.
0.5	0.05	m.	m.	m.	m.	m.	m.	f. k.

Versuch 21.

Die Meerschw.-Organe wurden in diesem Versuche teils wie in Versuch 20 behandelt, teils $\frac{1}{3}$ Stunde gekocht, dann beide 5 mal mit NaCl gewaschen.

Hämolysinadsorptionsversuch.

Menge des Serums	Unbehandeltes Serum	Mit wässriger Emulsion behandelt	Mit alkoholischer Emulsion behandelt	Mit Aceton-Emulsion behandelt	Gekochte Emulsion
0.2	k.	f. k.	k.	k.	k.
0.1	k.	m.	k.	f. k.	f. k.
0.05	k.	0	f. k.	0	m.
0.025	f. k.	0	0	0	0
0.01	st.	0	0	0	0
0.005	m.	0	0	0	0

Bodensatz.

Menge der Emulsion	Menge des Kompl.	Die behandelte Emulsion			Die unbehandelte Emulsion			
		Wässer. Emulsion	Alkohol. Emulsion	Aceton- Emulsion	Wässer. Emulsion	Alkohol. Emulsion	Aceton- Emulsion	Kompl. allein
0.5	0.4	k.	0	0	k.	0	0	k.
0.5	0.2	k.	0	0	st.	0	0	k.
0.5	0.1	k.	0	0	0	0	0	k.
0.5	0.05	f. k.	0	0	0	0	0	k.

Die Versuche lehren, daß die Behandlung mit Alkohol und Aceton die Bindungskraft zwar verringert, dieselbe jedoch nicht aufhebt, auch die gekochten Organe verhalten sich in der gleichen Weise. Auch hier konnten wir mit den Bodensätzen keine Komplementbindung erzielen.

Wenn wir nun die Bindungskraft der Organzellen für die hämolysischen Ambozeptoren mit der für die Komplementbindung der luetischen Sera vergleichen, so sehen wir ganz wesentliche Differenzen, während nämlich die Hämolysine nur von bestimmten Tieren (Meerschweinchen, nicht Kaninchen und Mensch) gebunden werden, so werden die luetischen Antikörper in gleicher Weise von den Organen aller Tiere verankert.

Betreffs der Komplementbindung jedoch reagieren nur die mit luetischen Seris behandelten Organzellen positiv, nicht aber die mit normalen Hämolysinen. Ganz gleich jedoch verhalten sich die bindenden Gruppen für Hämolysine und luetische Antikörper gegenüber der Einwirkung von Alkohol, Aceton und Hitze.

Da es gelingt, Antikörper, welche bereits mit Antigenen in Kontakt getreten sind, von letzteren wieder loszusprengen, (Landsteiner, Bail und Mitarbeiter) so haben wir diesbezüglich eine Reihe von Versuchen angestellt. Die Organemulsion wurde zweimal mit Luesserum behandelt, hierauf zentrifugiert, zweimal gewaschen und in 1stm NaCl aufgeschwemmt. Diese Emulsion wurde hierauf 50 Minuten auf 50° erhitzt und sofort zentrifugiert. Wenn nun die Abgüsse die abgesprengten Antikörper erhalten, so mußten sie nach Antigenzusatz positive Wassermannsche Reaktion geben. Dies ist in der Tat eingetreten; daß die Abgüsse der erhitzten Emulsion nur die komplementbindenden Stoffe enthalten und nicht auch Antigenbestandteile der Emulsion, geht aus jener Probe hervor, in welcher wir bei dem Abguß ohne Antigenzusatz komplette Hämolyse eintreten sehen. Merkwürdigerweise wirken Abgüsse von Herz in Versuch 22 am schwächsten, ob zwar sich dieses Organ als Antigen am besten eignet (s. Versuch 22). Diese Erscheinung dürfte auch der Grund für die gute Eignung als Antigen sein, da die Herzemulsion offenbar die Antikörper am stärksten bindet, weshalb sie sich auch am schwersten absprengen lassen.

Versuch 22.

Die Meerschweinchenorgane wurden in diesem Versuche 1 Stunde bei 37° 2mal mit Luesserum behandelt und der abzentrifugierte Bodensatz zum Absprengungsversuche gebraucht.

A. Die mit NaCl vorbehandelte Emulsion.

Menge des Abgusses	Unbehand. Luesserum	Abguß von Herzemulsion	Abguß von Leberemulsion	Abguß von Niereemulsion	Abguß von Milzemulsion
0.5	0	f. k.	m.	st.	Sp.
0.1	0	k.	k.	k.	f. k.
0.5 ohne Extrakt	k.	k.	k.	k.	k.

B. Die mit Alkohol vorbehandelte Emulsion.

Menge des Abgusses	Unbehand. Luesserum	Abguß von Herzemulsion	Abguß von Leberemulsion	Abguß von Niereemulsion	Abguß von Milzemulsion
0.5	0	m.	0	0	Sp.
0.1	0	k.	m.	k.	k.
0.5 ohne Extrakt	k.	k.	k.	k.	k.

C. Die mit Aceton vorbehandelte Emulsion.

Menge des Abgusses	Unbehand. Luesserum	Abguß von Herzemulsion	Abguß von Leberemulsion	Abguß von Niereemulsion	Abguß von Milzemulsion
0.5	0	st.	0	0	0
0.1	0	k.	st.	0	0
0.5 ohne Kompl.	k.	k.	k.	k.	k.

Versuch 23.

Die Meerschweinchenorgane wurden in diesem Versuche 24 Stunden bei Zimmertemperatur mit Aceton belassen, 5 mal gewaschen, hierauf 2 mal mit Luesserum behandelt, wiederum mit NaCl 2 mal gewaschen, dann NaCl zugesetzt und 1 Stunde bei 50° (Wasserbad) belassen.

Menge von Abguß	Unbehandeltes Luesserum	Abguß von Herzemulsion	Abguß von Leberemulsion	Abguß von Milzemulsion
0.4	0	0	0	0
0.2	0	0	0	0
0.1	0	k.	0	k.
0.05	0	—	—	—
0.01	0	—	—	—
0.4 ohne Extrakt	k.	k.	k.	k.

5*

Versuch 24.

In diesem Versuche wurden das Rinder- und Luesserum mit Meerschweinchenorganen vorbehandelt und zum Lecithinausflockungsversuche genommen.

Menge des Serums	Menge des Lecithins	Das behandelte aktive Rinderserum			Das behandelte inaktive Rinderserum			
		Unbeh. akt. Rinderserum	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Unbeh. inakt. Rinderserum	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt
0.2	0.02	+++	++	++	+++	±	+	+
0.1	0.02	+++	++	±	++	-	+	±
0.05	0.02	+	-	-	-	-	-	-
0.01	0.02	-*	-	-	-	-	-	-

* - bedeutet negativ.

Versuch 25.

In diesem Versuche wurden Meerschweinchen- und Kaninchenorgane untersucht.

Menge des Serums	Menge des Lecithins	Mit Meerschweinchenorganen				Mit Kaninchenorganen				
		Unbeh. inaktives Rinderser.	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt	Mit Herz behandelt	Mit Leber behandelt	Mit Niere behandelt	Mit Milz behandelt
0.2	0.02	+++	+	+	++	++	++	+	++	+++
0.1	0.02	+++	±	+	+	+	+	+	++	+++
0.05	0.02	++	-	+	±	+	+	+	+	+
0.01	0.02	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Mit Meerschweinchen- und Kaninchenerythrozyten.

Menge des Serums	Menge des Lecithins	Unbehandeltes inaktives Rinderserum	Mit Meerschweinchen-Erythrozyten behandelt	Mit Kaninchen-Erythrozyten behandelt
0.2	0.02	+++	+++	+++
0.1	0.02	+++	+++	+++
0.05	0.02	-	-	-
0.01	0.02	-	-	-

Auf dieselbe Ursache dürfte es auch zurückzuführen sein, daß, wie ebenfalls Versuch 23 zeigt, die mit Alkohol und Aceton behandelte Emulsion leichter die Antikörper abgibt, da sie die Antikörper offenbar weniger fest verankert hat, als die nativen Zellen.

Wir wollten noch feststellen, ob sich auch die lecithinausflockenden Stoffe mancher Sera wie die komplementbindenden Antikörper enthalten. Da das Rinderserum nach den Angaben von Weil und Braun konstant lecithinausflockend wirkt, so wurde dieses Serum geprüft. Bereits Tojowski hat festgestellt, daß das Lecithin die aktiven Stoffe des Rinderserums bindet.

Das Rinderserum wurde in derselben Weise behandelt wie die luetischen Sera. Da wir wissen, daß Orgazellen Komplement adsorbieren, so wurde auch das auf 56° erhitzte Rinderserum auf seine Ausflockungsfähigkeit geprüft, um dem Einwand zu begegnen, daß die durch Organbehandlung bedingte Abschwächung nicht infolge Komplementmangels verursacht ist (s. Versuch 24 und 25).

Wir entnehmen den vorangehenden Versuchen, daß das inaktivierte Rinderserum nur in geringem Maße schwächer ausflockend wirkt als das aktive. Auch geht daraus hervor, daß die Orgazellen auch das Lecithinausflockungsvermögen des Rinderserums stark abschwächen, daß ferner die Blutkörperchen ebenso wie bei den komplementbindenden Stoffen auch hier unwirksam sind.

Es dürfte wohl nach dieser Feststellung die Annahme einer nahen Verwandtschaft zwischen den lecithinausflockenden und komplementbindenden Stoffen gerechtfertigt erscheinen.

Wenn wir unsere Versuche in ihrer Gesamtheit überblicken, so können wir sagen, daß sich die Orgazellen zu den komplementbindenden Stoffen luetischer Sera genau so verhalten wie ein Antigen zu seinem Antikörper. So konnten wir zeigen, daß die Luesantikörper von Zellenemulsion verankert werden. Daß diese Verankerung nicht eine unspezifische Adsorption darstellt, geht zunächst daraus hervor, daß die besten nicht spezifischen Adsorbentien, wie Kreide oder Kaolin, unwirksam sind, daß ferner zwischen den einzelnen Organen ganz bedeutende Differenzen bestehen, indem z. B. rote und weiße Blutkörperchen die Antikörper nicht binden; weiter spricht für die spezifische Verankerungsfähigkeit der Zellen der Umstand, daß die Organemulsionen nach dem Kontakt mit dem luetischen Serum selbst komplementbindende Fähigkeiten aufweisen. Sie verhalten sich genau so wie sensibilisierte Antigene; unspezifische Adsorbentien hingegen, welche Immunkörper adsorbieren, verhalten sich ganz anders, indem sich bei diesen niemals eine Wirkung des adsorbierten Immunkörpers nachweisen läßt. Weiter ist es uns gelungen, den bereits gebundenen Antikörper von den Zellen

wieder abzusprengen und wirksam zu machen, ganz in Übereinstimmung mit den gleichen Vorgängen bei der spezifischen Bindung. Die Einwirkung von chemischen Agenzien (Alkohol, Aceton, Erhitzen und Kochen) vertragen die Organemulsionen genau in derselben Weise, wie die spezifischen haptophoren Gruppen. Daß die Organzellen nur zu den komplementbindenden Stoffen des luetischen Serums eine Beziehung aufweisen, konnten wir damit erweisen, daß sie sich gegenüber anderen Immunkörpern, z. B. den normalen Hämolytinen ganz anders verhalten, indem letztere nur von jenen Organzellen gebunden werden, zu welchen sie spezifische Beziehungen haben. Die Luesantikörper hingegen werden von den Zellen aller bisher untersuchten Tiere verankert. Auch zeigen die mit dem Hämolytinen behandelten spezifischen Organemulsionen niemals Komplementbindung, was sich damit erklären läßt, daß die Hämolytine, bzw. spezifische hämolytische Prozesse, wie ja in neuerer Zeit von mehreren Seiten festgestellt wurde (Liefmann und Kohn, Bail und Suzuki), Komplement nicht verbrauchen. Konnten wir auf diesem Weg den Nachweis erbringen, daß die Antigene für die luetischen Antikörper in den Organzellen enthalten sind, so mußte es auch gelingen, auf immunisatorischem Wege die Antikörper zu erzeugen, d. h. durch Behandlung von Tieren mit Organzellen mußte im Blutserum dieser Tiere eine positive Wassermannsche Reaktion auftreten.

In dieser Richtung wurden bereits von Citron Versuche angestellt, welche das Resultat ergeben haben, daß Kaninchen, die mit Organextrakten von luetischen Lebern vorbehandelt wurden, in ihrem Blute eine positive W.R. zeigten, im Gegensatz zu Tieren, welche mit normalem Extrakt immunisiert waren. Diese Versuche wurden im Sinne einer spezifischen Antigenwirkung gedeutet.

Unseren Feststellungen entsprechend sollte es, wie bereits erwähnt, möglich sein, das gleiche mit nicht luetischem Gewebe zu erzielen; auch in diesem Sinne existieren bereits Versuche. So konnte Halpern zeigen, daß bei Hunden, welche mit den körpereigenen Organen immunisiert waren, Antikörper entstehen, welche mit den körpereigenen Organen Komplement binden. Diesen fehlt jedoch jegliche Organspezifität, auch war eine Art-spezifität nicht zu konstatieren; es handelt sich also hierbei um echte Autoantikörper im Sinne von Weil und Braun, die mit Luesantikörpern große Ähnlichkeit haben. Da Halpern an die Analogie offenbar nicht gedacht hat, so hatte er es auch unterlassen, die Komplementbindungsreaktion mit alkoholischen Extrakten anzustellen. Wäre auch diese positiv ausgefallen, dann wären die von ihm erzeugten Autoantikörper mit dem komplementbindenden Stoffe in Serum von Luetikern vollkommen identisch.

Unsere eigenen Experimente wurden von folgenden Erwägungen ausgehend durchgeführt. Zunächst mußte ein Tier gewählt werden, welches normaler Weise ebenso wie der Mensch niemals eine Wassermannsche Reaktion gibt. Aus dem Grunde haben wir das Kaninchen von vornherein ausgeschlossen und das Meerschweinchen gewählt.

Wir haben zunächst auf die Vorbehandlung mit körpereigenen Organen verzichtet und Menschenorgane benutzt, da in diesen die Vorstufen des Antigens sicherlich in reichlichem Maße vorhanden sind, zumal ja beim Menschen so leicht Wassermannsche Reaktion auftritt.

Die Behandlung der Tiere wurde in der Weise vorgenommen, daß wir Leber von nicht luetischen Leichen zerkleinerten und in der Menge von 1 bis 2^{grm} intraperitoneal injizierten. Dabei verloren wir sehr viele Tiere, teils infolge Infektion, die sich nicht vermeiden ließ, teils infolge der Giftigkeit der Organzellen. Schließlich gelang es uns nach vielen Tieropfern das Blutserum von fünf Meerschweinchen, die durch drei Injektionen vorbehandelt waren, zu untersuchen.

Diese Tiere hatten die Einverleibung des Organmaterials gut vertragen und wiesen keine Infektion auf. 10 Tage nach der letzten Injektion wurden die Tiere steril verblutet und ihr Serum mit verschiedenen Antigenen auf Komplementbindung geprüft.

Versuch 26.

Meerschweinchen	Menge des Serums	Menge des Extraktes	Wässriges Menschenherz	Wässrige Menschenleber	Wässrige Menschenniere	Wässriges Meersch.-Herz	Wässrige Meersch.-Leber	Wässrige Meersch.-Niere	Wässriges Kaninchenherz	Wässrige Kaninchenleber	Wässrige Kanincheniere	Kontrollen der Organe und des Serums allein
Nr. 1	0.2	0.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	k.
" 3	0.2	0.25	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
" 4	0.2	0.25	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
" 7	0.2	0.25	0	0	m.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Versuch 27.

Meerschweinchen	Menge des Serums	Menge des Extraktes	Wässriges Menschenherz	Wässrige Menschenleber	Wässrige Menschenniere	Wässriges Meersch.-Herz	Wässrige Meersch.-Leber	Wässrige Meersch.-Niere	Wässriges Kaninchenherz	Wässrige Kaninchenleber	Wässrige Kanincheniere	Kontrollen der Organe und des Serums allein
Nr. 3	0.3	0.5	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
" 4	0.3	0.5	m.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
" 7	0.3	0.5	0	0	0	st.	0	0	f. k.	0	0	k.

Versuch 28.

Menge des Serums	Meerschweinchen Nr. 1			Meerschweinchen Nr. 4			Meerschweinchen Nr. 7		
	Alkohol- Menschen- herz	Alkohol- Menschen- leber	Wässrige Menschen- leber	Alkohol- Menschen- herz	Alkohol- Menschen- leber	Wässrige Menschen- leber	Alkohol- Menschen- herz	Alkohol- Menschen- leber	Wässrige Menschen- leber
	Menge des Extraktes			Menge des Extraktes			Menge des Extraktes		
	0.1	0.1	0.5	0.1	0.1	0.5	0.1	0.1	0.5
0.3	f. k.	m.	0	k.	k.	0	st.	st.	0
0.2	k.	st.	0	k.	k.	w.	f. k.	f. k.	0
0.1	k.	k.	0	k.	k.	st.	k.	k.	w.
0.05	k.	k.	0	k.	k.	f. k.	k.	k.	k.
0.3 ohne Extr.	k.	—	—	—	—	—	—	—	—

Versuch 29.

Menge des Serums	Wässriges Menschen- herz	Wässrige Menschen- leber	Wässrige Menschen- niere	Wässriges Meerschw.- Herz	Wässrige Meerschw.- Leber	Wässrige Meerschw.- Niere	Wässriges Kaninchen- herz	Wässrige Kaninchen- leber	Wässrige Kaninchen- niere	Organe und Serum ohne Extr.
	Menge des Extraktes			Menge des Extraktes			Menge des Extraktes			
	0.3	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.5	
0.3	0	0	0	m.	m.	m.	k.	k.	k.	k.
0.2	0	0	0	st.	st.	st.	k.	k.	k.	k.
0.1	0	0	w.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	—
0.05	0	w.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	—

Versuch 30.

Menge des Serums	Wässriges Mensch.-Herz	Alkoholisches Mensch.-Herz	Alkoholisches Meersch.-Herz	Alkoholisches Kanin.-Herz	Organe und Serum ohne Extrakt
	Menge des Extraktes				
	0.1	1.5	1.5	2.0	
0.2	0	0	0	0	k.
0.1	0	0	0	0	—
0.05	0	w.	0	Sp.	—
0.01	w.	m.	w.	st.	—

Zwei Tiere verhielten sich trotz der Vorbehandlung vollständig negativ und die übrigen drei reagierten, wie die nachfolgenden Versuche zeigen, mehr oder weniger stark positiv mit verschiedenen Antigenen (s. Versuch 26, 27, 28, 29 und 30).

Es ist also, wie der vorangehende Versuch zeigt, in der Tat gelungen, bei einem Tiere, welches niemals spontan Wassermannsche Reaktion gibt, eine solche zu erzeugen, indem wir dasselbe nur mit Geweben, die

nicht von einemluetischen Individuum stammten und frei von Lueserregeren waren, behandelten. Daß dieselbe nicht so stark ausgesprochen ist und ihre Erzeugung nicht konstant gelingt, dürfte entweder daran liegen, daß Meerschweinchen zur Antikörperbildung nicht gut geeignet sind, oder daß vielleicht die Organzellen im Meerschweinchenkörper nicht so leicht jene Veränderung erfahren, welche im menschlichen Organismus ihre Antigenatur bedingt. Immerhin fordern diese Versuche auf, die Frage noch weiter zu bearbeiten, um zu sicheren Resultaten zu gelangen. Jedenfalls ist es auf Grund dieser Versuche fast mit Sicherheit anzunehmen, daß Stoffe aus den Organzellen die Antigene für die Antikörper der Wassermannschen Reaktion darstellen.

Nachdem wir auf Grund unserer Versuche feststellen konnten, daß die Antigene für die komplementbindenden Stoffe in den Organzellen enthalten sind, so wäre noch die Frage zu beantworten, auf welche Weise es zur Ausbildung der Antikörper desluetischen Serums kommt. Wir folgen hier der von Weil und Braun gegebenen Darstellung¹. Infolge der syphilitischen Infektion kommt es zu einer weitgehenden Alteration der Zellen des Organismus, deren Bestandteile ins Blut gelangen und hier infolge der pathologischen Veränderung als körperfremd empfunden werden. Aus diesem Grunde bilden sich, einem allgemeinen Gesetze folgend, Antikörper aus, die in diesem Falle, da sie gegen körpereigenes Gewebe gerichtet sind, Autoantikörper darstellen. Nur wenige Autoren, wie Bruck, haben sich dieser Vorstellung angeschlossen. Insbesondere sprachen sich Wassermann und seine Anhänger (Citron, Sachs und Altmann u. a.) dagegen aus. So haben vor allem Sachs und Altmann² die Ansicht von Weil und Braun einer Kritik unterzogen, indem sie dagegen folgende Einwände ins Treffen führten. Zunächst fanden sie es schwer verständlich, daß bei einer großen Reihe anderer Erkrankungen, wo Gewebszerfall auftritt, eine positive Reaktion nie zu finden ist. Dazu ist folgendes zu bemerken. Es ist nicht ganz richtig, daß bei anderen Erkrankungen niemals eine positive Reaktion auftritt. Wir verweisen diesbezüglich auf die schon zahlreich in der Literatur mitgeteilten Fälle von positiven Reaktionen bei Pneumonie, Scharlach, Tumoren, Tuberkulose usw. Daß bei diesen Erkrankungen die Reaktion nur sehr selten gefunden wird, wird ohne weiteres verständlich, wenn man in Betracht zieht, daß nicht jeder Zellzerfall eine Antikörperbildung bedingt. Denn erstens spielt dabei die Art und Weise der Gewebsalteration und zweitens die Dauer des Gewebszerfalles eine Rolle. Bei Lues ist derselbe wohl stets ein derartiger, daß das

¹ *Wiener klin. Wochenschrift.* 1907.

² Kollé-Wassermann, II. Ergänzungsband. Hft. 3.

Antigen in großer Menge frei wird, während bei anderen Erkrankungen der Abbau entweder ein zu langsamer oder ein zu rascher ist, so daß die antigenen Stoffe nicht in der Qualität wie bei Lues zur Resorption gelangen. Während die Lues von vornherein als eine chronische das Wohlbefinden meist wenig beeinträchtigende Infektion verläuft, so ist bei der Pneumonie oder Scharlach eine akute, kurzdauernde Infektion vorhanden, welche rasch ausheilt, so daß die Bedingungen zur Ausbildung von Gewebsantikörpern nur gering sind. Wir sehen auch, wie selten bei der stürmisch auftretenden malignen Form der Syphilis Antikörper gebildet werden. Bei Tuberkulose und bei Tumoren handelt es sich doch um mehr oder weniger lokale Prozesse, so daß auch hier das seltene Auftreten der Reaktion verständlich wird. Daß z. B. bei der Spätluës, wo die Gewebsresorption sicherlich nur in sehr geringem Maße stattfindet, doch so häufig die Reaktion gefunden wird, läßt sich damit erklären, daß ein Organismus, der einmal Antikörper gebildet hat, dieselben auf den geringsten Reiz hin wieder erzeugt. Wir glauben also nicht, daß das so seltene Vorkommen der W.-R. bei anderen Erkrankungen gegen die Autoantikörperhypothese spricht.

Der zweite Einwand von Sachs und Altmann geht dahin, daß die Lipoidnatur des Antigens sich nicht mit der Antikörpertheorie vereinbaren läßt, da es bisher nicht gelungen ist, gegen lipoide Antistoffe zu erzeugen. Obzwar in der letzten Zeit mehrfach gegenteilige Befunde mitgeteilt wurden, so würde, auch wenn dies nicht der Fall wäre, der obige Einwand nicht zu Recht bestehen, denn wie Weil und Braun ausführten, können in den Alkoholextrakten die haptophoren Gruppen vorhanden sein, während die antigenen Komponenten den Eiweißkörpern anhaften können. In der Tat trifft dies nach den Versuchen von K. Meyer mit Bandwurmlipoiden zu. Denn während die Bandwurmlipoiden spezifische Komplementbindung geben, ist eine Immunkörpererzeugung nur mit den Eiweißextrakten möglich. Also erweist sich auch dieser Einwand von Sachs und Altmann als nicht stichhaltig.

Auf das Fehlen jeglicher Artspezifität hinsichtlich des Antigens bezieht sich der dritte Einwand der genannten beiden Autoren. Obzwar auch bei der Linse Hornhaut, Pigment jegliche Artspezifität fehlt, bei den übrigen Organzellen Organ- und Artspezifität nicht vorhanden ist (Michaëlis und Fleischmann, Halpern, Thiele und Embleton), so sind insbesondere die neueren Befunde von Forssmann geeignet, nach dieser Richtung hin verwertet zu werden. Wenn Organe des Meerschweinchens, des Pferdes und der Katze spezifische Rezeptoren für Hammelblut besitzen, die nicht nur die Hammelbluthämolyse binden, sondern auch erzeugen, so dürfte es nicht weiter verwunderlich erscheinen, daß die Organzellen vieler Tiere

mit den bei Lues vorkommenden komplementbindenden Stoffen in Reaktion treten. Daß diese Reaktion eine Antigenantikörperreaktion darstellt, dürfte nach unseren Versuchen feststehen. So scheint auch diesem Einwande von Sachs und Altmann jegliche Berechtigung zu fehlen.

Es entsteht noch die Frage, ob bisher irgend ein Beweis vorliegt, daß die Annahme von Wassermann, insbesondere aber von C. Fränken, bei der W.-R. spiele die Spirochaeta pallida die Hauptrolle und nur durch die Anwendung von luetischen Extrakten erlange man ein spezifisches Resultat, eine Berechtigung hat. In dieser Richtung liegen Versuche von Guth vor. Dieser Autor konnte zeigen, daß ein luetisches Serum, welches mit normalen Organen behandelt war, sowohl gegenüber den normalen als auch gegenüber den luetischen Extrakten seine Wirksamkeit verloren hatte, und zwar gegenüber letzteren in höherem Maße als gegenüber ersteren. Daß hier nicht eine unspezifische Adsorption vorlag, konnte er dadurch beweisen, daß er das Serum eines Luetikers, der zugleich eine tuberkulöse Affektion hatte, welches sowohl W.-R. als auch mit Tuberkulin Komplementbindung gab, mit Organzellen behandelte. Während die W.-R. nach der Behandlung verschwunden war, blieb die Reaktion mit Tuberkulin ungeschwächt erhalten. Sprechen schon diese Versuche gegen diese Beteiligung einer spezifischen Komponente an der W.-R., so lassen meine eigenen Experimente mit Sicherheit die Mitwirkung eines gegen die Spirochäten gerichteten spezifischen Antikörpers ausschließen: denn es ist mir nicht gelungen, gegen reingezüchtete Spirochäten in luetischen Seris, welche nach Wassermann positiv reagierten, Antistoffe nachzuweisen. Dieser Nachweis hätte jedoch, wie meine Kaninchenversuche zeigen, leicht gelingen müssen.

Zusammenfassung.

1. Die komplementbindenden Stoffe luetischer Sera werden von den Organzellen aller Tiere, jedoch in verschieden starkem Maße gebunden.
2. Durch Alkohol, Aceton oder Erhitzen auf 100° wird die Bindungskraft der Organzellen nicht zerstört.
3. Die Organzellen, welche mit luetischen Seris in Kontakt waren, binden ihrerseits nach Entfernung des Serums Komplement, auch wenn sie mit Alkohol, Aceton behandelt oder gekocht wurden. Sie verhalten sich also wie ein sensibilisiertes Antigen.
4. Die normalen Hämolyse des Menschenserums werden nur von den Meerschweinchenorganen, nicht aber von den Kaninchen- und Menschenorganen verankert; auch hierbei handelt es sich um eine spezifische Bindung.

5. Alkohol, Aceton und Erhitzen zerstören auch nicht die spezifische Bindungskraft für die Hämolyse.

6. Die mit den Hämolytinen beladenen Zellen der Meerschweinchenorgane wirken nicht komplementbindend.

7. Die von den Zellen verankerten komplementbindenden Stoffe lassen sich von den Orgazellen durch Absprengen wiedergewinnen.

8. Aus diesen Befunden kann man schließen, daß die Antigene für die komplementbindenden Stoffe in den Orgazellen enthalten sind.

9. Durch Behandlung der Meerschweinchen mit Orgazellen gelingt es bei diesen Tieren eine Wassermannsche Reaktion zu erzeugen.

10. Die komplementbindenden Stoffe der luetischen Sera sind als Autoantikörper anzusehen; spezifische Antikörper gegen Spirochäten sind bei der W.-R. nicht mitbeteiligt.

Literatur-Verzeichnis.

Weil u. Braun, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1909. Nr. 17.

Weil u. Spät, Über den Mechanismus der Komplementbindung der Antieiwweißseris. *Bioch. Zeitschrift.* 1911. Bd. XXXIII. Hft. 1/3.

Szyli, *Zeitschrift f. Immunitätsforschung.* Bd. III.

Forssmann, *Biochem. Zeitschrift.* 1911. Bd. XXXVII.

Bail u. Suzuki, Versuch über Komplementwirkung bei der Hämolyse. *Zeitschrift f. Immunitätsforschung.* 1911. Bd. XI. Original.

Liefmann u. Cohn, Das Verhalten des Komplementes zu den ambozeptorbeladenen Blutzellen. *Ebenda.* 1911. Bd. IX.

Halpern, Experimentelle Studien über Antikörperbildung gegen Gewebe des eigenen Organismus. *Ebenda.* 1911. Bd. XI.

Nakano, H., Über die Immunisierungsversuche mit der Spirochätenreinkultur. *Archiv f. Dermatologie u. Syphilis.* 1913.

[Aus der Kgl. Universitätspoliklinik für Lungenleidende
(Geh. Rat M. Wolff)
und der hygienisch-bakteriologischen Abteilung (Prof. Sobernheim)
des städtischen Untersuchungsamtes zu Berlin.]
(Geh. Rat Proskauer.)

Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbazillen im strömenden Blut.

Von

Dr. **Felix Klopstock** und Dr. **Erich Seligmann.**

Die Frage der Häufigkeit des Vorkommens von Tuberkelbazillen im strömenden Blut ist von erheblicher theoretischer und praktischer Bedeutung. Ein regelmäßiges oder wenigstens häufiges Vorhandensein einer Bazillämie würde dem Kliniker neue Ausblicke für die Phthisiogenese eröffnen und den mit diagnostischen Untersuchungen Betrauten (Untersuchungsämter) ein neues Mittel an die Hand geben, Frühdiagnosen zu stellen oder in Fällen, in denen auf andere Weise ein Tuberkelbazillenbefund nicht zu erheben ist (geschlossene Tuberkulosen), überhaupt eine Diagnose zu stellen! Immer wieder sind in den letzten Jahren Mitteilungen hierüber veröffentlicht worden; wie weit die Ergebnisse jedoch auseinandergehen, ergibt folgende kurze Literaturzusammenstellung:

— Weichselbaum (1884) berichtete bereits über das Auftreten von Tuberkelbazillen im Blute von Leichen bei allgemeiner Miliartuberkulose.

— Liebmanns (1891) Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbazillen im Blute von Tuberkulosekranken, die mit Kochscher Lymphe behandelt waren, sind durch Fehlerquellen bedingt und auch von Ewald, Ehrlich, Guttman, Cantani, Kossel, Prior nicht bestätigt worden. — Bar und Rénon (1895) injizierten in fünf Fällen Blut aus dem Plazentarteile der Vena umbilicalis von Kindern, deren Mütter tuberkulös waren, in das Abdomen von Meerschweinchen und erhielten in zwei Fällen eine Tuber-

kulose. — Besançon, Griffon und Philibert (1902) wiesen in zwei Fällen von Tuberkulose im Blutgerinnsel, das sie durch Natronlauge homogenisiert hatten, durch Ziehfärbung des Sediments Tuberkelbazillen nach. — Jousset (1904) konnte in 15 Fällen von fieberhafter chronischer Tuberkulose mittels seiner Methode der Salzsäurepepsinverdauung des Blutgerinnsels Bazillen nachweisen. — Lesieur (1904) und Gary (1905) fanden unter 30 Fällen sechsmal Tuberkelbazillen im Blute von fieberhaften Tuberkulösen. — Lüdke (1906) konnte, indem er Tuberkulösen 5 bis 10^{ccm} Blut aus der Armvene entnahm und sofort intraperitoneal auf Meerschweinchen weiterimpfte, außer bei zwei Fällen von Miliartuberkulose auch im Blute von an hochgradiger Lungentuberkulose leidenden Patienten unter 14 Fällen dreimal Tuberkelbazillen nachweisen.

Liebermeister hat zuerst 1907 über das Auftreten von Tuberkelbazillen im strömenden Blut berichtet. Nach ihm sind in den letzten 20 Lebenstagen der Tuberkulösen in 75 Prozent, vom 20. bis 80. Tage in 50 Prozent, vorher bei schweren Fällen von Tuberkulose in 35 Prozent Bazillen im Blut. Er hat in den folgenden Jahren seine Untersuchungen fortgesetzt und in immer weiterem Umfange bestätigt gefunden. Das Gesamtergebnis seiner Tierversuche ist folgendes:

Zahl der Krankheitsfälle	Stadium der Lungenkrankheit	Positiver Tierversuch
50	III	24 = 48 Proz.
32	II	14 = 44 „
18	I	2 = 11 „

Liebermeister hat jedoch die Überzeugung, daß der negative Tierversuch nicht beweisend ist und sieht die Resultate seiner mikroskopischen Untersuchungen, die noch weit über dies experimentelle Ergebnis hinausgehen, als maßgeblich an: Bei 15 Fällen offener Lungentuberkulose konnte er stets, unter 13 Fällen geschlossener Tuberkulose elfmal Tuberkelbazillen nachweisen. Bei mehr als 70 Menschen, bei denen eine Lungentuberkulose nicht nachweisbar war, fand er mikroskopisch im Blute säurefeste Bazillen von allen morphologischen und färberischen Eigenschaften des Tuberkelbacillus! Es gelingt nach ihm bei Skrofulose auch nach der klinischen Heilung Bazillen im Blute nachzuweisen, weiter bei rheumatischen Erkrankungen (Arthritis, Pleuritis, Pericarditis, Erythema nodosum, Ischias), schließlich auch bei manchen Formen von Anämien und tuberkulosesuspekten Patienten. Seine Untersuchungen geben ihm die Grundlage zur Aufstellung des Krankheitsbildes der sekundären Tuberkulose.

Im Jahre 1909 sind Arbeiten von Brem, Daley, Forsyth, Howatt, Middleton und Sutherland, Lippmann, Rosenberg, Rosenberger, Sabrazès, Schnitter zu dieser Frage erschienen. Brem stellte fest, daß selbst destilliertes Wasser säurefeste Stäbchen enthalten kann und hält deshalb, sowie auf Grund eigener Untersuchungen die positiven Blutbefunde für zweifelhaft. Dailey konnte mit dem Blute von 17 Fällen von Tuberkulose (2 Miliartuberkulose und 15 vorgeschrittene Lungentuberkulose) in

keinem Falle bei Meerschweinchen Tuberkulose auslösen. — Forsyth erhielt in allen zehn Fällen mikroskop. ein positives Resultat. — Howatt und seine Mitarbeiter fanden bei 22 Blutuntersuchungen an 20 Phthisikern nur einmal Bazillen im Blut. — Lippmann erhielt bei 25 Untersuchungen im ersten Stadium der Lungentuberkulose kein positives Resultat, im zweiten in 33 Prozent der Fälle, im dritten in 53 Prozent der Fälle. Ein Zusammenhang zwischen Fieber und Bazillengehalt des Blutes wurde nicht aufgedeckt. — Rosenberg konnte bei 20 Fällen von Tuberkulose mikroskopisch einmal, durch Impfung niemals Tuberkelbazillen nachweisen. — Rosenberger erhielt dagegen in 50 Fällen aller Formen von Tuberkulose stets ein positives Resultat und mikroskopisch nicht nur vereinzelte Bazillen, sondern Anhäufungen von 30 bis 40 Bazillen, besonders in den Fällen von akuter Miliartuberkulose. Seine Resultate sind insbesondere die Ursache vieler Nachprüfungen geworden. — Sabrazès und seine Mitarbeiter konnten in fünf Fällen, bei denen die Diagnose zwischen Tuberkulose und septischen Erkrankungen schwankte, durch den mikroskopischen Nachweis von Bazillen im Blut die Diagnose sicherstellen. — Schnitter empfiehlt als erster zum mikroskopischen Nachweis der Bazillen die Kombinationsmethode des Essigsäure-Antiforminverfahrens. Bei 34 Fällen von Lungentuberkulose erhielt er im zweiten Stadium zwei, im dritten Stadium acht positive Befunde. Nach ihm wächst die Zahl der Bazillenbefunde mit der Schwere der Erkrankung.

1910 erhielt Acs-Nagy in zwei fieberfreien Fällen keinen Befund, bei 17 schwer Lungenkranken sechsmal Bazillen, bei fünf Fällen mit allgemeiner miliärer Infektion dreimal positive Befunde. — Burvil-Holmes erhielt bei 56 Kranken fünfmal ein Resultat (ein Fall von Miliartuberkulose, zwei Fälle von Meningitis, ein Fall von beginnender Tuberkulose, ein Fall von seniler Pneumonie). — Jessen und Lydia Rabinowitsch konnten unter zwölf Fällen des ersten Stadiums zweimal Tuberkelbazillen und Granula, unter zwölf Fällen des zweiten Stadiums zweimal Granula, unter zwölf Fällen des dritten Stadiums fünfmal Tuberkelbazillen und einmal Granula nachweisen. Es gelang somit der Nachweis nicht nur bei schweren, sondern vereinzelt auch bei leichten Fällen. — Koslow erhielt mittels der Antiforminmethode und etwas abgeänderter Gramscher Färbung bei Untersuchung von 100 Personen, von denen 65 tuberkulös waren, 15 Lupus hatten, 20 klinisch gesund waren, in allen Fällen von Tuberkulose ein positives Resultat. — Strauß erhielt experimentell bei Verfütterung von Tuberkelbazillen an Meerschweinchen in allen Fällen, wo eine Darmtuberkulose vorhanden war, ein positives Resultat bei der Blutuntersuchung. — White und Avery konnten in 51 Fällen von Tuberkulose aller Stadien weder durch Injektion von 5^{ccm} Blut bei Meerschweinchen, noch durch Färbung von Ausstrichen und Anlage von Kulturen auch nur in einem Fall Bazillen nachweisen.

Krause (1911) erhielt bei der Untersuchung von 132 Fällen von Tuberkulose mikroskopisch: bei 55 Fällen des ersten Stadiums kein positives Resultat, bei 31 Fällen des zweiten Stadiums sechsmal, bei 46 Fällen des dritten Stadiums 27 mal Tuberkelbazillen. — Wir kommen jetzt zu den Arbeiten Kurashiges, der wie Liebermeister wiederholt zur Frage des Vorkommens der Tuberkelbazillen im strömenden Blut das Wort ergriffen hat. Kurashige konnte nicht nur bei 155 Fällen von leichterem und schwerer Lungentuberkulose positive Resultate in sämtlichen Fällen gewinnen, sondern

auch unter 34 Gesunden in 59 Prozent Tuberkelbazillen im Blute nachweisen. Drei von diesen scheinbar Gesunden erkrankten später an tuberkulösen Erkrankungen! In vier anderen von diesen Fällen war auch ein positiver Tierversuch vorhanden. — Kurashige konnte weiter bei acht Kaninchen, die 9 Monate vorher infiziert waren, stets Bazillen im Blut nachweisen. Er hat schließlich über positiven Befund von Bazillen im Placentarblute und ihren Übertritt in die Blutbahn des Fötus, und gemeinsam mit Mayeyama und Yamada über das häufige Vorkommen von Tuberkelbazillen in der Milch tuberkulöser Frauen berichtet. — Mammen wies mittels der Antiformin-Ligroinmethode bei 15 untersuchten Fällen zwölfmal Tuberkelbazillen nach. — Sturms Untersuchungen über die Häufigkeit von Tuberkelbazillen im Blute von Tuberkulösen ergeben, daß in etwa 40 bis 50 Prozent der Fälle bereits im Frühstadium Bazillen im Blute kreisen. Im Einzelnen sind seine Resultate folgende:

Stadium der Tuberkulose	Häufigkeit der Bazillen im Blute		
	Ziehfärbung Prozent	Gram-Much- färbung Prozent	Tierversuche Prozent
I	20	40	50
II	19	38	38
III	25	47	50
Durchschnitt:	22	42	46

Suzuki und Takaki konnten mittels des Schnitterschen Verfahrens bei 517 Tuberkulösen, die entweder nach Pirquet positiv reagiert hatten oder Tuberkelbazillen im Sputum oder in den Fäzes hatten, in 98·5 Prozent der Fälle Tuberkelbazillen im Blute nachweisen. Die Verfasser finden eine Übereinstimmung der Pirquetreaktion mit dem Bazillengehalt des Blutes.

Es ist kein Wunder, daß nach den Resultaten Liebermeisters, Rosenbergers und nun Kurashiges eine Hochflut weiterer Nachprüfungen einsetzte und die Frage des Bazillennachweises im Blute in der Tuberkulose-literatur einen wesentlichen Raum einnahm. — Akiba empfiehlt die Methode Kurashiges und betont, daß in lange aufbewahrttem destillierten Wasser manchmal Stäbchen, aber keine säurefesten Bazillen vorkommen. — Bacmeister und Rueben fanden in allen untersuchten Fällen tuberkulöser und nichttuberkulöser Patienten im Blute mittels des Essigsäure-Antiforminverfahrens Gebilde, die säurefesten Bazillen völlig glichen. Sie fanden sie auch im Blute bei sicher nicht tuberkulösen Kaninchen, und haben daher die Überzeugung, daß es sich hier nicht um Tuberkelbazillen handelt; sie sehen als einzig sicheres Kriterium den Tierversuch an. Neuerdings hat Bacmeister darüber berichtet, daß nach diagnostischen Tuberkulininjektionen Tuberkelbazillen im Blute auftreten; er erhielt durch den Tierversuch und 15 initialen Tuberkulösen vor der Tuberkulinprobe in keinem Falle ein positives Impfresultat, nach einer diagnostischen Tuberkulinprobe jedoch in vier Fällen. — Duchinoff fand bei rein chirurgischer Tuberkulose und Ausschluß komplizierender Lungenerkrankungen in 73 Prozent der Fälle mit

mikroskopischer Untersuchung und Tierversuch Bazillen. — Mac Farland erhielt bei Untersuchung von insgesamt 106 Patienten sechsmal ein positives mikroskopisches Resultat; der Tierversuch verlief stets negativ. In jenem Krankenhause, in welchem er positive Ergebnisse gehabt hatte, fand er im destillierten Wasser zahlreiche säurefeste Stäbchen; er führt seine positiven Befunde daher auf diese Fehlerquelle zurück. — Fränken entnahm 15^{ccm} Blut mittels Aderlaß, injizierte 10^{ccm} drei Meerschweinchen intraperitoneal und verarbeitete 5^{ccm} nach Schnitter. Bei 32 Fällen des dritten Stadiums erhielt er fünfmal ein positives mikroskopisches Ergebnis und positiven Tierversuch, bei 19 Fällen des zweiten Stadiums zweimal einen positiven Tierversuch. — Hilgermann und Lossen konnten etwa bei $\frac{1}{4}$ der untersuchten Fälle von Lungentuberkulose mikroskopisch Tuberkelbazillen nachweisen, und zwar nicht nur bei vorgeschrittenen, sondern auch bei einigen noch wenig ausgebreiteten Fällen. — Nach Kennerknecht hatten von 120 untersuchten Kindern 109, also 91 Prozent Tuberkelbazillen im Blut, nämlich 100 Prozent von 68 sicheren Tuberkulösen, 18 Fälle von 20 Tuberkuloseverdächtigen und 23 Fälle von 31 Kindern, die nicht für tuberkulös gehalten wurden. Tierversuche wurden an 13 Meerschweinchen angestellt, die sämtlich positiv ausfielen. Es finden sich somit nach ihr die Bazillen in den allerfrühesten Stadien im Blut, wo klinische Symptome noch fehlen. — Klemperer konnte bei nahezu allen Tuberkulösen Bazillen im Blute nachweisen; sie fehlten dagegen fast ausnahmslos bei den untersuchten Gesunden und nicht Tuberkulosekranken. Die Häufigkeit der Bazillämie erscheint ihm für das Tuberkuloseproblem von großer Wichtigkeit. — Ranström hat nur in Fällen von vorgeschrittener Lungentuberkulose Tuberkelbazillen gefunden und insbesondere in den Fällen, bei denen Zeiten von Afebrilität und Subfebrilität mit Zeiten bedeutender Temperatursteigerungen abwechselten. Er glaubt somit, daß bei einem Teile der Phthisiker die Fiebersteigerungen in einem gewissen Verhältnis zu dem Auftreten von Bazillen im Blute stehen. — Rumpf fand bei allen untersuchten Patienten und auch bei sieben Gesunden säurefeste Stäbchen im Blut. Der Tierversuch, der an insgesamt 35 Meerschweinchenangestellt wurde, ergab jedoch nur in drei Fällen sichere Tuberkulose. Rumpf sieht mit Liebermeister den Tierversuch als zu wenig empfindlich an.

Auch in diesem Jahre sind bereits zahlreiche Arbeiten über die Frage erschienen. — Brandes und Mau fanden bei chirurgischen Tuberkulösen in 45 Prozent Bazillen. — Dreesen erhielt bei der mikroskopischen Untersuchung unter 70 Fällen 42 mal = 60 Prozent säurefeste Stäbchen, unter 128 Tierversuchen jedoch nur einmal ein positives Resultat. Mehrfach erhielt er im Tierversuch verdächtige Abszeßbildungen, die jedoch Diplokokken zuzuschreiben waren. Er schließt somit, daß im Blute säurefeste Stäbchen vorkommen, aber nur zum geringsten Teile Tuberkelbazillen. — Fränkel-Bonn sieht die mikroskopische Untersuchung als unzureichend an. Unter 18 Fällen hatte er viermal ein fragliches positives Resultat. Von 42 Meerschweinchen, die mit dem Blute von Tuberkulosekranken infiziert waren, starben zwei an Tuberkulose (ein Fall von schwerer Lungentuberkulose, ein Fall von chronischer Bronchitis ohne mikroskopischen Befund im Blut und Sputum). — bei Göbel fand bei Tuberkulösen, aber auch bei klinisch Gesunden säurefeste

Stäbchen in sehr geringer Zahl, reichlich grampositive Stäbchen und Granula nach der Muchschen Färbung. Er sieht ausschließlich den Tierversuch als beweisend an. — Die Ergebnisse von Ishio Haga wurden von Möllers auf der Mikrobiologenvereinigung 1913 vorgetragen. Seine Resultate sind folgende:

Stadium der Lungentuberkulose	Zahl der Krankheitsfälle	Säurefeste Gebilde	Tierversuche
I	35	10 = 28.6 Proz.	8 = 22.8 Proz.
II	20	5 = 25 „	6 = 30 „
III	20	8 = 40 „	8 = 40 „
Summe:	75	23 = 30.7 Proz.	22 = 29.3 Proz.
Tuberkulose anderer Organe }	6	1 = 16.1 „	2 = 33.3 „
Suspekte }	22	1 = 4.5 „	3 = 13.6 „
Gesamtsumme:	103	25 = 24.2 Proz.	17 = 26.2 Proz.

Heymann hat in gemeinsamen Untersuchungen mit Otto bei schwer tuberkulösen Meerschweinchen niemals und bei Kaninchen, die mit 1^{mg} infiziert waren, nur einmal Bazillen gefunden. — Krabbel mißt bei chirurgischer Tuberkulose wohl dem positiven Befunde, nicht aber dem negativen eine diagnostische Bedeutung bei. — Lange und Lindemann haben im Reichsgesundheitsamt an 80 Tuberkulosefällen aus der Heilstätte Grabowsee Untersuchungen angestellt; sie fanden mikroskopisch in keinem Falle säurefeste Gebilde, die man nur mit einiger Bestimmtheit überhaupt als Stäbchen, geschweige denn als Tuberkelbazillen hätte ansprechen können; von 259 Tieren ist bisher eins an Tuberkulose gestorben, 38 Tiere, die an einer Diplococceninfektion eingegangen waren, wurden frei von Tuberkulose befunden; die übrigen Tiere leben noch. — Kahn weist darauf hin, daß nicht nur die Hüllen der roten Blutkörperchen, sondern auch Cholesterin-, Lecithin- und Fibrinflocken eine gewisse Säurefestigkeit besitzen und mikroskopisch Tuberkelbazillen vortäuschen können; er sieht somit ausschließlich den Tierversuch als beweisend an. — Querner brachte das Blut von 37 chronisch Lungentuberkulösen nach Antiforminbehandlung in die Bauchhöhle von Meerschweinchen; keines der Versuchstiere wurde tuberkulös! Verfasser zweifelt daher die mikroskopischen Befunde und die positiven Tierversuche an. — Lydia Rabinowitsch, auf deren gemeinsame Untersuchungen mit Jessen bereits hingewiesen war, konnte neuerdings bei Meerschweinchen nach tödlichen Tuberkulindosen, vereinzelt aber auch nach mehrmaligen kleinen Dosen, Tuberkelbazillen im Blute nachweisen. — Rosenberg hatte bei Lungentuberkulose und chirurgischer Tuberkulose mikroskopisch positive Ergebnisse. — Scheible hat in keinem Falle von 25 Meerschweinchenversuchen mit dem Blute von skrofulösen und tuberkulösen Kindern Tuberkulose auslösen können. — Rothacker und Charon betonen die Fehlerquellen der mikroskopischen Untersuchung, und sehen als sicheres Kriterium nur den Tierversuch an; sie hatten unter 46 untersuchten Blutproben nur ein positives Impfresultat in einem Falle, der eine Miliartuberkulose betraf, während sie

mikroskopisch in zwölf Fällen verdächtige Stäbchen fanden. — v. Lehmann hatte bei der Untersuchung des Blutes von zwölf Patienten regelmäßig positive Befunde, stellte jedoch bei Untersuchung des destillierten Wassers fest, daß einem aus Algen bestehenden Bodensatze zahlreiche säurefeste Stäbchen anhafteten; bei Ausschließung dieser Fehlerquelle wurden die Befunde negativ! — Dem gegenüber behauptet Faggioli, nicht nur im Blute aller untersuchten Tuberkulösen säurefeste Stäbchen gefunden zu haben, sondern auch viermal bei gesunden Individuen (Tierversuch!), so daß er der Tuberkelbazillämie überhaupt keine diagnostische oder prognostische Bedeutung zuweisen möchte.

Die Durchsicht der Literatur ergibt somit alles andere, als ein klares Resultat. Bei der mikroskopischen Untersuchung stehen negativen Ergebnissen, wie sie z. B. Lange und Lindemann hatten, zahlreiche oder gar regelmäßige positive Resultate gegenüber (Liebermeister, Rosenberger, Kurashige, Rumpf, Klemperer, Kennerknecht, Suzuki und Takaki u. a.). Aber auch beim Tierexperiment schwanken die Ergebnisse in weitem Umfange. Lange und Lindemann, Bacmeister (1. Mitteilung), Querner, Dreesen, Fränkel, Rumpf, Rothacker und Charon hatten durchweg oder mit wenigen Ausnahmen negative Resultate. Liebermeister, Sturm, Kurashige, Kennerknecht haben bis zu 50 Prozent und mehr gelungene Impfungen.

Bezüglich der Schwere des Krankheitsbildes geben die Mehrzahl der Untersucher, die über positive Befunde verfügen, an, daß mit der Schwere der Erkrankung die Häufigkeit des positiven Befundes steigt. Andere wieder betonen, bereits im Frühstadium in nicht geringer Zahl der Fälle die Bazillämie angetroffen zu haben. Wieder andere finden sie auch bei Erkrankungen, deren Zusammenhang mit der Tuberkulose bisher ein weit entfernter schien, ja auch bei klinisch Gesunden.

Es bestehen somit, trotzdem in den letzten Jahren fast stets die gleiche Versuchsanordnung gewählt wurde, weitestgehende Differenzen; es lag daher im Interesse der Königlichen Universitätspoliklinik für Lungenleidende sowohl wie des städtischen Untersuchungsamts, hier eigene Erfahrungen zu sammeln.

Unsere eigenen Untersuchungen sind an 49 Lungenkranken aller Stadien der Phthisis pulmonum angestellt worden; in 48 Fällen fand eine einmalige Blutuntersuchung statt; in einem Fall wurde mit Intervall von wenigen Tagen ein zweites Mal Blut entnommen.

Wir haben uns bei unseren Versuchen an diejenige Untersuchungstechnik gehalten, mit der eine große Zahl anderer Untersucher positive

Nr.	Klinische Diagnose	Mikroskopische Untersuchung	Datum der Injektion im Tierversuch	Datum des Todes	Resultat
1	Kavernöse Phthise, besonders der l. Lunge	negativ	9. IV.	I. 23. V. II. 23. V.	I. Ohne Befund. II. "
2	Affectio apic. duplex	"	9. IV.	I. 24. V.	I. Stark abgemagert; Milz mit gelben Knötchen durchsetzt. Kulturrell: Paratyphus B-Bazillen. II. Ohne Befund.
3	" " dextri	"	11. IV.	II. 29. V. I. 27. V. II. 29. V.	II. Ohne Befund. I. Ohne Befund. II. "
4	" " "	an einer Stelle rötliches Wabengewebe mit einzelnen Tuberkelbazillen ähnlichen Spießen	11. IV.	I. 21. IV.	I. An der Impfstelle alte Hämorrhagie. Milz mit vereiterten, zirkumskripten Knötchen durchsetzt. Keine Tuberkulose; Paratyphus B-Bazillen nachgewiesen. II. Gallenblase prall gefüllt, steril; keine Zeichen von Tuberkulose.
5	Tuberkulose der r. Spitze	negativ	14. IV.	II. 8. V.	II. Ohne Befund.
6	Tuberkulose des r. Oberlappens	"	14. IV.	I. 30. V. II. 31. V. I. 5. V.	I. Ohne Befund. II. " " I. An unbekannter Ursache †. Sektion ergibt nur eine etwas verdickte Gallenblase.
7	Tuberkulose des l. Oberlappens	"	14. IV.	II. 3. VI. I. 15. IV. II. 3. V.	II. Ohne Befund. I. Pericarditis. II. Stark vergrößerte und verdickte Gallenblase, enthält Paratyphus B-Bazillen; sonst nichts Krankhaftes.
8	Phthise, besonders der r. Lunge	an zwei Stellen je ein Stäbchen, das nach Form, Körnung, Färbung dem Tuberkelbacillus gleicht	18. IV.	I. 6. VI. II. 7. VI.	I. Ohne Befund. II. " "
9	Affect. apic. dextri	negativ	18. IV.	I. 28. IV.	I. Sektion: Leichte seröse Peritonitis. Abszedierende Gallenblase, aus der eine Reinkultur von Paratyphus B gezüchtet wird. II. Ohne Befund. I. Ohne Befund. II. "
10	Phthis. pulm. III.	"	21. IV.	II. 31. V. I. 5. VI. II. 9. VI.	I. Ohne Befund. II. " "

11	Affect. apic. duplex	ein Kokoniges, säurefestes Gebilde, bei dem die Stäbchenform angedeutet ist	21. IV.	I. 4. VI.	II. Rechte Inguinaldrüse leicht geschwollen. Milz stark granuliert; histologisch zirkumskripte Lymphfollikel, keine Riesenzellen, keine Tuberkulose.
12	Tuberkulose des r. Oberlappens	negativ	21. IV.	I. 8. V.	I. Stark abgemagertes Tier, ohne weiteren Befund. Herzblut steril.
13	Tuberkulose des l. Oberlappens	zwei an einem Leukozyten anliegende, säurefeste Stäbchen	24. IV.	II. 11. VI.	II. Ohne Befund.
14	Ulzerierende Kehlkopf-tuberkulose. Tuberkulose des l. Oberlappens	negativ	24. IV.	I. 11. VI.	I. Milz stark granuliert, histologisch wie bei Nr. 11; keine Tuberkulose.
15	Phthis. pulm. III.	"	24. IV.	I. 13. VI.	I. Ohne Befund.
16	Catarrh. apicis duplex	"	24. IV.	II. 20. VI.	II. " "
17	Phthis. pulm. II.	"	28. IV.	I. 21. VI.	I. Ohne Befund.
18	Tuberkulose des l. Oberlappens	"	28. IV.	II. 21. VI.	II. " "
19	Affect. apic. utriusque	"	2. V.	I. 24. VI.	I. Ohne Befund.
20	Phthis. pulm. III.	"	2. V.	II. 27. VI.	II. " "
21	Affect. apic. sin.	ein schwach säurefestes Stäbchen von Größe und Form des Tuberkelbacillus	2. V.	I. 26. VI.	I. Ohne Befund.
22	Phthis. pulm. II.	negativ	6. V.	II. 26. VI.	II. " "
23	" " sin.	"	6. V.	I. 25. VI.	I. Abgemagertes Tier, keine Zeichen von Tuberkulose.
24	" " II.	zwei aneinander liegende säurefeste Stäbchen von Größe und Form der Tuberkelbazillen	6. V.	II. 27. VI.	II. Ohne Befund.
				I. 27. VI.	I. Ohne Befund.
				I. 8. VII.	I. Ohne Befund.
				II. 11. VII.	II. " "

(Fortsetzung.)

Nr.	Klinische Diagnose	Mikroskopische Untersuchung	Datum der Injektion im Tierversuch	Datum des Todes	Resultat
25	Phthise der r. Lunge	negativ	8. V.	I. 1. VII.	I. Sektion: Starke Pleuropneumonie mit Erguß in die Brusthöhle. Keine Zeich. v. Tuberk. II. Ohne Befund.
26	Phthis. pulm. II.	"	8. V.	II. 1. VII. I. 30. V. II. 3. VI.	I. Keine Zeichen von Tuberkulose. II. Starke Gastritis. Keine Zeich. v. Tuberkul.
27	Phthise des l. Oberlappens	"	8. V.	I. 4. VII. II. 7. VII.	I. Ohne Befund. II. "
28	Kavernöse Phthise, besonders der r. Lunge	Fast in jedem Gesichtsfeld zahlr. säurefeste Stäbchen, etwas kürzer und plumper als gewöhnliche Tuberkelbazillen. Daneben sehr ähnl., blau gefärbte Stäbchen	15. V.	I. 18. VII. II. 9. VII.	I. Ohne Befund. II. "
29	desgl. (ders. Patient wie Nr. 28)	negativ bläuliche bazillen-ähnliche Gebilde)	19. V.	I. 1. VIII. II. 8. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
30	Phthis. pulm. III.	negativ	15. V.	I. 2. VII. II. 18. VII.	I. Hämorrhagische Nephritis. Keine Zeichen von Tuberkulose. II. Ohne Befund.
31	Tuberculos. apic. dextri	"	15. V.	I. 2. VII. II. 22. VII.	I. Ohne Befund. II. "
32	Phthis. pulm. III.	vereinzelte blau gefärbte stäbchenförmige Gebilde	19. V.	I. 22. VII. II. 25. VII.	I. Ohne Befund. II. "
33	Tuberculos. apic. dextri	negativ	22. V.	I. 8. VIII. II. 8. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
34	Phthis. pulm. III.	"	22. V.	I. 8. VIII. II. 8. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
35	Tuberculos. apic. utriusque	"	22. V.	I. 11. VIII. II. 11. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
36	Tuberculos. apic. utriusque	"	26. V.	11. VIII.	Ohne Befund.

37	Tuberculos. apic. dextri	..	26. V.	I. 11. VIII. II. 11. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
38	Phthis. pulm. III.	..	26. V.	I. 12. VIII. II. 12. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
39	Tuberkulose des r. Oberlappens	..	29. V.	I. 8. VI.	I. Starke Injektion des Dünndarmes; Todesursache nicht feststellbar.
40	Tuberkulose der l. Spitze	..	29. V.	II. 12. VIII.	II. Ohne Befund.
41	Tuberculos. apic. utriusque	..	29. V.	I. 12. VIII. II. 12. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
42	Tuberkulose der r. Spitze	ein schwach säurefestes Stäbchen von den morphologischen Eigenschaften des Tuberkelbacillus	2. VI.	I. 8. VII. II. 8. VIII.	I. Todesursache nicht feststellbar; keine Zeichen von Tuberkulose. II. Ohne Befund.
43	Phthis. pulm. II.	negativ	2. VI.	I. 13. VIII. II. 13. VIII.	Bei beiden Tieren Milz leicht vergrößert, geringe Follikelschwellung; in beiden Lebern einige stecknadelkopfgroße, weiße, umschriebene Herde. Im Ausstrich keine Tuberkelbazillen. Histologisch: Keine Tuberkulose.
44	Katarrh der l. Spitze	..	5. VI.	I. 13. VIII. II. 13. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
45	Phthis. laryngis. Tuberculos. apic. sin.	..	5. VI.	I. 15. VIII. II. 15. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
46	Phthis. pulm. III.	..	5. VI.	I. 15. VIII. II. 15. VIII.	I. Ohne Befund. II. Milz granuliert (keine Tuberkulose), sonst ohne Befund.
47	Tuberkulose der r. Spitze	..	9. VI.	I. 18. VIII. II. 18. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
48	Katarrh der r. Spitze	..	10. VI.	I. 18. VIII. II. 18. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
49	Geringer Katarrh der r. Spitze	..	10. VI.	I. 19. VIII. II. 19. VIII.	I. Ohne Befund. II. "
50	Geringer Katarrh der r. Spitze	..	10. VI.	I. 19. VIII. II. 19. VIII.	I. Ohne Befund. II. "

Resultate erzielt hat: Es wurden aus der Armvene durchschnittlich 5^{ccm} Blut entnommen und in 15^{ccm} 3prozentiger Essigsäure aufgefangen. Nach starkem Durchschütteln und 1/2stündigem Verweilen wurde zentrifugiert und das Sediment mehrfach mit destilliertem Wasser gewaschen. Zur Lösung wurde der Bodensatz mit etwa 20^{ccm} 15prozentiger Antiforminlösung gemischt und 1 bis 2 Stunden der Bruttemperatur ausgesetzt. Durch erneutes Zentrifugieren wurde ein Sediment gewonnen, das in einem Teil der Fälle sehr gering war, in einem anderen aus bräunlich gelatinösen Massen bestand. Nach Befreiung des Sediments von Antiformin wurde ein Teil zur mikroskopischen Verarbeitung entnommen, der Rest je zwei Meerschweinchen subkutan injiziert (Schnitter-Stäubliche Methode).

Um ein möglichst einwandfreies Resultat zu erhalten, haben wir alle verwendeten Gegenstände (destilliertes Wasser, Objektträger, Zentrifugengläser usw.) nur in frisch sterilisiertem Zustande benutzt. Die Ziehlpräparate wurden zudritt eingehendst durchgesehen. Jedes zum Tierversuch benutzte Meerschweinchen wurde vorher intrakutan mit Tuberkulin nach Römer auf etwa vorhandene Spontantuberkulose geprüft. Wir haben schließlich von der Diagnose „positiver Tierversuch“ verlangt: Typische Impftuberkulose von der Injektionsstelle aus, typische histologische Veränderungen tuberkulöser Natur und den Nachweis von Tuberkelbazillen in den veränderten Organen.

Es ist, wie die vorstehende Tabelle erläutert, bei der mikroskopischen Untersuchung des Blutes von 49 Patienten neunmal ein Befund erhoben worden: In einem Falle war das Gesichtsfeld an mehreren Stellen des Präparats mit rotgefärbten Stäbchen bedeckt, die an Größe und Form dem Tuberkelbacillus ähnlich, jedoch ein wenig dicker und kürzer waren; neben diesen säurefesten Stäbchen waren auch ähnliche blaugefärbte Stäbchen vorhanden. Eine bei demselben Patienten nach wenigen Tagen wiederholte Untersuchung ergab keinen positiven Befund! — In drei Krankheitsfällen wurden je zwei säurefeste Stäbchen von den morphologischen Eigenschaften des Tuberkelbacillus entdeckt. — In drei weiteren Fällen kamen schwach säurefeste (rotlila gefärbte) Stäbchen zu Gesicht, in zwei anderen Fällen verdächtige, an Tuberkelbazillen erinnernde Gebilde. Es bleiben also von den neun positiven Befunden nur drei übrig, bei denen die Diagnose Tuberkulose eine gewisse Berechtigung hätte. Auch hier fehlte die intensiv rote Färbung, die geringe Zahl (zwei in mehreren Präparaten) gab ferner zu Bedenken Anlaß, in keinem Falle hätte uns der gleiche Befund bei einer Sputumuntersuchung zu der sicheren Diagnose Tuberkulose veranlaßt.

Nun zu den Tierversuchen: Es erfolgte im allgemeinen die Tötung der Tiere zwei Monate nach der Infektion; ein kleiner Teil der Tiere ging uns

an interkurrenten Infektionen (Paratyphus) ein; infolgedessen müssen für die Beurteilung einige Fälle ausscheiden. In jedem Einzelfalle wurden Impfstelle, regionäre Drüsen, innere Organe genau durchgesehen; bei dem geringsten Zweifel wurden frische Ausstriche und Schnitte mikroskopisch untersucht, in einem Falle verdächtige Organstückchen auf zwei weitere Tiere fortgeimpft. In keinem einzigen Falle hat sich die sichere Diagnose Impftuberkulose stellen lassen. Dagegen wurden mehrfach Befunde erhoben, die makroskopisch durchaus an das Bild der Tuberkulose gemahnten, die aber durch Abszesse des Paratyphus-B-Bacillus bedingt waren (Pseudotuberkulose).

Unsere Resultate stimmen also im allgemeinen mit den Ergebnissen von Lange und Lindemann, Querner, Rothacker und Charon, Dreesen u. a. überein.

Es heißt nun nach Erklärungen suchen, die ein so weites Auseinandergehen der Resultate verständlich machen können.

Zuerst für die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung, die von der Mehrzahl der Autoren als einzige Untersuchungsmethode angewandt worden ist. Sie ergibt einer ganzen Reihe Untersucher überaus merkwürdige Resultate: Kurashige entnimmt z. B. 1^{cem} Blut und findet Bazillen nicht nur bei allen Lungenkranken, auch solchen mit geringem Spitzenbefund, sondern auch bei 59 Prozent aller Gesunden! Ein Befund von nur fünf Bazillen im gesamten Sediment macht somit bei 5 Liter Blut und gleichmäßiger Verteilung der Bazillen im Blutstrom bei der Hälfte aller Gesunden ein Zirkulieren von 25 000 Tuberkelbazillen im strömenden Blute notwendig! Bei schwerer Lungenkranken findet er mehr als zehn Exemplare in jedem Gesichtsfelde. — Rosenberger schreibt: „In every case examined tubercle bacilli were observed. Sometimes only a few were seen, but they were mostly in large numbers, and clumps of 30 to 40 bacilli were not unusual, especially in the cases of acute miliary tuberculosis!“ — Suzuki und Takaki finden eine Übereinstimmung des positiven Pirquet und des positiven Blutbefundes. Eine positive Pirquet-Reaktion besteht bei der großen Masse der großstädtischen Bevölkerung; fast die gesamte Bevölkerung einer Großstadt müßte hiernach im Blute Tuberkelbazillen aufweisen! — Klara Kennerknecht hat in 91 Prozent der von ihr untersuchten Kinder, darunter bei 23 von 31 Kindern, die nicht für tuberkulös gehalten wurden, Tuberkelbazillen gefunden! — Liebermeister konnte nicht nur bei Tuberkulösen regelmäßig Tuberkelbazillen im Blute nachweisen, sondern auch bei abgeheilter Skrofulose, ja selbst bei 70 Patienten, bei denen eine tuberkulöse Erkrankung nicht nachweisbar war. Es sind nach ihm Beziehungen zwischen einer großen Reihe

von Erkrankungen (Polyarthrit, Chorea, Ischias, Chlorose u. a.) und Tuberkulose vorhanden! — Bacmeister, der die mikroskopische Methode auf Grund seiner Untersuchungen verwirft, fand nicht nur Stäbchen bei initialen Kranken, sondern, ebenso wie Faggiuoli auch bei Gesunden und bei normalen Kaninchen. Das alles sind Resultate, die bereits gegen die mikroskopische Methode die schwersten Bedenken erwecken.

Zweitens spricht gegen die Zuverlässigkeit der mikroskopischen Prüfung die geringe Übereinstimmung mit dem Tierversuch. Z. B. hat Rumpf, der in 100 Prozent der Fälle mikroskopisch die Stäbchen fand, unter 35 Tierexperimenten nur drei gelungene Übertragungen. — Dreesen, der die Resultate der mikroskopischen Untersuchung bezweifelt, fand mikroskopisch in 60 Prozent der Fälle Stäbchen; bei 128 Tierversuchen hatte er nur eine gelungene Übertragung. Es überragen somit die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen bei weitem die des Tierversuchs!

Dagegen ist bei gewöhnlicher Art der Untersuchung des Eiters tuberkulöser Abszesse, des Urins tuberkulöser Blasen- und Nierenerkrankungen, der Exsudate tuberkulöser Pleuritis und Peritonitis stets der Tierversuch der mikroskopischen Untersuchung überlegen! Auch bei den Galleuntersuchungen, wie sie kürzlich Lydia Rabinowitsch mitteilte, zeigte sich der Tierversuch der mikroskopischen Methode überlegen. Auch bei verkalkten Drüsen, die mikroskopisch nur in 17.6 Prozent der Fälle Tuberkelbazillen enthielten, ergab der Tierversuch noch in 44 Prozent positive Impfresultate (Rabinowitsch). Weiter übertraf bei vergleichenden Untersuchungen über den Wert der mikroskopischen Methode und des Tierversuchs, wie sie Haga durch Verdünnungen einer Öse Tuberkelbazillenkultur anstellte, der Tierversuch die mikroskopische Methode um das Zehnfache, ergab noch in zehnfacher Verdünnung über die Grenze des mikroskopischen Nachweises hinaus positive Resultate! Das Meerschweinchen ist eben ein außerordentlich empfängliches Tier für den Tuberkelbacillus. — Fränkel und Baumann haben in ihren 1906 angestellten Versuchen die Infektiosität verschiedener Kulturen von Tuberkelbazillen untersucht und insbesondere die Dosis zu bestimmen versucht, die noch ausreicht, um eine positive Infektion zu erhalten; während sie bei Kaninchen und bei Mäusen ungleichmäßige Resultate hatten, fanden sie bei Meerschweinchen eine übereinstimmende, derartig hohe Empfindlichkeit, daß sie zu der Vermutung berechtigt zu sein glaubten, ohne es natürlich zahlenmäßig erweisen zu können, daß bei manchen Kulturen schon die Verpflanzung eines einzigen Keimes genügt, um eine Ansteckung mit allen ihren weiteren Folgen zustandekommen zu lassen! Gegenüber diesen hundertfältig erhobenen Erfahrungstatsachen ist der Einwurf, daß gerade hier der mikroskopische Befund weiterführen soll als der Tierversuch, wenig wahrscheinlich.

Mehrere Untersucher stehen auf dem Standpunkte Liebermeisters: „Das Versuchstier wird mit geringen Mengen eines verhältnismäßig wenig virulenten Materials infiziert und zugleich durch das miteingespritzte Blut immunisiert.“ Es bestehen jedoch keine Anhaltspunkte dafür, daß einige wenige Kubikzentimeter Blut einen immunisatorischen Effekt haben; bei Injektion des Antiforminsediments kommen immunisierende Eigenschaften überhaupt nicht in Betracht. Weiter ist die Virulenz des Tuberkelbacillus nicht so wandelbar, daß sein Aufenthalt im Blutstrom seine Eigenschaften verändern könnte. Tierpassagen rufen eine Steigerung der Virulenz hervor. Bei jenen Galleunntersuchungen handelt es sich um Bazillen, die auf dem Blutwege dorthin gelangt sind. Bei den Untersuchungen an verkalkten Drüsen handelt es sich um Bazillen mit mehrjährigem Aufenthalt im Körper.

Die Möglichkeit, daß die immerhin intensive Behandlung mit Essigsäure und Antiformin vereinzelt Bazillen so in ihrer Virulenz beeinflußt, daß sie im Tierkörper keine Infektion mehr auslösen, ist ohne Zweifel vorhanden. Aber auch bei der Verimpfung des frisch entnommenen, unbehandelten Blutes bleiben die Resultate des Tierversuches weit hinter denen der mikroskopischen Untersuchung zurück. White und Avery erhielten hierbei niemals eine Impftuberkulose, Lüdke und Fränken nur wenige positive Resultate, Dreesen bei der Verimpfung des mit Aqua destillata lackfarben gemachten Blutes nur eine gelungene Übertragung.

Wie die Art der Resultate, so macht also auch das Verhältnis zum Tierversuch wahrscheinlich, daß bei der Durchmusterung der mikroskopischen Präparate Fehlerquellen im Spiele sein müssen. Welcher Art die Fehlerquellen sind, läßt sich weder allgemein noch für jeden einzelnen Fall nachweisen; besonders in Betracht kommen:

1. Farbstoffkristalle und Farbstoffniederschläge. Es ist dies eine Fehlerquelle, die bei der Ziehlfärbung für den geübten Untersucher keine Rolle spielt. Neben der Ziehlfärbung ist jedoch von Jessen und Rabinowitsch, Sturm, Rumpf auch die Muchsche Färbung auf Granula angewandt worden. Ein grampositives Granulum in dem Blutdetritus, der zur Untersuchung gelangt, ist ein so wenig charakteristisches Gebilde, daß hiernach die Diagnose Tuberkulose kaum möglich ist!

2. Zerstörungsprodukte des Blutes durch die Essigsäure-Antiforminmethode. — Kahn hat sich insbesondere mit dieser Fehlerquelle beschäftigt und gezeigt, daß die Stromata der roten Blutkörperchen an sich säurefest sind, und daß Antiforminbehandlung der Stromata zu Gebilden führen kann, die alle morphologischen und färberischen Eigenschaften der Tuberkelbazillen haben; auch Lecithin und Cholesterin sind nach ihm schwach säurefest und können einmal Bazillen vortäuschen; selbst Fibrinfäden, Bluteiweiß, Eiweißglyzerin können zu Fehldiagnosen Anlaß geben.

Es verdient in diesem Zusammenhange Erwähnung, daß der Lipoidgehalt des Serums Tuberkulöser allem Anscheine nach gegen die Norm erhöht ist. Nach Calmette beruht z. B. die Cobragiftreaktion bei Tuberkulose auf dem vermehrten Lecithingehalt, nach Klinkert sind es lipoidähnliche Stoffe, die bei Tuberkulose ausgeschieden werden, und die im Urin die positive Komplementbindungsreaktion Marmoreks bedingen. Steigt tatsächlich der Lipoidgehalt des Blutes im Verlaufe der Tuberkulose, so würde vielleicht auch die Tatsache eine natürliche Erklärung finden, daß mit der Schwere der Fälle die Häufigkeit säurefester Gebilde zuzunehmen scheint. Die Vermehrung säurefester Anteile des Serums erhöht natürlich die Möglichkeit von Fehlschlüssen.

3. Verunreinigung des Sediments mit anderen säurefesten Bakterien, die Tuberkelbazillen gleichen, aber harmlose Saprophyten sind. Die Verbreitung säurefester Bazillen in der Natur ist bekanntlich eine recht beträchtliche: Sie sind im Leitungswasser, ja selbst im destillierten Wasser beobachtet worden; sie sind an Wasserleitungshähnen und anderen Messingteilen wohl bekannt. Bei den vielfachen Prozeduren, denen das Blut bis zur mikroskopischen Untersuchung ausgesetzt ist, sind Verunreinigungen mit anderen säurefesten Bakterien immerhin möglich. Lehrreich sind in diesem Sinne die Resultate von Mac Farland: Er stellte seine Untersuchungen in zwei verschiedenen Krankenhäusern an und hatte in dem einen häufig positive Resultate, in dem anderen nicht. Die Untersuchung des destillierten Wassers ergab in dem ersten Krankenhause zahlreiche säurefeste Stäbchen!

Bei den Untersuchungen der letzten Jahre ist allerdings versucht worden, durch vollkommene Ausschaltung von Leitungswasser, ausschließliche Benutzung von frisch destilliertem Wasser, das kontrolliert wurde, Reinigung aller Gefäße, Instrumente und Glasgegenstände mit konzentrierter Schwefelsäure, diese Fehlerquelle auszuschalten.

Zusammenfassend ist somit über die mikroskopische Untersuchung zu sagen: Nach Art ihrer Resultate, nach dem Verhältnis zum Tierversuch und der vielfachen Möglichkeit von Fehlerquellen erscheint die mikroskopische Untersuchung im allgemeinen nicht geeignet, sichere Resultate über die Häufigkeit einer Bazillämie zu geben. Solange absolut einwandfreie mikroskopische Bilder nicht vorliegen, erscheint nur der Tierversuch dazu angetan, ein sicheres Urteil abzugeben.

Aber auch hier gehen die Resultate weit auseinander: Wir selbst haben bei 50 Untersuchungen und 100 Versuchstieren in keinem Falle eine sichere Impftuberkulose erzielen können, Rothacker und Charon bei einem Material von 46 Kranken nur in einem Falle mit Miliartuber-

kulose. Lange und Lindemann teilten auf dem VII. Mikrobiologenkongreß 1913 mit, daß von 265 Versuchstieren bis dahin nur ein einziges an Tuberkulose gestorben wäre. Dreesen erhielt bei 128 Tierversuchen nur ein einziges Impfresultat. Dagegen hat Liebermeister im ersten Stadium der Lungenphthise 11 Prozent Impfresultate, im zweiten Stadium 44 Prozent, im dritten Stadium 48 Prozent. Sturm hat 50 Prozent (erstes), 38 Prozent (zweites), 50 Prozent (drittes Stadium) positive Tierversuche, und schließlich verfügt Haga über 22·8, 30 und 40 Prozent gelungene Übertragungen. Es müssen auch hier Umstände vorhanden sein, die das Resultat wechselvoll gestalten können. Als solche kommen in Betracht:

1. Die Menge des entnommenen Bluts und die Zahl der Versuchstiere. Es ist selbstverständlich, daß die Entnahme einer etwas größeren Blutmenge, Verarbeitung mit Antiformin und Impfung von mehreren Versuchstieren aussichtsvoller ist, als die Injektion von wenigen Kubikzentimetern Blut bei ein bis zwei Tieren. — Liebermeister hat jedoch nur 3 bis 6^{ccm} Blut subkutan und in die Lebersubstanz injiziert (Erfolg positiv). — Rothacker und Charon haben dagegen 25^{ccm} Blut entnommen und je 5^{ccm} des Blutzitratgemisches zwei jungen Meerschweinchen injiziert (Erfolg negativ)!

2. Die Art des Krankheitsfalls. Es ist sicher, daß, je näher der Phthisiker dem Tode, desto aussichtsvoller der Tierversuch ist. Die Sektion ergibt ja bei Phthisis pulmonum in einem nicht geringen Prozentsatz eine frische Aussaat vor dem Tode, und regelmäßig frische submiliare Tuberkeln der Leber (vgl. auch die Untersuchungen Liebermeisters). Es ist ferner wahrscheinlich, daß Lungentuberkulosen mit frischen Disseminationen häufiger mit einer Bazillämie einhergehen, als nur wenig progrediente Lungenphthisen auch des dritten Stadiums. Untersuchungen am ambulanten Material einer Poliklinik (eigene Untersuchungen) oder an den zumeist gutartigen Fällen einer Heilstätte (Lange und Lindemann) müssen auch bei Berücksichtigung aller Stadien in einem geringeren Prozentsatz positive Resultate erzielen, als an Krankenhausmaterial angestellte Untersuchungen.

3. Spontantuberkulose und Stallinfektionen unter den Versuchstieren. Hier muß der Verlauf der tuberkulösen Infektion den Ausschlag geben; alle Fälle, die nicht als sichere Impftuberkulose imponieren, sind zum mindesten als zweifelhaft anzusehen. Stallinfektionen können bei Tieren, die sehr lange am Leben gelassen werden, wohl einmal eine Rolle spielen. — Liebermeister betont, daß die Impftuberkulose sehr protrahiert bei seinen Tieren verlief und oft erst nach $\frac{3}{4}$ Jahren zu Erscheinungen führte.

4. Es sind nicht von allen Untersuchern die Kriterien beobachtet worden, die zur Diagnose Impftuberkulose erforderlich sind. — Sturm hat die Diagnose teils nach einem eindeutigen pathologisch-anatomischen Befunde gestellt, teils aber auch, beim Fehlen eines solchen Befundes, nach der mikroskopischen Untersuchung der mit Antiformin behandelten Organe. Seine Tierversuche haben also die Fehlerquellen der mikroskopischen Untersuchung. Die Sektionsprotokolle, die Kennerknecht mitteilt, weichen von dem gewöhnlichen Befunde bei intraperitonealer Impfmethode wesentlich ab. Diplokokkeninfektionen, Paratyphusinfektionen, die sogenannte Pseudotuberkulose, die sich beim Paratyphus B oder nach der Injektion säurefester Saprophyten entwickelt, können einmal eine Tuberkulose vortäuschen. Bei unseren an Paratyphus verstorbenen Tieren ergab die Sektion mehrfach Befunde, die pathologisch-anatomisch ganz dem Bilde einer disseminierten Tuberkulose entsprachen; histologische und bakteriologische Untersuchung stellte jedoch Paratyphus B sicher.

Zusammenfassend ist somit über den Tierversuch zu sagen: Eine ganze Reihe Untersucher haben an einem umfangreichen Tiermaterial mit dem Blute Tuberkulöser überhaupt nicht oder nur ganz vereinzelt Tuberkulose auslösen können; andere wieder verfügten über einen hohen Prozentsatz positiver Impfresultate. Die Sicherheit, daß in diesen Fällen jede Möglichkeit von Versuchsfehlern ausgeschaltet war, erscheint uns nicht überall gewährleistet.

Wir sind deshalb auf Grund unserer eigenen negativen Resultate und auf Grund kritischer Sichtung der Literatur zu der Anschauung gelangt, dem Vorkommen von Tuberkelbazillen im strömenden Blut eine allgemeine diagnostische Bedeutung nicht zuzuerkennen. Wir haben durch die geprüfte Untersuchungsmethode weder ein neues diagnostisches Hilfsmittel gewonnen, noch neue theoretische Ausblicke für die Phthisiogenese erlangen können.

Literatur-Verzeichnis.

- Acs-Nagy, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1910. Nr. 37.
 Bacmeister, *Münchener med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 7.
 Bacmeister u. Rueben, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1912. Nr. 50.
 Bar u. Rénon, *Semaine méd.* 1895.
 Besançon-Griffon, Philibert, *La presse médicale.* 1902.
 Dieselben, *Compt. rend. de la soc. biol.* 1903.
 Brandes u. Man, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 24.
 Brem, *Journ. of Amer. med. Assoc.* 1909. Nr. 12.
 Burvill-Holmes, *The Amer. Journ. of med. scienc.* 1910.
 Dailey, *Boston med. a. surg. Journ.* 1909.
 Dreesen, *Med. Klinik.* 1913. Nr. 15.
 Duchinoff, *Beitr. z. klin. Chirurgie.* 1912. Bd. LXXIX.
 Fagioli, *Riforma medica.* 1913. Nr. 10—11.
 Mac Farland, *Sixth Ann. Reports of the Henry Phipps Institute.*
 Forsyth, *Brit. med. Journ.* 1909.
 Fränkel, C., *Schmidts Jahrbücher.* 1913. Bd. CCCXVII.
 Derselbe, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 16.
 Fränken, *Congr. d. Royal Instit. of publ. Health.* 1912.
 Göbel, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 24.
 Haga. Ishio (vorgetr. von Möllers), *Mikrobiol. Verein.* 1913.
 Heymann, *Ebenda.* 1913.
 Hewatt, Middleton, Sutherland, Halliday, *The Brit. med. Journ.* 1909.
 Hilgermann u. Lossen, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1912. Nr. 13.
 Jessen u. Rabinowitsch, *Ebenda.* 1910. Nr. 24.
 Joussett, *Semaine médicale.* 1904.
 Kahn, *Münchener med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 7.
 Kennerknecht, *Beitr. z. Klin. d. Tub.* 1912. Bd. XXIII.
 Kessler, *Münchener med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 7.
 Klemperer, *Therapie der Gegenwart.* 1912.
 Koslow, *Russky Wratsch.* 1910. Nr. 19.
 Krabbel, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1913.
 Krause, *Zeitschrift f. Tuberkulose.* 1911. Bd. XVII.
 Kurashige, *Ebenda.* 1911. Bd. XVII.
 Derselbe, *Ebenda.* Bd. XVIII.
 Derselbe, *Mitteil. d. med. Gesellschaft zu Osaka.* 1911.
 Kurashige, Mayeyama, Yamada, *Zeitschrift f. Tuberkulose.* Bd. XVIII.

- Lange u. Lindemann, *Mikrobiol. Verein.* 1913.
 v. Lehmann, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 32.
 Lesieur, *Journ. de Phys. et Path. gen.* 1904.
 Liebermeister, *Festschrift für Baumgarten.* 1908.
 Derselbe, *Virchows Archiv.* 1909. Bd. CXCVII.
 Derselbe, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1909.
 Derselbe, *Verhandl. d. Deutsch. Congr. f. inn. Med.* 1912.
 Derselbe, *Med. Klinik.* 1912. Nr. 25.
 Liebmann, *La Sperimentale.* 1891.
 Lippmann, *Münchener med. Wochenschrift.* 1909.
 Lüdke, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1906.
 Mammen, *Inaug.-Dissert.* Gießen 1911.
 Querner, *Münchener med. Wochenschrift.* 1913.
 Rabinowitsch, *Berl. klin. Wochenschrift.* 1913. Nr. 3.
 Ranström, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1912.
 Rosenberg, L., *Med. Record.* 1909.
 Rosenberg, E., *Münchener med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 7.
 Rosenberger, *Med. Journ.* New York 1909.
 Derselbe, *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1909. Abt. I. Bd. L.
 Rothacker u. Charon, *Ebenda.* 1913. Abt. I. Bd. LXIX.
 Rumpf, *Münchener med. Wochenschrift.* 1912. Nr. 36.
 Sabrazès, Eckenstein et Muratel, *Compt. rend. d. la soc. d. biol.* 1909.
 Scheible, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 23.
 Schnitter, *Ebenda.* 1909. Nr. 36.
 Stäubli, *Münchener med. Wochenschrift.* 1908. Nr. 50.
 Strauss, *Inaug.-Dissertation.* Bern 1910.
 Sturm, *Beitr. z. Klin. d. Tuberkulose* 1911. Bd. XXI.
 Suzuki u. Takaki, *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1911. Abt. I. Bd. LXI.
 Weichselbaum, *Wiener med. Wochenschrift.* 1884.
 White and Avery, *Journ. of med. Research.* 1910. Bd. XXIII.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.]

(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter.)

[Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie.]

(Vorsteher: Prof. Dr. E. Friedberger.)

Über den Einfluß von Desinfektionsmitteln auf invisible Virusarten.

I. Das Verhalten des Vaccinevirus gegenüber verschiedenen Desinfektions-
mitteln nebst chemotherapeutischen Versuchen bei Vaccine.

Von

E. Friedberger und **J. Jamamoto-Kioto.**

Seit den ersten Untersuchungen von Robert Koch, v. Behring und anderen bis in die neueste Zeit sind als Testmaterial zur Prüfung von Desinfektionsmitteln auf die Mikroorganismen so gut wie ausschließlich Bakterien herangezogen worden.

Einmal spielt ja die Desinfektion gerade in der Bekämpfung bakterieller Infektionen eine ausschlaggebende Rolle, sodann aber haben wir in diesen meist ohne weiteres züchtbaren Mikroorganismen ein außerordentlich bequemes und leicht beschaffbares Testobjekt. Um mit nicht züchtbaren unbeweglichen pathogenen Mikroorganismen oder speziell invisiblen Virusarten derartige Versuche anstellen zu können, bedürfen wir in jedem Fall zur Prüfung auf die Abtötung des Virus den Tierversuch.

Schon diese Umständlichkeit der Methodik dürfte daran Schuld sein, daß entsprechende Versuche mit invisiblen Virusarten nur sehr spärlich angestellt worden sind.

Aber gerade hier scheint trotz der methodologischen Schwierigkeiten eine systematische experimentelle Prüfung nach mancher Richtung hin von Interesse zu sein.

Zeitschr. f. Hygiene. LXXVI

7

Zunächst ist hier die praktische Bedeutung einer Keimvernichtung in der Außenwelt nicht geringer als für die Bakterien. Dann können uns natürlich entsprechende Versuche gewisse Richtlinien für eine spezifische Chemotherapie geben, und endlich gewinnen wir aus dem Verhalten gewisser Virusarten gegenüber Desinfektionsmitteln im Vergleich zu anderen Mikroorganismenarten Aufschlüsse über die Natur des betreffenden Erregers. Daß wir dabei die Keime nicht in Reinkultur, sondern mehr oder weniger im Zustand ihres natürlichen Vorkommens zur Verfügung haben, erscheint nur als ein Vorteil. Wissen wir doch auch von den Desinfektionsversuchen mit Bakterien, welcher Wert nur allzuhäufig den mit Reinkultur ermittelten Abtötungswerten für die Praxis zukommt, wo die Erreger unter ganz anderen chemischen und physikalischen Bedingungen mit den Desinfektionsmitteln zusammentreffen.

Von derartigen Erwägungen aus haben wir zunächst einmal systematisch das Vaccinevirus einer eingehenden Prüfung unterzogen. Schon die relativ hohe Resistenz, die der Vaccineerreger in der Glycerinlymphe im Vergleich zu Bakterien zeigt, spricht für eine besondere Widerstandskraft zum mindesten der Wuchsform, die wir in der Lymphe vor uns haben.

Soweit der Einfluß chemischer und anderer Desinfektionsmittel speziell auf die Vaccine erforscht worden ist, ist nur, im wesentlichen von rein praktischen Gesichtspunkten aus, nach Mitteln gesucht worden, die unter Erhaltung des Vaccinevirus geeignet waren, die Begleitbakterien auszuschalten.

Zunächst versuchte Negri¹ durch Filtration durch keimdichte Filter die Bakterien zu entfernen. Er erhielt mit den Filtraten positive Impfergebnisse; ebenso wie nach ihm Remlinger und Osmann², Nuovi, Siegel, Carini³, Rouget.⁴

Bei 37° wird nach Schulz und Maggioro⁵, zwar die Glycerinlymphe in einigen Tagen keimfrei, jedoch die Virulenz bleibt nicht sicher erhalten. (Negri, Levy⁶, Galli-Valerio⁷, Carini.) Green⁸ entfernte die Begleitbakterien durch Chloroformdämpfe, Gayord und Wheeler⁹ durch Zyankali, Carini durch Toluol.

¹ Negri, *Bull. della Societa medicochir. di Pavia*. 1903. Nr. 1.

² Remlinger u. Osmann, *Compt. rend. de la Soc. de Biologie*. 1905. Mai u. Juni.

³ Carini, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1906. Orig. Bd. XLIX. — *Ebenda*. 1904. I. Abt. Orig. Bd. XXXVII. — *Ebenda*. 1904. I. Abt. Orig. Bd. XXI.

⁴ Rouget, *Compt. rend. de la Société de Biologie*. 1905. Juni.

⁵ Maggioro, *Policlinico*. 1903.

⁶ Levy, *Münchener med. Wochenschrift*. 1904. Nr. 7.

⁷ Galli-Valerio et Felix, *Bull. soc. vaud. sc. nat.* 1904. T. XL. Nr. 151. — *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1904. I. Abt. Bd. XXXVI.

⁸ Green, *Lancet*. 1904.

⁹ Zit. n. Tomarkin u. Serebrenikoff, *Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg.* 1910. Bd. XIV.

Es existieren, soweit wir aus der Literatur ersehen konnten, überhaupt nur zwei Arbeiten, in denen die abtötende Wirkung von Desinfektionsmitteln auf die Vaccine selbst untersucht worden ist. Heerwegen¹ ermittelte die desinfizierende Dosis von Sublimt und Karbol (Prüfung auf Abtötung am Menschen) und v. Prowazek² konstatierte die Vaccine tötende Wirkung der Galle, des Saponins und die abschwächende des taurocholsauren Natriums.

Über einen Teil unserer älteren Versuche wurde bereits kurz auf dem Mikrobiologentag in Wien berichtet.³ Die ausführliche Veröffentlichung aller unserer Experimente hat sich aus äußeren Gründen verzögert.

Zu unseren Untersuchungen benutzten wir teils aus der Apotheke bezogene Glycerinlymphe, teils ein entsprechendes Präparat des Mailänder serotherapeutischen Instituts, für dessen Überlassung wir dem Direktor Hrn. Prof. Belfanti zu Dank verpflichtet sind.

Von der Lymphe wurde eine Verdünnung 1:10 (in einzelnen Versuchen 1:20 bzw. 1:30) in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt; gröbere Partikelchen der Aufschwemmung wurden durch Sedimentation oder Papierfiltration entfernt, um bei der Einwirkung des Desinfektionsmittels ein möglichst fein verteiltes gleichmäßiges Material zu haben, was bei vergleichenden Versuchen zur Erreichung gleichmäßiger Resultate unbedingt erforderlich erscheint.

Die so hergestellte feine und vor allem gleichmäßige Aufschwemmung des Vaccinevirus wurde mit gleichen Mengen bestimmter Verdünnungen der einzelnen zu prüfenden Desinfektionsmittel versetzt.

In einer Kontrolle wurde anstelle des Desinfiziens eine entsprechende Menge physiologischer Kochsalzlösung benutzt; ebenso wurde meist in einem Kontrollversuch das betreffende Desinfektionsmittel allein mit Kochsalzlösung statt Lymphezusatz verwendet.

Eine Entfernung des Desinfektionsmittels vor der Verimpfung durch Zusatz von Chemikalien, dessen hohen Wert speziell für die Sublimatdesinfektion uns Geppert⁴ kennen gelehrt hat, und besonders eingehend in jüngster Zeit Ottolenghi⁵ studiert hat, haben wir in keinem Fall vorgenommen. Mancherlei Bedenken und Schwierigkeiten schienen uns

¹ Heerwegen, *Diese Zeitschrift* 1893. Bd. XIII. S. 387.

² Zitiert nach Artikel Variola von v. Prowazek in *Handbuch der Tropenkrankheiten* von Mense.

³ Vgl. Referat im *Centralblatt f. Bakteriologie*. Abt. I. Ref. Bd. XLIV. S. 81.

⁴ Geppert, *Berliner klin. Wochenschrift*. 1889. S. 789. — *Ebenda*. 1890. S. 246. — *Deutsche med. Wochenschrift*. 1891. S. 797. — *Ebenda*. S. 1065.

⁵ Ottolenghi, *Desinfektion*. 1909. S. 104. — *Ebenda*. 1910. S. 73. 1911. S. 64.

dagegen zu sprechen. Einmal war das Verfahren von vornherein schon nur bei einem Teil der verwandten Mittel überhaupt anwendbar (und gerade hier zeigten sich zum Teil relativ geringe Desinfektionswerte), so daß die Vergleichsergebnisse dadurch keineswegs an Klarheit gewonnen hätten. Auch eine Entfernung des überschüssigen Desinfektionsmittels durch Abspülung verbot sich bei der Natur des Erregers und der Art seiner Prüfung, obwohl diese Methode nach den neueren Untersuchungen von Bechhold¹, sowie Laubenheimer² dem Entgiftungsverfahren vorzuziehen ist. Ebenso wenig konnte man nach Schäffer durch ein schnelles Ausschleudern mit der Zentrifuge des Virus vom Desinfizenz trennen.

Das alles fällt allerdings wenig ins Gewicht, wenn wir bedenken, daß die Mengen des Desinfizenz, die mit dem Virus in das Auge hineingelangten, nur minimale gewesen sein können, daß sie zumeist von der Infektionsstelle aus leicht resorbiert wurden und außerdem eine wesentliche Verdünnung noch durch die Gewebsflüssigkeiten und das Sekret der Tränendrüsen erfuhren. Dafür boten wir auch wiederum optimale Bedingungen für die Nachkultur, indem wir sie ja nur im tierischen Organismus vornahmen, wo ja auch nach Gepperts Versuchen z. B. mangelhaft entgiftete, mit Sublimat behandelte Sporen besser auskeimen als in der Kultur.

Die Prüfung auf Abtötung des Vaccineerregers geschah im einzelnen in der Weise, daß kleine Mengen der Mischungen nach vorsichtiger Verletzung des Korneaepithels und nach Ektropionierung der Lider und der Nickhaut auf die Kornea geträufelt wurden; nach etwa einer Minute wurden die Lider wieder in ihre normale Lage gebracht, wobei natürlich ein Teil der aufgeträufelten Flüssigkeit abfloß, aber immer noch reichlich genug in der Lidspalte blieb, um in den Kontrollversuchen regelmäßig die Kornea zu infizieren. Wir konnten natürlich nicht, wie bei Desinfektionsversuchen mit Bakterien, die Abnahme der Keimzahl quantitativ verfolgen; ja es war nicht einmal möglich, sicher zu entscheiden, ob das Aussaatmaterial in allen Versuchen gleich stark war, was gewiß von Bedeutung gewesen wäre, da wir auch wohl bei den Versuchen mit Vaccinevirus der ursprünglichen Aussaat eine hohe Bedeutung beimessen müssen. Doch glauben wir, Differenzen in dieser Richtung dadurch nach Möglichkeit umgangen zu haben, daß wir das Virus immer möglichst frisch bezogen und relativ starke Konzentration in den einzelnen Versuchen zur Abtötung benutzten.

¹ Bechhold, *Zeitschrift f. anorgan. Chemie.* 1909. S. 2033.

² Laubenheimer, Phenole u. seine Derivate. *Habilitationsschrift.* Gießen 1909.

Jedesmal die minimale, noch gerade infizierende Dosis im Vorversuch zu bestimmen, um dadurch gewisse Anhaltspunkte für die Keimzahl zu erhalten, hätte, abgesehen von den enormen Tiermengen auch schon wegen der vielleicht wechselnden Virulenz keine eindeutigen Resultate ergeben. Ebensowenig war es aus dem erwähnten Grunde angängig, die minimale Menge der Mischung zu bestimmen, die nach erfolgter Einwirkung des Desinfizients zur Erzeugung eines Impfeffektes noch erforderlich war.

Wir begnügten uns vielmehr damit, jeweils etwa gleiche Mengen auf die verletzte Kornea aufzuträufeln, wobei aus dem ausnahmslos positiven Erfolg der Kontrollen sich ergibt, daß ausreichende Dosen des Vaccinevirus in jedem Versuch für die Abtötung der Keime zur Verfügung standen.

Aus dem gleichmäßigen Verlauf der Infektion in den Kontrollversuchen dürfen wir schließen, daß in jedem Fall die Virusmengen annähernd gleich waren, während andererseits der verzögerte klinische Verlauf in den Versuchen mit Desinfizienten auch in den Fällen, in denen eine Abtötung nicht erfolgte, uns eine Keimverminderung oder Schädigung innerhalb gewisser Grenzen offenbarte.

Die Beobachtung des Infektionsprozesses geschah von Tag zu Tag. Meist zeigte sich bereits 24 Stunden nach erfolgreicher Infektion bei Lupenbetrachtung eine gewisse Rauigkeit der Kornealfläche, die sich freilich nur schwer von der durch die vorgenommene Epithelverletzung bedingten differenzieren ließ, aber allmählich immer deutlicher in das charakteristische Bild der Kornealinfektion übergang.

Zuweilen störte in den ersten Beobachtungstagen noch der Umstand, daß manche der zur Verwendung gelangten Desinfektionsmittel innerhalb der in Betracht kommenden Verdünnungen an sich eine mehr oder minder intensive Reizung bedingten; aber diese ging bald vorüber, während die Infektion weiter fortschritt.

Auf der Höhe des Krankheitsprozesses wurde die Kornea herausgeschnitten und auf das Vorhandensein von Guarnierischen Körperchen in Schnittpräparaten untersucht. Auf diese Weise war es ausgeschlossen, daß sekundäre Infektionen, die äußerlich ein ähnliches Bild bieten mochten, eine gelungene Vaccininfektion vortäuschten.

In einem Teil der Versuche impften wir das Virus auch intrakutan. Zu dem Zweck wurden am Rücken nahe dem Halse, also an einer Stelle, an der sich die Tiere möglichst nicht zu belecken vermögen, die Haare mittels Calciumhydrogensulfid entfernt; nachdem dieses stark hautreizende Mittel sorgfältig mit warmem Wasser vollständig abgespült war, wurde die Haut mit Sandpapier wund gerieben, die zur Untersuchung bestimmte Mischung auf die Wundfläche geträufelt und leicht mit einem Glasstab

eingerieben. Es wurden zu diesen Versuchen ausschließlich albinotische Kaninchen benutzt. Hier treten auf der nicht pigmentierten Haut die charakteristischen Pusteln besonders deutlich hervor. Zunächst prüften wir einige der für Bakterien gebräuchlichsten Desinfektionsmittel.

1. Sublimat.

Je 0.05 einer Sublimatlösung 1:1000, 1:10000, 1:20000, 1:100000 in physiologischer Kochsalzlösung werden mit der gleichen Menge einer 1:10 verdünnten Glycerinlymphe versetzt, so daß also im ganzen die doppelten Verdünnungen resultieren, die auch in den nachstehenden Versuchen in Rechnung gezogen werden. Ein Kontrollröhrchen mit Vaccine und entsprechender Menge Kochsalzlösung statt Sublimatlösung.

Alle Mischungen bleiben bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde (rechtes Auge) und 18 Stunden (linkes Auge) werden Kaninchen mit dem Material in die Kornea geimpft.

Den Verlauf der Impfung zeigt Tabelle I.

Hier und in den folgenden Versuchen bedeutet:

- = negative Ausfälle der Impfung,
- (+) = zweifelhaften Erfolg,
- +, ++, +++ = die verschiedenen Grade der Vaccineinfektion,
- ⊃ = daß durch das Mittel allein eine Entzündung der Kornea herbeigeführt wurde,
- = eine Infiltration der Kornea durch das Desinfektionsmittel.

Tabelle I.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung der Sublimat- lösung	Vaccine- verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:									
			$\frac{1}{2}$ Stunde					18 Stunden				
			Beobachtung nach Tagen:									
			3	4	5	6	7—9	3	4	5	6	7—9
J. 8	1:1000	1:10	(+)(+)	—	—	—	(+)(+)	—	—	—		
9	1:10 000	1:10	(+)(+)	+	++	++	(+)(+)	(+)	+	+		
10	1:20 000	1:10	(+)(+)	+	++	++	(+)(+)	+	++	++		
11	1:100 000	1:10	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++		
12	—	1:10	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++		

Es ergibt sich, daß Sublimat in einer Verdünnung 1:2000 (mit gleichen Vaccinemengen versetzt) bereits in $\frac{1}{2}$ Stunde das Virus abtötet, so daß die Kornealimpfung nicht mehr angeht. Bei 1:20000 und 1:40000 macht sich bei $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung bereits eine Entwicklungshemmung deutlich bemerkbar; aber selbst in 18 Stunden wird

das Virus nicht mehr völlig durch diese Verdünnungen abgetötet. 1:200000 ist ohne deutlich erkennbaren Einfluß.

Die Einwirkung des Sublimats unter so günstigen Bedingungen wie in den vorliegenden Versuchen zeigt, daß seine abtötende Kraft auf das Vaccinevirus keine sehr erhebliche ist, wenn wir sie etwa mit der Wirkung des Sublimats gegenüber Staphylokokken vergleichen. Sie ist nach R. Koch in dieser Verdünnung eine momentane und auch nach den späteren Untersuchungen noch eine beträchtliche. Noch in einer Verdünnung von 0.136 auf 1000 erfolgt nach Ottolenghi eine Abtötung in 24 Stunden.

2. AgNO₃.

Bei den Versuchen mit AgNO₃ konnte natürlich die Verdünnung nicht in Kochsalzlösung vorgenommen werden. Um die Versuche mit den übrigen besser vergleichen zu können, benutzten wir nicht destilliertes Wasser, sondern isotonische Rohrzuckerlösung. Im übrigen entsprach unsere Versuchsanordnung wieder der früheren.

Tabelle II.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung des AgNO ₃	Vaccine-Verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:											
			1/2 Stunde					18 Stunden						
			Beobachtung nach Tagen:											
			2	3	4	5	6	7-9	2	3	4	5	6-9	
J. 33	1:100	1:10	-	-	(+)	+	+	++	-	-	-	-	-	
34	1:1000	1:10	-	-	-	(+)	+	++	-	-	-	-	-	
35	1:10 000	1:10	(+)	(+)	(+)	+	+	++	(+)	(+)	(+)	(+)	++	
36	1:100	-							-	-	-	-	-	
Vaccine-kontrolle	-	1:10	(+)	+	+	++				(+)	+	++	++	

AgNO₃ hat eine stark abtötende und entwicklungshemmende Wirkung auf das Vaccinevirus wenigstens bei länger dauernder Einwirkung. Die Verdünnung 1:2000 tötet in 18 Stunden noch sicher ab; aber selbst bei 1:20000 macht sich bereits nach 1/2 stündiger Einwirkung ein entwicklungshemmender Einfluß geltend.

Die relativ günstige Wirkung des Silbernitrats im Vergleich zu dem anderen untersuchten Schwermetallsalz, dem Sublimat, dürfte darauf beruhen, daß die Wirkung dieses Salzes in der eiweißhaltigen Vaccineaufschwemmung eine bedeutend stärkere ist. Nach den Untersuchungen Behrings zeigt sich das Silbernitrat im Serum auch gegenüber Bakterien dem Sublimat bedeutend überlegen. Im übrigen ist die Wirkung des

Silbernitrat auf Bakterien nach Behring¹, sowie nach den Untersuchungen von Krönig und Paul² eine bedeutend höhere.

Nach Chick und Martin³ töten selbst Lösungen unter 0.1 Promille Paratyphusbazillen in Wasser innerhalb weniger Minuten.

Die ausgesprochene Wirkung des AgNO₃ gegenüber dem Vaccinevirus veranlaßte uns auch zu therapeutischen Versuchen, über die weiter unten berichtet werden soll.

3. Phenol.

Geringer scheint die Wirkung des Phenols zu sein, das nunmehr geprüft wurde. In einem Kontrollversuch wurde Phenol allein aufs Auge geträufelt, um bei der stark reizenden Wirkung dieses Desinfiziens in den angewandten Verdünnungen in den ersten Stadien der Infektion diese sicher von der Entzündung durch das Phenol unterscheiden zu können. Die Versuchsanordnung entsprach im übrigen völlig der im vorausgehenden Versuch.

Tabelle III.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung der Phenollösung	Vaccine- verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:											
			1/2 Stunde						18 Stunden					
			Beobachtung nach Tagen:											
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
J. 31	1:100	1:10	—	(+)	+	+	++	++		(+)	+	++	++	++
32	1:1000	1:10		(+)	+	+	++	++		(+)	+	++	++	++
30	1:100	—	⊃*	⊃	⊃	⊃	⊃	⊃						
Vacc.- Kontr.	—	1:10		(+)	+	++	++			(+)	+	++	++	

* ⊃ bedeutet Entzündung durch das Desinfektionsmittel.

Es ergibt sich aus diesem Versuch, daß Phenol bereits in einer Verdünnung 1:200 das Vaccinevirus überhaupt nicht mehr nachweisbar beeinflusst.

Vergleichen wir demgegenüber die Wirkung des Phenols auf vegetativen Bakterienformen:

Nach v. Behring tötet 1:200 Typhus- und Diphtheriebazillen sicher in wenigen Stunden; nach Chick und Martin⁴ in der Verdünnung 1.5:100 Staphylokokken in 15 Minuten; nach den neuesten Untersuchungen von Laubenheimer (a. a. O.) in der Verdünnung 1:100 in 90 Minuten.

¹ Behring, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1887. S. 805—830.

² Krönig u. Paul, *Diese Zeitschrift*. 1897. Bd. XXV. S. 1.

³ Chick u. Martin, *The Journal of Hygiene*. 1908. Vol. VIII. Nr. 5. S. 663.

⁴ Dieselben, *Ebenda*. 1908. Nr. 5.

4. Chloroform.

Es wurde bei Zimmertemperatur „gesättigtes Chloroformwasser“ benutzt, das wie folgt hergestellt war.

0.7 Chloroform werden in 100^{cm} physiologischer Kochsalzlösung 2 Stunden lang geschüttelt. Die Mischung bleibt dann noch 24 Stunden gut verkorkt stehen und wird vor der Benutzung nochmals kräftig geschüttelt, die einzelnen Röhren, in denen Verdünnungen des Chloroformwassers auf die Vaccine einwirkten, wurden sorgfältig verkorkt, um ein Verdunsten des Chloroforms zu verhüten.

Versuchsordnung im übrigen wie gewöhnlich.

Tabelle IV.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung des Chloroform- wassers	Vaccine- verdün- nung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:									
			1/2 Stunde					18 Stunden				
			Beobachtung nach Tagen:									
			2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9
J. 18	1:10	1:0	(+)	+	+	+	++	(+)	+	+	+	++
19	1:10	1:10	(+)	+	+	+	++	+	+	+	+	++
20	1:100	1:10	+	++	++	++	+++	(+)	+	+	+	++
21	—	1:10	+	++	++	++	+++	+	++	++	+++	+++

Gesättigte Chloroformkochsalzlösung hat keine desinfizierende Wirkung; eine gewisse Hemmungswirkung macht sich bei der Verdünnung 1:1 und der Verdünnung 1:20 bemerkbar.

Die Wirkung des Chloroformwassers auf Bakterien ist nach den Untersuchungen von Salkowski¹ eine recht beträchtliche. Vegetative Milzbrandbazillen werden in 30 Minuten abgetötet.

Auch Kircher² kam zu gleichen Resultaten.

Wenn wir von den Versuchen von Buchner und Siegeli, sowie Lossen³ absehen, die im wesentlichen mit Chloroformdämpfen ausgeführt wurden, so hat neuerdings namentlich Stadler⁴ festgestellt, daß Chloroformlösungen von 1.05 pro Liter Colibazillen abtötete.

¹ Salkowski, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1888. Nr. 16. — *Virchows Archiv*. 1889. Bd. CV. S. 339.

² Kirchner, *Diese Zeitschrift*. 1890. Bd. VIII.

³ Lossen, *Münchener med. Wochenschrift*. 1889. Nr. 29. S. 341. — *Ref Baumgartens Jahresbericht*. Bd. XV.

⁴ Stadler, *Archiv f. Hygiene*. 1911. Bd. LXXIII.

Im übrigen hat schon Green¹ die im Vergleich zu Bakterien erhöhte Resistenz des Vaccinevirus gegenüber Chloroform dazu benutzt, keimfreie Lymphe herzustellen. Nach den Untersuchungen von Carini² und Nijland³ macht sich allerdings eine störende Nachwirkung des Chloroforms auf das Vaccinevirus bemerkbar.

[Tomarkin und Nadina Serebrenikoff⁴ haben zuerst auch die keimtötende Wirkung des Äthers in der Lymphe beobachtet, die neuerdings durch Fornet⁵ näher untersucht worden ist.]

5. Formalin.

Es wurden von der Originalformalinlösung (40 Prozent) Schering, die aus der Tabelle ersichtlichen Verdünnungen benutzt; die Versuchsröhrchen wurden sorgfältig verkorkt.

Versuchsordnung wie oben.

Tabelle V.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung des 40 Prozent. Formaldehyds	Vaccine- verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:												
			1/2 Stunde						18 Stunden						
			Beobachtung nach Tagen:												
			1	2	3	4	5	6-9	1	2	3	4	5	6-9	
J. 49	1:100	1:10	{	(D)	-	-	-	-	{	(D)	-	-	-	-	-
50	1:1000	1:10	{	(+)	-	-	-	-	{	(D)	-	-	-	-	-
51	1:10 000	1:10	{	(D)	(+)	+	+		{	(D)	-	-	-	-	-
48	1:100	-	{	(D)	(D)	(D)	(D)		{	(D)	-	-	-	-	-
Vaccine- kontrolle	-	1:10		(+)	+	+	+++	+++		(+)	+	++	++		+++

Das Formalin besitzt im Gegensatz zu den meisten der vorher geprüften Mittel eine sehr starke desinfizierende Wirkung.

Die Grenze der Verdünnung, die noch abtötet, liegt bei 1:10000. Gegenüber Bakterien ist die Wirkung bekanntlich eine ähnlich intensive; sie verhalten sich aber auch vielfach sogar widerstandsfähiger.

¹ Green, *Medic. Offic. Rep. Loc. Govern. Board.* 1902—1903. S. 659. — *Lancet.* 1903.

² Carini, *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1905. Bd. XXXVI.

³ Nijland, *Archiv f. Hygiene.* 1906. Bd. LVI. S. 361.

⁴ Tomarkin u. Serebrenikoff, *Arch. f. Schiff- u. Tropenhygiene.* Bd. XIV.

⁵ Fornet, *Internat. Med. Kongreß, London.* 1913.

Auf Colibazillen wirken nach Stadler (a. a. O.) eine Konzentration von 1:10000 entwicklungshemmend. Dagegen sind Staphylokokken, wie Flügge¹ gezeigt, bedeutend resistenter. Sie werden an Granaten angetrocknet durch 3 prozentige Formaldehydlösung nach Paul und Prall² erst in 60 Minuten abgetötet. 0.5 prozentige Formaldehydlösung wirkt bei gleicher Versuchsanordnung in 80 Minuten (nach Xylander).³ In Bouillon suspendierte Staphylokokken werden nach Seligmann⁴ in einer 0.6 prozentigen Formaldehydlösung noch nicht abgetötet.

5a. Desinfektionsversuch mit Formaldehyd.

Die günstigsten Resultate mit dem Formalin gaben uns Veranlassung, auch den Einfluß des Formaldehyds in Gasform zu untersuchen, und zwar unter den Bedingungen, wie sie bei der Raumesinfektion speziell für bakterielle Krankheiten erprobt sind.

Wir erwarteten hier von vornherein um so mehr ein positives Resultat, als ja bekanntlich gegenüber Bakterien die Formalindämpfe bedeutend intensiver wirken als die wässerigen Lösungen. Nach Stadler ist die entwicklungshemmende Wirkung der Dämpfe bei einer 160 mal geringeren Konzentration vorhanden, was wohl auf die starke Adsorptionsavidität des Dampfes zum Wasser zurückzuführen ist.

Wir benutzten zur Gasentwicklung den Breslauer Apparat und die von Flügge als ausreichend erprobten Mengen von Formalin. Das Zimmer, ein fast leerer Raum von $3 \times 3 \times 4$ m, wurde sorgfältig abgedichtet; der Apparat war in der Mitte aufgestellt. Das Vaccinevirus war 1:20 verdünnt, an Seidenfäden angetrocknet, die $1\frac{1}{2}$ m vom Apparat entfernt auf einem Tische lagen. Da es uns darauf ankam, die minimalste Zeit zur Abtötung zu ermitteln, so war es notwendig, das Virus zu verschiedenen Zeiten entnehmen zu können, ohne das mit Gas erfüllte Zimmer öffnen zu müssen; zu diesem Zwecke war an jeden der Seidenfäden ein Zwirnsfaden geknüpft; diese waren durch das Schlüsselloch nach außen geführt. Man konnte so, wenn man die Watte im Schlüsselloch lockerte, leicht die infizierten Fäden zu beliebigen Zeiten unter Kontrolle durch ein kleines Beobachtungsfenster aus dem Raume herausholen, ohne daß ein Gasverlust stattgefunden hätte, oder der Arbeitende durch die Dämpfe belästigt wurde. Die einzelnen Fäden wurden, nachdem das Formalin

¹ Flügge, *Klinisches Jahrbuch*. 1900. S. 7.

² Paul u. Prall, *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. 1907. Bd. XXVI. S. 116.

³ Xylander, *Ebenda*. S. 180.

⁴ Seligmann, *Desinfektion*. 1908. S. 12.

an der frischen Luft möglichst verdunstet war, in einigen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung zerzupft und die so gewonnene Emulsion wurde auf ihre Infektiosität am Kaninchenauge geprüft. Zur Kontrolle wurden Fäden desselben Materials von gleichem Alter, die jedoch nicht im Formalinzimmer gewesen waren, in gleicher Weise verarbeitet.

Die Tabelle Va gibt das Resultat eines derartigen Versuches. Die Zeit wurde von dem Augenblicke an bestimmt, in dem die Dampfentwicklung einsetzte.

Der Kontrollfaden wurde gleichzeitig mit dem letzten aus dem mit Formalin erfüllten Raume entnommenen Faden ausgewaschen und das Material verimpft.

Tabelle Va.

Nummer des Kaninchens	Zeit der Einwirkung des Gases auf die Vaccinfäden	Resultat der Impfung* nach Tagen			
		1	2	3	4—8
J. 100	30 Minuten	—	—	(+)	—
101	1 Stunde	—	—	—	—
102	2 Stunden	—	—	—	—
103	3 „	—	—	—	—
104	—	—	—	(+)	+

* Alle Impfungen wurden an beiden Augen vorgenommen. Das Resultat war jeweils das gleiche.

Es ergibt sich aus dieser Versuchsreihe, daß bei der gewöhnlichen Raumesinfektion mit Formalin das Vaccinevirus bereits in 30 Minuten abgetötet ist.

Nach den Anweisungen des Bundesrates zur Bekämpfung der Pocken vom 28. I. 1904, Berlin 1905 (Richard Schoetz), Anlage 3 ist für die Raumesinfektion nach Pockenerkrankung eine 4 bis 7 stündige Einwirkung des Gases vorgeschrieben. Wenn man bedenkt, in welcher kurzen Zeit das Vaccinevirus an Fäden angetrocknet, allerdings dem Dampf leicht zugänglich, vernichtet wird, so dürfte diese Zeit auch für die Keime an schwerer zugänglichen Objekten völlig ausreichen, sofern man für das Pockenvirus die gleiche Resistenz annimmt, wie für das der Vaccine.

Für Abwaschungen schreiben die Anweisungen zur Bekämpfung der Pocken, festgestellt in der Sitzung des Bundesrates vom 21. März 1907, eine etwa 1 prozentige Formalinlösung vor. Diese dürfte angesichts der starken Wirkung der Formalinlösung auf Vaccinevirus in vitro vollkommen genügen; sie ist wohl auf Grund der sich aus unseren Versuchen ergebenden intensiveren Wirkung der weiterhin empfohlenen Sublimat- und Karbolsäurelösung in den vorgeschriebenen Mengenverhältnissen vorzuziehen.

6. Antiformin.

Es wurde Antiformin, bezogen von S. Kühne, Berlin, benützt. Versuchsanordnung wie vorher. Nach $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung ist die an sich trübe Vaccineemulsion 1:10 bei Antiforminzusatz 1:10 völlig klar; bei 1:100 fast klar und bei 1:1000 erscheint die Flüssigkeit bis auf einen kleinen flockigen Bodensatz völlig geklärt. Das Resultat des Abtötungsversuches zeigt Tabelle VI.

Tabelle VI.

Nummer des Kaninchens	Ver- dünnung des Anti- formins	Vaccine- ver- dünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:									
			$\frac{1}{2}$ Stunde					18 Stunden				
			Beobachtung nach Tagen:									
			2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9
J. 80	1:10	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
81	1:100	1:10	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
82	1:1000	1:10	—	(+)	(+)	++	+++	—	—	—	—	—
83	1:10	—	⊃	⊃	—	—	—					
Vaccine- kontrolle	—	1:10	(+)	+	+	++	+++					

Resultat: Das Antiformin tötet in einer Verdünnung 1:2000 das Vaccinevirus bei $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung noch nicht ab, wohl aber bei 15 stündiger Einwirkung.

Das Verhalten des Vaccinevirus gegenüber Antiformin erscheint beachtenswert. Nach den eingehenden Untersuchungen von Uhlenhuth zerfallen Cholerabazillen in einer 0.05 prozentigen Lösung schon in 20 Minuten. Staphylokokken, an Granaten angetrocknet, werden allerdings durch 3 prozentige Lösung erst nach 25 Minuten abgetötet. Wenn wir damit die enorme Resistenz säurefester Bakterien vergleichen, so können wir jedenfalls sagen, daß das Vaccinevirus entsprechende Eigenschaften nicht besitzt.

7. H₂O₂.

Es wurde eine Lösung von Kahlbaum, Berlin mit 30 Gewichtsprozent benutzt. Die Verdünnungen beziehen sich auf diese Originallösung. Die Mischung des Desinfiziens mit der Vaccineaufschwemmung wurde in wohl verkorkten Röhrchen gehalten. Versuchsanordnung im übrigen wie oben. Das Resultat des Abtötungsversuches zeigt die Tabelle VII.

Tabelle VII.

Nummer des Kaninchens	Ver- dünnung des H ₂ O ₂	Vaccine- ver- dünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:										
			1/2 Stunde					18 Stunden					
			Beobachtungen nach Tagen:										
			2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9	
J. 40	1:100	1:10	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
41	1:1000	1:10	(+)	+	+	++	+++	(+)	+	+	++	+++	+++
42	1:10000	1:10	(+)	+	+	++	+++	(+)	+	++	++	+++	+++
43	1:100	—	•	•	∩	—	—	—	—	—	—	—	—
44	—	1:10	(+)	+	+	++	+++	—	—	—	—	—	—

Es ergibt sich aus dieser Versuchsreihe, daß eine 200fache Verdünnung der 30prozentigen Wasserstoffsperoxydlösung das Vaccinevirus in 1/2 Stunde abtötet. Verdünnungen von 1:2000 und weniger scheinen ohne Wirkung zu sein. An sich bedingt das H₂O₂ in der maximalen zur Verwendung gelangten Konzentration eine beträchtliche Reizung des Auges.

Die Wirkung des Wasserstoffsperoxyds gegenüber Bakterien ist jedenfalls nach den vorliegenden neueren Untersuchungen keine erheblich höhere.

Nach Reichel¹ (Untersuchungen an Typhusbazillen und coliähnlichem Bacillus, Entfernung des überschüssigen H₂O₂ durch ein Katalasepräparat) ergibt sich, daß

in 6 Stunden 1.25 pro Mille,
 „ 12 „ 1 „ „ und
 „ 24 „ 0.1 „ „ H₂O₂

Typhusbazillen abtöten.

Bei 2stündiger Einwirkung ist eine 5promillige Lösung notwendig.

Nach Croner² erfolgt eine Abtötung der Staphylokokken in 3promilliger Lösung noch nicht; in 5promilliger bereits in einer Stunde.

8. Chininum hydrochloricum.

Der Einfluß des Chinins als eines für Protozoen wirksamen Mittels schien uns von besonderem Interesse, weil er auch bis zu einem gewissen Grade Aufschluß geben konnte über die Natur des Pocken-erregers. Eine Wirkung ist, wie sich aus der Tabelle VIII ergibt, selbst bei einer Verdünnung 1:200 bei 18stündiger Einwirkung nicht zu konstatieren.

¹ Reichel, *Diese Zeitschrift*. 1908. Bd. LXII. S. 49.

² Croner, *Ebenda*. 1909. Bd. LXIII.

Tabelle VIII.

Nummer des Kaninchens	Ver- dünnung des Chininum- hydro- chloricum	Vaccine- ver- dünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:									
			1/2 Stunde					18 Stunden				
			Beobachtung nach Tagen:									
			2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9
J. 13	1:100	1:10	+	+	++	+++			+	+	++	+++
14	1:1000	1:10	(+)	+	+	++			(+)	+	++	+++
15	1:10000	1:10	+	++	+++	+++			+	+	++	+++
17	—	1:10	+	++	+++	+++						

Auch auf Bakterien ist die Wirkung des Chinins eine sehr geringe. Milzbrandbazillen werden nach Koch bei einer Verdünnung 1:800 gehemmt, bei 1:625 abgetötet. Demgegenüber ist die Wirkung auf Protozoen eine enorme. 1:10 000 tötet Paramazien in 2 Stunden. 1:1000 in wenigen Minuten (Grethe)¹, Tappeiner.²

9. Salizylsäure.

Auch Salizylsäure ist ohne bemerkbaren Einfluß, wie das die Tabelle IX zeigt.

Tabelle IX.

Nummer des Kaninchens	Ver- dünnung der Salizyl- säure	Vaccine- ver- dünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:											
			1/2 Stunde					18 Stunden						
			Beobachtung nach Tagen:											
			2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9		
J. 22	1:1000	1:10	(+)	+	++	++	+++			(+)	+	++	+++	+++
23	1:10000		(+)	+	+++	+++	+++			(+)	+	+++	+++	+++

Die Desinfektionswirkung von Salizylsäure auf Bakterien ist minimal. In 0.25 prozentiger Lösung tötet sie Tuberkelbazillen erst nach 6 Stunden (Yersin).³

10. bis 14. Arsen und Arsenderivate.

Wir haben das Arsen und eine Reihe von Arsenderivaten untersucht. Die Resultate zeigen die Tabellen X bis XIV (S. 112).

Das As₂O₃ bedingt in einer Verdünnung 1:600 wenigstens in 18 Stunden eine vollkommene Abtötung des Virus. Bei der Verdünnung von 1:2000 läßt sich eine sichere Wirkung nicht mehr nachweisen.

¹ Grethe, *Deutsches Archiv f. klin. Medizin.* Bd. LVI.

² Tappeiner, *Münchener med. Wochenschrift.* 1896. Nr. 1.

³ Yersin, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1888. S. 60.

Tabelle X—IV.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung des As ₂ O ₃	Vaccine- verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:									
			1/2 Stunde					18 Stunden				
			Beobachtung nach Tagen:									
			2	3	4	5	6—9	2	3	4	5	6—9
J. 37	1:300	1:10						(+)	—	—	—	
28	1:1000	1:10	(+)	+	++	++	+++	(+)	+	++	++	
29	1:10000	1:10	(+)	+	++	++		(+)	+	++	++	
Kontr.	—	1:10	(+)	+	++	++						
	Verdünnung des Atoxyls											
K. 51	1:100	1:20		(+)	+	+	++		+	+	++	
52	1:1000	1:20		+	+	+	++	(+)	+	+	++	
53	1:100	—	weißl. Trübung d. Kornea									
	Verdünnung des Atoxyls mit Thioglykolsäure											
62	1:100	1:20	(+)	+	+	++		(+)	—	—	—	
63	1:1000	1:20	+	+	+	++		(+)	(+)	+	++	
64	1:10000	1:20	+	+	+	++		(+)	+	+	++	
65	1:100	—	wie bei Nr. 53									
	Verdünnung des Atoxylreduk- tionsproduktes II											
K. 57	1:100	1:20		+	+	++			+	+	++	
58	1:1000	1:20	(+)	+	+	++		(+)	+	+	++	
59	1:10000	1:20	(+)	+	+			(+)	+	+		
60	1:100	—	wie bei Nr. 53									
	Verdünnung des Arsen- phenylglyzins											
K. 54	1:100	1:20		(+)	+	+		(+)	(+)	+	+	
53	1:1000	1:20		+	+	+		(+)	+	+		
Kontr.	—	1:20	(+)	+	+	++	++	+	+	+	++	

Das Atoxyl ist in der Verdünnung 1:200 ohne Einfluß. An sich bedingt es in dieser Verdünnung eine weißliche Trübung der Kornea.

Das Reduktionsprodukt, das bei der Vereinigung von Atoxyl mit Thioglykolsäure entsteht und dessen intensive Wirkung auf Trypanosomen bereits früher von Friedberger¹ untersucht worden war, ist auch gegenüber dem Vaccinevirus wirksamer als das Atoxyl. Es bedingt eine Abtötung bei 18 stündiger Einwirkung in der Verdünnung 1:200. Bei der Verdünnung 1:2000 läßt sich eine geringgradige Entwicklungshemmung bei gleichlanger Einwirkung konstatieren.

¹ *Berliner klin. Wochenschrift.* 1908.

Ein weiteres Reduktionsprodukt des Atoxyls war ohne Einfluß. Beide Präparate wirken stark reizend auf das Auge.

Das Arsenophenylglyzin wirkt nicht abtötend in Verdünnung 1:200, bei 18 stündiger Einwirkung zeigt es aber Entwicklungshemmung.

15. Brechweinstein.

Brechweinstein zeigt keine abtötende, sondern in den Verdünnungen 1:200 und 1:2000 lediglich eine entwicklungshemmende Wirkung, wie sich aus Tabelle XV ergibt.

Tabelle XV.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung des Brechweinsteins	Vaccine-Verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:									
			1/2 Stunde					15 Stunden				
			Beobachtung nach Tagen:									
			2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9
J. 37	1:100	1:10	(+)	(+)	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	+	++
38	1:1000	1:10	(+)	(+)	()	+	+	(+)	(+)	(+)	+	++
39	1:10 000	1:10	+	+	+	++	+++	(+)	(+)	+	++	
36	1:100	—	leichte Entzündung									
Kontr.	—	1:10	+	+		+	+++					

16. Cyan.

Es wurde eine 12 prozentige frische Cyanwasserstofflösung (Kahlbaum) benutzt. Die Verdünnungen beziehen sich auf diese Stammlösung. Es wurden die Mischungen in verkorkten Gläschen angesetzt. Das Resultat war ein negatives, wie die Tabelle XVI zeigt.

Tabelle XVI.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung des Cyans	Vaccine-Verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:									
			1/2 Stunde					18 Stunden				
			Beobachtung nach Tagen:									
			2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9
J. 45	1:100	1:10	(+)	()	+			(+)	(+)	+		
46	1:1000	1:10	(+)	(+)	+	+	+	(+)	(+)	+	+	++
47	1:10 000	1:10	(+)	+	+	++		()	+	+	++	
Kontr.			s. Tabelle XV.									

17. Hydroxylamin.

Die Hydroxylaminlösung reagiert sauer; sie wurde vor der Verwendung neutralisiert (vgl. Tabelle XVII).

Das Hydroxylamin tötet das Vaccinevirus in der Verdünnung 1:200 bei länger dauernder Einwirkung ab.

Tabelle XVII.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung des Hydroxyl- amins	Vaccine- verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:									
			1/2 Stunde					18 Stunden				
			Beobachtung nach Tagen:									
			2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9
J. 84	1:100	1:10	-	(+)	+	+	+	-	-	-	(+)	-
85	1:1000	1:10	(+)	(+)	+	+	+	(+)	+	+	+	+
86	1:10 000	1:10	(+)	(+)	+	++	++	(+)	+	++	++	++
Kontr. 87			(+)	+	+	++	++	+	+	++	++	++

Die Wirkung des Hydroxylamins auf Bakterien ist von Loew¹ sowie Heinisch² untersucht.

Die Wirksamkeit auf Bakterien liegt nach letzteren zwischen der des Sublimats und der Karbolsäure; 0.4 prozentige Lösung tötet Milzbrandbazillen erst in 7 Stunden.

18. bis 20.

Wir haben dann einige Körper der Saponingruppe untersucht, und zwar ein Saponin unserer Sammlung, Solaninhydrochloricum (Merck), sowie Sapotoxin (Merck).

Die Resultate mit diesen Präparaten zeigen die Tabellen XVIII bis XX.

Tabelle XVIII bis XX.

Nummer des Kanin- chens	Verdünnung des Mittels	Vaccine- verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:											
			1/2 Stunde					18 Stunden						
			Beobachtung nach Tagen:											
			2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9		
Saponin.														
J. 1	1:100	1:10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	1:1000	1:10	⊂	⊂	(+)	+	+	⊂	⊂	(⊂)	-	-		
3	1:10 000	1:10	-	(+)	+	+	++		+	+	++			
Kontr. 4	-	1:10		+	++	++								
Sapotoxin.														
J. 105	1:100	1:10	(+)⊂	(+)⊂	?	(+)	+	(+)⊂	-⊂	-	-	-		
106	1:1000	1:10	(+)	(+)	+	+	++	-	(+)	+	+	++		
107	1:10 000	1:10	(+)	(+)	+	+	+	(+)	-	+	+	++		
Solanin.														
J. 109	1:100	1:10	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-		
110	1:1000	1:10	(+)	(+)	(+)	+	+	(+)	-	(+)	-	-		
111	1:10 000	1:10	(+)	(+)	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-		
Kontr. 112	-	1:10	(+)	+	+	+	++							

¹ Loew, *Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol.* München 1889.

² Heinisch, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1889. Nr. 8.

Das Saponin tötet bei $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung in einer Verdünnung 1:200, bei 18 stündiger Einwirkung sogar in einer Verdünnung 1:2000 das Vaccinevirus ab. v. Prowazek sah Abtötung des Vaccinevirus durch Saponin (1 Prozent) erst nach 20 Stunden. Arndt¹ hatte negative Resultate.

Das Sapotoxin ist etwas weniger wirksam; es tötet in der Verdünnung 1:200 nicht mehr sicher bei $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung, dagegen besitzt das Solanin wieder eine sehr starke Wirkung, bei 18 Stunden langem Kontakt tötet es noch in der Verdünnung 1:20 000. Alle drei Mittel wirken zugleich stark reizend auf die Kornea.

21. Seife.

Da gewisse Seifen besonders nach den Untersuchungen von Reichenbach² eine bemerkenswerte desinfizierende Wirkung besitzen, und da andererseits Neufeld die starke zytolytische Wirkung auf Blutkörperchen und Protozoen festgestellt hat, so haben wir entsprechende Experimente mit Natrium Oleinicum angestellt.

Die Resultate zeigt die Tabelle XXI.

Tabelle XXI.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung des Natrium oleinicum	Vaccine- verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:					
			$\frac{1}{2}$ Stunde			18 Stunden		
			Beobachtung nach Tagen:					
			2	3	4	2	3	4
J. 20	1:100	1:10	+	+	++	(+)	+	++
21	1:1000	1:10	+	+	++	(+)	+	++
22	1:10 000	1:10	+	+	++	(+)	+	++

Das Resultat ist ein vollkommen negatives; selbst bei der Verdünnung 1:200, bei der v. Prowazek eine Abtötung in 20 Stunden beobachtet hat.

22. Pyocyanase.

Die Pyocyanase, die nach den Untersuchungen von Emmerich und Loew³ eine starke bakterizide Wirkung besitzt, ist gleichfalls selbst unverdünnt ohne Einfluß auf das Vaccinevirus.

¹ Arndt, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1908. Bd. XLVII. Abt. I. Orig. S. 237.

² *Diese Zeitschrift*. 1908. Bd. LIX. S. 296.

³ *Diese Zeitschrift*. Bd. XXXI. 1899.

Tabelle XXII.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung der Pyocyanase	Vaccine- verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:									
			1/2 Stunde					18 Stunden				
			Beobachtung nach Tagen:									
			2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9
J. 16	Original	1:10	+	+	+	++			(+)	+	+	++
17	1:10	1:10	+	+	+	++			(+)	+	+	+++
18	1:100	1:10	+	+		++			(+)	+	++	++

Wir benutzten zu unseren Untersuchungen ein Pyocyanasepräparat der Sächsischen Serumwerke.

Nach Emmerich und Loew wirkt die Pyocyanase außerordentlich intensiv abtötend auf Bakterien. Innerhalb 2 Stunden werden z. B. zwei Millionen Milzbrandbazillen durch 1^{cem} Pyocyanase aufgelöst.

Die günstigen Resultate der Autoren wurden durch Klimoff¹ und zahlreiche andere Nachprüfer bestätigt. Um so auffallender erscheint die gänzliche Wirkungslosigkeit der Pyocyanase selbst im unverdünnten Zustand gegenüber dem Vaccinevirus.

23. Galle.

Die Galle besitzt unverdünnt eine vaccinizide Fähigkeit, wie das die Tabelle XXIII zeigt.

Tabelle XXIII.

Nummer des Kaninchens	Verdünnung der Galle	Vaccine- verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:											
			1/2 Stunde					18 Stunden						
			Beobachtung nach Tagen:											
			2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9		
J. 108	Original	1:10	(+)	(+)	+	+	++			-	-	-	-	-
106	1:10	1:10	(+)	(+)	+					(+)	(+)			
107	1:100	1:10	(+)	+	+	++	+++			(+)	(+)	+	+	++
Kontr.	-	1:10	+	+	+	++	+++							

Es ergibt sich aus Tabelle XXIII, daß eine Abtötung innerhalb 18 Stunden erfolgen kann, wie das auch schon v. Prowazek angibt. Eine Entwicklungshemmung läßt sich noch bei der Verdünnung 1:100 bei 18 stündiger Einwirkung nachweisen.

¹ Klimoff, *Diese Zeitschrift*. 1901. Bd. XXXVII. S. 120.

Für pathogene Bakterien ist die Galle nach F. Fränkel und P. Krause¹ sogar ein guter Nährboden; nur der *Diplococcus lanceolatus*, weniger der *Diphtheriebacillus* und der *Streptococcus* werden im Wachstum gehemmt. Neufeld² fand, daß die Galle von einer großen Anzahl untersuchter Bakterien ganz spezifisch Pneumokokken auflöse.

Fornet³ sowie Pies⁴ konstatierten, daß frische Rindergalle Typhusbazillen abtötet. Die Bakterizidie der Galle wird durch Kochen vermindert, aber nicht zerstört. Auch auf das Lyssavirus wirkt die Galle nach Vallé⁵ und R. Kraus⁶ abtötend.

24. Gallenbestandteile.

Zur Entscheidung der Frage, welchen Gallenbestandteilen die vaccinizide Wirkung zukommt, haben wir aus Galle folgende Komponenten isoliert:

1. Das Mucin nach Salkowski,
2. die ätherlöslichen Bestandteile, und
3. die Gallensäuren nach Salkowski und Hoppe-Seyler.

Die einzelnen Fraktionen wurden mit Kochsalzlösung auf das ursprüngliche Gallenvolum (200^{ccm}) aufgefüllt und auf ihre Einwirkung gegenüber Vaccine in der gewöhnlichen Versuchsanordnung untersucht. Das Resultat ergibt die Tabelle XXIV.

Tabelle XXIV.

Nummer des Kaninchens	Gallenbestandteile	Vaccineverdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:									
			1/2 Stunde					18 Stunden				
			Beobachtung nach Tagen:									
			2	3	4	5	6	2	3	4	5	6-9
Y. 34	Mucin	1:10	+	++	+++	+++	+++	+	+	++	++	+++
35	Äther (lösl.)	1:10	(+)	+	++	++	+++	-	(+)	-	-	-
36	Gallens. Salze	1:10	+	+	+	+	++	-	-	-	-	-
Kontr.37	-	1:10	+	+	++	++	+++					

Die Tabelle zeigt, daß die ätherlöslichen Gallenbestandteile und die Gallensäuresalze es sind, denen bei längerer Einwirkung die vaccinizide Fähigkeit zukommt.

¹ Fränkel u. Krause, *Diese Zeitschrift*. 1899. Bd. XXXII. S. 106.
² Neufeld, *Ebenda*. 1900. Bd. XXXIV.
³ Fornet, *Archiv f. Hygiene*. 1907. Bd. LX. S. 134.
⁴ Pies, *Ebenda*. 1907. Bd. LXII. S. 107.
⁵ Vallé, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1899.
⁶ Kraus, *Diese Zeitschrift*. 1900. Bd. XXXIV. S. 31.

Die Wirkung der gallensauren Salze auf Bakterien (Gonokokken) wurde von W. Löhlein¹ untersucht. 1 prozentige Lösungen haben eine starke abtötende Wirkung.

Im Anschluß an sogleich zu besprechende Versuche über den Einfluß der keimtötenden Wirkung von photodynamisch wirkenden Farbstoffen bei Sonnenlicht haben wir entsprechende Versuche auch mit Galle angestellt. Die Galle wurde mit der Vaccine vermischt und in Verdünnungen bis 1:100 000 jeweils 10 Minuten, 30 Minuten 1 Stunde und 4 Stunden dem Sonnenlicht ausgesetzt; entsprechende Kontrollen mit Röhren, die in schwarzes Papier eingewickelt waren. Wir können auf eine detaillierte Wiedergabe dieser Versuche verzichten, da in keinem Fall eine Abtötung eingetreten ist; nur bei 4 Stunden langer Einwirkung der unverdünnten und der 1:10 Galle trat eine geringe Verzögerung im Verlauf der Infektion ein.

Einfluß des Lichtes unter gleichzeitiger Wirkung von Farbstoffen.

Seit den ersten Angaben von Downs und Blunt² ist die abtötende Wirkung des Lichtes auf Mikroorganismen, speziell auf Bakterien, unausgesetzt studiert worden. Duclaux³, Buchner⁴, Esmarch⁵, Berger⁶, Ruhemann⁷ schrieben der Einwirkung des Sonnenlichtes, namentlich auf pathogene Bakterien, eine hohe Bedeutung zu, die doch in hygienischer und epidemiologischer Beziehung nach neueren Untersuchungen, obwohl sie natürlich in weitem Ausmaß vorhanden, vielfach überschätzt worden ist. Andererseits hat die therapeutische Verwendung des Sonnenlichtes, sowohl wie künstlicher Lichtquellen seit den bahnbrechenden Untersuchungen Finsens immer weitere Anwendung gefunden. Die abtötende Wirkung kommt besonders den kurzwelligen ultravioletten Strahlen zu; Dieudonné⁸ leugnet überhaupt eine Entwicklungshemmung durch rote und gelbe Strahlen.

Die eingehenden Untersuchungen, die von Thiele und Wolf⁹, und namentlich die von Wiesner¹⁰ haben aber ergeben, daß alle Teile des

¹ Löhlein, W., *Klin. Monatsblätter f. Augenheilkunde* 1908. II. S. 522.

² Downs and Blunt, *Proceedings of the Roy. Soc. of London*. 1877. Vol. XXVI. Nr. 184.

³ Duclaux, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1887. Nr. 2.

⁴ Buchner, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1892. Bd. XI.

⁵ Esmarch, *Diese Zeitschrift*. 1894. Bd. XVI.

⁶ Berger, *Therapeut. Monatshefte*. 1898. Nr. 3 u. 4.

⁷ Ruhemann, *Zeitschrift f. diät. u. physik. Therapie*. Leipzig 1898.

⁸ Dieudonné, *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. 1894. Bd. IX.

⁹ Thiele u. Wolf, *Archiv f. Hygiene*. 1906. Bd. LVII.

¹⁰ Wiesner, *Ebenda*.

sichtbaren Sonnenspektrums bakterizide Wirkung besitzen, auch die roten Strahlen.

Die maximale Wirkung kommt jedoch nach Wiesner von den unsichtbaren Strahlen nicht nur den ultravioletten zu, sondern auch den ultraroten, und zwar besitzen allgemein nach ihm die unsichtbaren Strahlen den stärksten Effekt, ja die langwelligen Strahlen sollen den kurzwelligen sogar an desinfizierender Kraft überlegen sein.

Die Mitwirkung des Sauerstoffs ist im Gegensatz zu älteren Angaben nach den eingehenden Untersuchungen von Thiele und Wolf nicht notwendig. Nach Wiesner jedoch tritt die Abtötung bei Sauerstoffgegenwart schneller ein als bei Sauerstoffmangel.

Thiele und Wolf haben die Ansicht von Dieudonné, wonach nur bei Abtötung der Bakterien H_2O_2 beteiligt ist, endgültig zu widerlegen vermocht.¹

Die Abtötung der Bakterien erfolgt übrigens in unserm Klima auch bei intensiver Sonnenbestrahlung und unter sonst günstigen Bedingungen immer erst in mehreren Stunden. Relativ resistent erweisen sich von den pathogenen Keimen der Staphylococcus und Bacillus Pneumoniae (Friedländer).

Nun kann man allerdings die Lichtwirkung dadurch wesentlich beschleunigen und verstärken, daß man vorher gewisse Farbstoffe zur Mikroorganismenaufschwemmung zusetzt.

Raab² hat zuerst im Jahre 1898 unter Tappeiners Leitung Versuche mit Protozoen angestellt unter Verwendung von Acridinlösungen. Die Abtötung von Paramäzien erfolgte durch eine Acridinlösung 1:20 000 bei Sonnenlicht in 6 Minuten; im Dunkeln blieben sie unter gleichen Bedingungen mindestens 10 000 mal länger am Leben. Die Wärmewirkung konnte ausgeschaltet werden. Es handelt sich also um eine besondere Lichtwirkung, die Tappeiner, der sich nachher in Gemeinschaft mit Jodlbauer mit dieser Frage intensiv beschäftigt hat, als Photodynamie bezeichnet. Nach Versuchen mit Strahlenfilter beruht die Wirkung auf Absorption bestimmter Strahlen. Sie bleibt aus, wenn die Strahlen, die die photodynamische Substanz absorbiert, vorher abfiltriert werden, während die anderen Strahlen nahezu ohne Einfluß sind. Die Absorption ist jedoch nicht die einzige Bedingung; denn die photodynamische Wirkung zeigt sich nach Tappeiner ausschließlich gegenüber fluoreszierenden Farbstoffen. Die hier beobachteten Erscheinungen erinnern an die von H. W. Vogel³ an

¹ Inwieweit nicht doch gewisse Veränderungen des Nährmediums für die Keimtötung durch Licht verantwortlich zu machen sind (Kruse, *Diese Zeitschrift*. 1895 Bd. XIX) sei dahingestellt.

² Raab, *Zeitschrift f. Biologie*. 1900. Bd. XXXIX. Hft. 4.

³ H. W. Vogel, *Handbuch der Photographie*.

Bromsilberplatten entdeckten optischen Sensibilisierungen. Vogel hat gezeigt, daß die Silbersalze der photographischen Platten, die im wesentlichen nur die blauen und violetten Strahlen adsorbieren, durch Zusatz gewisser Farbstoffe auch für rote und gelbe Strahlen empfindlich werden.

Nach Tappeiner¹ ist aber diese Sensibilisierung von der photodynamischen Wirkung streng zu trennen, da die photodynamische Wirkung lediglich fluoreszierenden Stoffen zukommt, während die Sensibilisierung auch mit Stoffen geschieht, welchen die Fähigkeit zu fluoreszieren abgeht.

Es handelt sich nach Tappeiner auch deshalb bei der Wirkung der fluoreszierenden (photodynamischen) Stoffe nicht um eine Steigerung der einfachen Lichtwirkung im Sinn einer Sensibilisierung, weil nach ihm für die Abtötung von Bakterien durch fluoreszierende Stoffe die Anwesenheit von Sauerstoff notwendig ist, während die bloße Lichtwirkung, wie oben schon gezeigt, auch im sauerstofffreien Medium erfolgt.

Dreyer² hält im Gegensatz zu Tappeiner die Fluoreszenz nicht für entscheidend, weil es Stoffe gibt, die stark fluoreszieren und fast gar nicht sensibilisieren und umgekehrt (Cyanin).

Straub³ erklärt die photodynamischen Erscheinungen durch Autoxydation im Sinn von Bach und Engler;⁴ dem sind Tappeiner und Jodlbauer entgegengetreten.

Die von Ledoux-Lebard⁵ beobachtete Bildung von schädlichen Stoffen in vorbelichteten Lösungen ist nach Tappeiner nicht die Ursache der spezifischen Wirkung. Er wies nach, daß sich in der vorbelichteten Eosinlösung Ledoux-Lebards Säure durch die Bleichung gebildet hat; nach deren Neutralisierung schwindet die Abtötung.

Tappeiner und Jodlbauer⁶ haben nach Raab in eingehenden Untersuchungen den Einfluß fluoreszierender Farbstoffe bei Belichtung auf Protozoen, Bakterien und Schimmelpilze studiert. Die Wirkung dieser Farbstoffe auf alle diese Mikroorganismen ist an sich meist eine minimale, wird aber bei gleichzeitiger (an sich) innerhalb der Versuchszeit auch unwirksamer Sonnenbestrahlung eine außerordentlich intensive.

Protozoen (Paramäzieren) sind im allgemeinen bedeutend empfindlicher als Bakterien und Schimmelpilze. Die geringere Wirkung auf Bakterien erklären Tappeiner und Jodlbauer damit, daß das Eindringen der fluoreszierenden Farbstoffe infolge der derberen Membrane verlangsamt sei.

¹ Tappeiner, *Archiv f. Hygiene*. 1905.

² Dreyer, *Mitteilung aus Finsens Lichtinstitut*. 1904. Hft. 7.

³ Straub, *Münchener med. Wochenschrift*. 1904. Nr. 25.

⁴ Bach u. Engler, *Biochemisches Centralblatt*. Bd. I. — *Ber. d. Deutschen chem. Gesellschaft*. Bd. XXX.

⁵ Ledoux-Lebard, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1902.

⁶ *Die sensibilisierende Wirkung fluoreszierender Substanzen*. Leipzig 1907.

Als besonders mikrobizid erweisen sich von den untersuchten Farbstoffen Methylenblau, Phenolsafranin, Tetrachlortetrajodfluorescein. Eosin ist bedeutend weniger wirksam.

Auf die Bakterien wirken dabei ganz andere photodynamische Stoffe als auf die Paramazien; z. B. wirkt die Dichloranthracendisulfosäure auf Paramazien äußerst intensiv, nicht aber auf Bakterien und Fadenpilze. Umgekehrt wirkt das Methylenblau auf Paramazien deutlich schwächer als das Tetrachlortetrajodfluorescein. Auf Bakterien hingegen ist sein Einfluß ebenso groß.

Auf Schimmelpilze wiederum ist Methylenblau ohne Wirkung, während durch Erythrosin, Phenosafranin und Rose bengale die Tötung der Pilze erfolgt. Weitere Untersuchungen über die Einwirkung photodynamischer Stoffe auf Bakterien sind von Mettler¹ ausgeführt worden. Er konstatierte die entwicklungshemmende Wirkung von Eosin, Erythrosin und Fluorescein bei gleichzeitiger Belichtung im Sinne von Tappeiner (Zusatz der Farbstoffe zum Nährboden). Wurde das Licht durch eine verdünnte Lösung eines photodynamischen Stoffes filtriert, so wirkte das so filtrierte Licht schwächer bakterizid als das diffuse Tageslicht.

Zu analogen Resultaten kam Huber;² auch er fand in Übereinstimmung mit Tappeiner die Notwendigkeit des Sauerstoffes für die Abtötung. Auch Reitz³ konstatierte eine photodynamische Wirkung von Fluorescein und Fluoresceinanilid sowie Eosin auf Bakterien.

Angesichts des elektiven Verhaltens der einzelnen fluoreszierenden Farbstoffe bei den erwähnten Mikroorganismengruppen waren wir bei den Versuchen mit dem Vaccinevirus zunächst auf ein blindes Probieren angewiesen.

Die Versuchsanordnung wich bei den Versuchen mit Farbstoffen insofern von der bisher benutzten ab, als in kürzeren Zeitintervallen, nämlich jeweils 10 Minuten, 30 Minuten, 1 Stunde, 3 Stunden, 4 Stunden und in einzelnen Versuchen 7 Stunden nach der Einwirkung des Farbstoffes auf die Vaccineverdünnung bei Sonnenlicht Material entnommen und auf Abtötung des Virus untersucht wurde. Die Versuche wurden nur an schönen klaren Frühlings- und Vorsommertagen bei intensiver Sonnenbestrahlung ausgeführt, und es war dafür Sorge getragen, daß möglichst während der ganzen Versuchszeit die Röhrchen dem Sonnenlicht ausgesetzt waren. Zur Kontrolle wurde in einem Versuchsröhrchen Lymphe allein der Sonnenbestrahlung entsprechend lange unterworfen. Es sei hier gleich bemerkt, daß in keinem Fall auch bei der maximalen Bestrahlungszeit das Sonnenlicht allein imstande war, das Vaccinevirus abzutöten.

¹ Mettler, *Archiv f. Hygiene*. 1905. Bd. LIII.

² Huber, *Ebenda* 1905. Bd. LIV.

³ Reitz, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1908. Bd. XLV.

In einem weiteren Kontrollversuch wurde die Lymphe mit der Farbstofflösung versetzt, in innen geschwärztes Papier lichtdicht eingewickelt. Auch diese Röhren wurden mit den übrigen zugleich dem Sonnenlicht ausgesetzt. Dieser Kontrollversuch diente dazu, den Einfluß des Farbstoffes an sich zu eruieren und zwar etwa bei gleicher Erwärmung als die, bei der die Einwirkung unter gleichzeitiger Lichtbestrahlung stattfand. Es sei auch bezüglich dieser Kontrolle schon vorweg bemerkt, daß in keinem Fall ein Effekt der untersuchten Farbstoffe an sich zu erkennen war.

25. Methylenblau.

Das Methylenblau wurde in Anbetracht der nach Tappeiner und Jodlbauer relativ intensiven Wirkung auf Spaltpilze zu unseren Versuchen herangezogen.

Im nachstehenden folgt eine entsprechende Tabelle.

Tabelle XXV.

Methylenblau- verdünnung	Vaccine- ver- dünnung	Einwirkungs- dauer d. Farbstoffs und der Sonnenstrahlen	Beobachtung nach Tagen:						
			2	3	4	5-7			
1:1000	1:20	10 Minuten	(+)	+	+	++			
1:1000	1:20	30 „	(+)	+	+	++			
1:1000	1:20	1 Stunde	+	+	+	++			
1:1000	1:20	3 „	—	+	+	++			
1:10 000	1:20	10 Minuten	(+)	+	+	++			
1:10 000	1:20	30 „	+	+	+	++			
1:10 000	1:20	1 Stunde	(+)	+	+	++			
1:10 000	1:20	3 „	—	+	+	++			
Kontr. ohne Farbstoff	— —	1 3	„ „	ohne Farbst. „ „ „	(+) (+)	+	+	++ ++	
Kontr. ohne Licht	1:1000 1:10 000	1:20 1:20	4 4	„ „	dunkel	+	+	+	++ ++

Es ergibt sich aus Tabelle XXV, daß dem Methylenblau weder an sich noch auch bei gleichzeitiger Einwirkung vom Sonnenlicht ein nachweisbarer Einfluß auf das Vaccinevirus zukommt.

26. Eosin.

Einen geringen Einfluß besitzt das Eosin, wie sich aus der Tabelle XXVI ergibt.

Eine Verdünnung 1:2000 bedingt bei gleichzeitiger Sonneneinwirkung eine vollkommene Abtötung innerhalb 3 Stunden.

Tabelle XXVI.

Eosinverdünnung	Vaccine- ver- dünnung	Einwirkungsdauer von Farbstoff und Sonnenlicht	Beobachtung nach Tagen:			
			2	3	4	5-7
1:1000	1:20	10 Minuten	(+)	+	+	++
1:1000	1:20	30 „	—	+	+	++
1:1000	1:20	1 Stunde	+	+	+	++
1:1000	1:20	3 „	—			—
1:10 000	1:20	10 Minuten			+	++
1:10 000	1:20	30 „	(+)	+	+	++
1:10 000	1:20	1 Stunde	+	+	+	++
1:10 000	1:20	3 „	— ?	(+)	+	+
Kontrolle ohne Licht	1:1000	4 „ ohne Licht	+	+	+	++
	1:10 000	4 „ „ „	+	+	+	++
Kontr. ohne Farbstoff	s. vor. Tab.					

In der Verdünnung 1:20000 wird unter gleichen Bedingungen eine geringe Hemmung erzielt. Weder die Eosinlösung an sich oder das Sonnenlicht allein sind selbst bei 4 Stunden langer Einwirkung von nachweisbarem Einfluß.

27. Neutralrot.

Unsere Suche nach wirksameren Farbstoffen wurde mit Erfolg belohnt, als wir nunmehr das Neutralrot näher untersuchten, dessen photodynamische Wirkung auf das Vaccinevirus eine geradezu enorme ist.

Schon früher hatten wir bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung in Analogie mit den Versuchen mit Desinfizienzen Experimente auch mit Neutralrot angestellt, bei denen die Röhrchen wie gewöhnlich im Dunklen gehalten waren. Das Resultat war ein völlig negatives. Als Beispiel sei die Tabelle XXVII angeführt.

Tabelle XXVII.

Nummer des Kaninchens	Neutralrot- verdünnung	Vaccine- verdünnung	Einwirkungsdauer des Desinfiziens:										
			1/2 Stunde					18 Stunden					
			Beobachtung nach Tagen:										
2	3	4	5	6-9	2	3	4	5	6-9				
J. 24	1:100	1:10	(+)	+	+	tot		(+)	+				
25	1:1000	1:10	(+)	+	++	++	++++	(+)	++	+	+	+++	
26	1:10 000	1:10	(+)	+	++	++	++++	+	++	++	++	+++	

Tabelle XXVIIa.

Neutralrot- verdünnung	Vaccine- ver- dünnung	Einwirk.-Dauer von Farbstoff und Sonnenlicht	Beobachtung nach Tagen:						
			2	3	4	5	6	7-9	
1 : 100	1:20	1 Stunde	(+)	(+)	+	++			
	1:20	4 Stunden	(+)	(+)	+	++			
	1:20	7 „	-	-	-	-			
1 : 1000	1:20	1 Stunde	-	-	-	-	(+)	+	
	1:20	4 Stunden	-	-	-	-	-	-	
	1:20	7 „	-	-	-	-	-	-	
1 : 10 000	1:20	10 Minuten	-	-	(+)	(+)	+	++	
	1:20	30 „	-	-	-	-	-	-	
	1:20	1 Stunde	-	-	-	-	-	-	
	1:20	4 Stunden	-	-	-	-	-	-	
	1:20	7 „	-	-	-	-	-	-	
1 : 100 000	1:20	10 Minuten	-	-	(+)	(+)	+	+	
	1:20	30 „	-	(+)	(+)	+	+	+	
	1:20	1 Stunde	-	-	(+)	(+)	+	+	
	1:20	4 Stunden	-	-	(+)	(+)	-	-	
	1:20	7 „	-	-	-	-	-	-	
1 : 1 Mill.	1:20	30 Minuten	-	(+)	(+)	+	+	+	
	1:20	1 Stunde	-	-	(+)	(+)	+	+	
	1:20	4 Stunden	-	-	(+)	(+)	+	+	
	1:20	7 „	-	-	-	-	-	-	
1 : 10 Mill.	1:20	10 Minuten	-	(+)	+	+	+	++	
	1:20	30 „	-	(+)	+	+	+	++	
	1:20	1 Stunde	-	(+)	+	+	+	++	
	1:20	4 Stunden	-	(+)	+	+	+	++	
	1:20	7 „	-	-	-	-	-	-	
1 : 100 Mill.	1:20	10 Minuten	-	+	+	+	+	++	
	1:20	30 „	-	+	+	+	+	++	
	1:20	1 Stunde	-	-	(+)	+	+	+	
	1:20	4 Stunden	-	-	(+)	+	+	+	
	1:20	7 „	-	-	(+)	+	+	+	
Kontrollen:									
I. Kontr. ohne Farbstoff	1:20	1 Std.	} ohne Farb- stoff	+	+	+	+	++	++
	1:20	4 „		+	+	+	+	++	++
	1:20	7 „		+	+	+	+	++	++
II. Kontr. ohne Licht 1 : 1000	1:20	4 Std.	} ohne Licht	(+)	+	+	+	++	++
	1:20	7 „		(+)	+	+	+	++	++
III. Kontr. ohne Farbstoff (Rubinglas)	1:20	1 Std.	} Rubin- glas	(+)	+	+	+	++	++
	1:20	4 „		(+)	+	+	+	++	++
	1:20	7 „		(+)	+	+	tot		

Das Resultat ist aber ein gänzlich verschiedenes, wenn das Neutralrot unter gleichzeitiger Einwirkung von Licht seine photodynamische auf das Vaccinevirus entfalten kann. In der Tabelle XXVIIa bringen wir Versuche, in denen Neutralverdünnungen von 1:100 bis 1:1000 Millionen mit gleichen Mengen einer Vaccineverdünnung 1:20 dem Sonnenlicht ausgesetzt waren, ehe sie in der üblichen Weise an der Kaninchenkornea auf den Effekt des Desinfektionsmittels untersucht wurden.

Es ergibt sich aus Tabelle XXVIIa die bemerkenswerte Tatsache, daß Neutralrot noch in einer Verdünnung von 1:10 Millionen das Vaccinevirus abtötet, während der Farbstoff an sich selbst in 100 000 fach stärkerer Konzentration bei der maximalen Versuchsdauer ohne Einfluß ist, und auch das Sonnenlicht in dieser Zeit keinen nachweisbaren Effekt hat. Daß nicht die roten Lichtstrahlen an sich die Abtötung bedingen, ergibt sich aus den Kontrollversuchen der Gruppe 3, in denen die Vaccineaufschwemmungen im Probierring nur mit Kochsalzlösung an Stelle von Farbstofflösung versetzt, gleich lange dem Sonnenlicht exponiert wurden. Hier macht sich auch nicht der geringste Einfluß bemerkbar.

Die Tabelle zeigt weiterhin, daß keineswegs das Maximum der Wirkung mit der maximalen Konzentration zusammenfällt, wie das auch von Tappeiner und Jodlbauer angegeben wird.

Die nachstehende Übersichtstabelle zeigt die Zeiten und Konzentrationen für die Abtötung.

Tabelle XXVIIb.

Konzentration des Neutralrots	Zeit bis zur Abtötung in Stunden (Prüfung an der Kaninchenkornea)
1:100	7
1:1000	4
1:10 000	$\frac{1}{2}$
1:100 000	4
1:1 Million	7
1:10 Millionen	7
1:100 „	> 7

Es wurde nun eine Reihe weiterer Versuche unternommen, um die Art der Einwirkung des Neutralrots näher zu untersuchen. Diese Versuche wurden alle mit einer und derselben Lymphverdünnung 1:20 an einem schönen Junitag bei gleichmäßigem Sonnenschein und blauem Himmel angestellt.

Versuch A (Vorversuch).

Lympe 1:10 mit gleichen Teilen Neutralrotlösung 1:10 000 versetzt: 2 $\frac{1}{2}$ Stunden ins Sonnenlicht gebracht, danach Prüfung des Materials an der Korna des Kaninchens. Resultat: Das Vaccinevirus ist abgetötet.

Es ist bereits erwähnt, daß die roten Lichtstrahlen an sich nicht die Abtötung bedingen, da das Vaccinevirus bei intensiver Sonnenbestrahlung in roten Gläschen nicht abgetötet wurde. Man könnte das auf Differenzen im Verhalten des Rubinglases einerseits und des Neutralrots andererseits zurückführen. Deshalb wurde noch der folgende Versuch angestellt.

Versuch B.

Ein Röhrchen mit der gleichen Vaccineaufschwemmung 1:20 wird in eine größere Eprouvette versenkt, in der sich die als besonders wirksam befundene Konzentration 1:10 000 des Neutralrots befand. Nach 3 stündiger Einwirkung wird die Lympe auf Kaninchenkornea geimpft; deutlicher Impfeffekt bereits am zweiten Tag.

Versuch C.

In einem Kontrollversuch wurde bei sonst gleicher Versuchsanordnung das Röhrchen mit der Lympe in einer entsprechenden Eprouvette von einer gleich starken Wasserschicht umgeben. Auch hier war das Resultat der späteren Impfung positiv.

Daß nicht etwa die dicke Wasser- bzw. Neutralrotschicht zusammen mit der Glaswand die Abtötung verhindert, zeigt ein weiterer Versuch.

Versuch D.

Hier wurde wiederum unter sonst gleichen Bedingungen die Lympe 1:20 direkt mit Neutralrot 1:10 000 versetzt und das Versuchsröhrchen wie im vorigen Versuch in eine entsprechende Eprouvette mit Wasser eingetaucht. Belichtung wiederum 3 Stunden. Das Vaccinevirus erwies sich in diesem Fall als abgetötet.

Versuch E.

Wurde aber das Röhrchen mit Lympe plus Neutralrot anstatt in Wasser in eine konzentrierte Neutralrotlösung (1:200) eingebracht, so daß gewisse Strahlen des Sonnenspektrums absorbiert wurden und nicht genügend zu der Neutralrotvaccinemischung hinzutreten konnten, so blieb die Abtötung selbst bei 5 stündiger Versuchsdauer aus.

Versuch F.

Wird das Neutralrot allein während 3 Stunden belichtet, und dann erst die Lympe zugesetzt und die Mischung noch 2 Stunden dunkel gehalten, so erfolgt keine Abtötung.

Versuch G.

Schon Tappeiner hat auf die Notwendigkeit des Sauerstoffes für die Wirkung photodynamischer Stoffe hingewiesen. Wir haben in einem der gewöhnlichen Versuchsröhrchen mit Vaccine 1:20 und Neutralrot 1:10000 die Luft durch Wasserstoff vertrieben mit einer Versuchsanordnung, die der in der Bakteriologie gebräuchlichen von Hueppe und Fränkel entspricht. Trotz 3 stündiger Belichtung erfolgte keine Abtötung des Vaccinevirus.

Therapeutische Versuche mit Neutralrot und Sonnenlicht.

Die außerordentlich intensive Wirkung der 1:10 000 verdünnten Neutralrotlösung veranlaßte uns, therapeutische Versuche am Kaninchen anzustellen. Wir impften die Tiere in der üblichen Weise mit Vaccine beiderseits in die Kornea und auf die Rückenhaut nach Entfernung der Haare mit Calciumhydrosulfid. Die Tiere wurden dann auf Bretter aufgespannt und jeweils das linke Auge durch je einen durch die Lider gezogenen Faden dauernd offen gehalten, während am rechten Auge die Lider frei beweglich blieben.

Die infizierten Hautstellen an der rechten Seite wurden mit schwarzem Papier bedeckt, das mittels Heftpflasterstreifen sorgfältig gegen das Eindringen des Sonnenlichts abgedichtet war. Dann kamen die Tiere in das Sonnenlicht, das nun intensiv auf das linke zwangsweise offen gehaltene Auge und auf die linke Hautseite wirken konnte. Zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion wurden dann Neutralrot 1:10 000 auf die infizierten Bezirke aufgeträufelt, und zwar auf die Augen siebenmal, auf die Haut nur einmal.

In einem Kontrollversuch wurden sowohl die Augen als die Haut mit Uhrschildchen aus Rubinglas bedeckt, und es erfolgte keine Behandlung mit Neutralrot. In einem anderen Kontrollversuch wurde anstatt Neutralrotlösung nur physiologische Kochsalzlösung aufgeträufelt.

Das Resultat eines solchen Versuchs zeigt die Tabelle XXVIII.

Es ergibt sich trotz der hohen Wirksamkeit des Neutralrots bei Sonnenlicht in vitro, daß nur bei sofortiger Nachbehandlung der infizierten Kornea eine Heilung zu erzielen ist. Auf der Haut wird das eingimpfte Virus immerhin noch nach 15 Minuten abgetötet.

In einem weiteren Versuch, in dem eine Neutralrotlösung 1:1000 statt 1:10 000 benutzt wurde, war das Resultat das gleiche. Wir verzichteten deshalb auf eine detaillierte Wiedergabe.

Da aber nach den günstigen Ergebnissen der Reagensglasversuche bessere Erfolge wohl zu erwarten waren, so suchten wir nach einem Mittel, daß geeignet erschien, das Neutralrot in längeren und ausgiebigeren Kon-

Tabelle XXVIII.

Nummer des Kaninchens	Auge	Behandlung mit Neutralrotlösung		Vaccine- verdünnung	A. Kornea.								
		1:10 000 beg. nach	Zahl der Behandl.		Verlauf der Infektion unter der Behandlung nach Tagen:								
					2	3	4	5	6	7	8		
Y.38	offen gehalten	0 Min.	7	1:15	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	normal	0 „	7	1:15	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—
39	offen gehalten	15 „	7	1:15	+	+	+	++	++	++	++	++	++
—	normal	15 „	7	1:15	(+)	—	+	++	++	++	++	++	++
40	offen	30 „	7	1:15	+	+	++	++	++	++	++	++	++
—	normal	30 „	7	1:15	+	+	+	++	++	++	++	++	++
41	offen	1 Std.	7	1:15	+	—	+	++	++	++	++	++	tot
—	normal	1 „	7	1:15	+	+	+	++	++	++	++	++	++
42	offen	3 „	7	1:15	+	+	+	++	++	++	++	++	tot
—	normal	3 „	7	1:15	+	+	+	++	++	++	++	++	++
43	offen	Rubingl.	7	1:15	+	+	+	++	++	++	++	++	tot
—	normal	„	—	1:15	+	+	+	++	++	++	++	++	+
44	offen	NaCl 0 Min.	7	1:15	+	+	+	++	++	++	++	++	++
—	normal	„ 0 „	7	1:15	+	+	+	++	++	++	++	++	++

Nummer des Kaninchens	Haut	Behandlung mit Neutralrotlösung		Vaccine- verdünnung	B. Haut.				
		1:10 000 beg. nach	Zahl der Behandl.		Verlauf der Infektion unter der Behandlung nach Tagen:				
					3	4	5	6	7
Y.38	offen	0 Min.	1	1:15	—	—	—	—	—
—	bedeckt	0 „	1	1:15	(+)	+	+	++	++
39	offen	15 „	1	1:15	—	—	—	—	tot
—	bedeckt	15 „	1	1:15	—	—	+	++	++
40	offen	30 „	1	1:15	—	—	(+)	+	++
—	bedeckt	30 „	1	1:15	+	+	++	++	+++
41	offen	1 Std.	1	1:15	—	—	(+)	+	+
—	bedeckt	1 „	1	1:15	+	+	++	++	+++
42	offen	3 „	1	1:15	—	(+)	+	++	tot
—	bedeckt	3 „	1	1:15	+	+	++	++	++
43	Rubingl.	„	—	1:15	+	+	++	++	+++
—	bedeckt	0 Min.	—	1:15	+	+	++	++	+++
44	offen	NaCl 0 „	—	1:15	—	+	+	++	tot
—	offen	„ 0 „	—	1:15	—	+	+	++	++

takt mit der belichteten Haut bzw. Kornea zu bringen, als es bei den wiederholten Aufträufelungen wässriger Neutralrotlösungen, die ablaufen und schnell verdunsten, möglich war; wir fanden dieses in einer Neutralrotvaselinsalbe. 0·1 Neutralrot wurde in etwas Alkohol absolut. gelöst und

dann in einer Reibschale unter allmählichem Zusatz von 100 ^{grm} möglichst farbloser Vaseline mit dieser innig vermischt. Es wurde nun eine größere Reihe von Kaninchen, nachdem die Haare am Rücken beiderseits durch Calciumhydrosulfid vollständig entfernt worden waren, nach Abreiben der nackten Haut mit Sandpapier und Skarifikation mit käuflicher, 1:30 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnter Glycerinlymphe in die wunden Hautstellen geimpft. In gleicher Weise wurde die skarifizierte Kornea dieser Tiere mit 1:30 verdünnter Lymphe in der üblichen Weise infiziert.

Verschieden lange Zeiten nach der Infektion der Tiere wurde Neutralrotsalbe in dünner Schicht auf Augen bzw. Haut aufgelegt. Das rechte Auge wurde hier künstlich geschlossen, das linke wiederum durch Sperrung der Lider offengehalten. Die infizierte rechte Hautstelle wurde wiederum durch schwarzes Papier lichtdicht abgeschlossen. Dann wurden die Tiere wiederum 3 Stunden lang auf ein Brett gespannt, dem intensiven Sonnenlichte ausgesetzt. Natürlich wurden infizierte Kontrolltiere ohne Vaseline und ebenso Kontrolltiere mit neutralrotfreier Vaseline behandelt, gleichlang oder auch noch länger (in einzelnen Versuchen 4 Stunden) dem Sonnenlicht exponiert.

Aus diesen Versuchen ergab sich, daß das Neutralrot auf die Kornea auch bei intensiver Sonnenbestrahlung ohne Einfluß war, selbst bei frühzeitiger Applikation. Offenbar vermag die Vaseline bei dem eigentümlichen Bau des Korneaepithels nicht genügend in dieses einzudringen.

Ganz anders gestalteten sich die Ergebnisse bei der Haut des Kaninchens. Hier sahen wir noch bei einer Behandlung, die erst 24 Stunden nach der Infektion einsetzte, das interessante Ergebnis, daß die belichtete Seite gänzlich von den charakteristischen Eruptionen der Vaccine frei blieb, während auf der verdeckten Seite die Pusteln deutlich zu der gewöhnlichen Zeit zum Ausbruch kamen. Dieses Resultat wird jedoch nur bei intensivem Sonnenlicht erzielt, bei trübem Wetter gelang es uns nach 4 Stunden nicht mehr, den Ausbruch der Vaccinopusteln auf der belichteten Seite hintanzuhalten, jedoch ist auch dann die Eruption auf der linken belichteten Seite deutlich geringer als auf der rechten. Wir sehen von einer detaillierten Wiedergabe unserer Versuche mit Neutralrotvaseline ab, da sie bereits an anderer Stelle kurz veröffentlicht sind.

Chemotherapeutische Versuche mit *Argentum nitricum* an der mit Vaccine infizierten Kornea.

Die außerordentlich günstigen Erfolge des Neutralrots bei der Hautinfektion und das gänzliche Versagen der Neutralrotsalbe bei der kornealen Infektion des Kaninchens veranlaßten uns, hier chemotherapeutische Ver-

suche mit einem anderen Mittel anzustellen, das gleichfalls einerseits relativ stark vaccinizid wirkte und andererseits ein Eindringen in das infizierte Kornealgewebe garantierte. Ein derartiges Mittel fanden wir in dem *Argentum nitricum*. Hier tötet die Verdünnung 1:2000 in vitro noch sicher innerhalb von 15 Stunden und selbst bei 1:20 000 macht sich bereits nach $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung ein entwicklungshemmender Einfluß geltend (s. S. 103 u. 104).

Zu den therapeutischen Versuchen wurden die Kaninchen korneal geimpft und zu verschiedenen Zeiten nachher mit Silbernitrat behandelt.

Versuch 1.

Eine Reihe von Kaninchen werden beiderseits korneal mit Vaccinevirus 1:20 infiziert. Danach wird zu den aus der Tabelle ersichtlichen Zeiten die Behandlung mit einer 0.5 prozentigen *Argentumnitricumlösung* eingeleitet, indem das Mittel nach Öffnung der Lidspalte auf die infizierte Kornea bei horizontal gehaltenem Auge aufgeträufelt wird. Nach etwa 1 Minute wird dann der Kopf wieder gerade gerichtet, wobei die größere Menge des aufgeträufelten Silbersalzes wieder aus dem Auge herausfließt. Das linke Auge wird nur einmal behandelt; das rechte Auge öfters, und zwar zunächst noch einmal nach 2, 6 und 15 Stunden, dann 2 Tage lang zweimal täglich und danach noch eine Woche einmal täglich. Das Resultat eines solchen Versuchs zeigt die Tabelle XXIX.

Tabelle XXIX.

Nummer des Kaninchens	Behandlung mit AgNO_3 ($\frac{1}{2}$ prozent.)		Vaccine- verdünnung	Verlauf der Infektion unter der Behandlung nach Tagen:										
	Beginn nach der Infektion	Zahl der Behand- lungen		2	3	4	5	6	7	8	9	14		
J. 65	0 Min.	1 mal	1:20	—	—	—	—	—	(+)	+	+	Aufhören der Behandlung		
—	0 „	wiederholt	1:20	—	—	—	—	—	—	—	—		—	
66	10 „	1 mal	1:20	—	(+)	—	—	—	(+)	+	+		+++	
—	10 „	wiederholt	1:20	—	—	—	—	—	—	—	—		—	
67	30 „	1 mal	1:20	(+)	+	+	+	+	+	++	++		+++	
—	30 „	wiederholt	1:20	—	(+)	(+)	(+)	—	—	—	—		—	
68	1 Std.	1 mal	1:20	(+)	+	+	++	++	++	++	+++		+++	
—	1 „	wiederholt	1:20	—	—	(+)	(+)	—	—	—	—		—	
69	3 „	1 mal	1:20	(+)	+	+	++	++	++	++	+++		+++	
—	3 „	wiederholt	1:20	(+)	(+)	+	++	++	++	—	—		+++	
70	NaCl Min.	„	1:20	(+)	+	++	++	++	+++	+++	+++		+++	

Es ergibt sich aus dieser Versuchsreihe, daß bei sofortiger einmaliger Aufträufelung die $\frac{1}{2}$ prozentige Silberlösung der Ausbruch der Infektion um 5 Tage gegen die Kontrolle hinausgeschoben wird, aber schließlich doch eintritt. Das gleiche ist der Fall, wenn die Behandlung erst 10 Minuten nach der Infektion vorgenommen wird. $\frac{1}{3}$ Stunde später aber vermag die $\frac{1}{2}$ prozentige Silberlösung die Infektion nicht mehr zu verzögern. Bei wiederholter Aufträufelung dagegen kann man, wenn man die Behandlung auch erst 1 Stunde nach der Infektion beginnt, den Ausbruch der Vaccine noch verhüten.

Versuch 2.

Die Versuchsanordnung entspricht im Prinzip dem vorigen Versuch; nur wird 1 prozentige Silbernitratlösung benutzt, die wiederum in das linke Auge einmal, in das rechte Auge täglich während der ganzen Beobachtungsdauer (8 Tage lang) eingeträufelt wird. Die 1 prozentige Silberlösung bedingt im Gegensatz zur $\frac{1}{2}$ prozentigen an sich eine beträchtliche weiße Verfärbung der Kornea. Das Resultat der Behandlung zeigt die Tabelle XXX.

Tabelle. XXX.

Nummer des Kaninchens	Behandlung mit AgNO ₃ (1 prozent.)		Vaccineverdünnung	Verlauf der Infektion unter der Behandlung nach Tagen:				
	Beginn nach der Infektion	Zahl der Behandlungen		2	3	4	5	6
Y. 12	0 Min.	1 mal	1:20	• -	-	-	-	-
-	0 „	wiederholt (6 Tage)	1:20	• -	• -	•* -	-	-
13	10 „	1 mal	1:20	-	-	-	-	-
-	10 „	wiederholt	1:20	• -	• -	-	-	-
14	30 „	1 mal	1:20	(+)	+	+	+	+
-	30 „	wiederholt	1:20	• -	• -	• (+)	• +	• +
15	1 Std.	1 mal	1:20	(+)	+	+	+	+
-	1 „	wiederholt	1:20	• -	• -	• (+)	• +	• +
16	3 „	1 mal	1:20	+	+	+	+	++
-	3 „	wiederholt	1:20	•	• +	• +	• +	• +
17	0 Min.	wiederholt	-	•	•	•	•	•
-	0 „	NaCl wiederholt	(+)	+	+	+	++	++

* • bedeutet intensive Wirkung des AgNO₃.

Es ergibt sich, daß die 1prozentige Silbernitratlösung auch bei nur einmaliger Einträufelung noch 10 Minuten nach der Impfung den Ausbruch der Vaccine verhütet, im Gegensatz zur $\frac{1}{2}$ prozentigen Lösung, die nach dieser Zeit bereits ohne Wirkung ist. Dagegen erweist sich die 1prozentige Lösung bei fortgesetzter Darreichung zum mindesten nicht wirksamer als die $\frac{1}{2}$ prozentige. Sie besitzt also wohl bei der abortiven Behandlung, nicht aber bei der dauernden, Vorzüge.

[Aus dem pathol. Institut des allgem. Krankenhauses Hamburg-Eppendorf.]

Über metastatische Dermatosen bei akuten bakteriellen Allgemeinerkrankungen.

Von

Eug. Fraenkel.

(Hierzu Taf. I—VI.)

Unter den zahlreichen mit Bakteriämie vergesellschafteten, in Genesung oder Tod ausgehenden, schweren, akuten Infektionskrankheiten, auch solchen, bei denen es zu Metastasen in verschiedenen inneren Organen, vor allem den Lungen und Nieren, kommt, werden solche an der Haut meist vermißt, obwohl es keinem Zweifel unterliegen kann, daß die in der Blutbahn zirkulierenden Krankheitserreger auch in die Haut verschleppt werden. Tatsache ist, daß es für den einzelnen Beobachter, selbst bei einem großen Kranken- und Sektionsmateriale, schwer ist, vielfältige eigene Erfahrungen auf diesem Gebiete zu sammeln. So erklärt es sich, daß es an einer umfassenden Darstellung dieser, klinisch wie pathologisch gleich interessanten, Verhältnisse in den Lehrbüchern der Dermatologie und pathologischen Anatomie mangelt. Bei weitem am eingehendsten hat sich Lenhartz¹ in seiner ausgezeichneten Monographie über „die septischen Erkrankungen“ damit beschäftigt und an verschiedenen Stellen dieses Buches² den sich an der Hautdecke im Verlaufe verschiedener septischer Erkrankungen abspielenden Veränderungen seine Aufmerksamkeit zugewendet.

Ein Jahr nach dem Erscheinen des genannten Buches hat Jadasohn³ in einem Artikel Stellung zu der uns beschäftigenden Frage genommen. Namentlich die in Betracht kommenden allgemeinen patho-

¹ *Nothnagels spez. Pathologie u. Therapie.* Bd. III.

² A. a. O. S. 139—145, 184, 257, 387, 501.

³ *Berliner klin. Wochenschrift.* 1904. Nr. 37 u. 38. S. 979 u. 1006.

logischen Gesichtspunkte sind dabei in objektivster Weise gewürdigt worden und die Lektüre dieses Aufsatzes ist nicht nur für den Dermatologen, sondern ganz besonders für den allgemeinen Arzt von hervorragendem Interesse. Jadassohn hatte nur 3mal die infektiöse Natur pyämischer Dermatosen feststellen können und die entsprechenden Beobachtungen durch R. Meyer¹, Aug. Lebet², sowie durch Biland³ veröffentlichten lassen.

Im gleichen Jahre ist von Werther⁴ eine Publikation „über metastatische Hautentzündungen bei Pyämie und über Hautentzündungen bei Infektionskrankheiten im allgemeinen“ erfolgt, und dieser Autor hat kürzlich nochmals einen „Beitrag zur Kenntnis der Pyämide“⁵ geliefert. Mit diesem von Ludwig Merk (Innsbruck) herrührenden Ausdruck (sc. Pyämide) werden neuerdings alle diejenigen Hautaffektionen bezeichnet, welche durch pyämische Produkte auf hämatogenem Wege erzeugt werden.⁶ Die Bezeichnung darf also nach dieser Definition nur für solche Fälle reserviert werden, in denen durch Verschleppung eitrigen Materials auf dem Blutwege in die Haut reaktive Veränderungen in dieser hervorgerufen werden. Ich komme auf diesen Punkt später noch zurück.

Die Zahl der hierher gehörigen, in den letzten Jahren bekannt gewordenen Fälle ist auch jetzt noch eine recht geringe, vor allem solcher, bei denen sorgfältige histologische Untersuchungen der erkrankten Hautpartien stattgefunden haben. Lebet hat in der vorher zitierten Arbeit eine Zusammenstellung der bis dahin publizierten Beobachtungen gebracht, auf die ich verweise. Es lagen bis damals 17 Fälle vor, von denen es sich bei 9 um durch Streptokokken, bei 8 um durch Staphylokokken bewirkte metastatische Hautentzündungen handelte.

Seit dieser Zeit sind nur wenige Fälle hinzugekommen, unter denen ich aus der mir zugänglich gewesenen Literatur die folgenden anführe: James Strandberg⁷, ein Fall von pustulösem Pyämide; Ernst Kock⁸, ein Fall von doppelseitigem Liderysipel bei Seps. puerperal.; José Garcia

¹ R. Meyer, Über ein metastatisches Hautexanthem bei Sepsis. *Archiv f. klin. Chirurgie*. 1896. Bd. I.

² Aug. Lebet, Dermatit. pyémiques. *Annales de Dermatol. et de Syphiligraphie*. 1903. Dez. S. 912.

³ Biland, Über einen Fall von Staphylohämie usw. *Correspondenzblatt für Schweizer Ärzte*. 1905. Nr. 12.

⁴ *Deutsches Archiv f. klin. Med.* Bd. LXXXV. S. 234.

⁵ *Münchener med. Wochenschrift*. 1913. Nr. 31. S. 1702.

⁶ *Internat. med. Kongr. in Budapest*. 1909. Sekt. XIII. II. S. 479 ff. und *Wiener med. Wochenschrift*. 1909. Nr. 38.

⁷ *Archiv f. Dermatologie u. Syphilis*. Bd. CXI. S. 83 ff.

⁸ *Inaugural-Dissertation*. München 1911.

del Diestro¹, „multiple Hautabszesse bei einem Neugeborenen, Perforation des Sternum, Septikämie“. Ich will dabei nicht unerwähnt lassen, daß mir die Fälle hinsichtlich ihrer Deutung keineswegs einwandfrei erscheinen. Speziell bei dem Fall von Kock ist die Annahme nicht von der Hand zu weisen, daß es sich um eine durch die Hände der Wöchnerin veranlaßte Kontaktinfektion gehandelt hat.

Der mir im Original nicht zugänglich gewesene Fall von Garcia ist ganz unklar, und mit dem bloßen Streptokokkenbefund im Eiter der Abszesse ist für eine Erklärung dieser als Metastase nichts anzufangen. Auch der Fall Strandbergs ist keineswegs eindeutig. Schon die Annahme des Autors, den Ausgangspunkt für die Pyämie in einem schweren Dickdarmkatarrh zu erblicken, muß stutzig machen, denn es bleibt ganz unverständlich, wie die aus dem Gebiete der Pfortaderwurzeln stammenden Krankheitserreger in den großen Kreislauf und in das Hautorgan gelangt sind. Immerhin sollen nach Angabe des Verfassers im Blute wie in den Hautherden Staphylokokken gefunden worden sein. Die histologische Beschreibung läßt zu wünschen, speziell was das Verhalten der Gefäße anlangt. Die Hautgefäße waren teilweise thrombosiert und von Herden von Rundzellen umgeben. Ob es sich um Arterien oder Venen gehandelt hat, bleibt in suspensio. Strandberg bezieht sich aber auf eine von Philippson² herrührende Arbeit über „Metastase und Embolie in der Haut“, in der dieser Autor gezeigt hat, daß die Bakterien sich bei hämatogenen Metastasen mit Vorliebe in den Venen ansiedeln.

Dieser für die Entstehung der Hautmetastasen wichtige Punkt, mit dem sich auch Jadassohn³ in dem eingangs erwähnten Artikel beschäftigt hat, ist unter anderen auch für mich die Veranlassung gewesen, meine im Laufe der Jahre über bakterielle Hautmetastasen gesammelten Erfahrungen hier darzulegen. Ich greife bei dieser Gelegenheit auf einen schon im Jahre 1896 von mir untersuchten Fall zurück, dessen Präparate ich seinerzeit sowohl Herrn Unna für die Erörterung des von ihm als Pustulosis staphylogenes bezeichneten Prozesses⁴ als auch Lenhartz für die Erläuterung der Hautaffektionen bei sogenannter Staphylokokken-sepsis⁵ überlassen habe.

I. Es handelt sich um einen 30 jährigen, am 25. V. 96 aufgenommenen Mann, der 5 bis 6 Tage vor der Einlieferung ins Krankenhaus mit Schmerzen in den Beinen erkrankte. Am 2. Tage sollen sich rote Flecken „Nesseln“

¹ Ref. in *Monatsh. f. prakt. Dermatologie*. Bd. LIII. S. 289.

² *Archiv f. Dermatologie*. Bd. LI.

³ *Berliner klin. Wochenschrift*.

⁴ *Histol. Atlas zur Pathologie der Haut*. 1899. Hft. 3. S. 58.

⁵ A. a. O. S. 184 u. Taf. V.

in der Haut eingestellt haben, am letzten Tage im Hause seien auch blaue Flecken aufgetreten. Bei der Aufnahme fand sich ein intensiv rosarotes, nesselartiges Exanthem, besonders an den Beinen und am Rücken. Außerdem sah man stechnadelkopf- bis fünfpennigstückgroße blaurote Petecchien, am reichlichsten am Rücken, spärlicher an den Beinen, etwas reichlicher auf der Brust, der Stirn und der linken Wange, auch am linken Lidrande und auf beiden Konjunktiven. Am 24. V. ist die Urtikaria geschwunden. In den Papeln an der Stirn, den Händen, dem Unterarme und am Rumpfe erkennt man deutlich kleine Eiterpunkte. Am Nachmittag erfolgte der Tod. Die Sektion (Nr. 440, 1896) ergibt das rechte Herz und Aorta normal. An der Insertion eines etwas verkürzten Sehnenfadens der Mitralis befindet sich ein längliches kleines Ulkus mit nekrotischem Grunde, im linken Vorhof ein von flachen pilzförmigen Auflagerungen bedecktes Geschwür: Metastasen in den Nieren, in der Magen-Darm-Harnblasenschleimhaut, im Gehirn und den Netzhäuten. Aus dem Blute durch Kultur *Staphylococcus aureus* gewonnen. „Auf der Haut sehr zahlreiche blaue, bis in die Subkutis reichende Petecchien, die zum Teil einen kleinen, bisweilen borkig eingetrockneten Eiterpunkt in der Mitte erkennen lassen.“

Die zur mikroskopischen Untersuchung verwendeten Hautstücke (s. Taf. I, Figg. 2 u. 3) zeigen sowohl im Papillarkörper, als in der Grenze dieses gegen die retikuläre Schicht, als endlich in der Subkutis umschriebene Herde. In allen tritt als wesentlichster, gleichmäßig wiederkehrender Befund, namentlich an mit polychromem Methylenblau gefärbten Schnitten, die Verstopfung der zu den betreffenden Bezirken gehörenden Arterienästchen und ihrer Verzweigungen durch Kokkenmassen in die Erscheinung. Speziell an einem der oberflächlich gelegenen Papillenherde macht der verstopfte Gefäßbezirk den Eindruck einer durch künstliche Injektion mit einer dunkelblauen Masse bewirkten Füllung. Die Papillen selbst sind geschwollen und mit einem zelligen Exsudat durchsetzt, dessen einzelne Elemente zum Teil in feine Bröckel zerfallen sind. Die Oberhaut haftet hier nur locker, die tiefsten Retschichten sind gequollen und nehmen nur undeutliche Kernfärbung an. Staphylokokken sind in dichten Schwärmen zwischen die einzelnen Epithelzellenlagen eingedrungen und reichen bis an die Hornschicht heran. In sehr ausgiebiger Weise ist das Kapillargefäßnetz des Unterhautfettgewebes von Staphylokokkenhaufen verstopft und hier hat das in der Umgebung der verstopften Gefäße etablierte Exsudat einen ausgesprochen hämorrhagischen Charakter angenommen. An einem größeren, in der Subkutis gelegenen, Arterienstämmchen und in dessen einzelnen Ästen ist die Gefäßwand teils in der ganzen Dicke, teils nur in einzelnen Schichten von zelligen, bakterielle Beimengungen enthaltenden, Exsudatmassen durchsetzt und das Lumen durch Bakterienpfropfe und weiße oder gemischte Thromben verlegt. Von einem größeren in der Subkutis gelegenen Herd aus lassen sich bis in die benachbarten Haarbälge und die Körper einzelner Knäueldrüsen hinein Exsudatmassen mit freiliegenden Staphylokokken verfolgen.

Das Eigenartige, uns hier ausschließlich Interessierende des Falles ist in der Polymorphie der Erscheinungen gegeben, die sich in kürzester Zeit und in raschster Folge an der allgemeinen Haut-

decke abgespielt haben. Hat doch die ganze Krankheit nur 1 Woche gedauert. Über die Pathogenese der Hautaffektion, wenigstens soweit es sich um die bis zum Tode des Kranken erkennbar gebliebenen petecchial pustulösen Prozesse handelte, hat die mikroskopische Untersuchung eindeutigen Aufschluß gegeben. Sie läßt keinen Zweifel darüber, daß im Mittelpunkte der Erkrankung die, alle anderen Veränderungen unschwer erklärende, intravaskuläre, präzise ausgedrückt, intraarterielle Ansiedelung der Krankheitserreger steht. Diese sind nicht nur in dem zierlichen Kapillargebiete des Papillarkörpers, sondern auch in größeren Arterienästchen der Subkutis zu finden und haben vielfach zu kompletter Verlegung durch richtige Bakterienpfropfe geführt. In den okkupierten Arterienästchen haben sich entzündliche Prozesse abgespielt, und das Bild einer echten Panarteriitis erzeugt. Dadurch sind die erkrankten Gefäßwände nicht nur für weiße, sondern auch für rote Blutzellen durchgängig gemacht worden, und es ist zur Bildung hämorrhagisch-eitriger Exsudate gekommen, die klinisch als Petecchien mit eitrigem Zentrum imponierten.

Wir haben es also mit den Folgezuständen einer Verschleppung der von der geschwürig zerfallenen Herzklappe ins Blut eingedrungenen Staphylokokken in das arterielle Gefäßgebiet der Haut zu tun, bei gänzlicher Unbeteiligung der Hautvenen. Daß jenes die Hautaffektion einleitende, bei der Aufnahme des Patienten beobachtete, als Erythema urticatum aufzufassende, später wieder geschwundene Exanthem gleichfalls mit der Invasion der Staphylokokken in das Gefäßgebiet der Haut in Verbindung zu bringen ist, dürfte nicht in Abrede zu stellen sein. Auf die dabei in Betracht kommenden Erklärungsmöglichkeiten werde ich noch später einzugehen haben.

II. Der am 3. X. 08 aufgenommene 31jährige Arbeiter führt seine Erkrankung auf eine vor 3 Wochen erfolgte Durchnässung zurück. Seitdem hat er öfters gefroren, aber noch bis zum 30. IX. gearbeitet. Er gibt an, häufig an Furunkeln gelitten zu haben.

Die Haut des Patienten ist blaß, über Rumpf und Extremitäten verteilt sieht man zahlreiche linsengroße, blaurote Flecke mit rotem Hof. Am Herzen ein systolisches Geräusch über der Spitze, Milz eben palpabel; im Blut wird durch Kultur Staphylococcus aureus nachgewiesen. 4. X. Auf den Handrücken und Vorderarmen zahlreiche, stecknadelkopfgroße Pusteln mit rotem Hof; abends Nackensteifigkeit, Lumbalpunktat steril. Im Urin Staphylokokken in Reinkultur. Patient geht nach 2 tägigem Krankenhausaufenthalt am 5. X. zugrunde. Die Temperatur hielt sich an beiden Tagen auf 40⁰ C.

Sektion (1771/08). Am rechten Vorderarm auf der Streckseite nahe der Hand finden sich, in einer Ausdehnung von 5^{cm}, von einem roten Hof umgebene Bläschen mit teils wasserhellem, teils eitrigem Inhalte; ebensolche

Bläschen sitzen am linken Vorderarm und in der Gegend beider Schulterblätter. Von dem übrigen Sektionsbefund sei folgendes erwähnt: Die Sehnenfäden der Mitralis sind hart und verdickt, an den Taschenklappen der Aorta gelbweiße, derbe Auflagerungen, zwei Klappen miteinander verwachsen. Im linken Vorhof ist das Endokard an mehreren Stellen nekrotisch. Metastatische Abszesse in der Schilddrüse, den Nieren, der Leber, der Dickdarmschleimhaut; Milzinfarkt. Im Blut *Staphylococcus aureus* in enormer Menge.

In den histologisch untersuchten Hautstückchen findet sich ein dessen ganze Dicke durchsetzender, bis ins Unterhautgewebe reichender Abszeß. Die Oberhaut ist durch ein, aus roten Blutkörperchen, geschwollenen Oberhautzellen und mehrkörnigen Leukozyten gebildetes Exsudat abgehoben. Im oberen Drittel des Herdes erkennt man ein längsgetroffenes, von Staphylokokken und Leukozyten angefülltes Arterienästchen. Die den Abszeß zusammensetzenden Zellen sind teils einkernig, mit großem, blassem, strukturiertem Kern und ziemlich breitem homogenem Protoplasma, teils ausgesprochen polynukleär.

Epikritisch ist zu dem vorliegenden Fall nur wenig zu bemerken. Auch er ist durch die Foudroyanz des Verlaufes ausgezeichnet. Wie im vorigen Fall ist es die erkrankte linke Herzhälfte, von der aus das verderbenbringende Material in den großen Kreislauf eingeschwemmt worden und zur Ansiedelung in den Hautgefäßen gekommen ist. Auch hier haben die Krankheitserreger in einem Arterienästchen festen Fuß gefaßt und zur Bildung eines, die ganze Dicke der zum Versorgungsgebiete dieses Gefäßes gehörenden Kutis und Subkutis durchsetzenden, Abszeßchens geführt. Diffusere Veränderungen der Haut in Form von über größere Strecken ausgedehnten Erythemen und Quaddeln haben hier völlig gefehlt.

III. Bei der 32 jährigen, am 28. II. 10 aufgenommenen Patientin waren am 24. II. Wehen aufgetreten, denen am 25. II. ein 2 maliger Schüttelfrost gefolgt war. Am 26. II. war in Altona der Uterus ausgeräumt worden. Am 27. II. hatte sich abermals ein Schüttelfrost eingestellt.

Die Haut der Patientin zeigte an beiden Ellbogenbeugen, sowie am Rumpfe vereinzelt, bis linsengroße Papeln, rote Flecke und Hämorrhagien. An beiden Lippen Herpesbläschen. 1. III. Auf dem linken Handrücken eine linsengroße Pustel mit hämorrhagischem Hof. Am Unterarm, Oberarm, am Rücken sowie auf der Brust und am Abdomen zahlreiche Papeln. Außerdem am Rücken, von der Kreuzgegend an aufwärts, ein diffuses Erythem, das sich durch Fingerdruck zum Schwinden bringen läßt, wobei jedoch die Papillen rot bleiben. 2. III. Am Rücken eine große Blase, der die Decke fehlt, ebenso Bläschen an der Stirn nahe der Haargrenze. An beiden Augenlidern sowie an der linken Seite des Nasenrückens geplatzt, erbsen- bis bohngroße, zum Teil eingetrocknete Bläschen. Auch an der linken Halsseite, der linken Mamilla finden sich solche. An der linken Hand, am zweiten bis vierten Finger, subunguale Blutungen, eine ebensolche am Mittelfinger der rechten Hand. 3. III. Beim Streichen über die Haut läßt sich die ober-

flächliche Schicht in großen Stücken abziehen. Das ganze Gesicht und große Teile des Rückens von Epidermis entblöbt. Im Gesicht und an den Extremitäten bilden sich dauernd pemphigusartige Blasen. Daneben besteht noch ein Erythem. Unter den von Epidermis entblöbten Stellen petecchiale Blutungen. In einem Tropfen Blut, mit 2^{cem} Agar vermischt und in Petrischalen ausgegossen, 560 Kolonien *Staphylococcus aureus*. 4. III. Die Blasenbildung hat noch mehr zugenommen, aber auch die Petecchien, besonders im Gesicht und an der Brust, so daß die Haut vollkommen rot gesprenkelt erscheint. Blutungen in beiden Konjunktiven. Das Gesicht ist fast völlig von Oberhaut entblöbt, die teilweise in Fetzen herabhängt; Kulturen von den der Epidermis beraubten Hautstellen bleiben steril. Am 4. III. geht Patientin zugrunde.

Sektion (453/10). 5. III. 10. Mittelgroße, weibliche Leiche mit geringem Fettpolster. An vielen Stellen des Körpers, besonders im Gesicht, an den Extremitäten und am Abdomen fehlt in handflächengroßen Bezirken die Oberhaut. An den Randpartien derselben hängen noch Fetzen von Epidermis, bei deren Abziehen man auf lange Strecken die umgebende, äußerlich scheinbar intakte Oberhaut in größeren und kleineren Lappen mit ablösen kann. An anderen Stellen des Körpers, besonders am linken Unterschenkel, finden sich gerade am Rande so veränderter Partien blaßblaue Flecke, die durch Blutungen in die Unterhaut hervorgerufen sind. Derartige Blutungen bestehen überall am Körper, besonders an der Brust, einige mit eitrigem Zentrum. Neben diesen Blutungen und Abszessen sitzen in der Kutis selbst, in außerordentlicher Massenhaftigkeit, namentlich am Thorax, punktförmige dunkelblaue oder blaurote hämorrhagische Herde (vgl. Taf. VI, Fig. 17).

Aus dem übrigen anatomischen Befund sei noch folgendes erwähnt: Herz von entsprechender Größe, unter dem Epikard viele kleine Blutungen. In allen Herzteilen, vornehmlich im rechten Ventrikel, zahlreiche, stecknadelspitzen- bis stecknadelkopfgroße, von einem roten Hof umgebene Abszeßchen. An der rechten Aortenklappe, dicht vor der Verbindung mit der hinteren, ein erbsengroßer, eitrig erweichter Herd. Beide Segel der Mitralis zeigen an der Vorhofsfäche, nahe dem freien Rand, in ihren mittleren Abschnitten schmutzig braunrote, feinhöckrige, bröckligweiche Auflagerungen. Klappenapparat rechts intakt. — Die Innenfläche des Uterus, im Fundus, von fest anhaftenden, fetzigen, schmutzig gelbbraunen, weichen, stellenweise hämorrhagischen Massen bedeckt. In den Venen des Parametrium blande Thromben. — Im Leichenblute *Staphylokokken* in Reinkultur. Die anatomische Diagnose lautete demnach: Uterus puerperalis, Endometrit. necrot., Endocardit. mitral. et aort. maligna, Abscess. metastat. myocardii, lienis, renum, cerebri.

Zur mikroskopischen Untersuchung verwandte ich nur ein solches Hautstück, bei dem es bei Fehlen von Blutungen oder Abszeßchen zur Abhebung der Oberhaut gekommen war. Es wurden die verschiedensten Färbungsmethoden benutzt, indes mit im wesentlichen negativen Ergebnis. Man sieht eine strotzende Füllung der in der Pars reticular. verlaufenden arteriellen Ästchen und der die Papillen versorgenden Zweige, eine nur hier und da erkennbare Schwellung der adventitiellen

Zellen und eine Ablösung der Oberhaut bis in die Körnerschicht hinein. In einzelnen Zellen der letzteren Glykogen tropfen. Das elastische Gewebe und die Anhangsgebilde der Haut bieten nichts Bemerkenswertes. Nirgends im Gefäßapparate, weder in Arterien noch Venen, sind Bakterien zu finden.

Ich hatte mit Absicht von einer mikroskopischen Prüfung der geschilderten hämorrhagischen Hautherde Abstand genommen, da ich mir von einer solchen, nach den gerade in dieser Richtung vorliegenden, reichlichen und übereinstimmenden Befunden, die Feststellung neuer Tatsachen nicht versprach. Es lag mir vielmehr daran, über das Verhalten der Haut gerade an den Stellen Aufschluß zu gewinnen, die nach dem makroskopischen Aussehen besonders schwer geschädigt erschienen. Um so überraschender war das im Grunde genommen völlig negative Resultat der histologischen Untersuchung. Hier bleibt meines Erachtens nichts anderes übrig, als anzunehmen, daß die, nach den zahlreichen Petecchien und petecchialen Pusteln zu schließen, in ungeheurer Menge in das Gefäßgebiet der Haut verschleppten Krankheitserreger neben ihrer, zur Bildung dieser Herde führenden, auf direkte Ansiedlung in den Hautgefäßen zu beziehenden, örtlichen Wirkung auch einen toxischen Effekt entfaltet haben, der sich in einer mehr diffusen, über große Strecken verbreiteten Schädigung der Hautdecke äußert und ein Krankheitsbild ausgelöst hat, das man kurz als Epidermolyse bezeichnen darf. Auch an solchen Stellen, an denen die Haut makroskopisch ganz unverändert erschien, ließ sich die Oberhaut in großer Ausdehnung fetzenweise abziehen, ein Beweis, daß es auch dort bereits zu einer Lockerung des Zusammenhanges der Oberhautzellagen gekommen war. Die Patientin, die ich, dank dem Entgegenkommen des Herrn Schottmüller, noch bei ihren Lebzeiten zu sehen Gelegenheit hatte, bot vollständig das Bild einer schweren Verbrennung. Von der Großartigkeit des Prozesses wird besser als jede Beschreibung ein Blick auf die der Arbeit beigegebene Abbildung eine Vorstellung gewähren.

Derartig schwere Schädigungen der Haut durch vom Blut aus eingedrungene Krankheitserreger gehören unzweifelhaft zu den selteneren Vorkommnissen. Gerade durch den *Staphylococcus aureus* hervorgerufene akute Allgemeininfektionen scheinen in dieser Beziehung eine gewisse Vorzugsstellung einzunehmen — ich erinnere an die, den Fall I begleitende, allmählich wieder zurückgegangene, als *Erythema urticatum* aufgefaßte, meines Erachtens ähnlich zu deutende Affektion —, während ich gleich ausgedehnte und hochgradige Erkrankungen der Haut bei auf Streptokokken zurückzuführenden akuten Allgemeininfektionen bisher nicht beobachtet habe.

Hervorzuheben ist bei dem in Rede stehenden Fall, daß es sich um eine, in das Gebiet der puerperalen Sepsis gehörende Affektion gehandelt hat, bezüglich deren der so erfahrene Lenhartz¹ erklärt, „daß eigentliche Metastasen in der Haut bei der puerperalen Sepsis zu den größten Seltenheiten gehören“. Diese Tatsache wird seiner Meinung nach dadurch verständlich, „daß die für das Entstehen solcher Effloreszenzen (pustulöser Hauteruptionen) fast ausnahmslos verantwortlichen Staphylokokken hier fast nie in Frage kommen“. Die mitgeteilte Beobachtung dürfte der Lenhartzschen Ansicht als Stütze dienen.

Der IV. Fall betrifft ein 7 jähriges, am 20. VII. 09 aufgenommenes Mädchen, bei dem seit 8 Tagen eine kleine Beule bestand, die das Kind immer wieder abkratzte. An der rechten Wange fand sich eine vom Mund zum Jochbogen reichende entzündliche Rötung, deren Mitte von einer geschwürig zerfallenen Stelle eingenommen war. Der ganze rechte Oberschenkel geschwollen und bei Berührung außerordentlich schmerzhaft. 23. VII. Probepunktion in der Mitte des Oberschenkels ergibt in der Tiefe der Muskulatur Eiter; Eröffnung, Kontrainzision und Drainage. 24. VII. am linken Ohrläppchen ein kleiner Abszeß. Das Geschwür an der Wange nimmt an Größe zu. 26. VII.: Im Blut durch Kultur zahlreiche Kolonien des *Staphylococcus aureus* festgestellt. 27. VII.: Stecknadelkopfgröße rote Flecke an der Haut der Arme und Beine. 28. VII. erfolgt der Tod.

Die Sektion (1852/09) am 29. VII. ergibt zahlreiche, bis linsengroße Abszeßchen an der Körperhaut, den größten an der rechten Ferse. Anatomische Diagnose: Endocarditis ulcerosa, mitral. et tricuspid., Abscess. metastatici, pulmon., myocardi, renum, hepatis., Osteomyelit. femor. dextr.

Das für die histologische Untersuchung benutzte Hautstückchen (Taf. V, Fig. 14) enthält zwei Herde, einen stecknadelspitzengroßen in der Pars reticular. und einen etwas größeren am Übergang in die Subkutis. Über den Bau derselben geben am besten Aufschluß mit polychromem Methylenblau, eventuell unter Vorbehandlung mit saurem Orcein, und nach der Bestschen Methode tingierte Schnitte. An den letzteren überzeugt man sich, daß, namentlich an dem ins Fettgewebe hineinreichenden Herd, neben echten polynukleären Leukozyten zahlreiche große einkernige, wohl als geschwollene Bindegewebszellen zu deutende Elemente vertreten sind. Viele derselben sind mit Glykogen direkt beladen. Dieses ist teils in Form feinsten Tröpfchen, teils mehr in groben Klumpen abgelagert. In ganz enormer Menge findet sich Glykogen in den Zellen des oberen Herdes, in den Leukozyten mehr staubartig, in den großen Zellen in Kugeln und Tropfen, die dem Kern bisweilen kappenartig aufsitzen. Als dritten Bestandteil erblickt man wenig dichtgelagerte Erythrozyten. An Methylenblauschnitten ergibt sich nun als wichtiger Befund, meist im Zentrum der Herde gelegen, entweder ein einzelner Arterienast, oder ein Netz von Kapillaren, aufs dichteste erfüllt von Kokken, so daß eine Entscheidung darüber, ob außer ihnen auch noch zellige Elemente den Inhalt der verstopften Gefäße bilden, nicht getroffen werden kann.

¹ A. a. O. S. 501.

Übrigens sieht man, auch extravaskulär, zwischen den Zellen Staphylokokkenhaufen. Daraus erklärt sich das Wachsen der einzelnen Krankheitsherde, wie es mit bloßem Auge am Krankenbett wahrgenommen werden kann, wenn man den einen oder anderen derselben bei genügend langer Lebensdauer der Patienten genauer kontrolliert.

Die Übereinstimmung des klinischen und anatomisch-histologischen Bildes, soweit die sich an der Hautdecke abspielenden Veränderungen in Frage kommen, ist evident. Nur graduelle Unterschiede sind zu konstatieren. Die Affektion präsentiert sich im vorliegenden Fall hauptsächlich in Form distinkter, kleiner, hämorrhagisch-eitriger Herde, deren Entstehung auf bakterielle Verstopfung der ihr Zentrum einnehmenden, arteriellen oder kapillaren Gefäße, zurückzuführen ist. Wie in den drei anderen, vorstehend mitgeteilten Fällen entstammt das septische Material, das in die Hautarterien verschleppt, zu den geschilderten Veränderungen Anlaß gegeben hat, auch hier dem linken Herzen. So war die direkteste Möglichkeit zu dem Transport in die Gefäße des großen Kreislaufs gegeben. Auch das Krankheitsvirus ist das gleiche. Die Krankheitsdauer ist eine entsprechend kurze, wenn auch nicht ganz so foudroyant wie in Fall I und III, wo der Tod knapp eine Woche nach Beginn der ersten Krankheitserscheinungen auftrat. Hier hat sich die Affektion über etwa 14 Tage erstreckt.

V. Hier handelte es sich um einen 46 jährigen, am 11. II. 1910 aufgenommenen, an epileptischen Krämpfen leidenden Mann, bei dem deshalb eine Trepanation vorgenommen worden war. Es bestand nach der Operation ein remittierendes, in den letzten Tagen kontinuierliches, hohes Fieber. Pat. geht am 28. II. unter den Erscheinungen der Sepsis zugrunde.

Die am 1. III. vorgenommene Sektion (417/1910) ergibt bei dem kräftigen Mann, besonders an der linken großen und kleinen Zehe auf der plantaren Seite blaurote Färbung der Haut, die durch ein in das Haut- und Unterhautgewebe gesetztes Extravasat bewirkt ist. Die Umgebung dieser Stelle ist eitrig durchtränkt. — An der rechten Aortenklappe ein linsengroßer Bezirk von einer außerordentlich bröckligen Exkreszenz eingenommen; Schließungsränder der Mitralis wulstig. An der Vorhofsfläche des vorderen Zipfels, an dessen Basis, ein kleinfingernagelgroßes, unregelmäßiges, mit graurötlichen, bröckligen Massen belegtes Ulkus. Die bakteriologische Leichenblutkultur zeigt sämtliche Platten übersät mit *Staphylococcus aureus*. Anatomische Diagnose: Endocardit. malign. mitral. et aort., Abscess. metastat. myocardii, renum, hepatis, prostatae.

Von den mikroskopisch untersuchten Hautstücken (vgl. Taf. I, Fig. 1) war das eine von multiplen Abszeßchen durchsetzt. Diese liegen entweder an der Grenze von Papillarkörper und retikulärer Schicht, oder in der Subkutis. Eine der oberen ist gegen die Epidermis durchgebrochen, so daß

diese hier völlig abgelöst ist. Ein zu diesem Bezirk gehörender Arterienast ist von einem aus Leukozyten, roten Blutzellen und Kokken bestehendem Material erfüllt. Die Arterienwand ist an einer Stelle völlig eitrig eingeschmolzen und von einem breiten, hämorrhagisch-eitrigen, Wall umgeben. An anderen Herden sieht man teils in ihren Zentren, teils mehr randwärts, von dichten Kokkenpfropfen verstopfte Kapillaren. Bisweilen sitzen solche Kokkenmassen in den Vasa vasorum von Arterienästchen, deren Lumen entweder nur wandständige, oder total obturierende, gemischte Thromben aufweist. Im Fettgewebe der Subkutis finden sich ganze Kapillarnetze durch Bakterienhaufen verlegt und an solchen Abschnitten gewinnt man einen vortrefflichen Eindruck von der Großartigkeit der durch bakterielles Material verlegten Gefäßgebiete. An nach der Bestschen Methode gefärbten Schnitten erkennt man an dem in seiner Wand partiell eingeschmolzenen Arterienast außer dem zelligen, ein feinnetziges, fibrinöses Exsudat, das sich in das Gefäßinnere hinein verfolgen läßt. Die adventitiellen Zellen sind in große mononukleäre Elemente umgebildet, an die sich in dichten Haufen zusammenliegende, teils wohlhaltene, teils zerfallene polynukleäre Zellen anschließen. Glykogen ist, wenn auch nicht in großer Menge, in feineren und gröberen Tropfen in beiden Zellarten abgelagert.

Der Fall bietet zu epikritischen Bemerkungen nur wenig Anlaß. Die Erkrankung des Hautorgans war hier wenig ausgebreitet. Leider gibt die Krankengeschichte über den Termin des Auftretens des bei der Sektion konstatierten, nur auf zwei Zehen beschränkten Prozesses keinen Aufschluß, so daß wir über das Alter der Veränderungen keine Angaben machen können. Die bei der makroskopischen Betrachtung als einfache Extravasate imponierenden Herde ließen auf dem Durchschnitt schon bei Betrachtung mit bloßem Auge keinen Zweifel darüber, daß hämorrhagisch eitrig Prozesse vorlagen. Diese Auffassung wurde durch das Mikroskop bestätigt und dabei der einwandfreie Beweis erbracht, daß es sich um eine echt hämatogene Infektion der Haut handelte. Als in dieser Beziehung ausschlaggebender Befund hat der Nachweis der Krankheitserreger in Blutgefäßen zu gelten. Und zwar sind es auch hier Arterienästchen und die zugehörigen Kapillarbezirke, innerhalb deren die pyogenen Bakterien gefunden wurden. Aber sie haben sich nicht bloß auf diese Stätten beschränkt, sich vielmehr auch, wenigstens an einem Arterienast, in dessen Vasa vasorum angesiedelt und zur Thrombenbildung in den Arterienast geführt. Und an einer anderen Arterie hat sich im Anschluß an die intravaskuläre Kokkenlagerung eine, wenn auch nicht auf die ganze Zirkumferenz des Gefäßes ausgedehnte, eitrig Durchsetzung derselben, eine Panarteriitis purulenta, entwickelt. Dadurch wird die Schwere der

Hautveränderungen am Sitz der Erkrankung, der ausgesprochen hämorrhagisch eitrige Charakter, ohne weiteres verständlich.

Den bisher berichteten, sämtlich durch pyogene Staphylokokken hervorgerufenen, von metastatischen Prozessen in der Haut begleiteten Fällen lasse ich den Bericht über zwei andere folgen, bei denen pyogene Streptokokken als Krankheitserreger in Betracht kommen.

VI. Die 28 jährige, am 10. VI. 1910 aufgenommene Frau war am 5. VI. von einer Hebamme, die das Kind extrahiert hatte, entbunden worden. Die Nachgeburt wurde spontan ausgestoßen. Nach der Geburt Schüttelfrost, der sich seitdem täglich wiederholt hat. An der linken Ferse eine große blaurote Stelle mit entzündlichem Rand. An der rechten Gesäßbacke eine etwas mißfarbene, fünfmarkstückgroße Hautpartie mit gerötetem Rand. Uteruskörper bis zum Nabel reichend nach rechts gelagert. Beide Parametrien druckempfindlich. Aus dem Blut werden hämolytische Streptokokken gezüchtet. 12. VI. Die entzündlichen Hautstellen an der linken Ferse und in der rechten Glutäalgegend sind größer geworden und sehen brandig aus. Am 13. VI. Tod.

Sektion 1180/1910. An den Füßen blasenförmige Abhebung der Haut; aus dem Blaseninhalt werden pyogene Streptokokken in Reinkultur gewonnen. In der Gegend des Steißbeins, auf die rechte Glutäalgegend übergehend, ein handtellergroßes, schmutzig belegtes Ulkus. Beim Einschneiden zeigt sich der Grund bis tief in die Muskulatur hinein hämorrhagisch infiltriert und sulzig. Beide Parametrien verdickt und weich, rechts mehr als links. Beim Einschneiden trifft man auf erweiterte Venen, die zum Teil flüssiges Blut, zum Teil, besonders rechts, dünnflüssigen Eiter enthalten und entzündlich gerötete mißfarbene Wandungen darbieten. Auch in der Uterussubstanz erweiterte Venen mit eitrigem Inhalt. Anatomische Diagnose: Uterus puerperalis, Thrombophlebitis purulenta parametr. utr., Pachymeningitis fibrinosa.

Für die mikroskopische Untersuchung wurde ein Stück der erkrankten Haut der Ferse verwendet (vgl. Taf. II, Fig. 4 bis 7). Die dicke Hornschicht ist von den tieferen Oberhautschichten abgelöst, die Zellen der letzteren, zum Teil in spindelförmige lang ausgezogene Gebilde, zum Teil in schollig miteinander verklumpte Massen umgewandelt, sitzen dem Papillarkörper nur lose auf. Die Papillenspitzen sind geschwollen, die hier verlaufenden Kapillaren strotzend gefüllt. Auch die Gefäße der Pars reticularis, Arterien, Venen und Kapillaren sind durch Blut stark ausgedehnt. In einzelnen größeren Arterienästen sind spärliche Leukozyten angesammelt, andere gleichgroße, an der Grenze gegen die Subkutis gelegene, Arterien enthalten Fibrin und Leukozyten. An mit Pyronin-Methylgrün gefärbten Schnitten sieht man schon bei schwacher Vergrößerung, über alle Schichten der Haut zerstreut, bis in die Subkutis hinein, zahlreiche, teils quer-, teils längsgetroffene, durch die leuchtend rote Farbe scharf hervortretende, röhrenförmige Kanäle, die sich bei Be-

trachtung mit Immersion mit Streptokokken vollgepfropft erweisen. Auch mit Orcein und polychromem Methylenblau tingierte Schnitte geben instructive Bilder. An diesen beobachtet man einmal streptokokkenhaltige größere Arterienäste, sowie durch Streptokokken verlegte, zu diesen gehörende, Vasa vasorum und ferner größere Venenstämmchen, teils mit wandständigen Leukozytenthromben, teils durch rote Blutzellen prallgefüllt. Hier und da ist es zu einer schweren Schädigung der Venenwand derart gekommen, daß zwischen die Wandschichten ein aus Blut, Fibrin und spärlichen Leukozyten bestehendes Exsudat gesetzt und dadurch das Lumen der betreffenden Vene auf einen relativ schmalen Spalt verengt ist. Ob nicht manche der perivaskular gelegenen kokkenhaltigen Kanäle als Lymphgefäße anzusehen sind, konnte ich nicht mit Sicherheit entscheiden. Der Nachweis von Glykogen an nach der Bestschen Methode behandelten Schnitten gelang nicht. Dagegen zeigten sich an solchen, speziell in einzelnen streptokokkenhaltigen Arterienästen, ganz enorm geschwollene Endothelien, bald noch der Wand anliegend, bald frei im Lumen.

Ein Blick auf die, auf der Tafel II befindlichen, Mikrophotogramme, zusammen mit der vorstehend entworfenen Schilderung der histologischen Befunde, und ein Vergleich dieser mit den durch Staphylokokkenmetastasen an der Haut bewirkten Veränderungen zeigt zur Evidenz die gewaltigen Unterschiede. Bei diesen eine sich hart an die Bakterieneinschwemmung haltende, bald rein eitrige, bald hämorrhagisch-eitrige Infiltration von Haut- und Unterhautgewebe, bei jener eine an Großartigkeit nichts zu wünschen lassende Verstopfung zahlreicher Kapillarbezirke neben zum Teil recht erheblicher Kokkenansiedlung in größeren Arterienästchen und dabei eine scheinbar nur unwesentliche Schädigung des Hautgewebes, wenigstens soweit es sich um zellig exsudative Vorgänge handelt. Und trotzdem ist die Wirkung der Krankheitserreger eine recht gewaltige, wie die schon makroskopisch erkennbare Blasenbildung an der harten Haut der Fußsohle unzweideutig bewiesen hat. Und diese ist aufgetreten, obwohl die den eigentlichen Papillarkörper und die obersten Schichten der Pars reticular. versorgenden Gefäße frei von Streptokokken geblieben sind. Hier ist also die Fernwirkung der Bakterien eine viel größere als bei den hämatogen eingedrungenen Staphylokokken. Auch die den Sitz stärkerer Streptokokkenanhäufungen bildenden größeren Arterienästchen haben nicht entfernt so stark auf die Eindringlinge reagiert, wie wir das bei den staphylokokkenhaltigen Arterien gesehen haben. Nur die an solchen Stellen entstandenen wandständigen Thromben weisen auf eine Schädigung der Wand hin. Freilich war es auch an Venen, und zwar ohne daß diese Streptokokken zu beherbergen schienen, wenigstens stellenweise, zu einer ernsteren Wanderkrankung gekommen, die sich als fibrinöse Ent-

zündung mit Beeinträchtigung des Lumens an der betreffenden Strecke dokumentierte. Der Krankheitsverlauf ist ein überaus stürmischer, sich auf nur 8 Tage erstreckender. Die Eintrittspforte für das Virus ist im Uterus gelegen, von dort hat es seinen Weg in die parametrischen Venenplexus genommen und so zu einer Infektion der Blutbahn geführt. Die durch Kultur aus dem Blut der Lebenden, der Leiche und aus der Hautblase gewonnenen Kokken haben sich als echte Erysipelstreptokokken erwiesen.

VII. Der am 19. II. aufgenommene $\frac{3}{4}$ jährige Knabe hat an Masern gelitten. Am 3. III. werden bei dem Kind an beiden Fußsohlen, in geringerem Grade auch an Ober- und Unterschenkeln ausgedehnte, bläulich gefärbte Partien bemerkt, an denen die Haut zum Teil in großen Blasen abgehoben ist. Dieser Befund erweckt den Verdacht, daß es sich um eine, ätiologisch allerdings rätselhafte Gangrän, speziell des linken Beines, handeln könne. Das Kind geht am 8. VIII. zugrunde.

Bei der Sektin (520/13) wird folgender Befund, speziell an der Haut, erhoben: An der Beugeseite des Zeigefingers der rechten Hand befindet sich eine hämorrhagische Blase. An beiden Beinen, am Ober- wie Unterschenkel, sieht man bis zehnpfennigstückgroße blaue Stellen, über denen die Haut nach Art von Brandblasen gelöst ist. In größerer Ausdehnung finden sich solche auch an den Zehen des rechten Fußes, sowie an der Fußsohle (vgl. Taf. VI, Fig. 18), von der die Haut im ganzen vorderen Drittel blasig abgehoben ist. Der rötlich gefärbte Blaseninhalt ist dünnflüssig. Am linken Fuß fehlt die Oberhaut bis zu Knöchelhöhe. Das bloßliegende Corium ist tiefrot und glänzend, beim Einschneiden zeigt das Unterhautgewebe ein diffus rotes, mißfarbendes Kolorit und weiche, zerfließliche Konsistenz. Eine eingehende Untersuchung der Arterien und Venen, besonders des linken Beines, von der Leistenbeuge bis zum Fuß, ergab deren völlige Integrität und die Abwesenheit von Thromben oder Emboli. Aus dem Inhalt der Fingerblase und aus dem Blut der Leiche wurden Erysipelstreptokokken in Reinkultur gezüchtet.

Histologisch (Taf. III, Figg. 8 bis 10) konnte man feststellen, daß die Oberhaut, etwa von der Mitte der Körnerschicht an, blasig abgehoben ist. Der noch haftende Rest zeigt undeutliche Kernfärbung und ist bedeckt von einem körnigen Detritus, dem stellenweise noch Komplexe zusammenhängender, lang ausgezogener Epithelzellen, aber keine Mikroorganismen beigemischt sind. Im Bereich der Blasenbildung ist der Papillarkörper geschwollen und man nimmt, sowohl in der Pars papill. wie reticular., ein sich an Methylenblauschnitten sehr scharf durch seine dunkle Färbung abhebendes, zierliches Netzwerk feinsten Kanälchen wahr, die dieses Kolorit dichten Streptokokkenanhäufungen verdanken. Sie umspinnen auch die Körper der Knäueldrüsen, zeigen an anderen Stellen an Wunderknäuel erinnernde Bildungen und finden sich bis ins Unterhautgewebe hinein, hier aber weniger ausgedehnt. Eingesprengt in die Maschen dieser Netze liegen große Mastzellen in nicht unbeträchtlicher Zahl. Erwähnen muß ich noch den Befund an den Wandschichten eines größeren Arterienastes der Subkutis. Hier lassen sich mit Streptokokken angefüllte, röhrenförmige Hohlräume sowohl in der Adventitia, als

auch zwischen Media und Elastica interna wahrnehmen. Die Bakterien liegen hier in solcher Menge, daß über die Struktur der Innenwand dieser Hohlräume nichts Bestimmtes auszusagen ist. An solchen Stellen, an denen die Bakterien aber nur wandständig gruppiert sind, finden sich in dem noch freien Lumen Blutzellen, so daß die Deutung dieser Kanäle als Vasa vasorum berechtigt erscheint. Zudem konnte ich im Lumen einer Arterie in der Subkutis zahlreiche Streptokokken feststellen, so daß an der intravaskulären Lagerung der Kokken nicht gezweifelt werden kann. Zum Teil durchsetzen sie das Intimagewebe und sind zwischen Intima und Elastica interna eingedrungen (vgl. Taf. III, Figg. 8 bis 10).

Der histologische Befund weist weitgehende Analogien mit den im vorigen Fall konstatierten Veränderungen auf, vor allem hinsichtlich der Großartigkeit der Überschwemmung der Blutbahn mit Streptokokken. Auch hier ist das Kapillargebiet bevorzugt. Aber auch in größeren Gefäßästen sind Streptokokken angesiedelt, und die Wandstruktur läßt nicht den geringsten Zweifel darüber, daß wir es mit Hautarterien zu tun haben. Und zwar finden sich die Kokken, freilich nicht in großer Menge, sowohl im Lumen, als auch, hier total obturierend, in den zugehörigen Vasa vasorum. Daneben wird auch eine intraparietale Lagerung der Streptokokken beobachtet. Die Hauterkrankung ist hier über verhältnismäßig große Strecken ausgedehnt, und man kann sich nach den an den untersuchten Hautstücken gewonnenen Ergebnissen eine Vorstellung von der geradezu enormen Verlegung kapillarer Gefäßbahnen durch die eingedrungenen Krankheitserreger machen. Darauf ist das an den befallenen Hautbezirken konstatierte hochgradige Ödem, darauf ist die über große Hautstrecken ausgedehnte blasenartige Abhebung der Oberhaut zu beziehen. Zu einer zelligen Exsudation ist es, wie im vorigen Fall, an keiner Stelle der erkrankten Hautpartie gekommen. Der Prozeß hat sich, ganz ähnlich wie bei diesem, hauptsächlich an den distalen Abschnitten der Extremitäten abgespielt, und zwar sind die unteren bei weitem bevorzugt; an den oberen hat sich die Affektion auf einen Zeigefinger beschränkt.¹

Über die metastatische Natur der Herde kann nicht der geringste Zweifel herrschen. Die intravaskuläre Lagerung der Krankheitserreger ist der hierfür ausschlaggebende Befund. Hinsichtlich der Infektionsquelle unterscheidet sich der Fall von allen andern bisher besprochenen insofern, als weder am Herzen, noch in peripherischen Venen die Eintrittspforte für die pathogenen Streptokokken zu suchen ist. Die Hauterkrankung ist hier im Verlauf einer Allgemeinerkrankung mit unbekanntem Krankheitserreger, nämlich der Masern, aufgetreten. Aber es ist bekannt, daß bei den diese Kinderkrankheit, namentlich in manchen Epidemien, in großer Häufigkeit

¹ Für die Überlassung der klinischen Daten bin ich meinen Eppendorfer Kollegen, den Herren Sick, Schottmüller, Kibling, zu großem Dank verpflichtet.

begleitenden, Komplikationen, wie sie speziell seitens der Respirationsorgane, von der Nase an abwärts, vorkommen, die pyogenen Streptokokken eine große Rolle spielen. So liegen die Dinge auch hier. Aber trotz der großen Masernepidemien, die ich im Laufe der Jahre miterlebt habe, und trotz der zahlreichen schweren und schwersten, durch Streptokokken verursachten, Komplikationen, die ich, als tiefgreifende Nekrosen auf der Schleimhaut der oberen Luftwege und des Dickdarms sah, bin ich den hier geschilderten ähnlichen Veränderungen an der Haut nie begegnet. Was gerade in dem vorliegenden Fall zu einer so ausgedehnten Lokalisation der Krankheitserreger in der Hautdecke geführt hat, dürfte kaum zu ergründen sein. Für die Schwere der Hauterkrankung darf als beweisend der Umstand angeführt werden, daß die Mißfärbung bzw. der linken unteren Extremität den Verdacht einer beginnenden Gangrän erweckte. Erst die histologische Untersuchung der Haut hat uns das anatomische Substrat kennen gelehrt, das die am Krankenbett beobachteten Erscheinungen unschwer verständlich macht, ich meine die Verstopfung ausgedehnter kapillarer Gefäßbezirke durch die in Betracht kommenden Krankheitserreger.

Den bisher besprochenen, durch wohlbekannte Krankheitserreger verursachten metastatischen Hautaffektionen reihe ich hier eine andere an, die bei einer schweren akuten Allgemeinerkrankung mit noch unbekanntem Erreger als nicht nur regelmäßigste, sondern wichtigste Erscheinung, ohne allen Zweifel auch als durch Metastase bewirkt, aufzufassen ist, ich meine die roseolaartige Hauterkrankung beim Typhus exanthematicus. Die Seltenheit des Vorkommens dieser Infektionskrankheit in unserem Himmelsstrich wird es rechtfertigen, wenn ich, obwohl nur auf eine einzige Beobachtung gestützt¹, über meine an der Haut erhobenen Beobachtungen berichte. Aber, so weit ich sehe, sind weder früher noch jetzt ähnliche Untersuchungen angestellt worden. Zudem finde ich die Ergebnisse so eigenartig, daß ich es auch aus diesem Grunde für angebracht halte, sie mitzuteilen.

Die Gelegenheit bot sich im Laufe dieses Frühjahrs bei einem, auf der Abteilung des Hrn. Brauer befindlichen, vom Balkan aus eingeschleppten, einen 28 jährigen Krankenwärter betreffenden, Fall von Fleckfieber. Es wurde dem Patienten am 8. Krankheitstage (9. VI. 13) eine etwas über stecknadelkopfgroße, noch nicht hämorrhagische Roseola aus der Umgebung der linken Mamilla exzidiert und von mir sofort der näheren Untersuchung unterworfen. In Berücksichtigung der von mir

¹ Ich habe inzwischen Gelegenheit gehabt, eine gleichfalls vital exzidierte Roseole eines 2. auf der Abteilung des Hrn. Brauer beobachteten, Falles von Flecktyphus zu untersuchen. Die dabei erhobenen Befunde decken sich in allen wesentlichen Punkten mit den hier geschilderten. Die Roseole wurde auch in diesem Falle am 8. Krankheitstage von der Rückenhaut (26. IX. 13) exzidiert.

bei der mikroskopischen Prüfung von Roseolen bei Typhus abdominal. gemachten Erfahrungen, über die ich früher berichtet habe¹, bediente ich mich des gleichen Kunstgriffs wie damals, in der freilich nur leisen Hoffnung, vielleicht doch das Virus in der erkrankten Haut auffinden zu können. Diese Hoffnung sollte indes, um es vorweg zu nehmen, nicht in Erfüllung gehen. Dagegen ist es mir wenigstens gelungen, über die der Fleckfieber-Roseola zugrunde liegenden anatomischen Vorgänge ins klare zu kommen.

Ich habe das noch lebendwarme, ohne Lokalanästhesie entfernte Hautstückchen sofort in Bouillon geworfen und während etwa 20 Stunden bei 37° im Thermostaten gelassen. Es wurde dann unter strömendem Wasser einige Stunden gespült und danach in Müller-Formol und reiner Müllerschen Lösung und, nach nochmaligem Spülen, in steigendem Alkohol fixiert. Das in Paraffin eingebettete Stückchen, von dem ich, um etwaige Verunreinigungen zu entfernen, Grund und Ränder vorher abgetragen hatte, wurde dann in Serien zerlegt und die Schnitte nach der, für die Färbung von Geweben und Mikroorganismen gleich ausgezeichneten, Pappenheimschen panoptischen Methode tingiert. Einige Schnitte wurden mit polychromem Methylenblau überfärbt und mit Tanninorange differenziert, wenige endlich mit Methylgrün-Pyronin behandelt.

Als wesentlichste Veränderung (vgl. Taf. IV, Figg. 11 bis 13) ergab sich eine Erkrankung an einigen die Pars reticularcutis senkrecht durchziehenden Arterienästchen. Schon bei schwacher Vergrößerung erkennt man, namentlich um das eine Gefäß herum, eine stärkere Zellanhäufung, so daß dasselbe streckenweise wie blau bestäubt erscheint. Bei Betrachtung mit Immersion lassen sich nun die folgenden Veränderungen feststellen.

Der Prozeß ist nicht diffus in der ganzen Länge der kleinen Arterie entwickelt, sondern herdförmig, so daß umschriebene Anschwellungen entstehen, die sogar nicht einmal die ganze Zirkumferenz des Gefäßes betreffen und sich dann als halbkugelige Vorwölbungen präsentieren. Die zelligen Elemente, die diese Anschwellung bewirken, sind durchweg einkernig, teils klein mit pyknotischem Kern und schmalem eosinrotem Plasma, fast von dem Aussehen kleiner Erythroblasten, teils etwas größer mit blassem, zierlich strukturiertem Kern und breiterem, hellrosa gefärbtem Plasmaleib; endlich finden sich Zellen, die gleichfalls einen kleinen pyknotischen Kern enthalten, aber einen protoplasmareichen, eosinroten Zelleib besitzen.

Es folgt dann eine kurze Strecke, in der jede Wandstruktur fehlt. Die Begrenzung des Gefäßes ist hier durch streifig klumpige, oder ganz

¹ Diese Zeitschrift. Bd. XXXIV. S. 442.

ungeformte Chromatinmassen gebildet. An diese Partie des Geäßrohrs schließt sich ein etwas dickeres, zu zirkularer Auftreibung Anlaß gebendes Knötchen, das in seinem Bau dem erst beschriebenen gleicht. Der Zellmantel ist hier so dicht, daß es nur mit Mühe gelingt, über das Verhalten der inneren Wandschicht der Arterie Aufschluß zu bekommen. Danach scheint die Intima gequollen, während ich über die Tunica media Bestimmtes nicht auszusagen vermag. Da wo die periarterielle Zellanhäufung weniger massig ist, kann man indes die völlige Integrität der Muscularis erkennen, während die Intimazellen zum Teil geschwollen, zum Teil in ein detritusartiges, feinkörniges, frei im Lumen liegendes Material umgewandelt sind. Die zuletzt erwähnten Veränderungen sind insbesondere an einem, eine Knäueldrüse begleitenden, Arterienästchen zu konstatieren. Im ganzen haben sich drei Gefäße als in der geschilderten Weise erkrankt herausgestellt, ein größeres im Zentrum des Hautstückes verlaufend, ein mehr seitlich davon gelegenes kleineres und ein auf der andern Seite befindliches, zu der hier gelegenen Knäueldrüse gehöriges. Im übrigen bot die Haut nichts Bemerkenswertes, speziell fehlten im Bereich der erkrankten Gefäße jegliche Gebilde, die nur im entferntesten hätten als Krankheitserreger bakterieller oder protozoischer Natur gedeutet werden können.

Über die Art der hier vorliegenden Affektion können Meinungsverschiedenheiten meines Erachtens nicht obwalten. Wir haben es mit einer ganz eigenartigen Erkrankung der feineren Hautarterien zu tun, die sich einmal als hyaline Umwandlung und Nekrose der innersten Wandschichten und andererseits als proliferativer, sich hauptsächlich in der Adventitia abspielender, zu umschriebener Knötchenbildung führender Prozeß präsentiert und Veränderungen setzt, die am ehesten mit den von der sogenannten Periarteriitis nodosa her bekannten verglichen werden können. Jedenfalls geht aus dieser Schilderung hervor, daß sich histologisch die Roseola beim Fleckfieber *toto coelo* von der des Darmtyphus unterscheidet und daß, falls die Richtigkeit meiner Befunde an einem größeren Material bestätigt werden könnte, uns die Untersuchung der Haut instand setzen würde, bei der, nichts weniger als leichten, Differentialdiagnose zwischen Fleckfieber und Darmtyphus die Entscheidung in der einen oder anderen Richtung zu fällen.

Ich bin durch Erfahrungen an großen Typhusepidemien genügend geschult, um zu wissen, daß wir in der Blutkultur ein Kriterium besitzen, das meist zum Ziele führt, indem uns dieses feine Reagens fast ausnahmslos innerhalb 12 bis 18 Stunden den Typhusbacillus zu Gesicht bringt. Aber es kommen doch, wenngleich selten, Ausnahmen vor, in denen auch dieses diagnostische Mittel versagt und die kulturelle Auffindung des

Typhusbacillus selbst bei **mehrfachen Blutentnahmen** nicht gelingt. Freilich ist die histologische Untersuchung, speziell bei Anwendung der hier benutzten Methode, zeitraubend, und es bedarf zur Herstellung der Präparate **mehrere Tage**.¹ Aber solange wir das Virus des Flecktyphus nicht kennen — und ich bin in dieser Beziehung auch durch die neuesten Befunde von Müller nicht überzeugt — ist jedes die Diagnose fördernde Mittel mit Dank zu begrüßen. Im übrigen halte ich es für durchaus wahrscheinlich, daß die beschriebenen Veränderungen auch mit einfacheren, eine rasche Fixierung und Färbung ermöglichenden, Hilfsmitteln nachzuweisen sein werden.

Die gerade die Hautarterien betreffenden Alterationen machen es un-
schwer verständlich, daß die so geschädigten Gefäße eher oder später durch-
lässig werden und daß das Exanthem, wie es für das Fleckfieber charakte-
ristisch ist, einen hämorrhagischen Charakter annimmt.

Die hier mitgeteilten Befunde² legen uns die Pflicht auf, bei an Fleck-
typhus verstorbenen Personen auch an inneren Organen, die ja, soweit ich
den einschlägigen Lehrbüchern entnehme, nichts weniger als charakteristische
Veränderungen aufzuweisen pflegen, auf das Verhalten der Blutgefäße zu
achten. Das zu meiner Verfügung gewesene Hautmaterial war ja so
minimal, daß ich andere Färbungsmethoden, speziell die zur Darstellung
der elastischen Elemente dienenden, nicht in Anwendung ziehen konnte.
Lag mir doch vor allem daran, auf die Anwesenheit eines Contagium
virum zu fahnden, zu dessen Nachweis ich die Pappenheimsche panop-
tische Methode für besonders geeignet hielt.

Überblickt man das vorstehend mitgeteilte Tatsachenmaterial zu-
sammen mit der von Lebet in seiner oben zitierten Arbeit gegebenen
statistischen Zusammenstellung der damals bereits bekannt gewordenen
Fälle von sogenannten pyämischen Hautentzündungen, so kann als fest-
stehend gelten, daß es hauptsächlich die durch Staphylo- und Strepto-
kokken verursachten akuten Allgemeininfektionen sind, in deren
Verlauf bazilläre Hautmetastasen bei weitem am häufigsten
auftreten. Auch die nach dieser Zeit publizierten einschlägigen Fälle be-

¹ Bei Anwendung von Alkohol als Fixierungsmittel und Färbung mit Eosin-
Hämatoxylin dürfte es möglich sein, in 24 Stunden die histologische Diagnose zu
stellen, was für klinisch-diagnostische Zwecke von großer Wichtigkeit wäre.

² Hlava beschreibt in der Haut von Fleckfieberkranken, ob in Roseolen oder in
von solchen freien Hautstücken geht aus seiner Schilderung nicht hervor „manchmal
um die Gefäße oder Drüsen herum gelegene klein- und großzellige Infiltrate mit
zentralem Zerfall“ (*Revue de médecine tchèque*, Année IV, Fasc. 1, p. 8), also Ver-
änderungen, die ganz uncharakteristisch sind und mit den von mir gesehenen nichts
zu tun haben.

stätigen das. In meinem eigenen Material überwiegen die Staphylokokken, trotzdem die Zahl der auf Rechnung von Streptokokken zu setzenden akuten Allgemeinerkrankungen in unsern Sektionsfällen bei weitem im Vordergrund steht. Ehe man in dieser Beziehung ein allgemein gültiges Gesetz aufstellen können, bedarf es noch viel ausgedehnter Untersuchungen. Aber so viel darf schon jetzt erklärt werden, daß den durch Staphylo- und Streptokokken ausgelösten metastatischen Hautentzündungen gegenüber die durch andere banale Entzündungserreger zustandekommenden Hautmetastasen entschieden in den Hintergrund treten. So habe ich selbst beispielsweise bei der großen Zahl der jährlich durch den *Diplococc. lanceolat.* verursachten tödlichen, mit Bakteriämie einhergehenden, Allgemeinerkrankungen noch nie Hautmetastasen gesehen und ich bin in der mir zugänglichen Literatur einwandfreien, durch das Mikroskop sichergestellten, Beobachtungen dieser Art nicht begegnet. Es darf also schon jetzt als ein bis zu einem gewissen Grade gültiges Gesetz angesehen werden, daß durch den *Diplococc. lanc.* hervorgerufene akute Allgemeinerkrankungen, auch solche, bei denen es zu einer schweren Mitbeteiligung des Herzklappenapparates kommt, nur ganz ausnahmsweise mit echten Hautmetastasen vergesellschaftet sind. Es bleibt für die Erklärung dieser immerhin auffallenden Tatsache meines Erachtens nur die Tatsache übrig, daß das Hautorgan in seinen verschiedenen Schichten keine für die Ansiedelung und Weiterentwicklung dieses Mikroben günstigen Bedingungen bietet. Gerade das Gegenteil trifft für die durch Staphylo- und Streptokokken ausgelösten akuten Allgemeininfektionen zu. Und doch bieten diese die Minderzahl gegenüber den durch den *Diplococc. lanc.* verursachten Allgemeinerkrankungen. Ich erinnere nur an die große Zahl von echten Lobärpneumonien, von denen ja ein großer Teil mit mehr oder weniger schweren Bakteriämien einhergeht. Ich gehe dabei nicht so weit wie manche Autoren, zu behaupten, daß jede Pneumonie von Bakteriämie begleitet ist. Nach unsern hier gesammelten, sehr ausgedehnten Erfahrungen trifft das nicht einmal für alle letal verlaufenen Lungenentzündungen zu, geschweige denn für die in Genesung ausgehenden. Aber nichtsdestoweniger sind ja, abgesehen von den das Herz und die Meningen betreffenden, wohl in erster Linie in Betracht kommenden Metastasen, solche an andern Stellen des Körpers (Gelenke, Hodenhüllen) auch nicht häufig, ganz besonders selten müssen sie aber an der Haut sein, an der ich ihnen noch nie begegnet bin. Es existieren zwar einige Angaben über das Vorkommen von Hautveränderungen bei Pneumokokkenmykosen, so von Jakob¹, wo bei dem an einer Pneumokokkenmeningitis verstorbenen

¹ *Jahrbuch der Hamburger Staatskrankenhäuser.* Bd. XIV. S. 55.

Individuum am Todestage an Rumpf und Extremitäten ein frisches, aus kreisrunden, stecknadelkopfgroßen, mattroten Flecken bestehendes Exanthem auftrat, so von Gougerot und Maux¹, die aus Blut und Ödemflüssigkeit einen grampositiven, dem Pneumococcus nahestehenden, kettenbildenden Coccus züchteten und glaubten, daß bazilläre Embolien durch avirulente, zum Teil schon abgestorbene, Bakterien bestanden haben.

Was nun die durch Staphylokokken verursachte Hautmetastasen belangt, so geht aus den in der Literatur vorliegenden Mitteilungen hierüber, in Übereinstimmung mit meinen eigenen Untersuchungsergebnissen, so viel hervor, daß eitrige Prozesse dabei eine ganz hervorragende Rolle spielen. Aber sie sind nicht die einzige Erscheinung, mit der die Haut auf das Eindringen der Staphylokokken von der Blutbahn her reagiert. Es werden vielmehr gerade als initiales Symptom ausgedehnte flüchtige Erytheme, mit und ohne Quaddelbildung und hämorrhagische Zustände, sowie tiefliegende Erythema nodos.-ähnliche Knoten beobachtet. Namentlich meine hier mitgeteilten Fälle I und III sind in dieser Hinsicht sehr lehrreich, und ich bin bei der epikritischen Besprechung derselben auf diese Verhältnisse schon etwas eingegangen, veranlaßt ganz besonders durch das in Fall III in bezug auf den Nachweis der Krankheitserreger in der Haut an den Stellen, die makroskopisch durch Ablösung der Haut auf große Strecken besonders schwer geschädigt erschienen, vollkommen negative Untersuchungsergebnis. Es wäre aber durchaus verkehrt, deshalb die in Rede stehende Epidermolyse etwa als angioneurotische erklären zu wollen, wie das mit den uns beschäftigenden, jetzt als metastatische erkannten Dermatitis früher ganz allgemein geschehen ist. Es darf vielmehr mit einer an Gewißheit grenzenden Wahrscheinlichkeit behauptet werden, daß auch diese Hautveränderung mit den hämatogen eingedrungenen Staphylokokken in Verbindung zu bringen und als Fernwirkung durch an anderen Hautstellen sitzende Kokken verursacht aufzufassen ist. Denn daß solche tatsächlich in die Haut verschleppt worden sind, ist durch die an manchen Hautstellen sehr zahlreich aufgetretenen, am Krankenbett wie am Sektionstisch konstatierten Papeln, und hämorrhagischen, bzw. hämorrhagisch-eitrigen Herde nachgewiesen, die wir als durch intravaskuläre Staphylokokkenansiedelungen verursacht kennen gelernt haben.

Nun drängt sich ja ohne weiteres die Frage auf, warum denn diese schweren, mit Erythem, Quaddelbildung und Epidermolyse einhergehenden

¹ Gougerot u. Maux, Septicémie à localisations articulaires, cutanées et sous-cutanées. *Gazette des hôpitaux*. 1913. Nr. 59. S. 958.

Zustände, auch wenn es zu reichlicher, durch Staphylokokken veranlaßter, Entstehung hämorrhagischer oder hämorrhagisch-pustulöser Metastasen in der Haut kommt, nicht öfter erscheinen. Für die Beantwortung dieser Frage müssen zwei Faktoren herangezogen werden, einmal die Virulenz der Staphylokokken, die selbstverständlich eine wechselnde ist, ohne daß wir in der Lage sind, dies durch biologische oder experimentelle Untersuchungen beweisen zu können, und ferner die Empfindlichkeit der Haut, die bei den einzelnen, das Opfer einer Allgemeininfektion durch Staphylokokken gewordenen, Personen ebenfalls differiert. Selbst für das Zustandekommen der metastatischen Herde an den Orten der intravaskulären Kokkenansiedlung müssen wir auf diese beiden Momente rekurrieren. Sie allein machen es verständlich, warum es nur in einem Bruchteil der Fälle von Blut-Staphylokokkosen zu Hautmetastasen kommt. In dieser Beziehung nimmt die Haut eben eine Sonderstellung ein, die von der der Nieren, um nur ein anderes Organ zu nennen, sehr wesentlich abweicht. Während diese bei Fällen von sogenannter Staphylokokkensepsis, sie mögen eine anatomische Ätiologie welcher Art immer haben, kaum je frei von Metastasen angetroffen werden, d. h. also, während die Nieren auf hämatogen eingeschwemmte Staphylokokken so gut wie ausnahmslos mit der Bildung von in der Rinde oder im Mark gelegenen Abszessen reagieren, bleiben solche in der Haut bei derartigen Fällen meist aus, und es kommt nur in einem Bruchteil zu Hautmetastasen, die sich, wie ich ganz in Übereinstimmung mit Lenhartz¹ behaupten kann, bei weitem am häufigsten als kleine Eiterbläschen präsentieren. Und in einem noch geringeren Prozentsatz aller Fälle, nämlich bei Individuen mit besonders empfindlicher Haut und unter dem Einfluß von besonders virulenten Kokken, entstehen jene, als pemphigusartige Blasen imponierenden oder von einer weitgehenden Epidermolyse begleiteten, Zustände. Aber auch an Erythema nodosum erinnernde Knoten können sich ausbilden, die freilich histologisch von diesen gänzlich verschieden sind. Ich selbst habe nur einmal Gelegenheit gehabt, derartige, einer Patientin exziierte Knoten zu untersuchen. Ich möchte deshalb auch auf die Frage, inwieweit das sogenannte Erythema nodosum mit den uns hier beschäftigenden Prozessen Berührungspunkte darbietet, nicht näher eingehen und behalte mir vor, wenn ich über weitere, einschlägige Befunde verfüge, darauf zurückzukommen. Die klinisch als tiefe Knoten auftretenden Krankheitsherde entpuppen sich histologisch als eitrig, bzw. hämorrhagisch-eitrig infiltrierte, die mit Verstopfung größerer, der Subkutis angehörender, Arterienäste in Verbindung gebracht werden konnten. Jedenfalls erlaubt uns ein

¹ A. a. O. S. 141.

eingehendes, anatomisch-histologisches, Hand in Hand mit bakteriologischer Forschung gehendes, Studium der metastatischen Hauterde bei sogenannter Staphylokokkensepsis das klinisch so vielgestaltige, als Hämorrhagien, als Pusteln, als tiefsitzende Knoten oder als Erythem mit bisweilen weitgehender Ablösung der Haut sich präsentierende, Krankheitsbild unschwer zu erklären.

Ich möchte übrigens nicht unterlassen, erneut darauf hinzuweisen, daß nicht alle bei Staphylokokkämien an der Hautdecke auftretenden Effloreszenzen, insonderheit nicht alle kleinen Pusteln, metastatischer Natur zu sein brauchen. Eine sichere Entscheidung vermag nur das Mikroskop zu bringen. Ich halte die makroskopische Beurteilung dieser Herde als hämatogen oder ektogen entstandener, für außerordentlich schwer, ja unmöglich, besonders wenn sie nur in sehr geringer Zahl vorhanden sind, und wenn andere Veränderungen der Haut, wie wir sie als im Verlauf von Staphylokokkämien auftretend kennen gelernt haben, fehlen. Ein sehr lehrreiches Beispiel dieser Art habe ich kürzlich beobachtet. Es handelt sich um einen 32jährigen, nach einem phlegmonösen Gesichtsfurunkel an Metastasen in Lungen und Nieren zugrunde gegangenen, Mann, in dessen Blut schon bei Lebzeiten durch Kultur Staphylokokken nachgewiesen waren. Auf der Haut hatten sich sechs oder sieben, auch an der Leiche noch sichtbare, kleinste Eiterbläschen entwickelt, die klinisch als Metastasen aufgefaßt wurden. Die histologische Untersuchung (Taf. V, Figg. 15 bis 16) von drei derselben (bei der Sektion Nr. 1332/13 exzidiert) ergab übereinstimmend das Bild der ektogenen Impetigo, d. h. ein einkämmriges, zwischen den Oberhautschichten sitzendes Bläschen, dessen Inhalt aus Leukozyten, Detritus, zerfallenden Oberhautepithelien und massenhaft Staphylokokken gebildet ist. Der zugehörige Papillarkörper etwas geschwollen und zellreicher als normal, die tieferen Hautschichten vollkommen unverändert, insbesondere der gesamte Gefäßapparat.

Es ist selbstverständlich nicht gleichgültig, wie derartige Hautaffektionen beurteilt werden. Denn die Prognose der Fälle ist, wenn man zu der Überzeugung gelangt, sie als Metastasen auffassen zu müssen, eine ganz andere, als wenn man sie für ektogen entstandene erklärt. Im ersteren Falle ist meinen Erfahrungen nach die Prognose absolut infaust. Der bloße Staphylokokkennachweis im Blut gestattet nicht ohne weiteres eine durchaus ungünstige Vorhersage. Maßgebend in dieser Beziehung ist das gesamte klinische Bild und nur in denjenigen Fällen, in denen der Befund am Herzen auf ein Ergriffensein der Klappen hinweist, darf die Prognose letal gestellt werden. Doch ich will auf diese zur vorliegenden Frage nicht direkt gehörigen Verhältnisse nicht weiter eingehen.

Ganz ähnliche Erwägungen, wie die, denen ich vorstehend Raum gegeben habe, müssen auch bei Besprechung der durch Streptokokken verursachten Hautmetastasen Platz greifen. Zunächst möchte ich betonen, daß solche, wenigstens nach unsern Erfahrungen, bei weitem seltener angetroffen werden, als bei Staphylomykosen, obwohl durch Streptokokken verursachte Allgemeinerkrankungen an sich viel häufiger beobachtet werden als diese. Man muß also annehmen, daß auf dem Blutwege in die Haut eingedrungene Streptokokken noch viel leichter unschädlich gemacht werden, als Staphylokokken, oder anders ausgedrückt, daß die Disposition der Haut zu Erkrankungen durch vom Blute aus hineingelangte Streptokokken eine geringere ist, als wenn Staphylokokken eingeschwemmt werden. Auch hinsichtlich der Polymorphie der Hauterscheinungen möchte ich annehmen, daß diese geringer ist, als bei den Blutstaphylomykosen. Wenn ich mein eigenes Beobachtungsmaterial berücksichtige, so beschränkt sich dieses allerdings nur auf drei anatomisch sehr genau untersuchte Fälle, die beiden hier mitgeteilten und einen¹, der von den beiden erst erwähnten insofern unterschieden ist, als die der Erkrankung zugrundeliegenden Streptokokkenart, der *Streptococcus viridans* (Schottmüller), mit dem in jenen befundenen *Streptococcus erysipelas*. nicht identisch ist. Nehme ich den von Unna im Jahre 1895 als *Phlyctaenos. streptogenes* veröffentlichten Fall hinzu², so besteht bei diesen vier histologisch eingehend erforschten Fällen insofern weitgehende Übereinstimmung, als bei allen gleichmäßig festgestellt worden ist, daß exsudativ-eitrige Prozesse im eigentlichen Hautgewebe nahezu vollständig gefehlt haben. Schon Unna war diese Eigentümlichkeit aufgefallen und er schreibt darüber³, „daß trotz reichlicher Streptokokkenvegetation in der Haut jede Spur von Eiterung und trotz obturierender Thromben in den Hautkapillaren jede Blutung ausbleiben kann“. Im Unnaschen Fall hat es sich um eine Infektion mit gewöhnlichen Erysipel-Streptokokken gehandelt, die nach einer Masernerkrankung in der Blutbahn eingedrungen waren. In der Haut war es zunächst zur Bildung von Papeln, dann sehr bald von Bläschen gekommen. Histologisch besteht eine weitgehende Kongruenz der Befunde zwischen dem Unnaschen und meinen hier mitgeteilten Fällen.

Etwas abweichend gestaltete sich das Ergebnis in meinem, eine Allgemeininfektion durch den *Streptococc. virid.* darstellenden Fall. Hier war das Wesentliche die Anwesenheit zahlreicher, äußerst dicht stehender, kaum

¹ *Unna-Festschrift.* S. 79.

² Unna, *Histopathologie der Haut.* S. 653. — *Histol. Atlas der Pathologie der Haut.* 1899. Hft. 3. S. 55.

³ A. a. O. S. 57.

mohnkorngrößer, rötlicher Effloreszenzen an der Streckseite beider Hände, von denen viele ein kaum stecknadelspitzen großes Zentrum erkennen ließen. Ich konnte nun den Nachweis erbringen, daß hier nicht einfache Blutaustritte vorlagen, sondern daß man es mit umschriebenen, von Hämorrhagien begleiteten, das kollagene Gewebe, speziell die Pars reticular. cut. betreffenden, nekrobiotischen Prozessen zu tun hatte, die durch teils frei im Gewebe, teils, wenn auch in sehr geringer Menge, in einem größeren Arterienästchen dieser Schicht befindliche Kokken verursacht waren. Als Beweis für das vital erfolgte Eindringen der Krankheitserreger in das betreffende Gefäß mußte ein dieses erfüllender, hauptsächlich aus Leukozyten bestehender, Thrombus angesehen werden.

Allgemeininfektionen durch den Streptococc. virid. kommen an sich schon nicht häufig zur Beobachtung, noch seltener aber auf ihn zu beziehende Metastasen. Ich selbst habe nur diesen einzigen Fall gesehen. Es war mir deshalb besonders interessant, daß Werther¹ neuerdings über einen einschlägigen Fall berichtete, indes ist dieser meines Erachtens nichts weniger als klar. Er betraf ein 18jähriges Mädchen, das 9 bis 10 Wochen vor dem Tode an einem Exanthem erkrankte. Bei der zweiten Blutaussaat wurde Streptococc. virid. gezüchtet. Die Sektion ergab verkäste Bronchiallymphdrüsen und vereinzelt embolisch-tuberkulöse Herde in Lungen, Milz und Herzmuskel. Es habe sich also um eine Doppelinfection mit Tuberkulose und Streptococc. virid. gehandelt. Über Sitz, Charakter und Ausdehnung des Exanthems fehlt jede Notiz und, was besonders bedauerlich ist, auch über das Resultat histologischer Untersuchung erkrankter Hautstücke. Werther hat diesen Fall gemeinsam mit drei weiteren beschrieben, bei denen es sich einmal um eine Infektion mit Staphylokokken (albus et citreus), dreimal mit Streptokokken handelte. Nur bezüglich der Staphylomykosen gibt Werther den histologischen Befund eines e viva exzidierten Hautstückchens. Aber auch dieser ist etwas summarisch gehalten, und man ersieht beispielsweise nicht, welche Gefäße mit den Worten: „Thrombose der tiefen Hautgefäße“ gemeint sind und was für Zellen an der Zusammensetzung des perivaskulären Infiltrats beteiligt waren. Bei dem zweiten, in dieser Kategorie berichteten, Fall hat eine histologische Untersuchung der Blasen, die hier bestanden, nicht stattgefunden, ebensowenig, wie erwähnt, bei dem dritten, bei dem ohnehin die gleichzeitig konstatierte Tuberkulose zum mindesten ein komplizierendes, für die Beurteilung der Hautaffektion nicht außer acht zu lassendes, Moment darstellt. Leider müssen auch gegen den vierten, von Werther besprochenen Fall, ernste Bedenken erhoben werden. Hier wird von dem

¹ *Münchener med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 31. S. 1709.

„typischen Ausschlag“ berichtet, der im Gesicht, an den Ohren, Händen und Füßen aufgetreten war. Nach den sich anschließenden Bemerkungen darf angenommen werden, daß eine Kombination von erythematösen, exsudativen und hämorrhagischen Prozessen bestanden hat. Dieses Exanthem verschwand, nachdem durch operative Eröffnung der Keilbeinhöhle in ihr angesammelter Eiter entleert worden war. Wenn man auch Werther darin wird beistimmen können, daß aus diesem therapeutischen Erfolg auf einen kausalen Zusammenhang zwischen Eiterherd und Exanthem geschlossen werden darf, so ist meines Erachtens für die Annahme der metastatischen Entstehung der Hautveränderungen von ihm kein beweisendes Argument beigebracht worden. Dazu hätte es zum mindesten der Feststellung von Streptokokken im Blut durch Kultur bedurft. Ich glaube also, daß dieser Fall nicht als Stütze für die Entstehung von Hautmetastasen durch Streptokokken anzusehen ist. Aber auch die beiden andern, als Belege für metastatische Streptokokkenaffektionen der Haut angeführten, Fälle sind bei dem Fehlen histologischer Untersuchungen nicht in diesem Sinne zu verwerten.

Unter Berücksichtigung der von Lebet in seiner Zusammenstellung hinsichtlich der Formen der Hauterkrankung gemachten Angaben und unter Verwertung des Unnaschen und meines eigenen, in dieser Beziehung gesammelten, Materials komme ich zu dem Resultat, daß die bei Streptokokken-Allgemeininfektionen vorkommenden Hautmetastasen von den im Verlauf von Staphylomykosen auftretenden insofern differieren, als eitrige Prozesse bei ihnen nur ausnahmsweise beobachtet werden, nach Lenhartz¹ in 2-3 Prozent. Dabei ist zu bemerken, daß Lenhartz auch für diese Fälle den Beweis nicht geführt hat, daß es sich tatsächlich um echte Hautmetastasen und nicht um ekto-gen entstandene, möglicherweise sogar durch andere Erreger verursachte, Pusteln gehandelt hat, denn eine histologische Untersuchung der Haut in diesen Fällen scheint nicht vorgenommen worden zu sein.

Ich komme also zu dem Ergebnis, daß ein gewisser Zusammenhang zwischen der Art der Hautaffektion und der Art des hämatogen eingedrungenen Krankheitserregers besteht, und zwar gilt das auch für die banalen, pyogenen Staphylo- wie Streptokokken, mit denen wir uns bisher ja nur beschäftigt haben. Immerhin wird auch bezüglich dieser, so weit speziell Streptokokken in Frage kommen, weiteres Material gesammelt und zwischen den verschiedenen Streptokokkenarten sorgfältig unterschieden werden müssen. Die Polymorphie der Exanthemformen scheint nach unseren bisherigen Erfahrungen

¹ A. a. O. S. 141.

bei den Staphylokokkenmetastasen der Haut eine bei weitem größere zu sein, als bei den mit Streptokokken zusammenhängenden.

Sehr viel mangelhafter sind, wie bereits erwähnt, unsere Kenntnisse hinsichtlich hämatogener Hautveränderungen durch den *Diplococc. lanceolat.* Vor allem fehlt bislang jede anatomische Grundlage, und ehe eine solche nicht geschaffen ist, bewegen wir uns auf ganz unsicherem Boden. Bei der unzweifelhaft großen Seltenheit der durch diesen Krankheitserreger bewirkten Hautmetastasen wird es schwer sein, größere Erfahrungen zu sammeln.

Ein einziges Mal konnte ich eine schwere metastatische Hautaffektion im Anschluß an eine Allgemeinerkrankung durch den sogenannten Friedländer-Bacillus beobachten. Ich habe darüber eingehend berichtet¹ und beschränke mich hier darauf, folgendes hervorzuheben:

1. lag nur ein einziger, klinisch als Furunkel gedeuteter, Herd an der Rückenhaut vor; 2. unterschied sich dieser schon makroskopisch durch den ganz eigenartigen, an die Beschaffenheit eines trüben Nasenschleims erinnernden, sich von der Schnittfläche entleerenden, nichts weniger als eitrigen Gewebssaft von dem Aussehen eines gewöhnlichen Furunkels; 3. enthielt das erkrankte Hautgewebe, wie besonders durch Schnittuntersuchungen festgestellt wurde, ganz enorme Mengen jenes, auch durch Blutkultur gewonnenen, sogenannten Friedländer-Bacillus, der durch seine Beimengungen zu der entzündlichen Gewebsflüssigkeit eben jene nasenschleimähnliche Konsistenz erhielt; 4. lag die Hauptmasse dieser Bakterien in den tiefsten Schichten der Subkutis bis an die Faszie heran, während die obersten Hautlagen vollkommen frei von solchen waren. Eine Mitbeteiligung des Gefäßapparates, abgesehen von einer prallen Füllung der Kapillaren und Präkapillaren, in der Lederhaut bestand überhaupt nicht.

Gerade aus der Art der Anordnung der Bakterien in den tiefsten Lagen der Subkutis, bei Freibleiben der oberflächlichen Kutisschichten, ist ein wesentliches Argument für die Deutung der Affektion als einer metastatischen herzuleiten. Ich halte es für wichtig, diesen Punkt zu betonen, um die Vorstellung nicht aufkommen zu lassen, daß als Voraussetzung für die Auffassung einer Hauterkrankung als einer bakteriell-metastatischen der intravaskuläre Nachweis der Krankheitserreger unumgänglich nötig sei.

Weitere Erfahrungen über den uns hier beschäftigenden, in die Kategorie der Friedländer-Bacillusgruppe gehörenden Mikroben, den ich

¹ *Unna-Festschrift.* S. 84 ff.

für identisch mit dem Abelschen Ozaenabacillus halte und vor mehr als einem Dezennium als *Bac. mucos. capsulat.* bezeichnet habe, habe ich bisher nicht sammeln können, obwohl ich eine Anzahl der durch diesen Bacillus verursachten, im Anschluß an sogenannte Friedländer-Pneumonien entstandenen, letal verlaufenen Allgemeinerkrankungen mit Bakteriämie beobachten konnte.

Ein weiterer, wie der vorbesprochene Bacillus, zu den banalen Entzündungserregern gehörender Mikroorganismus, der zu metastatischen Hauterkrankungen bei schweren Allgemeininfektionen Anlaß gibt, ist der Bacillus des grünen Eiters. Ich habe in zwei auf ein recht großes Untersuchungsmaterial gestützten Arbeiten¹ unter anderem eine eingehende histologische Schilderung der dabei vorkommenden Hauterkrankungen gegeben, die sich in vieler Beziehung mit der seinerzeit von Kreibich betreffs des sogenannten Ekthyma gangraenos. gegebene Beschreibung decken. Ich will übrigens bemerken, daß gerade bei dieser Erkrankung das Mikroskop nicht imstande ist, eine differentiell-diagnostische Entscheidung hinsichtlich der Genese der Hautaffektion herbeizuführen und die Frage zu beantworten, ob eine ektogene oder hämatogene Entstehung der Herde in der Haut vorliegt. Klinische und anatomisch-histologische Beobachtungen haben mich zu dieser Auffassung gebracht, denen ich in meiner letzten Abhandlung über den Gegenstand² Ausdruck verliehen habe.

Die, gewisse Prädilektionsstellen aufweisenden, gern in der Unterbauchgegend, um Anus und äußere Genitalien, oder um die Achselhöhlen lokalisierten Hautherde besitzen ein ganz charakteristisches Aussehen und präsentieren sich als hämorrhagisch-fleckige, knötchenartige, sehr bald sich in hämorrhagische Blasen umwandelnde, Effloreszenzen, denen entsprechend es, bei längerem Fortbestande des Lebens, zu, wie mit dem Locheisen herausgeschlagenen, rundlichen, die ganze Dicke der Haut betreffenden Substanzverlusten kommt. Und diesem klinisch bis zu einem gewissen Grade charakteristischen Verhalten entspricht ein, man kann direkt sagen, spezifischer mikroskopischer Befund, für den die bazilläre Durchsetzung der Gefäßwände, vor allem der Arterien, bisweilen auch der Venen, bei Freibleiben des Lumens, als pathognomonisch angesehen werden kann.

In der bei weitem größten Mehrzahl aller von mir untersuchten einschlägigen Fälle waren Veränderungen an den von Bazillen okkupierten Gefäßwänden nicht wahrzunehmen. Indes kommen gelegentlich solche

¹ E. Fraenkel, Über Allgemeininfektionen durch den *Bacillus pyocyaneus*. Virchows *Archiv*. Bd. CLXXXIII. S. 415 ff. — Die Menschenpathogenität des *Bacillus pyocyaneus*. *Diese Zeitschrift*. Bd. LXXII. S. 486.

² A. a. O. S. 515.

vor, bestehend in entzündlichen, zwischen Media und Intima gesetzten, zelligen Exsudaten, die eine Beeinträchtigung des Gefäßlumens im Gefolge haben. Die geschilderte bakterielle Wandinfiltration größerer und kleinerer Gefäßäste erklärt, wie ich meine, ungezwungen die sich als hämorrhagisch-nekrotisierende Prozesse darstellenden, hauptsächlich das kollagene Gewebe der Subkutis betreffenden, Veränderungen der Haut.

Ich selbst habe speziell in den, mit metastatischen Hautherden einhergehenden, Fällen von Allgemeinerkrankungen durch den Bac. pyoc. niemals Pustelbildung beobachtet, was um so auffallender ist, als feststeht, daß diesem Bacillus bei gewissen Lokalisationen an der Oberfläche, namentlich von Schleimhäuten, echt pyogene Eigenschaften zukommen. Bei seiner Ansiedelung in inneren Organen und in der Haut nach hämatogenem Eindringen scheint er indes solche niemals zu entfalten, und dies ermöglicht uns, den Bac. pyoc. im mikroskopischen Schnitte, auch ohne Anlegung von Kulturen, als solchen zu erkennen.

In allen bisher erörterten Beispielen haben wir es ausschließlich mit unspezifischen, für die verschiedensten septischen Allgemeinerkrankungen in Betracht kommenden Bakterien zu tun gehabt, die bei ihrer hämatogenen Invasion in die Haut, abgesehen von dem Bac. mucos. capsulat. und von dem zuletzt gewürdigten Bac. pyoc., nur uncharakteristische Veränderungen produziert haben. Aber trotzdem haben sich gewisse Differenzen in der Wirkung zwischen hämatogen eingedrungenen Staphylo- und Streptokokken ergeben, indem bei den ersteren Eiterungsprozesse in den obersten wie tieferen Schichten der Haut und Subkutis bei weitem überwogen, während bei den letzteren erysipelartige, mit Bildung seröser, bzw. blutiger Blasen, und, so weit der Streptococcus mitis in Frage kommt, mit hämorrhagischen Nekrosen einhergehende Prozesse im Vordergrund standen. Es können also, auch als unspezifisch zu bezeichnenden Mikroben, wie Staphylo- und Streptokokken bis zu einem gewissen Grade eigenartige Exanthemformen entsprechen. Erst recht gilt das für die durch den Bac. pyoc. und Bac. mucos. capsulat. vom Blut aus erzeugten Hauterkrankungen. Sie sind, soweit der erstgenannte Bacillus in Betracht kommt, als für ihn durchaus pathognomonisch anzusehen und leicht zu diagnostizieren. Man kann demnach sagen, daß eine, wenn auch nicht absolut mathematische, so doch nicht zu verkennende Abhängigkeit der metastatischen Hauterscheinungen von der Natur des Krankheitserregers besteht.

Für das Verständnis der mancherlei, sich unter dem Einflusse der hämatogenen Infektion mit verschiedenen Bakterienarten an der Hautdecke abspielenden, Veränderungen hat das histologische Studium der Hauteffloreszenzen uns den Schlüssel gegeben, und es hat sich dabei das

interessante Faktum feststellen lassen, daß die bisher von uns in den Kreis der Erörterung gezogenen Bakterien, mit Ausnahme des *Bac. mucos. capsulat.*, in besonders deletärer, untereinander aber durchaus abweichender Weise auf bestimmte Hautgefäße einwirken. In dieser Beziehung bin ich nun zu Resultaten gelangt, die mit den, namentlich von dermatologischen Forschern vertretenen, Anschauungen in wesentlichen Punkten nicht übereinstimmen.

Insbesondere Philippson hat sich in seiner mehrfach zitierten Arbeit zu der Ansicht bekannt, daß es nicht der arterielle Gefäßabschnitt ist, „der hierbei hauptsächlich beteiligt ist, sondern vielmehr der venöse“. Auch Jadassohn hält in seinem ausgezeichneten, ideenreichen Aufsätze „die Tatsache, daß bei den hämatogenen Hautinfektionen die Venen eine besondere Rolle spielen können, für unzweifelhaft bewiesen“. Nun hat Jadassohn allerdings die bei der Syphilis und Tuberkulose, also chronisch verlaufenden Infektionskrankheiten, auftretenden, als hämatogen entstanden aufzufassenden Dermatosen in den Kreis seiner Betrachtungen gezogen, während sich meine Untersuchungen und Auseinandersetzungen ausschließlich auf Hautmetastasen bei akuten Infektionskrankheiten beziehen. Nach den dabei festgestellten Befunden, zu deren Erläuterung ich auf die meinen verschiedenen Arbeiten¹ beigegebenen Photogramme, als auf unparteiische Zeugen, verweisen darf, behaupte ich im Gegensatz zu den genannten Autoren, daß es in erster Linie die Arterien der Haut und Subkutis sind, die von den in sie eingedrungenen, sich zum Teil in ihnen stark vermehrenden Bakterien aufs schwerste geschädigt werden. Eine Mitbeteiligung der Venen fehlt entweder vollkommen oder spielt nur eine untergeordnete Rolle. Bis zum Beweise des Gegenteiles durch einwandfreie Mikrophotogramme halte ich diese Ansicht aufrecht. Es wäre doch merkwürdig, wenn mir bei meinem, für den einzelnen immerhin nicht geringen, Beobachtungsmaterial, und obwohl ich an den, mit den modernen, auf die Darstellung der Gefäßwände gerichteten, Färbungsmethoden hergestellten Präparaten den Blutgefäßen der Haut erhöhte Aufmerksamkeit zugewendet habe, diese angebliche Präponderanz im Befallensein der Hautvenen entgangen sein sollte.

Aber nicht nur für die vorstehend betrachteten, durch unspezifische Krankheitserreger verursachten, Hautmetastasen hat die eben aufgestellte Behauptung ihre Gültigkeit, sondern sie wird auch gestützt durch Beobachtungen jener als spezifisch anzusehenden metastatischen Hautveränderungen, wie wir sie vom Typhus abdominal. und Typh. exanthemat. kennen gelernt haben. Für die Roseola typhosa habe ich durch meine (a. a. O.)

¹ Virchows *Archiv*, a. a. O. — *Diese Zeitschrift*, a. a. O.

veröffentlichten Untersuchungen¹ die Art der Lokalisation des Typhusbacillus kennen gelehrt und durch Mikrophotogramme bewiesen, daß sich die fraglichen Bazillen in den Lymphgefäßen der Kutis ansiedeln und zu ganz bestimmten, leicht definierbaren Veränderungen von Papillarkörper und Oberhaut Anlaß geben. Hier ist weder von einer Schädigung der Arterien noch der Venen die Rede und in allen von mir untersuchten, von acht verschiedenen Patienten stammenden Roseolen habe ich konstant die gleichen Befunde erhoben. Es besteht auch hinsichtlich der Wirkung der Krankheitserreger auf die Haut keine Polymorphie der Erscheinungen, sondern das Produkt des hämatogen in die Haut eingeschwemmten Typhusbacillus ist immer und immer nur die Roseola. Der als spezifisch anzusehende Typhusbacillus wirkt auf die Haut ganz spezifisch. Die histologisch, an vital entnommenen Typhusroseolen erkennbaren, Veränderungen, weichen von den durch pyogene Bakterien hervorgerufenen in jeder Beziehung ab, und es gelingt mühelos mittels des Mikroskops an entsprechend vorbehandelten Hautstücken die typhöse Ätiologie der Hautaffektion zu beweisen. Das Mikroskop setzt uns also in den Stand, auch ohne Zuhilfenahme des Kulturverfahrens, ja ohne anamnestische Angaben, die Diagnose auf typhöse Erkrankung der Haut zu stellen.

Ganz das gleiche scheint für die, durch den noch unentdeckten Erreger des Fleckfiebers verursachte, Hauterkrankung zu gelten, hinsichtlich der einschlägige Untersuchungen von anderer Seite, meines Wissens, bisher nicht vorgenommen worden sind. Als bei weitem wichtigste Tatsache meiner eigenen Bemühungen in dieser Richtung konnte ich die sehr eigenartige Schädigung kleiner Hautarterienäste durch das seiner Natur nach leider unbekannt Virus feststellen. An Hautvenen und Lymphgefäßen nichts Pathologisches. Und die Art des krankhaften Prozesses an den ergriffenen Gefäßen ist eine ganz besondere, wie ich ihn bei der Untersuchung aus anderer Ursache entstandener Hautmetastasen nie angetroffen habe, eines Prozesses, der, wie ich oben ausführte, am meisten an die von der Periarteriitis nodosa her bekannten Veränderungen erinnert. Es ist selbstverständlich durchaus notwendig, die Untersuchungen an anderen, möglichst frischen, vital exzidierten Fleckfieberroseolen zu wiederholen. Denn von dem Ausfalle der histologischen Ergebnisse sind diagnostisch wichtige Aufschlüsse zu erwarten. Ich habe schon darauf hingewiesen, daß bei der in manchen Fällen außerordentlich schwierigen Differentialdiagnose zwischen Abdominaltyphus und Fleckfieber die mikroskopische Prüfung einer herausgeschnittenen Roseola von ausschlaggebender Bedeutung sein kann. Die Entscheidung ist in zweifacher Weise

¹ Diese Zeitschrift. Bd. XXXIV.

zu erbringen, einmal nach der negativen Seite, insofern als bei dem Fehlen von in charakteristischer Weise gelagerten Bazillen in den (Lymph-) Kapillaren der Haut nach erfolgter Anreicherung, Abdominaltyphus auszuschließen ist und in positiver dadurch, daß aus dem Vorhandensein der von mir nachgewiesenen Periarteriitis nodosa-ähnlichen Erkrankung kleiner Hautarterien Flecktyphus diagnostiziert werden kann.

Von weiteren, durch spezifische und wohlbekannte Erreger verursachten, Allgemeinerkrankungen, in deren Verlaufe nicht selten verschiedenartige Hauterkrankungen beobachtet werden, erwähne ich die epidemische Cerebrospinalmeningitis und die Rachen- und Kehlkopfdiphtherie. Aber unsere Kenntnisse sind, soweit die sich an der Haut abspielenden Prozesse in Frage kommen, bei beiden durchaus lückenhaft, insofern wir nicht imstande sind, zu beweisen, daß es sich dabei um Äußerungen der das Grundleiden verursachenden Bakterien handelt. Einer der neuesten Bearbeiter der epidemischen Genickstarre, Jochmann¹, widmet zwar der Beteiligung der Haut bei diesem Leiden eine kurze Besprechung, ohne indes auf die Frage der Pathogenese einzugehen. Es wird hier vor allem des in 70 Prozent aller Fälle vorkommenden, oft sehr ausgedehnten Herpes gedacht und ferner auf masernähnliche, zuweilen in der zweiten Krankheitswoche erscheinende Exantheme, auf roseola- und urtikariaartige Ausschläge, sowie auf das Vorkommen von hirsekorn- bis linsengroßen, nach einigen Wochen wieder verschwindenden Blutungen hingewiesen. Wir wissen aber nichts darüber, ob es sich bei diesen klinisch so differenten Prozessen um ätiologisch gleichartige Erscheinungen handelt, und es sind auch hier von der Untersuchung kleiner, vital exzidierter Hautstückchen, unter gleichzeitiger Heranziehung der modernen, bakteriologischen Züchtungsmethoden weitere Aufschlüsse hinsichtlich der Deutung der geschilderten Hauterkrankungen zu erwarten.

Das gleiche gilt für Allgemeinaffektionen durch einen dem Weichselbaumschen morphologisch und kulturell sehr nahe stehenden Mikroben, den Gonococcus und die dabei an der Haut auftretenden, als Metastasen gedeuteten Prozesse. Hier sind unsere klinischen und erst recht die histologischen Kenntnisse noch viel dürftiger, was bei der großen Seltenheit dieser Vorkommnisse nicht wundernehmen kann.²

Etwas besser orientiert sind wir über die im Verlauf der Rachen-diphtherie auftretenden Hauterkrankungen. Schon die größere Häufigkeit des Vorkommens dieser auch jetzt noch gefürchteten Seuche,

¹ *Handbuch der inneren Medizin* von Mohr u. Stachelin. Bd. I. S. 759.

² A. Hodara, Un cas de gonococchémie et d'exanthème gonococcique généralisé. Ref. in *Centralblatt f. Bakteriologie*. [I. Abt. Refer.] Bd. LVIII. S. 609.

der speziell bei uns in den letzten 4 Jahren viele Hunderte von Kindern und eine nicht geringe Zahl von Erwachsenen zum Opfer gefallen sind, macht es verständlich, daß man betreffs der sich dabei an der Haut abspielenden Vorgänge größere Erfahrungen zu sammeln Gelegenheit hat. In dieser Beziehung ist zu erwähnen, daß man namentlich hämorrhagische Zustände besonders oft zu sehen bekommt. Es handelt sich dabei bald nur um kleine, flohstichartige, in einer sonst normalen Kutis sitzende, an der Haut der Stirn, gern auch der unteren Extremitäten, lokalisierte Blutungen oder um größere, durch Konfluenz benachbarter Herde sich über etwas weitere Bezirke erstreckende, die Außenfläche der Ober- und Unterschenkel, die Gegend der Stirnhöcker bevorzugende blaurote Flecke, die auf blutige Durchtränkung des Unterhautgewebes zurückzuführen sind.

Ihnen gegenüber treten alle anderen Erscheinungen an der Haut an Häufigkeit zurück. Dahin rechne ich erythemartige, besonders die Haut des Rumpfes, namentlich der Brust und des Rückens befallende flüchtige Rötungen und ein meines Wissens bisher nur ein einziges Mal beobachtetes papulo-pustulöses Exanthem, das Unna vor mehr als 30 Jahren genau beschrieben hat.

Aber über die Pathogenese sämtlicher erwähnter Hautveränderungen herrscht gleichfalls absolutes Dunkel, selbst über die nichts weniger als selten anzutreffenden hämorrhagischen Prozesse. Mir selbst ist es bisher niemals, auch bei möglicher Variierung der bakteriologischen und histologischen Technik, gelungen, weder durch Kultur, noch im Schnittpräparat an den kranken Hautstellen Diphtheriebazillen aufzufinden, während einer meiner früheren Assistenten, Herr Bonhoff, freilich nur ein einziges Mal, aus einem der in Rede stehenden hämorrhagischen Unterhautherde Diphtheriebazillen gezüchtet hat. Ehe das indes nicht regelmäßig gelingt, ist man meines Erachtens nicht berechtigt, die genannten Hautveränderungen als metastatische aufzufassen.

In einer anderen Beziehung vermag ich mich etwas positiver dahin zu äußern, daß es sich bei den ins Unterhautgewebe erfolgten Extravasaten nicht um einfache Blutaustritte handelt, sondern daß hier mit Auswanderung von Leukozyten und Ausscheidung von Fibrin einhergehende, exsudative Vorgänge eine Rolle spielen. Diphtheriebazillen haben, wie erwähnt, in allen von mir untersuchten Schnitten konstant gefehlt. Man wird sich daher einstweilen mit der Annahme begnügen müssen, daß wir es bei der in Rede stehenden Hautaffektion zwar mit hämatogenen, aber nicht infektiösen, sondern wohl durch das Diphtheriegift verursachten, also toxischen Veränderungen zu tun haben.

Sollten uns aber weitere Untersuchungen darüber belehren, daß diese hämorrhagischen Herde doch den Diphtheriebazillus beherbergen, dann

würde ein besonders lehrreiches Beispiel dafür gegeben sein, daß die vom Blut aus in die Haut eingedrungenen Krankheitserreger einen ganz anderen Effekt hervorbringen, als bei ektogener Invasion. Für eine Reihe der hier besprochenen Bakterien wissen wir ja über die Art ihrer Wirkung auf die Haut bei ektogen erfolgender Infektion gar nichts. Ich will in dieser Beziehung nur an den Typhusbazillus, den Friedländer-Bazillus, sowie den Weichselbaumschen Meningococcus erinnern. Bei anderen, so bei den banalen Eitererregern, Staphylokokken und Streptokokken, sind wir in dieser Hinsicht vortrefflich orientiert. Das gilt auch für den Diphtheriebazillus, von dem es feststeht, daß er bei von außen erfolgter Infektion der Haut an dieser, genau wie an Schleimhäuten, einen echt fibrinös-pseudomembranösen Prozeß erzeugt. Über eine durch hämatogene Invasion der Diphtheriebazillen in die Haut entstehende Hautdiphtherie ist ganz und gar nichts bekannt. Nun kommt es ja, wie uns die große, in den letzten Jahren hier beobachtete Diphtherieepidemie gelehrt hat, nur bei einem Bruchteil, selbst der schweren Fälle, zu einer Einschwemmung der Löfflerschen Bazillen in die Blutbahn, so weit aus dem kulturellen Nachweis derselben zu schließen ist. Jedenfalls steht die Häufigkeit der in der Haut und Subkutis auftretenden Hämorrhagien in einem auffallenden Mißverhältnis zu dem im ganzen als eher seltenes Ereignis zu bezeichnenden Eindringen der Diphtheriebazillen in die Blutbahn, und schon diese einfache Überlegung läßt die eben dargelegte Ansicht, derzufolge die Hämorrhagien zwar hämatogen entstanden, aber nicht infektiöser sondern toxischer Natur sind, als die zutreffende erscheinen.

Aber auch die als echt metastatisch-bakteriell aufzufassenden, hier erörterten Hauterkrankungen zeigen gewisse Verschiedenheiten gegenüber den durch ektogenes Eindringen der gleichen Bakterien erzeugten Hautaffektionen. Philippon hat in seiner mehrfach erwähnten Arbeit der Anschauung Ausdruck verliehen, „daß die auf dem Blutweg in die Haut gelangenden Entzündungserreger viel mildere Störungen hervorrufen, als die exogen wirkenden“, und sucht die Gründe für dieses Verhalten, von dem es selbstverständlich zahlreiche Ausnahmen gibt, darin, daß die betreffenden Erreger entweder anderer Natur sind, oder in abgeschwächter Form zur Wirkung gelangen, oder daß chemische Stoffe, wenn sie auf dem Blutwege in die Haut kommen, „schon vorher vielfach Gelegenheit haben, ihre Affinitäten zu sättigen“. Jadassohn andererseits denkt an immunisatorische Vorgänge oder Abschwächung der Infektionserreger durch das Blut oder die Endothelien, oder an die Verschiedenheit der Reaktion der perivasalen oder der epidermoidal-kutanen Gewebsbestandteile. Es mag sein, daß die hier reproduzierten, vielfach, wie ich meine, doch recht

hypothetischen Vorstellungen der genannten Autoren ausreichen, um die Verschiedenheit der ektogen oder hämatogen entstandenen Hautaffektionen zu erklären. Indessen scheint mir ein anderes Moment doch sehr viel näher zu liegen, ich meine die Beziehungen der Krankheitserreger zu den Geweben, die bei der ektogenen Wirkung sehr viel direktere sind als bei der hämatogenen, bei der die Mikroben lange Zeit, ja dauernd, von den Geweben durch die Gefäßwand getrennt bleiben und somit nur eine gewisse Fernwirkung zu entfalten imstande sind. Wir haben also bei der ektogenen Invasion einen ganz unmittelbaren Kontakt zwischen Bakterien und Gewebe, während bei der hämatogenen die Gefäßwandung als trennende Schicht zwischen beide eingeschoben ist. Erst wenn die Schädigung der Gefäßwand so weit gediehen ist, daß sie den Eintritt von Bakterien in das Haut- und Unterhautgewebe gestattet, macht sich auch ihr Einfluß in entsprechender Weise geltend. Andere Male scheinen die Gefäßwände mehr für die von Bakterien erzeugten Giftstoffe durchlässig zu werden, und es können dann jene diffusen, schweren, zur Abhebung der Oberhaut auf weite Strecken führenden Veränderungen entstehen, wie wir sie bei ektogenem Eindringen der gleichen Krankheitserreger, der Staphylokokken, niemals auch nur entfernt zu sehen bekommen.

Ganz ähnlich liegen die Dinge bei den hämatogenen Streptokokkenaffektionen der Haut. Auch hier, soweit unsere jetzigen Kenntnisse reichen, hauptsächlich die intravaskuläre Lagerung gegenüber der freien Lokalisation in den Gewebsspalten, bei ektogenem Eindringen. Dazu kommt, daß in einer großen Mehrzahl der in Betracht kommenden Fälle der Verlauf der Allgemeinerkrankung ein sehr akuter, innerhalb weniger Tage zum Tode führender ist, so daß eine länger dauernde Einwirkung der aus den Gefäßen eventuell freigewordenen Bakterien auf die Gewebe meist nicht stattfindet. Ich glaube, daß wir durch diese histologisch leicht feststellbaren Tatsachen die klinischen Erscheinungen an der Hautdecke, den oft keineswegs milderer Verlauf der sich an ihr abspielenden metastatischen Prozesse, ungezwungener zu erklären vermögen, als durch die Zuhilfenahme hypothetischer, bald den Bakterien, bald den Geweben zugeschriebener Kräfte.

Ich bemerke ausdrücklich, daß sich meine Auseinandersetzungen lediglich auf die im Verlauf akuter Allgemeininfektionen auftretenden, durch die vorstehend berücksichtigten Mikroben erzeugten Dermatosen beziehen, und daß ich es mit Absicht unterlassen habe, auf die die Tuberkulose, die Syphilis, die Lepra, also meist überaus chronische, durch spezifische Erreger verursachte Allgemeinleiden mit den sie begleitenden, als metastatisch aufgefaßten Hautaffektionen einzugehen, unter denen die sogenannten Tuber-

kulide eine besonders große Rolle gespielt haben. Ich will außerdem noch besonders betonen, daß, was für Staphylo- und Streptokokken gilt, nicht ohne weiteres auf andere, unter Umständen zu rasch tödlich verlaufenden Allgemeininfektionen Anlaß gebende, Erreger, wie den Baz. pyoc., den Friedländer-Bazillus, den Diplococcus lanceolatus übertragen werden darf. Namentlich hinsichtlich der beiden letzterwähnten Mikroorganismen habe ich hervorgehoben, daß wir über etwaige, durch direktes Eindringen in die Haut erzeugte, Erkrankungen bislang gar nichts wissen, daß also ein Vergleich ihrer Wirkung bei dieser Art der Infektion mit den durch hämatogene Invasion verursachten Dermatosen zurzeit nicht möglich ist. Und was den Bac. pyoc. anlangt, so glaube ich durch ausgedehnte Untersuchungen bewiesen zu haben, daß bei ektogenem und hämatogenem Eindringen in die Haut Unterschiede in der Wirkungsart überhaupt nicht bestehen. Kurz, es läßt sich auf diesem Gebiet in keiner Weise schablonisieren, und ich halte es für denkbar, daß bei Ausdehnung dieser Untersuchungen auf andere Infektionskrankheiten Tatsachen zutage gefördert werden, die zu einer Korrektur der hier vorgetragenen Anschauungen Anlaß geben.

Zum Schluß noch ein Wort über die Terminologie. Von Merk ist im Jahre 1909 für die in Rede stehenden Hauterkrankungen die Bezeichnung „Pyämide“ eingeführt worden, worunter Hauterscheinungen verstanden werden sollen, welche „durch pyämische Produkte auf hämatogenem Wege erzeugt werden“. Dieser Ausdruck ist von neueren Autoren akzeptiert, aber anders angewendet worden. So sagt Werther¹, daß man von Pyämiden in solchen Fällen reden könne, bei denen dasselbe Bakterium Veranlassung der Allgemeinerkrankung und des Hautausschlages ist, oder in anderen, wo die Hauterkrankung durch eine sekundäre Infektion verursacht ist; und die Diagnose „Pyämid“ ist gerechtfertigt, wenn dasselbe Bakterium im kreisenden Blut nachgewiesen wird wie in der kranken Haut, und wenn es hier in den Blutgefäßen nachgewiesen wird, so daß das Eindringen von der Haut ausgeschlossen ist. Werther hat also den in der Merkschen Definition enthaltenen Begriff „pyämische Produkte“ durch Bakterien ersetzt, was schon aus dem Grunde vorzuziehen ist, weil dadurch vermieden ist, den Begriff, der erklärt werden soll, hier also das Wort Pyämid, in der Definition selbst wieder vorzubringen [pyämische Produkte]. Aber auch die Werthersche Erklärung ist meines Erachtens nicht ganz zutreffend. Denn um nur ein Beispiel anzuführen, sei darauf hingewiesen, daß seiner Definition, wonach man von Pyämid zu sprechen berechtigt ist, wenn dasselbe Bakterium Veranlassung der Allgemeinerkrankung und des Hautausschlages ist, keine

¹ A. a. O.

Erkrankung besser entspricht, als der Abdominaltyphus. Und doch fällt es niemandem ein, die *Roseola typhosa* den Pyämiden zuzurechnen. Daß es nicht pyämische Produkte sind, die dabei auf hämatogenem Wege den Hautausschlag verursachen, braucht nicht besonders bemerkt zu werden. Auf der anderen Seite würde man berechtigt sein, bei Fällen von Endocardit. malign. oder bei Fällen von Puerperalfieber, bei denen die Erreger, mit pyämischen Produkten auf dem Wege der Blutbahn in die Haut gelangend, dort zu verschiedenen Exanthemformen Anlaß geben, berechtigt sein, von Pyämiden im Sinne von Merk zu sprechen. Aus diesem Dilemma kommt man meines Erachtens am ehesten heraus, wenn man auf das Wort „Pyämide“ als ein nicht alle hier in Betracht kommenden Hautaffektionen umfassendes, und darum entbehrliches verzichtet und entweder von metastatischen Dermatosen oder, wie es Jadassohn getan hat, von infektiösen bzw. toxischen hämatogenen Dermatosen spricht.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. I—VI.)

Tafel I.

Fig. 1. Staphylokokken-Metastase der Haut. Sektion 417/10 (vgl. Text, S. 142—143).

Figg. 2—3. Staphylokokken-Metastase der Haut. Sektion 440/96 (vgl. Text, S. 136).

Tafel II.

Figg. 4—7. Hämatogene Streptomykose der Haut. Sektion 1180/10 (vgl. Text, S. 144—145).

Tafel III.

Figg. 8—10. Hämatogene Streptomykose der Haut. Sektion 520/13 (vgl. Text, S. 146—147).

Tafel IV.

Figg. 11—13. Fleckfieber-Roseole [vital exzidiert] (vgl. Text, S. 149—150).

Tafel V.

Fig. 14. Hämatogene Staphylomykose der Haut. Sektion 1852/09 (vgl. Text, S. 141).

Figg. 15—16. Ektogene Staphylomykose der Haut. Sektion 1932/13 (vgl. Text, S. 155).

Tafel VI.

Fig. 17. Hämatogene Staphylomykose der Haut (vgl. Text, S. 139).

Fig. 18. Hämatogene Streptomykose der Fußhaut (vgl. Text, S. 146).

Vergleichende Untersuchungen
über die Desinfektionswirkung des Kresepton
A. R. Pearson und des Kreolin Pearson, unter besonderer
Berücksichtigung des Bacillus pyocyaneus.

Von

Dr. med. vet. **B. Stolpe,**
Hamburg.

Die begeisterte Aufnahme, die das Pearsonsche Kreolin (Creolinum anglicum) in der Menschen- und Tierheilkunde gleich nach seinem Erscheinen fand, macht es erklärlich, daß diesem Teerabkömmling bald zahlreiche Nachahmungen erwachsen. So erschienen unmittelbar nach ihm das Artmannsche, das Hauffsche und das Franksche Kreolin, ferner das nach dem Ort seiner Herstellung benannte Creolinum viennense und schließlich das Kresolin von Brockmann. Allen diesen Konkurrenten war aber nur ein kurzes Dasein beschieden, da die chemischen Analysen (1) wie auch die an einem Teil von ihnen vorgenommene Prüfung auf bakterizide Leistungen ihre Minderwertigkeit gegenüber dem englischen Kreolin ergaben. Besonders das Artmannsche Kreolin besitzt, wie aus Henles(2) Untersuchungen hervorgeht, eine so geringe desinfizierende Kraft, „daß man dieses Präparat mit gutem Gewissen zu den desinfizierenden Mitteln gar nicht zählen darf“. Die Versuche, dem Originalkreolin in Zusammensetzung und Wirkung gleiche Produkte herzustellen, unterblieben damit auf lange Zeit, bis vor kurzem unter dem Namen „Kresepton — A. R. Pearson“ ein Desinfiziens in den Handel kam, das von dem Hersteller als garantiert chemisch und bakteriologisch gleichwirkend wie das von Wiliam Pearson hergestellte Kreolin (Creolinum anglicum) be-

zeichnet wird und billiger ist als dieses. Die Frage, ob das Kresepton bakteriologisch, d. h. in seinen desinfektorischen Leistungen wirklich dem Kreolin gleichkommt, schien mir aus wissenschaftlichen, aber auch aus wirtschaftlichen Gründen einer Untersuchung wert. Vor mir hat bereits Kurt Meyer-Stettin (3) die Desinfektionskraft des Kreseptons und des Kreolins vergleichend geprüft und dabei festgestellt, daß das Kresepton dem Kreolin mindestens gleichwertig, anscheinend sogar überlegen ist. Die Meyer-schen Untersuchungen berücksichtigen als Testbacterium nur den *Staphylococcus pyogenes aureus*. Ich habe es für notwendig erachtet, neben verschiedenen vegetativen Formen auch einen Sporenbildner, und zwar den *Milzbrandbacillus* heranzuziehen. Von den Nichtsporenbildenden berücksichtigte ich den *Bac. pyocyaneus* aus später noch zu erörternden Gründen ganz besonders. Über die weiteren Ziele meiner Arbeit enthält der folgende Abschnitt näheres.

I. Untersuchungsplan.

Die von verschiedenen Untersuchern aufgestellten Analysen des englischen Kreolins lassen einen verschieden großen Gehalt an wirksamen Bestandteilen erkennen. Es durfte daher angenommen werden, daß auch die desinfektorischen Leistungen verschiedener Kreolinproben keine einheitlichen seien. Wie berechtigt diese Annahme war, zeigt das bakteriologische Prüfungsergebnis von drei aus verschiedenen Quellen in Originalpackung bezogenen Kreolinproben. Wenn die hierbei festgestellten Abweichungen, wie wir später sehen werden, auch nicht so erheblich sind, daß sie auf die praktischen Verhältnisse von Einfluß wären, bei einer wissenschaftlichen Prüfung durften sie meines Erachtens nicht außer acht gelassen werden.

Von den genannten drei Proben wählte ich die stärkste für den Vergleich mit Kresepton aus.

Den Hauptwert legte ich bei meinen Versuchen auf die Trennung der bakterientötenden Leistungen von den entwicklungshemmenden; denn nur nach Ausschaltung der entwicklungshemmenden Eigenschaften eines Desinfektionsmittels erhält man bekanntlich seinen wahren Desinfektionswert. Viele Untersucher lassen diesen überaus wichtigen Punkt immer noch unbeachtet. Meine Versuche hatten sich demnach zu gliedern:

1. in Versuche zur Feststellung der entwicklungshemmenden Eigenschaften und
2. in Versuche zur Feststellung der Desinfektionswerte unter Ausschaltung der Hemmungswirkung.

Nebenher liefen noch Versuche zur Ermittlung der Desinfektionswerte ohne Ausschaltung der hemmenden Faktoren.

Zur Ausschaltung der entwicklungshemmenden Eigenschaften gibt es bekanntlich verschiedene Verfahren, die zumeist darauf hinauslaufen, innerhalb oder außerhalb des Nährmediums das den Testbakterien anhaftende Desinfektionsmittel durch chemische Mittel zu neutralisieren. Diese Methoden sind teils unzuverlässig, teils umständlich. Es bedeutet daher einen großen Fortschritt, daß uns neuerdings Hans Schneider (4) in seiner sogenannten Pyocyaneusmethode einen ganz neuen, eigenartigen Weg an gibt, der diese Mängel umgeht. Schneider fand, daß ein Bacterium, nämlich der *Bacillus pyocyaneus*, durch teeröhlhaltige Desinfektionsmittel in seiner Entwicklung nicht nur fast gar nicht gehemmt wird, sondern daß sogar der Grad der Hemmung geringer ist als der des Standardmittels Karbolsäure und auch als der des *Liqu. Cresoli saponatus*. Diese Sonderstellung des *Bac. pyocyaneus* hat Schneider zu einem Prüfungsverfahren ausgebaut, das es ermöglicht, den wahren, d. h. von entwicklungshemmenden Faktoren freien Desinfektionswert phenolteeröhlhaltiger Desinfektionsmittel ohne Anwendung von Neutralisierungsmitteln, sondern lediglich durch die Verwendung dieses *Bacillus* als Testobjekt und Karbolsäure (Phenol) als Einheit festzustellen. Ich habe daher den *Bacillus pyocyaneus* bei meinen Versuchen besonders berücksichtigt. Bis zu einem gewissen Grade dürften sie also auch als eine Nachprüfung des Schneiderschen Befundes, die meines Wissens bisher noch nicht erfolgt ist, anzusehen sein.

Von anderen Bakterienarten wählte ich noch: *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Bact. coli* und als Sporenbildner Milzbrandbazillen.

Schneider gibt für die Ausführung seiner Pyocyaneusmethode exakte Vorschriften, die ich aber nicht in allen Punkten befolgt habe, weil ich schon nach einem bestimmten Schema arbeitete, bevor mir die Schneidersche Methode zu Gesicht kam. So habe ich z. B. nicht in allen Fällen Phenol als Einheit benutzt, sondern Kreolin, und zwar wie bereits erwähnt unter drei Proben die am stärksten pyocyaneusbakterizid wirkende. Da es nicht meine Aufgabe war, Kresepton mit Phenol, sondern mit Kreolin zu vergleichen und die Überlegenheit des Kreolins gegenüber dem Phenol durch die Untersuchungen von Esmarchs (5), Eisenbergs (6) u. a. einwandfrei feststeht, dürfte hiergegen nichts einzuwenden sein. Meine Versuchsabweichungen von Schneider sind im übrigen geringfügiger Art.

II. Ausführung der Versuche.

Zunächst einiges über die physikalischen und chemischen Eigenschaften der zu prüfenden Desinfizienten und über die Versuchstechnik.

Über das Pearsonsche Kreolin sagt Neudörfer (7) im wesentlichen, daß es eine schwarze, zähflüssige, sich ölig anfühlende Flüssigkeit ist, die stark nach Teer riecht, einen brenzlichen, brennenden Geschmack und ein wechselndes spezifisches Gewicht hat — das er als zwischen 1050 bis 1080 schwankend angibt —, daß es weder blaues Lackmuspapier rötet, noch braunes Kurkumapapier bläut, im Wasser stets untersinkt, wobei es das Wasser zuerst fluoreszierend und darauf milchigweiß und undurchsichtig macht. Unter dem Mikroskop zeige es zahlreiche größere und kleinere stark lichtbrechende Gebilde.

Andere Autoren bezeichnen die Farbe des Kreolins als schwarzbraun bzw. dunkelbraun, seine Konsistenz als sirupös und treffen meines Erachtens damit das Richtige.

Alle die vorgenannten Eigenschaften habe ich sowohl beim Kreolin als beim Kresepton vorgefunden.

Über die Versuchstechnik ist im allgemeinen folgendes zu sagen: Die Einwirkung der Desinfizientien auf die Testbakterien wurde geprüft unter Berücksichtigung verschieden langer Einwirkungszeiten und verschieden starker Konzentrationen. Zur Herstellung dieser Konzentrationen wurde von einer Stammlösung ausgegangen, die jedesmal frisch, d. h. kurz vor Gebrauch aus sterilem destilliertem Wasser bereitet worden war. Die erforderliche Menge Desinfiziens — 1^{cem} — wurde mittels einer Pipette abgemessen und durch kräftiges Schütteln mit 99^{cem} Wasser zu einer gleichmäßigen Emulsion verteilt. Schneider (a. a. O.) verwirft das Abmessen und verlangt das Abwiegen. Nachdem mir diese Forderung Schneiders bekannt geworden war, habe ich vergleichende Versuche mit abgemessenen und abgewogenen Mengen von Kreolin und Kresepton angestellt, in keinem Falle aber einen Unterschied in der Desinfektionswirkung feststellen können. Es wird dies aber darauf zurückzuführen sein, daß die Proben beider Desinfizientien ungefähr das gleiche spezifische Gewicht hatten. Bei den Versuchen mit Phenol, Kresepton und Kreolin wurden die Desinfizientien wegen des ohne Zweifel differenten spezifischen Gewichtes von Phenol einerseits und Kresepton wie Kreolin andererseits abgewogen.

Aus der 1 prozentigen Stammlösung des betreffenden Desinfiziens wurden nun z. B. die Konzentrationen $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{300}$, $\frac{1}{400}$, $\frac{1}{500}$ in der Weise gewonnen, daß in fünf sterile Röhren,

die A B C D E heißen mögen und

je 0 5 10 15 20^{cem} steriles destilliertes Wasser

enthielten, je 5^{cem} der 1 prozentigen Stammlösung gefüllt wurden. Die Röhren wurden mit Ausnahme von A, das die Verdünnung $\frac{1}{100}$ bereits fertig enthielt, zur guten Durchmischung kräftig geschüttelt; dann wurden

aus B 5, aus C 10, aus D 15 und aus E 20 ^{ccm} entfernt. Die Röhren enthielten nunmehr in je 5 ^{ccm} ¹ die Konzentrationen $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{300}$, $\frac{1}{400}$ und $\frac{1}{500}$. In entsprechender Weise läßt sich die Reihe über $\frac{1}{500}$ hinaus leicht fortsetzen.

In jedes der Röhren wurden nun mittels Pipette drei Tropfen einer 24 Stunden alten, bei 37° gewachsenen Bouillonkultur des Testbacillus gebracht, die Röhren zur Verteilung des Testmaterials gut geschüttelt und dann nach Ablauf von 2 $\frac{1}{2}$, 5, 7 $\frac{1}{2}$ und 10 Minuten je eine Platinöse (= 0.01 ^{ccm} auf Wasser bezogen) des so entstandenen Gemischs von Desinfiziens und Kultur in Bouillon übertragen. Dann kamen die Röhren in den Brutschrank, wo sie mindestens 3 mal 24 Stunden zur Beobachtung blieben. Bei Pyocyaneusversuchen genügt diese Zeit für die Beobachtung, während bei anderen Bakterienarten 8 Tage erforderlich sind.

Bei den Versuchen mit Milzbrandbazillen war die Technik eine andere. Sie ist ebenso wie die der Entwicklungshemmungsversuche bei den einzelnen Versuchen angeben.

Die Temperatur in den Desinfektionslösungen (Emulsionen) ist bei den einzelnen Versuchen vermerkt. Bekanntlich ist der Einfluß der Temperatur auf die Desinfektionswirkung ein recht erheblicher, wie Henle (a. a. O.) es für englisches Kreolin anschaulich gezeigt hat. Es ist daher notwendig, vergleichende Versuche stets bei gleicher Temperatur vorzunehmen.

Als Nährboden benutzte ich ausschließlich, und zwar sowohl für die Fortzüchtung des Testmaterials als auch für die Aufnahme des Desinfiziens + Kulturgemischs Bouillon und Agar, die aus Liebigs Fleischextrakt nach der folgenden, von Schneider (a. a. O.) angegebenen Vorschrift bereitet worden waren.

Bouillon:

12.5 Liebigs Fleischextrakt,
 5 Kochsalz,
 5 Traubenzucker,
 10 Pepton Witte, bei Diphtherie doppelte Mengen Pepton,
 1000.0 gewöhnliches Wasser; wenn stark kalk- oder eisenhaltig,
 destilliertes Wasser; zu alkalisieren mit 11.5 ^{ccm} n/1 Natronlauge.

Agar:

Auf 1000 ^{grm} Fleischextraktlösung nach obiger Vorschrift kommen 22 ^{grm} klein zerschnittener Säulenagar. Alkalisieren mit 12 bis 15 ^{ccm} Normalnatronlauge.

¹ Während Schneider in Röhren mit je 10 ^{ccm} Desinfektionslösung 5 Tropfen Kultur überträgt, war bei meinen Versuchen die Dosierung: 5 ^{ccm} + 3 Tropfen.

Die genauen Zubereitungsvorschriften sind in der Schneiderschen Arbeit enthalten.

Nach meinen Erfahrungen sind diese Nährböden ganz vorzüglich. Die Verwendung von Fleischextrakt an Stelle frischen Fleisches hat u. a. den für Desinfektionsversuche unerläßlichen Vorzug größerer Gleichmäßigkeit in der Zusammensetzung. Um sich diese Gleichmäßigkeit für eine größere Zahl von Versuchen zu sichern, beschaffe man sich gleich ein größeres Quantum Extrakt — etwa $\frac{1}{2}$ Pfund; es lassen sich daraus 20 Liter stets gleichmäßigen Substrats herstellen.

Versuche.

a) Versuche zur Feststellung der Desinfektionskraft verschiedener Kreolinproben.

Geprüft wurden drei aus verschiedenen Quellen in Originalpackung bezogene Proben Pearsonschen Kreolins, die mit A, D und G bezeichnet wurden. Testbacillus: *Bac. pyocyaneus*.

Temperatur der Desinfektionslösungen: 22° C.

Einwirkungsdauer:	Kreolin A				Kreolin D				Kreolin G			
	2 1/2'	5'	7 1/2'	10'	2 1/2'	5'	7 1/2'	10'	2 1/2'	5'	7 1/2'	10'
Verdünnung 1:100	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1:200	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 1:300	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ bedeutet Wachstum in den Kulturröhrchen.

— „ Sterilität „ „ „

Die drei Proben zeigen keine einheitlichen Desinfektionswerte. Am stärksten erwies sich die Probe G, die infolgedessen für den Vergleich mit Kresepton bestimmt wurde.

b) Versuche zur Feststellung der entwicklungshemmenden Eigenschaften des Kreolins und des Kreseptons.

Es war zu ermitteln:

1. ob und in welchem Grade Kresepton die Entwicklung verschiedener Bakterienarten beeinflusst;

2. ob es auch mit Kreolin darin übereinstimmt, im Gegensatz zu Phenol die Entwicklung des *Bac. pyocyaneus* nicht oder fast gar nicht zu hemmen.

Ähnliche Versuche sind von Schneider (a. a. O.) mit Kreolin und Creolinum purissimum¹ im Vergleich mit Phenol bereits ausgeführt worden, wobei festgestellt wurde, daß einerseits das Standardmittel Phenol auf die Entwicklung verschiedener Bakterienarten von sehr geringem Einfluß ist, während andererseits der entwicklungshemmende Einfluß der beiden anderen Desinfizientien mit Ausnahme beim Bac. pyocyaneus, der fast gar nicht in seiner Entwicklung gehemmt wurde, ziemlich beträchtlich ist.

Bei meinen Versuchen wurden als Testbakterien geprüft: Bact. coli, Staphylococcus pyogenes aureus, Bac. pyocyaneus und Milzbrandbazillen.

Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt:

je ein Röhrchen mit 10^{ccm} Bouillon, die Kresepton, bzw. Kreolin im Verhältnis $\frac{1}{250}$, $\frac{1}{500}$ und $\frac{1}{1000}$ enthielt, wurde mit zwei Tropfen einer 24 Stunden alten Bouillonkultur des betreffenden Testbacteriums² beschickt, kräftig geschüttelt und bei 37° gehalten. Nach 24 und 48 Stunden wurde das Resultat festgestellt.

Nachdem Vorversuche ergeben hatten, daß bei einigen Bakterienarten stärkere Verdünnungen der Desinfizientien nötig waren, um die Hemmungsgrenze zu ermitteln, wurden die notwendigen Verdünnungen nach folgender Formel hergestellt:

1 : 3000	= 0.33	einer 1	prozent. Desinfektionslös.	auf	9.67	Bouillon	
1 : 5000	= 0.2	"	"	"	9.8	"	"
1 : 10 000	= 1.0	"	0.1	prozent.	"	9.0	"
1 : 20 000	= 0.5	"	"	"	"	9.5	"
1 : 25 000	= 0.4	"	"	"	"	9.6	"
1 : 33 000	= 0.3	"	"	"	"	9.7	"
1 : 40 000	= 0.25	"	"	"	"	9.75	"
1 : 50 000	= 0.2	"	"	"	"	9.8	"
1 : 100 000	= 0.1	"	"	"	"	9.9	"

Schneider (a. a. O.) hat von Kreolin und Creolinum purissimum geringere Verdünnungen als $\frac{1}{1000}$ nicht geprüft, weil diese derartig stark getrübe Emulsionen hervorriefen, daß eine mikroskopische Feststellung des Wachstums in den Röhrchen unmöglich war. Bei meinen Versuchen wurden jedoch auch Konzentrationen von $\frac{1}{500}$ und $\frac{1}{250}$ berücksichtigt. Das Wachstum wurde in diesem Falle mikroskopisch in Ausstrichpräparaten

¹ Creolinum purissimum ist nach Schneider (a. a. O.) frei von Harzseife; es enthält nur Fettseife.

² Bei den Milzbrandversuchen wurde an Stelle der Bouillonkultur die gleiche Agarkultur-Aufschwemmung verwendet, wie sie bei den Desinfektionsversuchen auf S. 180 beschrieben ist.

aus den Kulturröhren festgestellt. Bei den Versuchen mit *Bac. pyocyaneus* war diese Maßnahme nicht nötig, weil sich das Wachstum durch die Bildung einer Kahmbaut deutlich anzeigte.

Bei dieser Serie von Versuchen wurde auch Phenol mitgeprüft. Die erforderlichen Verdünnungen wurden hergestellt aus einer Lösung von 5.55 g^{m} 90 prozentiger Phenollösung (90 g^{m} Phenol puriss. Merck + 10 c^{cm} destill. Wasser) auf 94.45 g^{m} steriles destilliertes Wasser.

I. Versuch.

Testbacterium: *Bact. coli commune*.

Die Temperatur in den Desinfektionslösungen betrug 23° C.

Verdünnung	Kresepton	Kreolin	Phenol
1 : 250	—	—	—
1 : 500	—	—	—
1 : 1000	—	—	+
1 : 3000	+	+	+
1 : 5000	+	+	+

+ bedeutet Wachstum, d. h. ausgebliebene Hemmung.
 — „ Sterilität, „ „ eingetretene „ „

II. Versuch.

Testbacterium: *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Verdünnung	Kresepton	Kreolin	Phenol
1 : 250	—	—	—
1 : 500	—	—	+
1 : 1000	—	—	+
1 : 3000	—	—	+
1 : 5000	—	—	+
1 : 10000	—	—	+
1 : 20000	+	+	+
1 : 25000	+	+	+

III. Versuch.

Testbacterium: *Bact. anthracis* (sporenhaltig).

Verdünnung	Kresepton	Kreolin	Phenol
1 : 250	—	—	—
1 : 500	—	—	+
1 : 1000	—	—	+
1 : 3000	—	—	+
1 : 5000	—	—	+
1 : 10000	—	—	+
1 : 20000	+	+	+
1 : 25000	+	+	+

IV. Versuch.
Testbacterium: Bac. pyocyaneus.

Verdünnung	Kresepton	Kreolin	Phenol
1 : 250	+	—	—
1 : 500	+	+	—
1 : 1000	+	+	+
1 : 3000	+	+	+
1 : 5000	+	+	+
1 : 10000	+	+	+

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß Kresepton in gleichem Maße wie Kreolin auf verschiedene Bakterienarten entwicklungshemmend wirkt. In allen Fällen war der Grad der Hemmung bei beiden Desinfizientien größer als beim Phenol. Eine Ausnahme hiervon bildet der Pyocyaneusversuch (Versuch IV). Hier zeigt sich das Umgekehrte, nämlich, daß Phenol bei $\frac{1}{500}$ noch hemmend wirkt, während Kreolin es erst in der Konzentration von $\frac{1}{250}$ und Kresepton noch nicht einmal in diesem Verhältnis tut.

c) Versuche zur Feststellung der Desinfektionskraft.

Bei diesen Versuchen war zunächst die Desinfektionskraft des Kreseptons und des Kreolins vergleichsweise unter Ausschaltung der entwicklungshemmenden Faktoren zu prüfen. Es wurde daher als Testobjekt der Bac. pyocyaneus benutzt (Versuch I).

I. Versuch mit Bacillus pyocyaneus.
Temperatur der Desinfektionslösungen: 21° C.

Einwirkungsdauer:	K r e s e p t o n				K r e o l i n			
	2 1/2'	5'	7 1/2'	10'	2 1/2'	5'	7 1/2'	10'
Verdünnung 1 : 100 . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1 : 200 . . .	—	—	—	—	+	—	—	—
„ 1 : 300 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 1 : 400 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 1 : 500 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+
	+ bedeutet Wachstum in den Kulturröhrchen.							
	— „ Sterilität „ „ „ .							

Der Versuch zeigt deutlich die Überlegenheit des Kreseptons vor Kreolin.

In einem weiteren, mit drei verschiedenen Kreseptonproben ausgeführten Versuch trat dies ebenfalls zutage.

Dann waren die Desinfektionswerte gegenüber anderen Testbakterien, besonders sporenhaltigen Milzbrandbazillen festzustellen, wobei die entwicklungshemmenden Eigenschaften nicht ausgeschaltet wurden (Versuche II, III und IV).

Bei sämtlichen Versuchen wurden lediglich Kresepton und Kreolin geprüft; Phenol blieb unberücksichtigt.

Die Technik entsprach — mit Ausnahme derjenigen der Milzbrandversuche — den im Abschnitt II angegebenen Vorschriften.

II. Versuch mit *Staphylococcus pyogenes aureus*. Temperatur der Desinfektionslösungen: 22° C.

Einwirkungsdauer:	Krepton				Kreolin			
	2 1/2'	5'	7 1/2'	10'	2 1/2'	5'	7 1/2'	10'
Verdünnung 1:100 . . .	—	—	—	—	+	—	—	—
„ 1:200 . . .	+	—	—	—	+	+	+	—
„ 1:300 . . .	+	+	—	—	+	+	+	+
„ 1:400 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 1:500 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+

Bemerkenswert ist, daß in vereinzelt Röhren erst am 6. Tage Wachstum auftrat.

III. Versuch mit *Bacterium coli*. Temperatur der Desinfektionslösungen: 24° C.

Einwirkungsdauer:	Krepton				Kreolin			
	2 1/2'	5'	7 1/2'	10'	2 1/2'	5'	7 1/2'	10'
Verdünnung 1:100 . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1:200 . . .	—	—	—	—	+	—	—	—
„ 1:300 . . .	—	—	—	—	+	+	+	—
„ 1:400 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 1:500 . . .	+	+	+	+	+	+	+	+

Im Gegensatz zum vorigen Versuch war das Wachstum in den Kultur-
röhren nach 72 Stunden abgeschlossen.

Auch die Versuche II und III zeigen, daß Krepton dem Kreolin
in keinem Falle unterlegen war.

IV. Versuche mit Milzbrandbazillen (*Bac. anthracis*).

Aus dem Blut einer an Milzbrand verendeten Maus wurde eine Schräg-
agarkultur angelegt. Nach dreitägigem Brutschrankaufenthalt wurde sie
mit 10^{ccm} Bouillon aufgeschwemmt und durch sterile Glaswolle filtriert.
Zu je 10^{ccm} Desinfektionslösung kamen zehn Tropfen dieser Aufschwemmung.

Nach bestimmten Zeitabständen (s. Protokoll) wurde aus diesem Gemisch von Desinfiziens und Kultur je eine Öse in 20^{cem} Bouillon und auf Schrägagar übertragen und die so erhaltenen Subkulturen 8 Tage lang bei 37° gehalten. Diese Vorschriften entsprechen den von Schneider (a. a. O.) angegebenen, mit Ausnahme der Bouillonmenge für die Subkulturen, die bei ihm 10^{cem} beträgt, während hier aus später zu erörternden Gründen 20^{cem} für nötig befunden wurden.

Vorversuche mit 1-, 2^{1/2}- und 5 prozentigen Desinfektionslösungen hatten ergeben, daß mindestens 5 prozentige Lösungen erforderlich sind, um innerhalb einer 24 Stunden nicht überschreitenden Einwirkungszeit eine positive Desinfektionswirkung feststellen zu können. Da geringere als 5 prozentige Kreolinemulsionen für die Milzbranddesinfektion in der Praxis nicht in Frage kommen, war auch diesem Grunde die Verwendung von mindestens 5 prozentigen Desinfektionslösungen geboten.

Wie alle übrigen Versuche, so wurden auch die Milzbrandversuche zur Sicherung der erstmalig erhaltenen Ergebnisse wiederholt. Dies mußte aber sehr häufig geschehen, bevor einwandfreie Resultate erzielt wurden.

Hatten sich schon beim ersten Versuch widersinnige Resultate ergeben, derart, daß beispielweise eine Agarsubkultur, die nach einer 21 stündigen Einwirkungszeit von Kreolin auf Milzbrandbazillen angelegt worden war, Milzbrandkolonien aufwies, während eine nach 10 stündiger, also nach kürzerer Einwirkungszeit angelegte steril blieb, so traten bei den mehrfachen Wiederholungen dieses Versuches ähnliche Erscheinungen immer wieder auf.

Nun soll ja freilich die Desinfektionswirkung wässeriger Kreolinemulsionen rasch abnehmen und es wäre daher nicht unmöglich gewesen, daß das in dem 21 stündigen Röhrchen erfolgte Wachstum eine Folge der Abschwächung der 5 prozentigen Emulsion war. Dem widerspricht aber die Tatsache, daß ein nach 22 Stunden, also eine Stunde später geimpftes Röhrchen steril geblieben war. Eine Erklärung für dieses widerspruchsvolle Verhalten glaubte ich bald gefunden zu haben.

Zuvor muß bemerkt werden, daß in dem 21 stündigen Röhrchen lediglich im Kondenswasser Milzbrandbazillen zur Entwicklung gelangt waren, obgleich die Agarfläche in ihrer ganzen Ausdehnung beimpft worden war. Es mußte daher angenommen werden, daß eine Spur des auf den Agar, d. h. auf die Agaroberfläche übertragenen Gemisches von 5 prozentigem Desinfiziens und Kultur in das Kondenswasser gelangt war und infolgedessen derartig verdünnt wurde, daß eine Entwicklung der Mikroben im Kondenswasser möglich war, während die auf der Agaroberfläche verbliebenen permanent von einer 5 prozentigen Desinfektionslösung umgeben waren, wodurch sie natürlich nicht zur Entwicklung gelangen konnten.

Diese Erscheinung konnte immer wieder beobachtet werden, wenn nicht die Vorsicht gebraucht wurde, beim Anlegen der Subkulturen eine Berührung mit dem Kondenswasser zu vermeiden. Später gebrauchte ich noch die Vorsicht, die Agarröhrchen vor der Impfung in den Brutschrank zu stellen, um darnach das inzwischen reichlich gebildete Kondenswasser abzupipettieren. Auch bestrich ich mit der Öse nur die oberen zwei Drittel der Agaroberfläche, um nach Möglichkeit ein Abfließen der Flüssigkeit in etwa sich nachträglich noch bildendes Kondenswasser zu verhüten. Dadurch wurden einwandfreie Resultate erhalten.

Auffällig war es, daß in den Röhrchen, in denen Wachstum erfolgte, die Milzbrandkolonien sich alle an der gleichen Stelle zu entwickeln begannen, nämlich da, wo der mit dem Desinfiziens + Kulturgemisch bestrichene Teil der Agarfläche in den unbestrichenen überging, als an der Grenze des mittleren und unteren Drittels.

Auch hierfür fand sich bald eine Erklärung: Die oberen zwei Drittel der Agarfläche waren lückenlos mit 5 prozentigem Desinfiziens überzogen. Es konnte daher nur an der schon erwähnten Stelle einzelnen Mikroben gelingen, aus ihrer Umklammerung mit dem 5 prozentigen Desinfiziens heraus auf eine desinfiziensfreie und dadurch ihrer Entwicklung günstige Substratfläche zu gelangen. Selbstredend wird an jeder beliebigen Stelle der Agarfläche, an der ein Übergang von einem mit Desinfiziens bedeckten Teil in einen von Desinfiziens freien stattfindet, Wachstum eintreten können. In dem erwähnten Beispiel trat es an der Grenze zwischen mittlerem und unterem Drittel ein, weil die darüberliegenden beiden Drittel vollständig von Desinfiziens bedeckt waren.

Ich führe diese Einzelheiten alle an, weil die Verwendung von Agarnährböden bei Milzbranddesinfektionsversuchen nach meinen Erfahrungen leicht zu Trugschlüssen führen kann.

Aber auch bei Verwendung von Bouillon sind diese nicht immer ausgeschlossen. Proskauer sagt: „Bei Verwendung von Milzbrand als Testobjekt ist sowohl Agar als auch Bouillon als Nährsubstrat heranzuziehen, da besonders geschwächter Milzbrand auf Agar stets angeht, nicht aber immer in Bouillon.“

Nun kommt es aber sehr wesentlich darauf an, wie groß die Menge der Bouillon war, in welche die Übertragung erfolgte. Schneider (a. a. O.) gebraucht hierfür 10^{ccm}. Ich habe aber die Erfahrung gemacht, daß in Röhrchen mit 10^{ccm} Bouillon oftmals kein Wachstum eintrat, während es bei der Übertragung in 20^{ccm} prompt erfolgte. Die Ursache für diese Erscheinung, von deren Richtigkeit man sich durch einen vergleichenden Versuch unter Verwendung von Röhrchen mit 10^{ccm} und 20^{ccm} Bouillon für die Subkulturen leicht überzeugen kann, dürfte in entwicklungshem-

menden Einflüssen zu suchen sein. Nimmt man nämlich für die Subkulturen nur 10^{ccm} Bouillon und überträgt in diese eine Öse (=0.01^{ccm}) 5prozentiger Kreolin-, bzw. Kreseptonlösung, dann entsteht — auf unverdünntes Kreolin bzw. Kresepton bezogen — ein Mischungsverhältnis von 1:20 000. Nach Schneider und meinen eigenen Versuchen wirken beide Desinfizientien bei 1:10 000 hemmend, bei 1:20 000 (eigener Versuch) dagegen nicht mehr. Wo die Grenze liegt, ob näher an 1:10000 oder näher an 1:20 000, ist weder von Schneider noch von mir festgestellt. Das Hemmungsverhältnis 1:10 000 wird erreicht bei Verwendung von Bakterien und Sporen, deren Wachstums- bzw. Keimungsenergie vor der Einimpfung keinerlei schädigenden Einflüssen unterworfen war. Bei den vorliegenden Desinfektionsversuchen aber wurden in die Subkulturen Keime übertragen, die bereits mehr oder weniger lange unter dem Einfluß einer 5prozentigen Lösung von Kresepton bzw. Kreolin gestanden hatten. Die Wachstumsenergie derartig „vergifteter“ Keime — um im Sinne Gepperts zu reden — ist natürlich geschwächt und daher können sie auch noch durch Kresepton- bzw. Kreolinlösungen, die weit schwächer sind als 1:10 000, in ihrer Entwicklung gehemmt werden.

Diese Annahme fand ihre Stütze in einem Versuch, bei dem Subkulturen von 10 und 20^{ccm} Bouillon gleichzeitig angelegt wurden. Dabei ergab sich die überraschende Tatsache, daß in einigen Fällen in Röhren mit 20^{ccm} Bouillon Wachstum erfolgte, während die entsprechenden 10^{ccm}-Röhren steril blieben.

Nachdem ich alle diese Einflüsse der Nährböden bei meinen Versuchen berücksichtigte, wurden die Resultate einwandfrei und blieben es auch bei einer Wiederholung des Versuches.

Dauer der Einwirkung in Stunden	Kresepton, 5 prozentig		Kreolin, 5 prozentig	
	Bouillon (20·0)	Agar	Bouillon (20·0)	Agar
1/4	+	+	+	+
1/2	—	—	+	+
2	—	—	+	+
4	—	—	+	+
6	—	—	—	—
8	—	—	—	—
10	—	—	—	—
20	—	—	—	—
24	—	—	—	—

Der Versuch beweist, daß Kresepton auch in der Vernichtung sporenhaltiger Milzbrandbazillen dem Kreolin nicht nachsteht, sondern dieses sogar noch übertrifft.

Zusammenfassung.

1. Die mit mehreren Proben A. R. Pearsonschen Kreseptons im Vergleich mit dem William Pearsonschen Kreolin (*Creolinum anglicum*) vorgenommenen Untersuchungen auf desinfektorische Leistungen haben ergeben, daß Kresepton in seinen bakterientötenden und entwicklungshemmenden Eigenschaften gegenüber vegetativen wie sporenbildenden Bakterienformen dem Kreolin mindestens gleichkommt. Die Mehrzahl der Versuche ergab sogar eine erhebliche Überlegenheit des Kreseptons.

2. Die von Schneider für Kreolin festgestellte Tatsache, daß die Entwicklung des *Bacillus pyocyaneus* durch dieses Desinfiziens nicht nur fast gar nicht gehemmt wird, sondern daß sogar der Grad der Hemmung geringer ist als bei dem Standardmittel, der Karbolsäure, trifft in gleichem Maße für Kresepton zu. Es sind daher, soweit der *Bac. pyocyaneus* bei den vorliegenden Desinfektionsversuchen als Testobjekt in Frage kam, die hierbei gewonnenen Wirkungswerte sowohl des Kreolins als auch des Kreseptons als wahre, d. h. von entwicklungshemmenden Faktoren freie Desinfektionswerte zu betrachten.

Literatur-Verzeichnis.

1. *Reichs-Medizinal-Anzeiger*. Leipzig 1888. Nr. 10 u. 11.
2. Henle, Über Kreolin und seine wirksamen Bestandteile. *Archiv f. Hygiene*. München 1889. Bd. IX. 2. Hft.
3. Kurt Meyer, Über die Wirkung eines neuen Desinfektionsmittels, des Kreseptons. *Deutsche Tierärztl. Wochenschrift*. 1913. Nr. 8.
4. Hans Schneider, Chemische und bakteriologische Untersuchungen über teeröhlhaltige Desinfektionsmittel mit Vorschlägen für eine neue einheitliche bakteriologische Prüfungsform. *Desinfektion, Monatsschrift für Desinfektion usw.* Jahrg. V. Hft. 4 u. 5.
5. v. Esmarch, *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*. 1887. Bd. II. Nr. 10 u. 11.
6. Eisenberg, *Wiener med. Wochenschrift*. 1888. Nr. 17.
7. Neudörfer, *Internat. klin. Rundschau*. Wien 1888. Nr. 17 u. 18.

Bemerkungen zu den Ausführungen M. Fickers über den Nachweis von Bakterien durch das Berkefeldfilter.¹

Von

Dr. **Erich Hesse**,

Kgl. Sächs. Stabsarzt, kommandiert zum Kaiserl. Gesundheitsamte.

Als ich im Jahre 1911 die ersten Ergebnisse meiner Untersuchungen über die Verwendbarkeit der Berkefeldfilter zum Nachweis von Bakterien in Flüssigkeiten veröffentlichte², war ich mir wohl bewußt, daß die Technik der Untersuchung in manchem Punkte noch nicht allen Anforderungen gerecht werden konnte und daß theoretische und praktische Gesichtspunkte in mancher Hinsicht weiter geprüft und verfolgt werden mußten. Auch die im folgenden Jahre erschienene Mitteilung, in der ich das modifizierte Armee-Berkefeldfilter als einen sehr geeigneten Apparat für bakteriologische Wasseruntersuchungen unter primitiven Verhältnissen empfehlen konnte³, mußte noch eine Reihe schwebender Fragen unbeantwortet lassen.

Mit besonderer Genugtuung begrüße ich es daher, daß inzwischen von anderer Seite eine Nachprüfung fast der gesamten Methodik vorgenommen wurde, die es sich besonders angelegen sein ließ, eine Reihe noch zu klärender Momente durch größere Versuchsreihen zu studieren. Wenn ich daher die Fickerschen Ausführungen als wertvolle Ergänzung meiner Arbeiten ansehen muß und dem Verfasser für die aufgewandte Mühe und Sorgfalt zu großem Danke verpflichtet bin, so erfordern andererseits einige Mißverständnisse und Fragestellungen deren Aufklärung und Beantwortung.

Um zunächst auf die technischen Fragen zu sprechen zu kommen, so gebe ich Ficker ohne weiteres zu, daß die Methodik der Filtration, insbesondere die im einzelnen Falle sogar nicht immer völlig gleiche

¹ *Diese Zeitschrift*. Bd. LXXV. S. 147.

² *Ebenda*. Bd. LXIX. S. 522. — Bd. LXX. S. 311.

³ *Deutsche militärärztliche Zeitschrift*. 1912. Hft. 7.

„Dosierung“ des Rückstoßes zunächst einige Übung erfordert, ein Umstand, der, wie ich auch aus Angaben anderer Untersucher entnehmen kann, hin und wieder zu ungleichmäßigen Resultaten Veranlassung gegeben hat. Ich habe aber bereits in den ersten Veröffentlichungen auf diesen Punkt hingewiesen und auch späterhin ihn mehrfach betont. Eine erhebliche Erleichterung der rückläufigen Spülung ist übrigens bei der Modifikation mit Kieselgurzusatz nicht zu bestreiten, da man hier an der sich ablösenden Gurhaut einen genauen Maßstab für den angewandten oder noch anzuwendenden Druck hat. Daß der Beschaffenheit der übrigen Hilfsmittel (Kerzen, Kieselgur) eine große Bedeutung zukommt, ist selbstverständlich, ebenso, wie für das Zustandekommen genauer quantitativer Untersuchungen Störungen in den Dichtungen der Druckpumpe von großem Nachteil werden können.

Die Bedenken, die seitens der Berkefeldfiltergesellschaft wegen der Haltbarkeit der Kerzen dem bei der rückläufigen Spülung entstehenden Innendruck gegenüber geltend gemacht wurden und auf die auch Ficker hinweist, sind tatsächlich wenig schwerwiegend, denn bei meinen sehr zahlreichen Versuchen ist es nur einmal vorgekommen, daß ein Filter bei der rückläufigen Spülung zertrümmert wurde. Seitdem ich vor der Filtration die Kerze mit einer Kieselgurhaut überziehe, ist infolge der leichteren Rückspülung bei erheblich geringerem Druck überhaupt nie ein unerwünschter Zwischenfall eingetreten.

Was die Verarbeitung der in dem Glaszylinder normalerweise zurückbleibenden Restflüssigkeit anbelangt, so glaube ich in Anbetracht der sehr eingehenden Untersuchungen Fickers in der Bewertung ihrer Wichtigkeit zurückgehen zu dürfen, wenn auch gelegentlich ein für genaue quantitative Untersuchungen immerhin nicht ganz unbedeutlicher Teil der Keime dem Nachweis entgehen kann. Auf jeden Fall aber, und ich glaube, auch Ficker wird mir beipflichten, muß das erstrebenswerte Ziel das sein, die Menge des Restes möglichst herabzumindern. Und das läßt sich auf einfachste Weise damit erreichen, daß man den unteren Rand des Glaszylinders abrundet. Selbstverständlich muß in der Umgebung der Bohrung eine genügend große, völlig ebene Fläche ausgespart sein, so daß irgendwelche Spannungen oder Klemmungen der aneinander stoßenden Teile ausgeschlossen sind.

Die Verwendung der von Ficker vorgeschlagenen Glaszylinder mit 800 bis 1000 ^{ccm} Fassungsvermögen wäre an und für sich eine recht zweckmäßige Einrichtung, sie erscheint mir aber doch insofern etwas bedenklich, als die Stabilität der Apparatur durch die relativ starke Belastung im Oberteil, namentlich bei Beginn der Filtration, wenn der Saugkolben noch leer ist, sehr beeinträchtigt wird. Ich glaube, daß man gegebenenfalls

die von mir angegebene automatische Vorrichtung doch mit Nutzen anwendet.¹

Die von Ficker auf Seite 154 vorgeschlagene Schlaucholive zur Befestigung des Druckschlauches am Pumpenverschlußdeckel ist unbedingt notwendig, sie ist auch von mir von Anfang an verwandt, leider nicht besonders erwähnt worden. Die von der Berkefeldfiltergesellschaft auf meinen Vorschlag in Handel gebrachte Apparatur zur Wasseruntersuchung mit dem Armeefilter besitzt an den betreffenden Stellen, an denen der Schlauch befestigt ist, solche Oliven und ich möchte empfehlen, auch wenn mit der Saugstrahlpumpe gearbeitet werden soll, als Verschlußstück des Pumpendruckzylinders die dem oben bezeichneten Apparat zugehörige Metallscheibe mit Schlauchansatz und Olive zu verwenden. Über der Olive wird der etwa 50^{cm} lange Druckschlauch mit Draht befestigt. Das andere Ende des Schlauches wird vor der rückläufigen Spülung über den Kerzenausflußzapfen geschoben, so daß auch das hier befindliche Gewinde mit verdeckt ist und mit einer Schlauchklemme, deren beide Backen der Krümmung des Schlauches entsprechen und mit Rillen versehen sind, durch zwei kräftige Flügelschrauben absolut dicht angeschlossen. Diese Vorrichtung ist völlig zuverlässig und wesentlich einfacher als die von Ficker vorgeschlagene.

Aus welchem Grunde Ficker vor der rückläufigen Spülung die Kerze aus dem Glaszylinder entfernt, ist mir nicht recht ersichtlich. Wahrscheinlich will er verhüten, daß bei dem von ihm empfohlenen sehr kurzen und daher weniger gut zu handhabenden Rückspülssystem die abtropfende bakterienhaltige Kieselgurmasse mit dem Glaszylinder in Berührung kommt und auf diese Weise ein Teil der Keime an der Glaswand haften bleibt.

Ich halte bei meiner Anordnung, die infolge des 50^{cm} langen Druckschlauches völlige Bewegungsfreiheit gewährt, bei der rückläufigen Spülung die Kerze senkrecht nach abwärts über die Kulturplatte, so daß der auf den ersten Druck sich abhebende Kieselgurbelag, ohne den Glaszylinder zu berühren, auf die Platte gelangt. Ein Bakterienverlust wird somit vermieden. Bei Verwendung einer zweiten Platte führe ich, nachdem der Glaszylinder wieder nach oben gekehrt ist, einen zweiten, leichten Kolbenstoß aus. Die von ihm ausgepreßte Rückspülflüssigkeit (etwa 2^{ccm}) schwenke ich im Zylinder kräftig umher, um die etwa an gröberen, sedimentierten Kieselgurteilchen haftenden Bakterien aufzuwirbeln und gebe diese Flüssigkeit auf die zweite Platte. Es wird zunächst mit dem Glasspatel Platte 1 gleichmäßig verrieben und dann mit dem gleichen Spatel die Flüssigkeit auf der Platte 2 gut verteilt. Wie die Fickerschen

¹ Diese Zeitschrift. Bd. LXIX. S. 539 f.

Beobachtungen ergaben, wird die Gefahr, daß an diesem Spatel noch eine nennenswerte Bakterienmenge haftet und dem Nachweis verloren geht, gering sein.

Ob sich die Modifikation Fickers, die Kieselgurhaut mit der Spritzflasche oder mit dem Pinsel zu entfernen, bewähren wird, kann, wie er selbst zugibt, erst nach weiteren Versuchen entschieden werden. Sicherlich würde die Umgehung der Druckpumpe eine wertvolle Vereinfachung sein!

Sehr interessant sind die Versuche, die Ficker über den Einfluß des Trocknens der Platten, sowie über die Einwirkung der Kieselgur auf die Bakterien angestellt hat. Sie geben wertvolle Richtlinien für das Arbeiten mit den verschiedenen Bakterienarten und für die Beurteilung der Resultate. Ich habe es bei meinen Coliversuchen immer so gehalten, daß ich die Platten, nachdem die aufgebrachte Flüssigkeit oberflächlich verdunstet war (10 bis 20 Minuten), noch etwa 60 Minuten offen im Brutschrank nachgetrocknet habe. Ich habe bei diesem Vorgehen für Coli nie eine schädigende Wirkung beobachtet und andererseits vermieden, daß es zur Bildung von Hautkolonien kam. Die Fickerschen Versuche zeigen, daß für empfindliche Keime hier Vorsichtsmaßregeln zu beachten sind; deren praktische Lösung wird vielleicht am einfachsten dadurch erreicht, daß man sich nicht auf ein bis zwei Platten beschränkt. Die Trockenzeit kann bei Verwendung mehrerer Platten natürlich abgekürzt werden.

Die Verwendung physiologischer Kochsalzlösung zur rückläufigen Spülung, die ich anfangs für zweckmäßig hielt und die bei Verarbeitung von Gußplatten im Interesse der Erhaltung eines isotonen Nährmediums unerläßlich ist, habe ich bei späteren Versuchen mit Oberflächenkulturen wieder aufgegeben. Ich teile in dieser Hinsicht mit Ficker die von ihm angeführten Bedenken wegen einer eventuell eintretenden, nicht mehr indifferenten Salzkonzentration.

Dagegen muß ich die Vermutung Fickers, daß in der von mir für die Bakterienaufschwemmung verwandten physiologischen Kochsalzlösung mit Zusatz von $\frac{1}{2}$ Prozent Bouillon während des Versuchs eine Vermehrung der Bakterien eingetreten sei, die ein günstigeres Ergebnis habe vortäuschen können, ablehnen.

Nachdem ich festgestellt hatte, daß ein längerer Aufenthalt in physiologischer Kochsalzlösung einen schädigenden Einfluß auf die Keime ausübt (Verminderung von Paratyphusbazillen in $1\frac{1}{2}$ Stunden, nicht wie Ficker irrtümlich zitiert in 3 bis 4 Stunden, um 3 bis 4 Prozent, nach 5 bis 6 Stunden um 99 Prozent), ermittelte ich zunächst, wie sich die Keime bei einem Zusatz von 1 Prozent Bouillon (zur physiologischen Koch-

salzlösung) verhalten: es war in diesem Medium nach 5 Stunden eine erhebliche Vermehrung der Keime (Paratyphus und Coli) eingetreten. In geringerem Grade war eine Vermehrung auch bei Zusatz von $\frac{1}{2}$ Prozent Bouillon im allgemeinen zu beobachten. Wurde aber die Keimzahl nach kurzer Zeit bestimmt, so war die eingetretene Vermehrung sehr gering und unregelmäßig, ja es zeigte sich bisweilen sogar, wie dies übrigens auch Ficker beobachtet hat, eine Abnahme der Bakterienzahl. Bei späteren Versuchen, die dem Studium anderer biologischer Eigentümlichkeiten galten und über die an anderer Stelle zu berichten sein wird, habe ich in der ersten Zeit eine Verminderung der in ein neues Nährmedium eingesäten Bakterienzahl fast regelmäßig beobachtet. Es dürfte dies entweder auf einer Hemmungswirkung durch die dem Bakterienmaterial von der Ausgangskultur noch anhaftenden Stoffwechselprodukte¹ oder auf einem Fehlen zur Vermehrung der Bakterien notwendiger, erst später sich bildender „Reizstoffe“² beruhen. Jedenfalls stellte sich die Notwendigkeit heraus, bei Versuchen, deren Dauer $\frac{1}{2}$ Stunde überschritt, am Anfang und am Ende, bei noch länger dauernden Versuchen auch in der Zwischenzeit sogar öfters, Kontrollzählplatten herzustellen. Aus dem Ergebnis der verschiedenen Zählplatten wurde das Mittel berechnet und die so gefundene Menge als Vergleichswert für die Feststellung der wiedergefundenen Keimzahl verwandt. Wo bei kurzen Versuchen aber nur eine Kontrollzählung vorgenommen wurde, geschah dies stets in der zweiten Hälfte der Filtration, also gegen Ende des Versuchs.

Ich darf demnach den Einwand Fickers, daß eine während des Versuchs eingetretene Vermehrung der Bakterien die Ergebnisse habe beeinflussen können, als nicht zutreffend bezeichnen. Ich muß vielmehr bei der von mir ausgesprochenen Ansicht bestehen bleiben, daß in solchen Fällen, in denen die wiedergefundene Bakterienmenge größer war als es den zugehörigen Zählplatten entsprach, eine ungleiche Verteilung im Ausgangsmaterial die Ursache war. Ich habe sowohl damals wie anlässlich anderer Versuche später immer wieder feststellen müssen, daß selbst bei gründlichster Mischung einer für gleichmäßige Verteilung recht geeigneten Bakterienaufschwemmung (Coli, Typhus, Fluoreszenz) bei der für diesen Zweck meiner Ansicht nach sehr günstigen Tropfglasmethode die Bakterienzahl in den einzelnen Tropfen so erhebliche Abweichungen zeigte, daß obenerwähnte Unterschiede ohne weiteres erklärt wurden. Ich habe deshalb die Kontrollzählplatten stets in mehrfacher Ausführung angelegt, um einen der Wirklichkeit nahekommenden Mittelwert zu erhalten.

¹ Conradi u. Kurpjuweit, *Münchener med. Wochenschrift*. 1905. Nr. 37.

² Rahn, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1906. II. Abt. S. 417 u. 609.

Wenn Ficker bei seinen quantitativen Versuchen, die er zur Prüfung der Leistungsfähigkeit der Filtrationsmethode nach mehrfachen Gesichtspunkten hin und mit peinlicher Sorgfalt in einer Zahl angestellt hat, die ein brauchbares Durchschnittsergebnis rechtfertigen muß, mit einer Methodik, die mir 95 bis 96 Prozent lieferte, doch nur 74 Prozent der eingebrachten Bakterien wiederfand, so habe ich außer der Möglichkeit, daß vielleicht nur geringfügige Abweichungen von der von mir gehandhabten Technik zu diesen weniger günstigen Ergebnissen geführt haben könnten, zunächst keine weitere Erklärung.

Daß aber selbst diese 74 Prozent, die von Ficker von den in eine große Flüssigkeitsmenge ausgesäten Keimen tatsächlich wiedergefunden wurden, anders zu bewerten sind wie der mit anderen Methoden aus dem Befund eines geringen Bruchteils der zu untersuchenden Flüssigkeit errechnete, vielleicht höhere Prozentsatz, liegt auf der Hand, und es ist mir eine besondere Genugtuung, daß auch Ficker in diesem Punkte mit mir übereinstimmt.

Selbstverständlich werden nicht gleich immer die ersten Versuche die gewünschten Erfolge geben, es muß erst die in mancher Hinsicht etwas empfindliche Technik bis zur vollständigen Beherrschung erlernt werden, eine Forderung, die auch für andere Methoden unerlässlich ist. Ob ein Mangel in dieser Beziehung seinerzeit die Veranlassung meiner wenig günstigen Erfahrungen mit der Eisenfällungsmethode gewesen ist, will ich dahingestellt sein lassen; aber ich glaube eine hinreichend große Zahl von Versuchen gemacht zu haben, um mir die Technik anzueignen. Größere Fehler konnte ich ebenfalls ausschließen, da ich mich genau nach den Fickerschen Vorschriften gerichtet und alle vorgeschlagenen Modifikationen einzeln durchgeprüft habe. Nachträglich möchte ich noch erwähnen, daß ich für diese Versuche chemisch reines Eisensulfat, von der Kahlbaum'schen Verkaufsstelle im chemischen Institut der Universität Leipzig bezogen, verwandt habe.

Was die Kritik Fickers anbelangt, die er den von mir angestellten Versuchen mit verdünntem Pleißenwasser, dem Paratyphuskeime zugesetzt waren, zuteil werden läßt, so kann ich ihm den Vorwurf nicht ersparen, daß er meine eigene Kritik über diese Versuche nicht beachtet hat. Bei Versuch 28, bei welchem infolge einer sehr geringen Zahl von Begleitbakterien tatsächlich alle verdächtigen Kolonien durchagglutiniert werden konnten, habe ich allerdings nur 45 Prozent der Aussaat wiedergefunden, und zwar, wie auch Ficker betont, ohne die erst später eingeführte Modifikation mit Kieselgurzusatz, die unter allen Umständen das Ergebnis erheblich verbessert haben würde. Wenn aber Ficker für meine Versuche 29 bis 31 einen Prozentsatz der wiedergefundenen Paratyphuskeime von 4.2, 2.8 und 1.4 herausrechnet, so hat er übersehen, daß ich aus-

drücklich darauf hingewiesen habe, daß bei diesen Versuchen eine weiter durchgeführte Agglutination auf jeden Fall noch mehr Paratyphuskolonien hätte ermitteln lassen, daß ich mich aber mit Rücksicht auf Zeit und Mühe damit begnügt habe, aus einer großen Anzahl verdächtiger Kolonien einige sicher dem Aussaatmaterial entstammende zu ermitteln. Für mich sollten diese Versuche nur qualitativen Wert besitzen, sie sollten einen dem praktischen Bedürfnis nahekommenden Nachweis pathogener Keime im verunreinigten Wasser darstellen. Und diesen Zweck haben sie doch wohl erfüllt! Vielleicht wird Ficker auf Grund dieser Erörterungen auch dem negativen Ausfall eines untersuchten Brunnenwassers etwas mehr Wert beimessen, wenn ich ihm auch andererseits gern das Zugeständnis machen will, daß ich in meinen Folgerungen zu weit gegangen bin, da mir ja die ursprüngliche Methode, so wie sie für jene Versuche angewandt wurde, nur im Durchschnitt 42 Prozent der eingesäten Bakterien lieferte.

Quantitativ betrachtet, würden freilich die Ergebnisse der Versuche 29 bis 31, so wie sie durchgeführt sind, keine besondere Empfehlung für die Filtrationsmethode sein, dennoch stehen sie aber hinter denen Hilgermanns¹, der nach der Fickerschen Methode gearbeitet hat und quantitativ arbeiten wollte, insofern sicher nicht zurück, als die Zahl der von Hilgermann **tatsächlich** gefundenen Keime im Vergleich zur Einsaat immer noch geringer war.

Der Kernpunkt in der Bewertung der verschiedenen Methoden ist eben der, daß es mit der Filtrationsmethode möglich ist, den ganzen Keimgehalt einer großen Flüssigkeitsmenge der Untersuchung zugänglich zu machen, während mit den Fällungsmethoden praktisch immer nur ein geringer Bruchteil des Sediments verarbeitet, also nur eine dementsprechend geringe Wassermenge tatsächlich untersucht werden kann.

Wenn die Isolierung der Keime aus der großen Zahl ihrer Begleitbakterien auf Schwierigkeiten stößt, so ist das eine Frage, die erst in zweiter Linie zu beantworten sein wird. Und gerade in dieser Hinsicht ist von mir zur Genüge betont worden, daß der eigentliche Wert der Filtration zum Nachweis pathogener Keime im verunreinigten Wasser in einer Verbindung mit geeigneten und eventuell verfeinerten elektiven Methoden gesucht werden muß. Für weitere Fortschritte auf diesem dankbaren, wenn auch vielleicht nicht ganz leicht zu bearbeitenden Gebiet, bedeutet eben eine so intensive Einengung der Keime, wie sie die Filtration gestattet, eine neue Grundlage, sie stellt weiterem Studium neue Aufgaben!

¹ *Archiv f. Hygiene.* Bd. LIX. S. 355.

Für die Typhusuntersuchung scheint die von Kaczynski¹ vorgeschlagene Modifikation recht brauchbare Resultate geliefert zu haben. Er hat, analog dem schon im Jahre 1906 von Ditthorn und Gilde-meister² angegebenen, von ihm aber leider unerwähnt gelassenen Verfahren, eine Kombination der Filtration mit der Gallenzüchtung empfohlen.

Zum Schluß möchte ich noch kurz auf die beiden Versuche eingehen, die Ficker mit dem Armeefilter zum Nachweis der in 6 Liter Wasser eingesäten 33 bzw. 134 Colibazillen angestellt hat. Er fand 11 bzw. 50 Keime wieder. Ficker gibt selbst zu, daß dies natürlich zu wenig zahlreiche Versuche seien, er glaubte aber folgern zu dürfen, daß man auch bei dieser Apparatur im Anfang keine sehr hohen Prozentsätze findet. „Bei weiterer Einübung wird man gewiß bessere Resultate erzielen.“

Wenn ich bereits oben betont habe, daß die Technik der Filtration immerhin einige Übung voraussetzt, so gilt dies in erster Linie auch für die Untersuchung mit dem Armeefilter. Trotz ihrer Einfachheit sind doch eine Reihe von Momenten zu beachten, deren Versäumnis zu ungünstigen Resultaten führen kann und eine geringe Störung in der Apparatur, ein fehlerhaftes Ventil in der Pumpe, wird hierbei besonders leicht große Enttäuschungen bereiten können. Ich verweise diesbezüglich auf einige kürzlich von mir veröffentlichte technische Notizen.³

Ich hatte jedenfalls bei 19 von mir angestellten Versuchen, die mir im Durchschnitt 93 Prozent der Aussaat lieferten, angesichts der Kürze der Zeit der Ausführung und der bequemen Handhabung der Apparatur alle Veranlassung zufrieden zu sein. Allerdings möchte ich nicht unterlassen zu betonen, daß ich durch meine früheren Filtrationsversuche sowie die speziellen Vorversuche über reichliche Übung verfügte.

Jedenfalls bin ich davon überzeugt, daß die Fickerschen Untersuchungen zur Klärung mancher noch schwebenden Frage beigetragen haben und daß sie bewiesen haben, daß der Bakteriennachweis mit dem Berkefeldfilter noch in mancher Beziehung verbessert und daß vor allem sein Anwendungsgebiet nach mancher Richtung erweitert werden kann. Insonderheit berechtigt eine Verfeinerung der elektiven Nachweismethoden in Verbindung mit der Filtration zu weitgehenden Hoffnungen. Ob man für diese Arbeiten die Modifikation mit Kieselgurzusatz wählen oder ob man sich mit der ursprünglichen Methode begnügen wird, kann natürlich nur mit Rücksicht auf die jeweiligen Versuchsbedingungen entschieden werden.

¹ *Diese Zeitschrift*. Bd. LXXIV. S. 188.

² *Hygienische Rundschau*. 1906. S. 1376.

³ *Centralblatt f. Bakteriologie*. I. Abt. Bd. LXX. S. 331.

[Aus dem Hygienischen Institute der Kgl. Tierärztlichen Hochschule
zu Berlin.]

(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. P. Frosch.)

(Abteilung für Tropenhygiene. Vorsteher: Prof. Dr. P. Knuth.)

Beiträge zur Biologie der nur auf kulturellem Wege nachweisbaren Flagellaten des Rinderblutes.

Von

Dr. med. vet. **Fritz Ferber,**

Veterinär im Feldartillerie-Regiment Nr. 8 in Saarlouis.

Die nur auf kulturellem Wege nachweisbaren Flagellaten des Rinderblutes entdeckte Miyajima (16) in Japan bei einem Versuche, *Piroplasma parvum* in Blutbouillon zu züchten. In mehrtägigen Kulturen fanden sich viele lebhaft bewegliche Flagellaten, die nach Miyajimas Ansicht in den Entwicklungszyklus der Piroplasmen gehörten. Miyajima gelang es auch zwei von drei Kälbern mit diesen Kulturflagellaten zu infizieren.

Martini (15) auf den Philippinen und Crawley (6 und 7) in Nordamerika prüften die Befunde Miyajimas nach und fanden dieselben Flagellaten auch bei Rindern, die mit Piroplasmen nicht infiziert waren. Hieraus ging also hervor, daß es sich um eine Infektion handeln mußte, deren Erreger keine Beziehungen zu den Piroplasmen haben.

Ebenso wie Miyajima stellte auch Martini Impfversuche an, und zwar nicht nur mit den aus dem Blute gezüchteten Flagellaten, sondern auch direkt mit Blut solcher Rinder, aus dem Flagellaten auf kulturellem Wege nachweisbar waren. Bei ersteren Versuchen waren die Erfolge ähnlich denen von Miyajima, bei den Blutimpfungen konnte Martini dagegen keine Infektion mit Flagellaten erzielen.

Crawley nannte den von ihm bei amerikanischen Rindern gefundenen Blutparasiten *Trypanosoma americanum*. Die Kultivierung gelang ihm außer in Rinderbouillon auch in Hammelbouillon und in Bouillon aus Extrakt von Rindfleisch, jedoch nicht in Kochsalzlösung. Ein Rind, dessen

Blutbouillonkulturen früher Flagellaten enthalten hatten, seit längerer Zeit solche aber nicht mehr aufwies, wurde mit Blut eines Rindes, das noch mit Kulturflagellaten infiziert war, geimpft. Da die Infektion nicht gelang, glaubte Crawley auf eine natürliche Immunität schließen zu müssen. Besondere Sorgfalt verwandte Crawley darauf, festzustellen, wann die Flagellaten frühestens in den Kulturen auftreten, und wie sie sich bei Brut- und Eisschranktemperatur verhalten.

In Tunis stellten Manceaux, W. L. Yakimoff und Nina Kohl-Yakimoff (14) die Flagellaten ebenfalls durch die Kulturmethode fest. Auch gelangen ihnen Subkulturen auf verschiedenen Medien.

Ähnliche Berichte über das Verhalten der Flagellaten in Kulturen liegen vor von Delanoë (8) aus Frankreich, von Carini (4) aus São Paulo, von Swellengrebel (17) und Wester — (persönliche Mitteilung an Herrn Prof. Dr. P. Knuth) — aus Holland, von Cardamatis und Photinos (3) aus Griechenland, von Magnusson (13) aus Schweden, von Christiansen (5) aus Dänemark.

In Deutschland legten zunächst Knuth, Rauchbaar und Morgenstern (11) — angeregt durch den Trypanosomenbefund Franks (10) bei einem Ochsen, der in Stein-Wingert, Kreis Ober-Westerwald unter Milz- und Rauschbrandsymptomen verendet war, — Bouillonkulturen aus dem Blute von 25 Rindern an. In den Kulturen von 7 Rindern konnten Flagellaten derselben Art, wie sie Miyajima, Martini und Crawley beschrieben hatten, nachgewiesen werden. Bei weiteren 17 Rindern fanden Knuth und Rauchbaar (12) 10 infiziert. Bei ausgewachsenen Rindern betrug der Prozentsatz 67.7, bei Jungrindern 14.6, bei Kälbern 0.

P. Behn (1) stellte Untersuchungen über die Dauer der Infektion und den eventuellen Überträger an, studierte das morphologische Verhalten der Flagellaten und machte Übertragungsversuche auf Kälber und Rinder. Während nun anfangs Crawley der Ansicht war, daß nicht ein Trypanosoma, sondern ein anderer unbekannter Erreger die Flagellaten in der Kultur erzeuge, kam derselbe später auf Grund seiner weiteren eingehenden Untersuchungen zu der Überzeugung, daß ein Trypanosoma der Vorläufer der Flagellaten sei. Demgegenüber hat P. Behn in seiner Arbeit den Standpunkt vertreten, daß die Kulturflagellaten nicht aus Trypanosomen hervorgehen, obwohl er in der Blutbahn eines Rindes, das Kulturflagellaten zeigte, ein Trypanosoma gefunden hatte. P. Behns Impfversuche ergaben auch ein ganz entgegengesetztes Resultat, als das von Miyajima und Martini. Während Impfungen mit Kulturen ohne Erfolg blieben, gelang es P. Behn durch Impfung mit Blut von Rindern, die Kulturflagellaten zeigten, Trypanosomen in der Blutbahn eines Kalbes zur Entwicklung zu bringen.

Wir sehen also, daß die Ergebnisse der Untersuchungen der oben genannten Forscher nicht in allen Punkten übereinstimmen. Auch lassen sie noch wichtige Fragen ganz unbeantwortet. Diese Lücke nach Möglichkeit auszufüllen ist der Zweck der nachstehenden Arbeit. Angefertigt wurde dieselbe in der Tropenabteilung des Hygienischen Institutes der Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Berlin unter der Leitung des Herrn Abteilungsvorstehers Prof. Dr. P. Knuth.

Die Versuche liefen teilweise parallel mit den von P. Behn bereits mitgeteilten, teils bildeten sie eine Fortsetzung derselben. Auch die Technik der Blutentnahme, der Anlage der Bouillonröhrchen und der Herstellung der mikroskopischen Präparate war dieselbe wie sie P. Behn in seiner Arbeit: „Gehen die bei Rindern kulturell nachweisbaren Flagellaten aus Trypanosomen hervor?“ in dieser Zeitschrift Band 70 1911 ausführlich beschrieben hat.

A. Gefrier- und Erhitzungsversuche.

Abgesehen von kurzen Angaben über die den Kulturflagellaten zuträgliche Temperatur, die übereinstimmend auf etwa 20° C angegeben wird, sind in der Literatur über das Verhalten der Flagellaten bei abnorm hohen und abnorm niedrigen Temperaturen nur wenige Beobachtungen verzeichnet. Crawley bewahrte der Halsvene entnommenes Blut 1. im Laboratorium, 2. im Brutschrank, 3. im Eisschrank auf. Aus diesem Blute legte er dann Tag für Tag Bouillonkulturen an. Es zeigte sich nun, daß die von dem im Laboratorium aufbewahrten Blute angelegten Bouillonkulturen Flagellaten enthielten, wenn sie am dritten Tage nach der Entnahme des Blutes angelegt wurden. Kulturröhrchen, deren Blut im Brutschrank gestanden hatte, zeigten dagegen nur noch Flagellaten, wenn sie an dem der Entnahme folgenden Tage angelegt waren. War das Blut aber der Temperatur des Eisschranks ausgesetzt gewesen, so konnte Crawley noch Flagellaten nachweisen, wenn er es erst am vierten Tage nach der Entnahme zu Bouillon zusetzte. Die Eisschranktemperatur war demnach die den Vorstadien der Kulturflagellaten zuträgliche.

Aufmerksam gemacht durch die Beobachtung, daß nach Nächten von ungewöhnlich niedriger Temperatur die Beweglichkeit der Flagellaten ziemlich langsam war, stellte Crawley (7 S. 31 und 32) ein Röhrchen in ein Gefäß mit Eis und Salz. Hierdurch fiel die Temperatur in dem Röhrchen bis auf den Gefrierpunkt. Das Röhrchen verblieb etwa 2 Stunden in dieser Kältemischung. Mikroskopisch stellte Crawley nun fest, daß die Beweglichkeit der Flagellaten wieder bis zur Norm zugenommen hatte.

Bezüglich höherer Temperaturen als der des Laboratoriums gibt Crawley an, daß im Brutschrank der Austritt des Hämoglobins aus den roten Blutkörperchen und die damit verbundenen chemischen Zersetzungen das Leben der Flagellaten vernichten.

Eigene Versuche.

Im Gegensatz zu Crawley habe ich das steril aufgefangene und defibrinierte Rinderblut nicht erst tagelang bei Zimmer-, Brut- oder Eisschranktemperatur aufbewahrt, sondern habe die Blutbouillonkulturen sofort angelegt. Bei Versuch 1 wurden je 20 Blutbouillonröhrchen in den Brut- und Eisschrank gestellt, nach verschiedenen Tagen herausgenommen und dann bei Zimmertemperatur gehalten. Die Untersuchung erfolgte erst mehrere Tage nach der Herausnahme aus dem Brut- bzw. Eisschrank. Die Temperatur betrug im Brutschrank 37° C, im Eisschrank 6° C. Das Ergebnis ist aus den beiden folgenden Tabellen ersichtlich:

a) Brutschrankversuch.

Zeitdauer in Tagen	Zahl der Röhrchen	Zahl der Röhrchen, in denen Kulturflagellaten zur Entwicklung gekommen waren
1	2	2
2	2	2
3	2	1
5	4	2
6	2	2
7	4	2
8	4	2

b) Eisschrankversuch.

Zeitdauer in Tagen	Zahl der Röhrchen	Zahl der Röhrchen, in denen Kulturflagellaten zur Entwicklung gekommen waren
1	2	2
2	2	2
3	2	2
5	2	2
6	2	2
7	4	3
8	2	2
10	2	2
12	2	2

Aus diesen Tabellen ist ersichtlich, daß mit der Zunahme des Aufenthaltes im Brut- bzw. Eisschrank eine Zunahme der Röhren, die keine Flagellaten mehr enthalten, nicht verknüpft ist. Allgemein waren von den Röhren, die im Brutschrank standen, eine geringere Zahl positiv, als von denen, die im Laboratorium und im Eisschrank aufbewahrt wurden. Dies beruht darauf, daß die Flagellaten in den Röhren, die der Brutschranktemperatur ausgesetzt worden waren, nie in großen Haufen gefunden wurden, sondern immer vereinzelt oder in geringer Anzahl. Nach meinen Beobachtungen möchte ich hieraus schließen, daß die Vermehrung der Flagellaten im Brutschrank bei 37° C verringert ist.

Dasselbe zeigte sich auch in dem folgenden Versuche. Es wurden 18 Röhren Rind- und Pferdeblutagar mit je drei Platinösen einer Blutbouillonkultur beschickt und 6 Röhren 4 Tage im Brutschrank, die übrigen 12 Röhren bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Bei der Untersuchung der Röhren stellte sich heraus, daß von den im Brutschrank gehaltenen nur 3 positiv waren. Es befanden sich in ihnen nur ganz vereinzelt Flagellaten. Dagegen zeigten sich in den übrigen 12 Röhren Kulturflagellaten in großer Menge. Hieraus geht also hervor, daß die Flagellaten sich im Brutschrank bei 37° C nicht vermehren.

In einer dritten Versuchsreihe wurden Blutbouillonkulturen auf verschiedene Temperaturgrade erhitzt bzw. abgekühlt. Bei 3 Röhren, die 24 Stunden einer Brutschranktemperatur von 60° C ausgesetzt wurden, war starke Hämolyse eingetreten. Flagellaten konnten nicht mehr nachgewiesen werden. Drei weitere Röhren, die 3 Stunden auf 55° C erhitzt wurden, zeigten geringgradige Hämolyse. Bei der wenige Tage später erfolgten Untersuchung sah man bei einem Röhren noch Haufen von Flagellaten, die jedoch ihre Beweglichkeit eingebüßt hatten. In Röhren, welche 2 Stunden auf diese Temperatur gebracht wurden, wurden noch wenig geringgradig bewegliche Flagellaten beobachtet. In Kulturen, auf welche diese Temperatur nur 1 Stunde eingewirkt hatte, zeigten einige Flagellaten noch ziemlich starke, andere geringere und wieder andere gar keine Beweglichkeit mehr. Während also die Flagellaten bei 37° C sich nicht vermehren, sterben sie bei 55° C allmählich ab.

Bei den Gefrierversuchen benutzte ich 1. ein Aufbewahrungsgefäß für Kohlensäurepatronen, 2. eine Stampfeinrichtung zur Herstellung fester Kohlensäure, 3. einen Lederbeutel. Sämtliche Apparate sind Bestandteile des Gefrierapparates für feste Kohlensäure, der nach Angabe von Professor Dr. Rudolf Krause von Sartorius angefertigt und in seinem Kataloge unter Nr. 28 abgebildet und beschrieben ist. Auch die Herstellung der Patronen war dieselbe wie dort angegeben. Es wurden jedoch nicht nur Patronen aus Kohlensäure, sondern auch solche aus Eis, Eis und Koch-

salz, Kohlensäure und Äther verwendet. In das Aufbewahrungsgefäß für Kohlensäurepatronen wurden zunächst 1 bis 2 der betreffenden Patronen, dann ein Kulturröhrchen mit dem Minimumthermometer und schließlich wieder 1 bis 2 Patronen gebracht, bis dasselbe gefüllt war. Mit einem Gummipfropfen wurde der Inhalt gegen die Außentemperatur abgeschlossen. Zunächst ließ ich nicht zu hohe Kältegrade auf die Flagellaten einwirken. Das Minimumthermometer zeigte bei verschiedenen Versuchen $+1^{\circ}\text{C}$, -4°C , -12°C . Wie lange diese Temperaturen eingewirkt hatten, ließ sich allerdings nicht kontrollieren. Die Röhrchen wurden mit dem Minimumthermometer immer nach Ablauf von 24 Stunden aus dem Aufbewahrungsgefäß herausgenommen. Bei der später erfolgten mikroskopischen Untersuchung konnte an den noch lebenden Flagellaten keine Veränderung festgestellt werden.

Bei einem Versuch mit einer Kältemischung aus Kohlensäure und Äther ließ sich der Kältegrad nicht mehr feststellen, da das Metallstäbchen des Minimumthermometers bis zur niedrigsten Marke von -52°C gefallen war. Jedenfalls hatte in dem Aufbewahrungsgefäß noch eine bedeutend tiefere Temperatur geherrscht; denn ein großer Teil der Quecksilbersäule, die über dem Metallstäbchen stand, war an diesem entlang vorgedrungen. In dem Kulturröhrchen war starke Hämolyse eingetreten. Die Flagellaten zeigten jedoch auch hier bei der mikroskopischen Untersuchung keine Veränderung. Sie waren selbst nach 14 Tagen noch recht beweglich. Demnach dürfte wohl die Annahme Crawleys, daß bei der Erhitzung der Kulturen die Hämolyse und die damit verbundene chemische Zersetzung das Absterben der Flagellaten bedingen, nicht zutreffen. Vielmehr möchte ich annehmen, daß allein die höheren Temperaturgrade das Leben der Flagellaten vernichten, wenn nicht, was wahrscheinlicher ist, das vollständige Fehlen der roten Blutkörperchen schädlich auf die Flagellaten einwirkt, eine Annahme, für die der folgende Versuch zu sprechen scheint.

Ein Röhrchen wurde mit einem Minimumthermometer, das Temperaturen bis -90°C anzuzeigen vermochte, dreimal in das Aufbewahrungsgefäß gebracht. Die Kältegrade, die dabei erzielt wurden, betragen einmal -56°C , das zweite Mal -25°C , das dritte Mal -78°C . Bei der mikroskopischen Untersuchung konnten weder Flagellaten noch rote Blutkörperchen nachgewiesen werden.

B. Züchtung der Flagellaten auf verschiedenen Nährböden.

Daß die Flagellaten nicht nur auf Rinderbouillon, sondern auch auf Bouillon von andern Tieren und festen Nährböden wachsen, war bereits bekannt. Crawley benutzte als Nährboden Rinderbouillon, Hammel-

bouillon, Bouillon aus Fleischextrakt und Kochsalzlösung. Nach seiner Angabe ist die Entwicklung der Flagellaten in Bouillon aus Fleischextrakt nicht so üppig als in der Bouillon, die direkt aus Fleisch hergestellt wurde. Im Gegensatz zu Dudukalow (9), der die bei Rinderpest-Rindern und einigen gesunden Rindern in der Blutbahn gefundenen Trypanosomen auch in 10prozentiger Kochsalzlösung züchtete, fand Crawley, daß die Flagellaten in diesem Medium nicht zur Entwicklung gelangen. L. Manceaux, W. L. Yakimoff und Nina Kohl-Yakimoff legten Subkulturen auf Nährböden von verschiedener Zusammensetzung an. Delanoë gibt an, daß die Subkulturen auf Blutagar besonders gut gedeihen.

Eigene Versuche.

Bei den folgenden Versuchen wurde sowohl die Züchtung der Flagellaten als auch die Anlage von Subkulturen auf folgenden Medien versucht: 1. Rinderbouillon, 2. Pferdebouillon, 3. Hammelbouillon, 4. Hirschbouillon, 5. Bouillon aus Fleischextrakt, 6. physiologische Kochsalzlösung, 7. Blut, 8. Blutagar, 9. Agar von gewöhnlicher Zusammensetzung.

Bei der Kultivierung der Flagellaten in Bouillon von Fleisch der verschiedenen Tiere konnte kein Unterschied festgestellt werden. Von je 12 Kulturröhrchen, die von demselben Rinde und zu gleicher Zeit angelegt wurden, waren in Rinderbouillon 11, in Pferdebouillon 11, in Schafbouillon 12, in Hirschbouillon 9, in Bouillon aus Fleischextrakt 10 Röhrchen positiv. In physiologischer Kochsalzlösung entwickelten sich keine Flagellaten. Dieselbe Beobachtung wurde gemacht, wenn defibriniertes Blut ohne jeden Nährboden in sterile Röhrchen gefüllt wurde.

Von festen Nährböden wurden 1. gewöhnlicher Agar und 2. Blutagar aus Pferde- und Rinderblut zu gleichen Teilen verwandt. Der Blutagar wurde 24 Stunden vor dem Anlegen der Kulturen hergestellt und im Brutschrank auf Sterilität geprüft. Von je 6 Röhrchen Schrägagar, Pferdeblut- und Rinderblutagar, die mit je 8 Tropfen defibrinierten Rinderblutes beschickt wurden, wiesen bei später erfolgter Untersuchung 4, 6 bzw. 6 Flagellaten auf. Auch bei der Anlage der Subkulturen war das Wachstum der Flagellaten auf Blutagar besonders üppig.

C. Überimpfung von Kulturflagellaten auf Blutbouillonröhrchen, die keine Flagellaten enthielten.

Die Überimpfung von Kulturflagellaten auf Blutbouillonröhrchen, in denen keine Flagellaten zur Entwicklung gekommen waren, wurde aus zwei Gründen angestellt. Einerseits interessierte es, ob überhaupt derartige Überimpfungen möglich sind, andererseits war diese Untersuchung

Vorbedingung für die nachstehend zu beschreibenden Filtrierversuche. Denn die Untersuchung, ob Entwicklungsformen in irgend einem Stadium die Filterporen zu passieren vermögen, war erheblich zuverlässiger, wenn das Filtrat durch Verimpfung auf Blutbouillon geprüft werden konnte, weil damit gerechnet werden mußte, daß das gleichzeitige Vorhandensein von weißen oder roten Blutkörperchen für die Entwicklung der Subkulturen von wesentlicher Bedeutung sein konnte. Die Blutbouillonröhrchen stammten teils von Kälbern, in deren Blut bekanntlich noch niemals Kulturflagellaten nachgewiesen worden waren, teils von bestimmten Rindern, die während der Versuchszeit keine Kulturflagellaten zeigten.

Eigene Versuche.

Zunächst wurden von 24 Blutbouillonröhrchen von Kalb 11, bei dem in Kulturen keine Flagellaten festzustellen waren, 18 mit 10 Tage alten Kulturflagellaten, die von drei verschiedenen Rindern stammten, beschickt. Nach mehreren Tagen fanden sich in 7 Röhrchen Flagellaten, trotzdem durch unglücklichen Zufall alle Röhrchen mit Bakterien verunreinigt worden waren.

Ferner wurde auf 4 Bouillonröhrchen von Kalb 11 der Inhalt eines 10 tägigen positiven Kulturröhrchens nach vorherigem Schütteln verteilt. Desgleichen wurden 2 weitere Bouillonröhrchen von Kalb 11 durch je 3 Platinösen mit einer gleichaltrigen positiven Kultur beschickt. Nach 5 Tagen enthielten die 6 beimpften Röhrchen Flagellaten, während dies bei 6 Kontrollröhrchen nicht der Fall war.

Von einem der beimpften Röhrchen von Kalb 11 wurden dann 2 Blutbouillonröhrchen von Rind 10, das seit längerer Zeit keine Flagellaten in Kulturen zeigte, mit je 3 Platinösen beschickt. Der Rest des Röhrchens von Kalb 11 wurde auf 4 weitere Blutbouillonröhrchen von Rind 10 verteilt. Sämtliche Röhrchen, die in dieser Weise beimpft waren, zeigten bei späterer Untersuchung Flagellaten; 2 waren mit Bakterien infiziert.

Die Kulturflagellaten lassen sich also sowohl auf Blutbouillonröhrchen von Kälbern, bei denen noch niemals Flagellaten nachgewiesen wurden, als auch auf Blutbouillonröhrchen von solchen Rindern, die früher einmal Kulturflagellaten gezeigt hatten, übertragen.

D. Filtrierversuche.

Die Frage, ob es in dem Entwicklungszyklus der verschiedenen Trypanosomenarten ein Stadium gibt, in dem sie durch Filterkerzen hindurchgehen, ist schon von vielen Forschern aufgeworfen worden. Nach einem Referat von Bruce und Bateman (2) berichtet Plimmer, daß

das Filtrat von Naganatieren infektiös sei. Salvin, Moore und Breinl vertreten den Standpunkt, daß das Filtrat von *Trypanosoma gambiense* zwar keine Trypanosomen zeigt, bei andern Tieren sich aber als infektiös erweist. Mac Neal stellt bezüglich des *Trypanosoma lewisi* fest, daß das mittels Berkefeldfilter gewonnene Filtrat von Blutagarkulturen Ratten noch infiziert. Schaudin ist der Ansicht, daß Trypanosomen durch Längsteilung klein genug würden, um durch Chamberlainfilter hindurchzugehen. Entgegen diesen Forschern kamen Bruce und Bateman auf Grund ihrer Versuche zu dem Resultat, daß sich weder das *Trypanosoma brucei* noch das *Trypanosoma evansi* im Körper von Tieren zu so kleinen Formen umbilden, um die Poren eines Berkefeldfilters zu durchdringen, und daß auch in Kulturen auf Blutagar derartig kleine Formen fehlen.

Ob nun die aus dem Rinderblut gewonnenen Kulturflagellaten in irgend einem Entwicklungsstadium die Poren einer Filterkerze zu durchdringen vermögen, suchte ich durch die nachstehenden Versuche festzustellen.

Ich bediente mich bei meinen Versuchen des Filtrierapparates von Uhlenhuth und O. Weidanz (18). Um mehr Filtrat zu erhalten, wurde über die Filterkerze ein Reagenzröhrchen geschoben und oft auf und ab bewegt. Dadurch wurden die körperlichen Bestandteile des Blutes von der Filterkerze abgedrängt.

1. Versuch.

Am 20. IX. 10 wurde Blut von Rind B 1 entnommen und defibriniert. Es wurde mit $\frac{2}{3}$ physiologischer NaCl-Lösung vermischt und am 20. und 21. IX. je 8 Stunden lang filtriert. Das Filtrat wurde auf 8 Blutbouillonröhrchen von Kalb 11, bei dem trotz wiederholter Untersuchung keine Kulturflagellaten nachzuweisen waren, übertragen, gleichzeitig aber auch auf 2 Röhrchen Schrägagar, um das Vorhandensein von Bakterien festzustellen. Von Kalb 11 wurden 4, von B 1 12 Blutbouillonröhrchen zur Kontrolle unbeimpft zurückbehalten.

Resultat: Das Filtrat war von gelblichroter Farbe und frei von Bakterien. Da auch die Kontrollröhrchen von Rind B 1 keine Flagellaten enthielten, ließ sich aus diesem Versuch nicht entnehmen, daß die Kulturflagellaten filtrierbar sind.

2. Versuch.

Am 12. X. 10 wurde Blut von Rind 7, in dessen Blut Kulturflagellaten sich gezeigt hatten, entnommen, defibriniert, mit einem halben Volumen physiologischer NaCl-Lösung vermischt und 8 Stunden lang filtriert. Das Filtrat wurde sodann auf 4 Röhrchen vom selben Tage von Kalb 12 verimpft, das bisher bei der Untersuchung auf Kulturflagellaten sich als negativ erwiesen hatte. Außerdem wurde das Filtrat auf ein Agarröhrchen über-

tragen. Von Rind 7 wurden 4, von Kalb 12 3 Blutbouillonröhrchen zur Kontrolle angelegt.

Resultat: Das Filtrat war bakterienfrei. In den mit Filtrat beschickten Röhrchen von Kalb 12 traten keine Flagellaten auf. Aber auch in den Kontrollröhrchen von Rind 7 entwickelten sich keine Flagellaten.

3. Versuch.

Am 29. X. 10 wurde Blut von Rind B 4 entnommen, defibriniert, zur Hälfte mit physiologischer NaCl-Lösung versetzt und etwa 5 Stunden filtriert. Das Filtrat wurde auf 1 Schrägagarröhrchen und 2 Blutbouillonröhrchen von Rind B 17 verimpft. 2 Blutbouillonröhrchen von Rind 17 dienten zur Kontrolle. Von Rind B 4 wurden ebenfalls 2 Kontrollröhrchen angelegt.

Resultat: In den Kontrollröhrchen von Rind B 4 kamen viele Flagellaten zur Entwicklung. In dem Schrägagarröhrchen, das im Brutschrank stand, wuchsen keine Bakterienkolonien. Sowohl die mit Filtrat beschickten als auch die Kontrollröhrchen von Rind B 17 wiesen keine Flagellaten auf.

4. Versuch.

Am 31. X. 10 wurde Blut von Rind B 4, das am 29. X. aus der Halsvene entnommen und zur Hälfte mit Rinderbouillon vermischt war, etwa 6 Stunden lang filtriert. Mit dem hellrot gefärbten Filtrat wurden 2 Bouillonröhrchen von Rind B 17 und 1 Schrägagarröhrchen beschickt.

Resultat: Rind B 4 war, wie die Kontrollröhrchen vom vorigen Versuch zeigten, stark positiv. Das Schrägagarröhrchen blieb im Brutschrank steril. Sowohl die mit Filtrat beschickten als auch die Kontrollröhrchen von Rind B 17 zeigten trotz wiederholter Untersuchung keine Flagellaten.

5. Versuch.

Am 4. XI. 10 wurde wiederum Blut von Rind B 4 entnommen, defibriniert und zentrifugiert. Sodann wurde mit einer Pipette das Plasma und die oberste Schicht der Blutkörperchen abgehoben, damit die Flüssigkeit den Filter leichter zu durchdringen vermochte, zur Hälfte physiologische NaCl-Lösung hinzugesetzt und etwa 6 Stunden filtriert. Das Filtrat, das hellrot war, wurde auf 2 Bouillonröhrchen von Kalb 11, die am 14. X. angelegt worden waren, außerdem auf 1 Röhrchen Schrägagar übergeimpft. Von Rind B 4 wurden 6, von Kalb 11 2 Röhrchen zur Kontrolle angelegt.

Resultat: Während die Blutbouillonkulturen von Rind B 4 viele Flagellaten aufwiesen, und das Filtrat sich im Brutschrank auf Agar steril zeigte, waren sowohl die mit Filtrat beschickten als auch die Kontrollröhrchen von Kalb 11 frei von Flagellaten.

6. Versuch.

Am 5. XI. 10 wurde Blut von Rind B 4, das am 4. XI. entnommen und das bei gleicher Behandlung wie das im vorigen Versuch mit einem entsprechenden Volumen Rinderbouillon vermischt war, 5 Stunden lang filtriert. Das Filtrat wurde auf 2 Blutbouillonröhrchen von Kalb B 7, sowie auf ein

Agarröhrchen verimpft. Von Kalb B 7 blieben 2, von Rind B 4 4 als Kontrollröhrchen.

Resultat: Während die Kontrollröhrchen von Rind B 4 viele Flagellaten enthielten, und das Agarröhrchen steril blieb, zeigten die Kontrollröhrchen und die mit Filtrat aufgefüllten Röhrchen von Kalb B 7 keine Flagellaten.

7. Versuch.

Am 14. XI. 10 wurde Blut von Rind 11 aus dem Rassestall entnommen, ebenso behandelt wie in Versuch 5 beschrieben und etwa 5 Stunden lang filtriert. Mit dem Filtrat, das wieder hellrot war, wurden 4 Blutbouillonröhrchen von Rind B 17, 1 Bouillonröhrchen, das noch nicht mit Blut aufgefüllt war, und ein Röhrchen Schrägagar beschickt. Von Rind 11 wurden 12, von Rind B 17 4 Kontrollröhrchen angelegt.

Resultat: Das Filtrat war steril. Die Kontrollröhrchen von Rind 11 waren stark positiv. Sowohl in dem auf Blutbouillonröhrchen von Rind B 17, als auch in dem direkt auf Rinderbouillon verimpften Filtrat kamen keine Flagellaten zur Entwicklung.

8. Versuch.

Am 15. XI. 10 wurde etwa 6 Stunden lang Blut von Rind 11 des Rassestalles, das am 14. XI. entnommen und in der angegebenen Weise behandelt war, filtriert. Mit dem Filtrat wurden 3 Blutbouillonröhrchen von Rind 6 und 1 Schrägagarröhrchen beschickt. Von Rind 6 waren 3 Kontrollröhrchen angelegt. Für Rind 11 dienten die im vorigen Versuch angelegten Röhrchen zur Kontrolle.

Resultat: Das Filtrat war steril. Die Kontrollröhrchen von Rind 11 waren, wie der vorige Versuch lehrte, stark mit Flagellaten infiziert. Jedoch enthielten die mit Filtrat beschickten und die Kontrollröhrchen von Rind 6 keine Flagellaten.

9. Versuch.

Um festzustellen, ob Flagellaten im Blutfiltrat überhaupt lebensfähig sind, wurde am 14. III. 11 Blut von Kalb 18 5 Stunden lang filtriert, nachdem es in der bekannten Weise behandelt war. Das Filtrat wurde sodann auf 3 Bouillonröhrchen gefüllt, die mit je 3 Platinösen positiver Kulturen beimpft wurden.

Resultat: Die verimpften Flagellaten waren und blieben in dem neuen Medium lebensfähig.

Zusammenfassung der Filtrierversuche.

Die Kulturflagellaten gehen in keiner Entwicklungsstufe in den ersten 3 Tagen nach der Blutentnahme durch Berkefeldfilter hindurch. Ältere Kulturen zu filtrieren dürfte nutzlos sein, da am 3. Tage schon geißeltragende Formen auftreten, die ihrer Größe wegen die Filterporen sicher nicht zu passieren vermögen. In Rinderbouillon, die mit Blutfiltrat beschickt wird, sind die Flagellaten lebensfähig.

E. Impfungen mit Filtrat von trypanosomenhaltigem Blute.

Bei den oben geschilderten Filtrierversuchen war festgestellt worden, daß in dem Filtrat von Rinderblut, welches die Erreger der Kulturflagellaten enthält, niemals Flagellaten zur Entwicklung gelangen. Es wäre nun aber möglich, daß das Filtrat für geeignete Tiere infektiös ist, wie das Plimmer für Nagana, Salvin, Moore und Breinl für *Trypanosoma gambiense*, Mac Neal für *Trypanosoma lewisi* angegeben haben. Hier wären aber Impfungen mit Filtrat von Kulturflagellaten ganz zwecklos gewesen, da Impfungen selbst mit diesen Kulturen weder Trypanosomen in der Blutbahn noch Flagellaten in den Blutbouillonkulturen der Impftiere, wie wir uns vergewissert haben, zu erzeugen vermochten. Ich benutzte deshalb bei den folgenden Versuchen nicht Filtrat von Kulturflagellaten, sondern von Blut solcher Kälber bzw. Jungrinder, bei denen die von P. Behn näher beschriebenen Trypanosomen in der Blutbahn vorhanden waren.

1. Versuch.

Am 2. XII. 10 wurde Blut von Kalb 11 entnommen, bei dem P. Behn durch Beimpfung mit Blut von vier Rindern aus dem Rassestall hiesiger Hochschule Trypanosomen vom Typus des *Trypanosoma theileri* in der Blutbahn hervorgerufen hatte, und in derselben Weise wie bei den zuletzt angegebenen Filtrierversuchen behandelt. Filtrat von diesem Blut wurde in Menge von 15^{ccm} am folgendem Tage an Rind Ng 1 verimpft. Vorher waren Blutbouillonkulturen von Rind Ng 1 angelegt worden, in denen sich keine Flagellaten entwickelten. Sodann wurden vom 4. bis 24. XII. täglich 5 Ausstrichpräparate vom Ohrblute angelegt; außerdem wurde am 10., 15., 17., 21. und 24. das Rind durch Anlegen von Bouillonkulturen und Zentrifugatusstrichen geprüft.

Resultat: Es wurden niemals Trypanosomen oder Kulturflagellaten nachgewiesen.

2. Versuch.

P. Behn hatte, wie schon erwähnt, Kalb 11 mit Trypanosomen infiziert. Nachdem dieselben wieder aus der Blutbahn verschwunden waren, verimpfte er Blut von Kalb 11 intravenös auf Kalb 15. Bei Kalb 15 erschienen 8 Tage später Trypanosomen in der Blutbahn.

Von diesem Kalbe 11 verimpfte ich nun 20^{ccm} Filtrat intravenös an Kalb 18. Vom 18. II. bis zum 10. III. wurde Kalb 18 täglich im dicken Tropfenpräparat, außerdem jeden 2. Tag durch Anlegen von Blutbouillonkulturen geprüft.

Resultat: Kalb 18 war und blieb frei von Trypanosomen. Die Temperaturkurve zeigte keine erheblichen Schwankungen.

Ergebnis.

Es lassen sich durch Verimpfen von Filtrat sowohl von Blut, das Trypanosomen enthält, als auch von Blut, das wenige Tage vor der Impfung noch Trypanosomen aufwies, keine Infektionen mit Trypanosomen erzielen, während dies bei direkter Blutimpfung leicht gelingt.

F. Impfungen mit Kulturflagellaten.

Während Miyajima und Martini die Kulturflagellaten auf Kälber mit Erfolg übertragen haben, ist dies P. Behn bei zwei zu diesem Zweck angestellten Versuchen nicht gelungen. P. Behn verimpfte einmal eine 13 tägige, ein ander Mal eine 5 tägige Kultur. In beiden Fällen injizierte er subkutan den Inhalt von 3 Bouillonröhrchen. Ich habe diese Versuche von P. Behn fortgesetzt in der Annahme, daß es vielleicht doch gelingen könnte, die Kulturflagellaten derart auf Kälber zu übertragen, daß in Blutbouillonkulturen auch wieder Flagellaten zur Entwicklung kommen.

1. Versuch.

Nachdem von Kalb 16 5 Blutbouillonröhrchen angelegt worden waren, wurde es am 31. I. 11 mit 40^{ccm} einer 15 tägigen Blutbouillonkultur subkutan geimpft. Aber trotzdem das Kalb vom 3. bis 22. II. täglich sowohl im dicken Tropfenpräparat als auch durch Anlegen von Blutbouillonkulturen untersucht wurde, habe ich keine Flagellaten nachweisen können. Auch in den 5 von Kalb 16 vorher zur Kontrolle angelegten Röhrchen traten keine Flagellaten auf.

2. Versuch.

Am 3. II. 11 wurde Rind Ng 6 intravenös mit 30^{ccm} einer 18 tägigen Kultur geimpft, nachdem zuvor von diesem Rinde zur Kontrolle Blutbouillonkulturen angelegt worden waren. Das fragliche Rind war früher bereits mit Kulturflagellaten infiziert gewesen. Die Prüfung durch Bouillonkulturen war aber seit mehreren Monaten negativ ausgefallen. Das Rind wurde nun nach der Impfung vom 6. bis 25. II. jeden 2. Tag sowohl durch Zentrifugatausstriche als auch durch Anlegen von Blutbouillonkulturen untersucht. Es wurden auch hier weder in den vor der Impfung von Rind Ng 6 noch in den nach der Impfung angelegten Röhrchen Kulturflagellaten gefunden.

3. Versuch.

Kalb 18 wurden am 14. III. 11 subkutan und intraperitoneal je 25^{ccm} einer 10 tägigen Kultur, die von drei verschiedenen Rindern stammte, eingespritzt. Untersucht wurde das Kalb vom 15. III. bis 4. IV. mittels des dicken Tropfenpräparates und durch Blutbouillonkulturen. Es wurden aber niemals Flagellaten nachgewiesen.

4. Versuch.

Kalb 20 wurde am 28. V. 11 eine 9- und eine 6 tägige Kultur, und zwar intravenös und intraperitoneal je in Mengen von 25 ^{cem}, ferner subkutan von 50 ^{cem} injiziert. Die verimpften Kulturen wiesen viele Flagellaten auf. Die Temperaturkurve zeigte während der Untersuchungszeit, die bis zum 18. VI. ausgedehnt wurde, keine auffallenden Schwankungen. Bei der Untersuchung im dicken Tropfenpräparat und mittels Anlegen von Blutbouillonkulturen ließen sich keine Flagellaten nachweisen.

Ergebnis der Impfversuche mit Kulturflagellaten.

Es gelang nicht durch Verimpfen von Blutbouillonkulturen bei Kälbern bzw. Jungrindern eine Infektion herbeizuführen derart, daß Trypanosomen in der Blutbahn oder Flagellaten in Bouillonkulturen auftreten.

Schlußfolgerungen.

1. Die Vermehrung der nur auf kulturellem Wege im Rinderblute nachweisbaren Flagellaten wird bei + 37° C verringert bzw. ganz unterdrückt; bei einer Temperatur von + 55° C sterben die Kulturflagellaten allmählich ab, und zwar nicht infolge der Hämolyse, wie Crawley angenommen hat, sondern infolge der hohen Temperatur.

Kältegrade von — 50° C und mehr schädigen bei 24 stündiger Einwirkung das Leben der Kulturflagellaten nicht.

2. Die Kulturflagellaten wachsen in Bouillon verschiedener Tierarten (Rind, Pferd, Hammel, Hirsch) und auch in Bouillon aus Fleischextrakt ohne bemerkenswerten Unterschied. Sie gedeihen nicht in defibriniertem Blut ohne Zusatz und in physiologischer Kochsalzlösung.

Von festen Nährböden gelang die Kultivierung sowohl auf gewöhnlichem schwach alkalischem Agar, als auch auf Blutagar.

3. Auf von Kulturflagellaten freie Blutbouillonröhrchen verimpft, entwickeln die Kulturflagellaten ein üppiges Wachstum, gleichviel ob die Tiere, von denen das Blut zum Herstellen der Kulturen stammt, mit Kulturflagellaten früher schon infiziert gewesen sind oder nicht.

4. Die Kulturflagellaten vermögen in keinem Entwicklungsstadium die Poren des Berkefeldfilters zu durchdringen.

Auch durch Impfung mit Filtrat von trypanosomenhaltigem Blut und mit Filtrat von Blut, das kurze Zeit vorher Trypanosomen enthalten hatte, konnten bei Tieren keine Trypanosomen in der Blutbahn hervorgerufen werden, obwohl dies bei direkter Blutimpfung der Fall ist.

5. Durch subkutane, intravenöse und intraperitoneale Impfung mit Kulturflagellaten läßt sich keine Infektion erzeugen dergestalt, daß in Blutbouillonkulturen der Impftiere wieder Flagellaten auftreten.

Literatur-Verzeichnis.

1. P. Behn, Gehen die bei Rindern kulturell nachweisbaren Flagellaten aus Trypanosomen hervor? *Diese Zeitschrift*. 1911. Bd. LXX. S. 371—408.
2. Bruce, Sir D. and Bateman, H. R., Have Trypanosomes an Ultra Microscopical Stage in their life-history? *The Journal of Tropical Veterinary Science*. April 1909. Nr. 2. p. 181.
3. Cardamatis et Photinos, Étude biologique et histologique sur les Trypanosomes chez les Bovidés en Grèce. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1912. Bd. LXI. S. 538—542.
4. Carini, Présence de Trypanosomes chez les Bovidés à São-Paulo. *Bull. Soc. path. exot.* 1911. Tome IV. p. 191—192.
5. Christiansen, *Maanedskrift for Dyrlaeger*. 1910. Vol. XX.
6. Crawley, Trypanosoma Americanum n. sp. a Trypanosome which appears in cultures made from the blood of American Cattle. *Bureau of Animal Industry. Bulletin* 119.
7. Derselbe, Trypanosoma Americanum, a common blood parasite of American Cattle. *Ebenda*. Bulletin 145.
8. Delanoë, Présence de trypanosomes chez les bovidés en France. *Bull. Soc. path. exot.* 1911. Tome IV. p. 112—116.
9. Dudukalow u. Dudukalova, Ob iskusstvennom kultivirovannii tripanozom naidennykl u rogatago skota. *Sooshchemie otoroe. Ark. vet. nauk*. St. Peterb. Vol. XL (1). p. 1—4, 1 pl., figs. 1—16.
10. Frank, Über den Befund von Trypanosomen bei einem in Stein-Wingert (Westerwald, Reg.-Bez. Wiesbaden) verendeten Rinde. *Zeitschrift für Infektionskrankheiten der Haustiere*. 1908/09. Bd. V. S. 313—315.
11. Knuth, Rauchbaar u. Morgenstern, Nachweis von Trypanosomen beim Rinde im Kreise Oberwesterwald mittels Züchtung in Blutbouillon. *Berliner tierärztl. Wochenschrift*. 1910. Nr. 27.
12. Knuth u. Rauchbaar, Zum Vorkommen von Trypanosomen bei Rindern in Deutschland. *Ebenda*. 1910. Nr. 31.
13. Magnusson, *Svensk Veterinärtidskrift*. 1910.
14. Manceaux, W. L. Yakimoff et Nina Kohl-Yakimoff, Culture et Morphologie du Trypanosome du type Theileri des Boeufs tunisiens. *Bull. Soc. path. exot.* 1911. Tome IV. p. 378—380.
15. Martini, Über die Entwicklung eines Rinderpiroplasmas und -trypanosomas im künstlichen Nährboden. *Diese Zeitschrift*. Bd. LXIV. S. 385—410.
16. Miyajima, On the Cultivation of a bovine piroplasma. *Philippine Journ. Sc. B. Manila. Med. Sc.* 1907. Vol. II. May. p. 83—92, plst. 3, figs. 1—12.
17. Swellengrebel, Présence de Trypanosomes chez les bovidés en Hollande. *Bull. Soc. path. exot.* 1911. Tome IV. p. 536—539.
18. Weidanz, O., Zur Technik der sterilen Filtration. *Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*. Bd. XLVI. S. 567.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien.]
(Vorstand: Hofrat Prof. Dr. R. Paltauf.)

Über Säureagglutination.

Von

Dr. Max Sgalitzer.

I.

Die Untersuchungen über Säureagglutination haben neuerdings dadurch eine praktische Bedeutung gewonnen, daß L. Michaelis¹ und sein Schüler Beniasch² zeigen konnten, daß eine bestimmte Wasserstoffionenkonzentration nötig ist, um Bakterien einer und derselben Gruppe auszuflocken, während ihnen nahestehende Bakterien einer anderen Gruppe bei einer anderen Wasserstoffionenkonzentration ausgeflockt werden. Schon durch diese Untersuchungen, weiter auch durch mehrere Publikationen, die zum Teil während der Ausführung der vorliegenden Arbeit erschienen sind (Rost³, Poppe⁴, Jaffé⁵, Beintker⁶,

¹ L. Michaelis, Die Säureagglutination der Bakterien, insbesondere der Typhusbazillen. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1911. Nr. 21. S. 969.

² M. Beniasch, Die Säureagglutination der Bakterien. *Zeitschrift f. Immunitätsforschung*. 1912. Bd. XII. S. 268.

³ Rost, Die Verwertung der Säureagglutination zur Diagnose des Typhus. *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1911. Bd. LX. S. 324.

⁴ Poppe, Die Säureagglutination der Bakterien der Paratyphusgruppe. *Zeitschrift f. Immunitätsforschung*. Bd. XIII. S. 185.

⁵ Jaffé, Säure- und Normalagglutination der Typhus-Coligruppe. *Archiv für Hygiene*. Bd. LXXVI. S. 1.

⁶ Beintker, Über die Säureagglutination der Typhusbazillen. *Klin. Jahrbücher*. Bd. XXVI. S. 383.

Zeitschr. f. Hygiene. LXXVI

Stepanoff Grigorjeff¹, Schidorsky und Rein², W. Heimann³, Ch. Krumwiede und J. Pratt⁴) wurde eine Reihe theoretischer Fragen aufgeworfen, welche die Beziehungen der Säureausflockung zur Serumagglutination zum Inhalt hat. Sind es ja doch — darauf hat schon Michaelis hingewiesen — hier wie dort die Eiweißkörper der Bakterienleiber, die der Hauptsache nach, vielleicht sogar allein, am Phänomen der Bakterienausflockung teilnehmen. Dies macht es schon von vornherein wahrscheinlich, daß eine Reihe von Erscheinungen, welche bei der Agglutination durch Serum studiert wurden, bei der Säureflockung wieder zu beobachten sind. Wollen wir aber dem Wesen der Ausflockung durch Serum oder durch Säure nähertreten, dann dürfen wir uns nicht darauf beschränken, Analogien festzustellen, sondern wir müssen gerade auf Differenzen besonders achten, die bei den erwähnten Phänomenen in Erscheinung treten.

Die Serumagglutination besteht nach Bordet aus zwei Phasen; die erste hat die Beeinflussung der Bakterien durch das Agglutinin zum Inhalt. Diese Phase besteht in einer Reaktion zwischen Kolloiden; für sie findet sich bei der Säureausflockung kein Analogon.

Die Säurewirkung entspricht der zweiten Phase Bordets, der Ausflockung der durch das Serum beeinflussten Bakterien durch Elektrolyten.

Wie aus den folgenden Untersuchungen zu entnehmen sein wird, deckt sich der größte Teil der Erscheinungen dieser zweiten Phase, die bei der Serumagglutination zu beobachten sind, mit jenen der Säureflockung.

Die vorliegenden Untersuchungen stützen sich auf die Resultate bei der Prüfung von 38 Typhus-, 18 Paratyphus B-, 5 Paratyphus A-, 2 Enteritis Gärtner-, 2 Faecalis alcaligenes-, 20 Coli-, 32 Dysenterie-, 3 Cholera- und 3 Vibrionenstämmen, größtenteils alten Laboratoriumskulturen. Sie alle waren, um Fehlerquellen auszuschließen, vor ihrer Verwendung hinsichtlich ihres Wachstums auf verschiedenen Nährböden geprüft worden, sowie auf ihr Verhalten gegen homologe Sera. Zur Verwendung kamen 24stündige Schrägagarkulturen, die nach Entfernung des Kondenswassers, das wegen seines Gehaltes an Alkali und

¹ Stepanoff Grigorjeff, Zur Frage der Säureagglutination nach Michaelis beim Abdominaltyphus und bei der Pestis humana. *Russky Wratsch.* 1912. S. 91. Referiert in der *Zeitschrift f. Immunitätsforschung.* Ref. II. Teil. S. 207.

² Schidorsky u. Rein, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1912. Nr. 24.

³ W. Heimann, Die „Säureagglutination“ innerhalb der Typhus-Paratyphusgruppe, insbesondere sogenannter Paratyphus C-Bazillen. *Zeitschrift f. Immunitätsforschung.* 1913. Hft. 1.

⁴ Ch. Krumwiede u. J. Pratt, *Ebenda.* 1913. S. 517.

Pepton durch Bindung, wenn auch nur geringer Säuremengen, störend wirken könnte, mit destilliertem Wasser vorsichtig abgeschwemmt und hierauf entsprechend verdünnt wurden. Die Dichte der Aufschwemmung darf jedoch nicht zu sehr verringert werden, da beim Versuche der Bakteriensuspension noch die doppelte Flüssigkeitsmenge zugesetzt wird. In der Bereitung der Säure- und Salzlösungen wurde die Technik, die Beniasch angibt, genau nachgeahmt. Die Säurelösungen wurden innerhalb der Versuchszeit zu wiederholten Malen mittels Titration gegen $\frac{1}{10}$ -Normallösung nachgeprüft, die Salzlösungen durch Zusatz von Thymol vor Schimmelpilzbildung bewahrt. Bezüglich der Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration sei auf die ausführlichen Angaben von Beniasch verwiesen. Von den Typhusbazillenstämmen wurde ein Teil nicht nur mit dem Gemisch von Milchsäure und milchsaurem Natrium, sondern auch mit Essigsäure und essigsaurem Natrium geprüft. Der Säureagglutinationstabelle der Typhusstämmen sind korrespondierend die Resultate beigelegt, die bei der Immunserumagglutination gewonnen wurden.

Z e i c h e n e r k l ä r u n g :

- ± = Spuren von Agglutination, die nur mit der Lupe zu sehen sind.
- + = inkomplette Ausfällung der Mikroben.
- ++ = fast komplette
- +++ = komplette

Tabelle I zeigt die Resultate bei der Prüfung der Typhusstämmen mit dem Gemisch von Milchsäure mit milchsaurem Natrium.

Unter diesen 38 Typhusstämmen geben:

- a) 15 das Agglutinationsoptimum bei $[H^+] = 3.5 \cdot 10^{-5} - 0.7 \cdot 10^{-4}$
- b) 14 $[H^+] = 3.5 \cdot 10^{-5}$
- c) 4 (Nr. 15, 21, 32 u. 33) $[H^+] = 1.7 - 3.5 \cdot 10^{-5}$
- d) 2 (Nr. 2 u. 31) $[H^+] = 3.5 \cdot 10^{-5} - 1.4 \cdot 10^{-4}$
- e) 1 (Nr. 11) $[H^+] = 0.7 \cdot 10^{-4}$
- f) 1 (Nr. 14) $[H^+] = 1.7 \cdot 10^{-5}$
- g) 1 (Nr. 22) keine Agglutination.

Da die Prüfung der Typhusstämmen mit dem Gemisch von Essigsäure mit essigsaurem Natrium (Tabelle II), übereinstimmend mit den Ergebnissen Beniaschs fast vollkommen gleiche Resultate ergab wie bei der Verwendung der Milchsäure, erscheint es überflüssig, sie einer gesonderten Betrachtung zu unterziehen. Es wurden nur die Stämme Nr. 1 bis 25 geprüft. Das Agglutinationsoptimum ist meist in dem Röhrchen mit der gleichen Wasserstoffionenkonzentration wie bei dem Milch-

Tabelle I.
Ausflockung von Typhusstämmen durch Milchsäure.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Agglutination mit Typhusimmunserum „Ozean“, Titer 1:4000 (fecit Dr. Hovorka).					K.
[H]	$1.7 \cdot 10^{-5}$	$3.5 \cdot 10^{-5}$	$0.7 \cdot 10^{-4}$	$1.4 \cdot 10^{-4}$	$2.8 \cdot 10^{-4}$	$5.5 \cdot 10^{-4}$	$1.1 \cdot 10^{-3}$	$2.2 \cdot 10^{-3}$	$4.4 \cdot 10^{-3}$	$0.001/1$	$0.002/1$	$0.007/1$	$0.006/1$	$0.001/1$	
Milchsaures Natron n/10	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	+	+	+	+	+	-
Milchsäure	0.06 n/10	0.12 n/10	0.25 n/10	0.5 n/10	1.0 n/10	0.2 n.	0.4 n.	0.8 n.	1.6 n.	+	+	+	+	+	-
Wasser (destill.)	1.54	1.48	1.36	1.1	0.6	1.4	1.2	0.8	0	+	+	+	+	+	-
Kultur	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	+	+	+	+	+	-
1. Typh. I. Maresch	+	+++	++	+	+	±	-	-	-	+	+	+	+	+	-
2. " 4	-	++	++	++	±	±	-	-	-	+	+	+	+	+	-
3. " 23	-	++	++	+	±	±	-	-	-	+	+	+	+	+	-
4. " 54	-	+	+	±	-	-	-	-	-	+	±	±	-	-	-
5. " II ₁	++	+++	++	++	+	±	±	-	-	+	+	+	+	+	-
6. " XIX	-	++	++	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
7. " B ₁	-	+++	+++	++	+	±	±	-	-	+	+	+	+	+	-
8. " Fischer	+	++	++	+	+	±	-	-	-	+	+	+	+	+	-
9. " Perzke	-	++	+	+	+	±	-	-	-	+	+	+	+	+	-
10. " Reisner	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	±	-	-	-
11. " Stepan	-	+	++	+	±	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
12. " Wojak	+	++	++	+	+	+	±	-	-	+	+	+	+	+	-
13. " { agglutin. } { Jankich }	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	±	-	-	-
14. " Anboužik	+	±	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-

Tabelle II.

Ausflockung von Typhusstämmen durch Essigsäure.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
[H ⁺]	$2.3 \cdot 10^{-6}$	$4.5 \cdot 10^{-6}$	$9.0 \cdot 10^{-6}$	$1.8 \cdot 10^{-5}$	$3.6 \cdot 10^{-5}$	$7.2 \cdot 10^{-5}$	$1.45 \cdot 10^{-4}$	$2.9 \cdot 10^{-4}$	$5.8 \cdot 10^{-4}$
Essigsäures Natrium n/10	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Essigsäure	0.06 n/10	0.12 n/10	0.25 n/10	0.5 n/10	1.0 n/10	0.2 n.	0.4 n.	0.8 n.	1.6 n.
Wasser (destill.)	1.54	1.48	1.36	1.1	0.6	1.4	1.2	0.8	9
Kultur	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
1. { Typhus } { I. Maresch }	—	—	—	±	++	++	±	—	—
2. Typh. 4. . .	—	—	—	±	++	+	±	—	—
3. „ 28. . .	—	—	—	±	++	++	±	—	—
4. „ 54. . .	—	—	—	±	±	±	—	—	—
5. „ II ₁ . . .	—	—	—	+	+++	++	±	±	—
6. „ XIX. . .	—	—	—	—	+	±	±	—	—
7. „ B ₁ . . .	—	—	—	—	++	++	+	±	—
8. „ Fischer	—	—	—	±	++	++	±	±	—
9. „ Perzke.	—	—	—	—	++	+	—	—	—
10. „ Reisner	—	—	—	—	±	—	—	—	—
11. „ Stepan.	—	—	—	—	+	+	±	—	—
12. „ Wojak.	—	—	—	+	+++	++	+	±	±
13. „ { agglut. } { Jankich }	—	—	—	±	+	—	—	—	—
14. „ Antonžik	—	—	—	±	±	—	—	—	—
15. „ Levy . .	—	—	—	—	++	+	—	—	—
16. „ Mangin	—	—	—	+	+++	+++	++	+	—
17. „ Bydort.	—	—	—	+	+	±	—	—	—
18. „ { Reisner } { Stuhl }	—	—	—	—	±	—	—	—	—
19. „ Schmidt	—	—	—	±	+++	++	±	—	—
20. „ Sorgen .	—	—	—	—	+	±	—	—	—
21. „ Weissberg	—	—	—	++	+++	+++	+	±	—
22. „ I . . .	—	—	—	±	±	—	—	—	—
23. „ II ₄ . . .	—	—	—	—	+	±	±	—	—
24. „ V ₄ . . .	—	—	—	±	++	±	±	—	—
25. „ VI ₁ . . .	—	—	—	—	+++	+	±	—	—

Tabelle III.
Ausflockung von Paratyphus B, A-, Enteritis- und Faecalisstämmen durch Milchsäure.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
[H.]	1.7.10 ⁶	3.5.10 ⁶	0.7.10 ⁴	1.4.10 ⁴	2.8.10 ⁴	5.5.10 ⁴	1.1.10 ³	2.2.10 ³	4.1.10 ³
Milchsäure n/10	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Milchsäure	0.06n/10	0.12n/10	0.25n/10	0.5n/10	1.0n/10	0.2n.	0.4n.	0.8n.	1.6n.
Wasser, destilliertes	1.54	1.48	1.36	1.1	0.6	1.4	1.2	0.8	0
Kultur	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
1. Paratyphus B ₁	-	-	+	+	+	±	±	-	-
2. " B ₂	-	-	-	±	+	-	-	-	-
3. " B ₃	-	-	+	+	+	±	±	±	±
4. " B ₄ Sternberg	-	±	+	+	+	+	+	+	+
5. " B ₅	-	±	+	+	+	+	+	+	+
6. " B ₆	-	-	+	-	±	-	-	-	-
7. " B ₇ Maresch I	-	±	+	+	+	+	+	+	+
8. " B ₈	-	-	+	+	+	+	+	+	+
9. " B ₉ Zupnik	-	-	±	+	+	+	+	+	±
10. " B ₁₀	-	-	±	+	+	+	+	+	±
11. " B ₁₁ "	-	-	±	+	+	+	+	+	±
12. " B ₁₂ "	-	-	±	+	+	+	+	+	±
13. " B ₁₃ "	-	-	±	+	+	+	+	+	±
14. " B ₁₄ "	-	-	±	+	+	+	+	+	±
15. " B ₁₅ "	-	-	±	+	+	+	+	+	±
16. " B ₁₆ "	-	-	±	+	+	+	+	+	±
17. " B ₁₇ "	-	-	±	+	+	+	+	+	±
18. " B ₁₈ "	-	-	±	+	+	+	+	+	±
19. Paratyphus A ₃	-	-	-	+	+	+	+	+	±
20. " A ₄	-	+	+	+	+	±	-	-	-
21. " A ₅	-	-	±	+	+	±	-	-	-
22. " A ₆ Maresch	-	-	+	+	+	±	-	-	-
23. " A ₇ Franz Josef-Spital	-	+	+	+	+	±	±	±	-
24. " A ₈	-	-	+	+	+	±	-	-	-
25. Enteritis Gärtner	-	-	-	+	+	+	±	-	-
26. " Brügge	-	-	-	±	-	-	-	-	-
27. Faecalis alcaligenes	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28. " " 37	-	-	-	±	+	±	-	-	-

Tabelle IV. Ausflockung von Colistämmen durch Milchsäure.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
[H].	1.7.10 ⁻⁵	3.5.10 ⁻⁵	0.7.10 ⁻⁴	1.4.10 ⁻⁴	2.8.10 ⁻⁴	5.5.10 ⁻⁴	1.1.10 ⁻³	2.2.10 ⁻³	4.4.10 ⁻³
Milchsaures Natron n/10	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Milchsäure	0.06 n/10	0.12 n/10	0.25 n/10	0.5 n/10	1.0 n/10	0.2 n.	0.4 n.	0.8 n.	1.6 n.
Wasser (destilliert)	1.54	1.48	1.86	1.1	0.6	1.4	1.2	0.8	0
Kultur	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
1. Coli	-	-	+	+	±	±	±	-	-
2. " I	-	-	+	+	+	+	+	+	±
3. Kaninchen Coli	-	-	+	+	+	+	+	+	±
4. Coli Pollak	-	-	+	+	+	+	+	+	±
5. " haem. 2	-	-	±	±	±	±	±	±	±
6. " 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7. " Kind	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8. " imobilis	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9. " anaerogenes	-	-	-	+	+	±	±	±	±
10. " Wilhelminenspital	-	-	-	+	+	-	-	-	-
11. " Winter	-	-	+	+	±	±	±	±	±
12. " II	-	-	+	+	+	+	+	+	±
13. " III	-	-	+	+	+	+	+	+	±
14. " IV	-	-	+	+	+	+	+	+	±
15. " V	-	-	-	-	+	+	+	+	±
16. " VI	-	-	-	-	+	+	+	+	±
17. " VII	-	-	-	-	+	+	+	+	±
18. " VIII	-	-	±	±	±	±	±	±	±
19. " IX	-	-	±	±	±	±	±	±	±
20. " X	-	-	±	±	±	±	±	±	±

Tabelle V. Ausflockung von Vibrionen durch Milchsäure.

1. Cholera Ornstein 70	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
2. " " 141	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
3. " " 826	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+
4. Vibrio Metschnikoff	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	±
5. " Finkler	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	±
6. " Nasik	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	±

Tabelle VI. Ausflockung von Dysenteriestämmen durch Essigsäure.

[H.]	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Essigsäures Natrium n/10	2·8.10 ⁻⁶	4·5.10 ⁻⁶	9·0.10 ⁻⁶	1·8.10 ⁻⁵	3·6.10 ⁻⁵	7·2.10 ⁻⁵	1·45·10 ⁻⁴	2·9.10 ⁻⁴	5·8.10 ⁻⁴
Essigsäure	0·06 n/10	0·12 n/10	0·25 n/10	0·5 n/10	1·0 n/10	0·2 n.	0·4 n.	0·8 n.	1·6 n.
Wasser (destilliert)	1·54	1·48	1·36	1·1	0·6	1·4	1·2	0·8	ϑ
Kultur	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0
1. Shiga	—	—	±	+++	+++	+++	++	—	—
2. Shiga-Kruse	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. Kruse	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4. Koller	—	—	±	+	+	+	—	—	—
5. Förster	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. Müller	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7. Rom	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8. Jürgens	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9. Nepustil	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10. Graz	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11. Rzeszow	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12. Ugando	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13. Colombo	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14. Galizien P	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15. " P ₁	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16. " P ₂	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17. " P ₃	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18. " T ₁	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19. " T ₂	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20. " T ₃	—	—	—	—	—	—	—	—	—
21. Flexner origin.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22. "	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23. " Gießen	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24. " Peters	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25. " Göttingen	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26. " VI. III.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
27. Y Virchow	—	—	±	±	±	+	—	—	—
28. Y Kühne	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29. Y Hiss Russel	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30. Strong I	+	++	++	++	++	++	+	—	—
31. " II.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
32. " azid	—	—	—	—	—	—	±	—	—

säureversuch. Ist es einmal erst in dem benachbarten, so ist doch mindestens die Ausflockung in dem Röhrchen mit jener Wasserstoffionenkonzentration, die bei Verwendung der Milchsäure das Optimum bedeutete, auch eine nur um wenig schwächere. Die Stärke der Agglutination und die mit ihr parallel gehende Breite der Agglutinationszone sind freilich bei ein und demselben Stamm, wie ein Vergleich zwischen Tabelle I und II zeigt, oft leichten Schwankungen unterworfen, was aber natürlich für die Deutung des Resultats gleichgültig ist. Ein Beispiel für die Unterschiede der Agglutinationsstärke und Breite sei hier herausgegriffen, wobei die Resultate in Rubriken, die nach der Wasserstoffionenkonzentration geordnet sind, eingezeichnet sind.

[H ⁺]	$1.7 \cdot 10^{-5}$	$3.5 \cdot 10^{-5}$	$0.7 \cdot 10^{-4}$	$1.4 \cdot 10^{-4}$	$2.8 \cdot 10^{-4}$	$5.5 \cdot 10^{-4}$	$1.1 \cdot 10^{-3}$	$2.2 \cdot 10^{-3}$
Milchsäure; Nr. 11, Typh. B ₁	—	+++	+++	++	+	+	±	—
Essigsäure; Nr. 11, Typh. B ₁	—	++	++	+	±	—	—	—

Diese Schwankungen, die an und für sich gering sind, hängen aber nicht von der Art der Säure ab, sondern entsprechen ganz jenen, die bei der Prüfung ein und desselben Stammes — bei gleichalterigen Kulturen — zu verschiedenen Zeiten in oft noch höherem Maße zu beobachten sind und von biologischen Veränderungen, die sich unserer Kenntnis entziehen, abhängen. Das Optimum der Ausflockung bleibt aber natürlich, trotz dieses unterschiedlichen Verhaltens, bei derselben Konzentration der Wasserstoffionen.

Dieser Wechsel in der Agglutinierbarkeit ist auch die Ursache dafür, daß Typhus I (Nr. 22), der von Essigsäure noch deutlich agglutiniert wird, mit Milchsäure überhaupt nicht reagiert.

Was die Beziehungen zwischen Serum- und Säureagglutination betrifft, so besteht ja, wie ein Vergleich der Resultate in Tabelle I zeigt, bis zu einem gewissen Grade Parallelismus derart, daß mit Serum nicht hoch agglutinierende Stämme gewöhnlich auch mit Säure schwächer ausflocken; zugleich ist dann auch meist die Fällungszone schmaler, beschränkt sich eventuell nur auf ein Röhrchen. Umgekehrt zeichnen sich die mit hohen Immunsorumverdünnungen noch agglutinierenden Stämme gewöhnlich auch durch eine größere Säureempfindlichkeit aus, die sich durch eine vollkommenere Ausfällung und durch eine größere Agglutinationsbreite kundgibt.

Tabelle III bringt die Resultate, die bei der Prüfung von 18 Paratyphus B-, 6 Paratyphus A, 2 Enteritis- und 2 Faecalisstämmen mit Milchsäure und milchsaurem Natrium gewonnen wurden. Unter diesen 18 Paratyphus B-Stämmen gaben:

- a) 6 das Agglutinationsoptimum bei $[H^+] = 1.4 \cdot 10^{-4}$
- b) 6 „ „ „ $[H^+] = 1.4 - 2.8 \cdot 10^{-4}$
- c) 2 (Nr. 1 u. 6) „ „ „ $[H^+] = 0.7 - 2.8 \cdot 10^{-4}$
- d) 2 (Nr. 7 u. 18) „ „ „ $[H^+] = 2.8 \cdot 10^{-4}$
- e) 1 (Nr. 13) „ „ „ $[H^+] = 2.8 - 5.5 \cdot 10^{-4}$
- f) 1 (Nr. 15) keine Agglutination.

Von den 6 Paratyphus A-Stämmen haben:

- a) 3 (Nr. 19, 21 u. 23) Agglutinationsoptimum bei $[H^+] = 1.4 \cdot 10^{-4}$
- b) 2 (Nr. 20 u. 22) „ „ „ $[H^+] = 0.7 - 1.4 \cdot 10^{-4}$
- c) 1 (Nr. 24) „ „ „ $[H^+] = 1.4 - 2.8 \cdot 10^{-4}$

Beide Enteritisstämme werden ziemlich schwach ausgeflockt. Der Stamm Gärtner am besten bei $[H^+] = 1.4 - 5.5 \cdot 10^{-4}$. Der Stamm Brügge bei $[H^+] = 1.4 \cdot 10^{-4}$.

Von den beiden Faecalisstämmen ist der eine, welcher mit Säure nicht agglutiniert, ein alter Laboratoriumsstamm; der andere, welcher leichte Säureflockung zeigt und das Optimum bei $[H^+] = 2.8 \cdot 10^{-4}$ aufweist, ist aus Stuhl frisch isoliert worden.

Eine vergleichende Betrachtung der Tabellen I und III, sowie die zusammenfassende Darstellung ihrer Resultate lehrt, daß die Agglutinationsoptima des Typhus einerseits, der Vertreter der Paratyphus-Enteritisgruppe andererseits im allgemeinen ziemlich scharf voneinander geschieden sind. Der weitaus größte Teil der Typhusstämme zeigt seine stärkste Ausflockung bei Wasserstoffionenkonzentrationen zwischen $1.7 \cdot 10^{-5}$ und $0.7 \cdot 10^{-4}$, während Paratyphus- und Enteritisstämme erst durch eine höhere Konzentration agglutiniert werden.

Paratyphus B-Stämme werden zumeist bei $[H^+] = 1.4 - 2.8 \cdot 10^{-4}$ ausgeflockt. Stärkste Agglutination bei $[H^+] = 1.1 - 2.2 \cdot 10^{-3}$, wie sie Beniasch bei drei Stämmen, die sich übrigens auch gegen Immunserum anders verhielten, beobachtet hat, habe ich nicht gesehen.

Ein ähnliches Verhalten wie Paratyphus B zeigt auch Paratyphus A, doch kommen hier prozentuell häufiger noch als bei B schon bei $[H^+] = 0.7 \cdot 10^{-4}$ beginnende Agglutinationsoptima vor, so daß man ihm hinsichtlich seines Verhaltens bei der Säureagglutination eine Mittelstellung zwischen Typhus und Paratyphus B einräumen kann.

Wie aus der zusammenfassenden Darstellung hervorgeht, wurden auch einzelne Typhus- wie Paratyphusstämme geprüft, die hinsichtlich ihrer Säureausflockbarkeit von dem typischen Verhalten der anderen Stämme abweichen und stärkste Ausflockung bei einer $[H^+]$ zeigen, die zwischen der für beide Gruppen charakteristischen gelegen ist. Nichtsdestoweniger

wird sich auch hier gewöhnlich bei genauer Beobachtung die Zugehörigkeit zu einer der Gruppen unschwer feststellen lassen, je nachdem ob die stärkste Ausflockung näher an $[H^+] = 3.5 \cdot 10^{-5}$ oder an $[H^+] = 1.4 - 2.8 \cdot 10^{-4}$ heranrückt.

Zur richtigen Deutung der Ergebnisse der Säureagglutination ist eine verschieden lange Beobachtungszeit erforderlich, da diverse Stämme derselben Bakterienart hinsichtlich ihrer Säureempfindlichkeit ein unterschiedliches Verhalten aufweisen. Schon nach wenigen Minuten wird häufig bereits eine Flöckchenbildung in der vorher homogenen Flüssigkeit zu beobachten sein, oftmals wird man aber $\frac{1}{2}$, bis 1 Stunde, in seltenen Fällen bis 10 Stunden auf die erste Ausflockung warten müssen. Ebenso variabel wie die Schnelligkeit des Eintritts der Reaktion auf Säure ist auch die Stärke der Ausflockung verschiedener Stämme. Im allgemeinen besteht hier eine Abhängigkeit von der Dauer der Zeit, die bis zum Eintritt des Beginnes der Ausfällung verstreicht, in der Weise, daß bald ausflockende Stämme auch rasch und gründlich agglutinieren, während später Beginn einer Sedimentierung auch bei längerer Beobachtungszeit nur mit unvollkommener Klärung im Röhrchen verbunden ist.

Säureempfindliche Stämme, die rasch und vollkommen ausflocken, haben auch meist eine breite Agglutinationszone. Wasserstoffionenkonzentrationen, die bei resistenteren Kulturen noch keine oder nicht mehr Ausfällung hervorrufen, lassen hier noch fast komplette Ausflockung eintreten. Dagegen weisen gegen Säure weniger empfindliche Stämme eine schmale, eventuell nur auf ein Röhrchen beschränkte Agglutinationszone auf.

Für das Resultat maßgebend ist jene Säurekonzentration, bei welcher zuerst eine Ausflockung eintritt, das ist die Wasserstoffionenkonzentration in jener Aufschwemmung, in der anfangs auch die stärkste Klärung beobachtet wird. Da aber die vollkommenste Klärung oftmals nicht dauernd auf diese Aufschwemmung beschränkt bleibt, vielmehr nach längerem Stehen häufig nach einer Bakteriensuspension mit höherem Säuregehalt wandert, ist eine wiederholte Besichtigung des Versuches unerläßlich. Dies gilt insbesondere bei säureempfindlichen Stämmen, bei denen schon während der ersten Stunde durch Übergreifen einer ebenso starken oder noch vollkommeneren Klärung auf das Nachbarröhrchen das Resultat verwischt werden kann. Innerhalb der ersten Stunde, in der die meisten Stämme ein Resultat geben, wird man daher, um Fehlschlüsse zu vermeiden, alle 10 bis 15 Minuten den Versuch kontrollieren müssen. Sollte bis dahin noch keine Ausfällung eingetreten sein, kann man bis zur nächsten Beobachtung ruhig einige Stunden verstreichen lassen. Die Resultate der vorstehenden Tabellen bringen den Stand der

Agglutination etwa $\frac{1}{2}$ Stunde nach Eintritt der ersten Ausflockung. Alle Beobachtungen erfolgten 1 Stunde bei 37° , weiter, wenn der Versuch noch nicht beendet war, bei Zimmertemperatur.

Sowohl Beintker¹ als Heimann² haben darauf hingewiesen, daß der Zusammenhang der Bakterien bei der Säureagglutination ein viel lockerer ist als bei der durch Serum bedingten. Besonders im Röhrchen, in dem zuerst Agglutination eintritt, fallen die Mikroben meist in großen lockeren, flockenartigen Gebilden aus, die sich bei geringem Schütteln bereits wieder homogenisieren. Es erscheint daher nötig, die Röhrchen während der Versuchszeit vor Erschütterung zu bewahren. Nach $\frac{1}{2}$ bis 1 stündigem Stehen tritt die Sedimentierung zwar wieder ein, doch wird, auch bei sehr langer Beobachtungszeit, oft nur ein viel geringerer Grad der Klärung wieder erreicht. Ein Teil der Bakterien verliert dann oft dauernd seine Ausflockungsfähigkeit. Auch mikroskopisch unterscheiden sich diese lockeren großen Flocken von jenen, die bei der Serumagglutination beobachtet werden, indem bei dieser die Bakterien eng aneinander gereiht gelagert sind, während sie bei der Säureagglutination ein weitmaschiges lockeres Netzwerk bilden. Als weiterer Unterschied fällt hier der Mangel an Eigenbewegung der nicht agglutinierten Bakterien auf, die durch die Säure abgetötet oder doch schwer geschädigt sind.

In Tabelle IV sind die Resultate eingezeichnet, die sich bei Prüfung von 20 sicheren Colistämmen, darunter 9 alten und 11 aus Stuhl frisch isolierten und sofort zur Säureagglutination verwendeten Stämmen ergeben haben. Unter ihnen weisen 10, also gerade die Hälfte, bei Verwendung von Milchsäure Ausflockung auf.

a) 10 Stämme geben keine Agglutination	
b) 2 „ (Nr. 2 und 18)	} bei [H·] = 0.7—1.4.10 ⁻⁴ „ [H·] = 1.4.10 ⁻⁴ haben das „ [H·] = 1.4—2.8.10 ⁻⁴ Agglut.-opt. „ [H·] = 2.8.10 ⁻⁴ „ [H·] = 2.8—5.5.10 ⁻⁴ „ [H·] = 1.1.10 ⁻³
c) 4 „ (Nr. 4, 5, 9 u. 11)	
d) 1 Stamm (Nr. 3) . . .	
e) 1 „ (Nr. 19) . . .	
f) 1 „ (Nr. 13) . . .	
g) 1 „ (Nr. 14) . . .	

Die 10 mit Säure ausflockenden Colistämme zeigen, wie der Zusammenfassung zu entnehmen ist, ein zwar gegen die Nachbarröhrchen scharf abgegrenztes, doch recht abwechslungsreiches Optimum, das zwischen

¹ Beintker, a. a. O.

² Heimann, a. a. O.

einer Konzentration der Wasserstoffionen von $0.7 \cdot 10^{-4}$ und $1.1 \cdot 10^{-3}$ (3. bis 7. Röhre) schwankt, sich also in jenen Lagen bewegt, die auch für die Paratyphus- und Enteritisgruppe charakteristisch sind. Hinsichtlich ihrer Säureagglutinabilität besteht kein Unterschied zwischen frisch isolierten und alten Stämmen. Das Verhältnis von säureausflockbaren zu nicht ausfällbaren ist bei beiden so ziemlich das gleiche. Die Agglutination erfolgt im allgemeinen etwas später als bei Typhus und Paratyphus. Sie beginnt zwar bei einzelnen Stämmen bereits nach wenigen Minuten, tritt aber meist erst nach mehrstündigem Stehen bei Zimmer-temperatur ein.

Meine Resultate bei 3 Cholerastämmen (Tabelle V) decken sich mit jenen von Beniasch. Wie gegen homologes Serum sind sie auch gegen Säure sehr empfindlich und zeigen ein breites, mehrere Röhre umfassendes, uncharakteristisches Optimum, das sie mit anderen Vibrionen gemein haben, so daß eine Differenzierung nach dieser Methode nicht möglich ist.

Tabelle VI bringt die Resultate von 32 Dysenteriestämmen bei ihrer Prüfung mit Essigsäure. Beniasch fand seine Dysenteriestämme stets inagglutinabel; auch die von mir untersuchten waren zum größten Teil gegen Säure unempfindlich. Nur 5, darunter 2 Shiga-Kruse-, 1 Y- und 2 Strongstämme zeigten eine mehr oder minder starke, aber hinsichtlich der Ionenkonzentration uncharakteristische Ausflockung. Von den Flexnerstämmen wurde keiner agglutiniert.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen, die sich bei Typhus und Paratyphus ungefähr mit jenen von Michaelis und Beniasch decken, weichen in einem wichtigen Punkt — der Säurefällbarkeit eines großen Teiles der Colistämme — von ihren Resultaten ab. Sie beraubt die Methode der Säureagglutination, die Michaelis und Beniasch als Hilfsmittel zur Differentialdiagnose empfehlen, ihrer kräftigsten Stütze. Eine zuverlässige Unterscheidung zwischen Coli und Stämmen aus der Paratyphus-Enteritisgruppe würde der Säureagglutination eine sehr wichtige Rolle in der Differentialdiagnose bei Stuhluntersuchungen einräumen, die sich bekanntlich bei atypischem Wachstum einzelner Stämme auf den verschiedenen Nährböden und eventuellem Versagen der Serumagglutination zu den schwierigsten gestalten kann. Und gerade hier läßt uns die Methode der Säureagglutination vollkommen im Stich. Denn eine Ausflockung bei einer Ionenkonzentration von durchschnittlich $2 \cdot 10^{-4}$ ist für Paratyphus ebenso charakteristisch wie für die säureempfindlichen Colistämme.

In den Nachuntersuchungen über Säureagglutination wird die Inagglutinabilität des Coli meist als Voraussetzung angenommen und sein

Verhalten gegen Säure entweder gar nicht oder an einem oder zwei Stämmen geprüft. Daß seine Säureausflockbarkeit den Untersuchern entgangen ist, mag zum Teil in der zufälligen Untersuchung von säureunempfindlichen Stämmen, zum Teil in einer zu kurz gewählten Beobachtungsdauer begründet sein, da viele Colistämme, wie schon erwähnt, häufig erst nach mehreren Stunden mit Säure agglutinieren. Nur in einer Arbeit von Jaffé¹ wird die Säureagglutinabilität einer stattlichen Reihe von Colistämmen eingehend untersucht, zugleich ihr Verhalten gegen Typhus- Paratyphus B- und Paratyphus A-Immunsrum beobachtet. Unter 41 Stämmen flocken 12 mit Säure aus, 9 agglutinieren mit Typhus- oder Paratyphus A-Immunsrum. Unter letzteren 9, die als atypische Vertreter der Coligruppe angesehen werden können, sind 6, die auch mit Säure ausflocken und dementsprechend in die Zahl der säureagglutinablen Colistämme mit einbezogen sind. Der Umstand, daß also gerade nicht typische Colistämme besonders häufig mit Säure ausflocken und eine Unterscheidung von Paratyphus- und Enteritistämmen dadurch unmöglich wird, schränkt die diagnostische Verwertbarkeit der Säureagglutination, so großes theoretisches Interesse ihr auch zukommt, auf ein Minimum ein, da sie in zweifelhaften Fällen, wenn man nach Erschöpfung anderer Methoden auf sie zurückgreift, besonders leicht versagt. Aber auch dann, wenn bei schwankender Diagnose zwischen atypischem Coli und Paratyphus oder Enteritis der betreffende Stamm mit Säure keine Ausflockung gibt, darf aus dem negativen Resultat sicher nicht auf Coli geschlossen werden, da auch einzelne Typhus- und Paratyphusstämme bisweilen mit Säure nicht ausflocken. Nach den Untersuchungen von Beintker² kommt dieses Verhalten vor allem bei frisch isolierten, auch mit Serum schlecht agglutinablen Stämmen vor. Frisch isoliert sind aber auch meist die Stämme, zu deren Identifizierung die Säureagglutination herangezogen werden dürfte. Auf ihr Ausbleiben die Diagnose Coli zu stützen, kann also zu einem Fehlschluß verleiten, um so mehr, als auch Faecalis- und Enteritistämme, wie deren Prüfung in anderen Arbeiten zeigt, manchmal mit Säure nicht ausflocken.

Wegen dieser erwähnten Empfindlichkeit vieler Colistämme gegen Säure lassen sich die auf der Annahme ihrer Säureunempfindlichkeit beruhenden differentialdiagnostischen Methoden von Rost³ und Schidorsky und Rein⁴ nicht mehr aufrechterhalten.

¹ Jaffé, a. a. O.

² Beintker, a. a. O.

³ Rost, a. a. O.

⁴ Schidorsky u. Rein, a. a. O.

II.

Beniasch hat zu seinen Versuchen über Säureagglutination nur organische Säuren verwendet, deren ohnedies sehr schwache hydrolytische Dissoziation er durch die Verwendung von Gemischen mit ihren Alkalisalzen noch verringerte. Bei verschiedenen organischen Säuren (Milch-, Essig- und Lävulinsäure) konnte er zeigen, daß eine bestimmte Konzentration derselben, die für dieselbe Säure stets die gleiche ist, immer das Agglutinationsoptimum bei Typhusbazillen hervorruft, daß aber die dazu nötigen Mengen bei den verschiedenen Säuren verschieden groß sind. Gleich ist in allen Fällen nur die Wasserstoffionenkonzentration. Er folgerte daraus mit Recht, daß nicht die Säure als solche, auch nicht ihre Anionen die Bakterienausflockung bedingen, daß vielmehr nur die Wasserstoffionen als Agglutinationsfaktor in Betracht zu ziehen sind, von deren Konzentration das Ausflockungsoptimum bestimmt wird.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bei den Mineralsäuren, die sich durch eine sehr starke hydrolytische Dissoziation von den organischen Säuren unterscheiden. So sind in einer Normalsalzsäurelösung bereits 78 Prozent, bei einer $\frac{1}{100}$ Normallösung gar 96 Prozent der Säuremoleküle dissoziiert. Um bei ihnen jene Wasserstoffionenkonzentration zu erhalten, an deren Gegenwart die Agglutination der Typhusbazillen gebunden ist, müßten hier überaus starke Verdünnungen verwendet werden. Diesbezügliche Untersuchungen ergaben jedoch eine Ausflockung bei den relativ hohen Konzentrationen von $\frac{1}{100}$ und $\frac{1}{10}$ Normallösungen. Allerdings muß betont werden, daß wir bei einer stärker dissoziierten Säure keine Möglichkeit haben, die Wirkung der Anionen zu beeinträchtigen, umsomehr als das zugesetzte Salz der betreffenden Säure selbst wieder stark dissoziiert wird und als guter Elektrolyt intensiv flockende Wirkungen auszuüben imstande wäre. Dazu kommt noch, daß die Salzsäure auch chemische Wirkungen (Hydrolyse) auf die Bakteriensubstanz und vor allem auch eine koagulierende Wirkung entfalten kann, die durch die Bildung von Schutzkolloiden die Agglutination beeinträchtigen könnte.

In der nachfolgenden Tabelle VII sind die Resultate dargestellt, die bei der Verwendung von Salzsäure zur Typhusbazillenausflockung gewonnen wurden. Die Röhren sind hier nicht so wie bei den Milchsäureversuchen nach der Wasserstoffionenkonzentration angeordnet, da die Bakterienausflockung bei der Salzsäure nicht nur von ihr abhängt, sondern nach dem prozentuellen Gehalt an Säure, der im Nachbarröhrchen stets um den dreifachen Wert zunimmt, während bei den Versuchen mit

Milch- und Essigsäure die Wasserstoffionenkonzentration von einem Röhrchen zum anderen nur um das Doppelte wächst.

Die Salzsäure wurde allein verwendet, nicht so wie es bei den organischen Säuren geübt worden war, in Mischung mit $\frac{1}{2}$ ccm einer $\frac{1}{10}$ Normallösung ihres Natriumsalzes, da die Zurückdrängung der Dissoziation stark dissoziierter Säuren durch das entsprechende Salz nur wenig zur Geltung kommt. Die verwendeten Kulturen waren stets 24stündige. Die Bakterienaufschwemmung wurde immer ziemlich dicht gewählt, da dann die Resultate am deutlichsten sind. Geprüft wurden dieselben Stämme, die in Tabelle I und II bereits mit Milch- und Essigsäure untersucht worden waren.

Unter den 30 Typhusstämmen in Tabelle VII zeigen 28 stärkste Ausflockung in einer 0.01 prozentigen Salzsäure (zweites Röhrchen), und nur 2 Stämme (Nr. 7 und 25) in einer 0.01 und 0.04 prozentigen Salzsäure (zweites und drittes Röhrchen). Die Ausflockung erfolgt meist etwas später als bei den Versuchen mit Milchsäure, doch gewöhnlich nicht länger als nach einer Stunde.

Bemerkenswert für den Ausfall dieser Versuche ist es, daß die vollständigste Klärung nach 12 bis 24 stündigem Stehen meist nicht in jenem Röhrchen zu sehen ist, in welchem die Ausflockung zuerst wahrnehmbar war, vielmehr in einer Aufschwemmung, die einen höheren Säuregehalt aufweist. Es dürfte dies wohl mit einer Interferenz zweier Erscheinungen zusammenhängen: Die eine ist die direkte Säurewirkung (Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration) auf die Bakterien; diese bedingt das erste Auftreten einer Ausflockung bei einer relativ geringen Konzentration (0.01 prozentige Salzsäure), wie sie der stärkeren Dissoziation dieser Säure entspricht. Wartet man nun länger zu, so findet inzwischen in den Mischungen mit höherer Säurekonzentration eine Hydrolyse jener Bestandteile der Bakterienleiber statt, die, wie wir aus den Arbeiten von Porges¹ wissen, geeignet sind, die Ausflockbarkeit der Bakterien herabzusetzen. Die Ausflockung schreitet daher bei längerer Beobachtungsdauer (12 bis 24 Stunden) von einem Röhrchen zum anderen fort, so daß bei besonders säureempfindlichen Bakterien schließlich die ganze Reihe ausgeflockt wird. Der Ort der stärksten Klärung ist nun — nach 12 bis 24 Stunden — an eine andere Stelle gerückt, entsprechend der stärkeren Hydrolyse der mit der stärkeren Säurekonzentration versetzten Bakterien. Dieses Verhalten ist durchaus kein gesetzmäßiges, wahrscheinlich deshalb nicht, weil bei der Hemmung der Ausflockbarkeit chemische Substanzen verschiedener

¹ Porges, Folgen der Veränderungen des Bakterienproteins für die Agglutination und Präzipitation. *Zeitschrift f. experim. Pathologie*. 1905. Bd. I. S. 620. *Zeitschr. f. Hygiene*. LXXVI

Tabelle VII.
Ausflockung von Typhusstämmen durch Salzsäure.

	1	2	3	4	5	6
Prozentgehalt an Salzsäure	0.0036	0.012	0.036	0.12	0.36	1.2
Salzsäure	0.3 n/100	1.0 n/100	0.3 n/10	1.0 n/10	0.3 n.	1.0 n.
Wasser (destill.)	1.7	1.0	1.7	1.0	1.7	1.0
Kultur	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
1. Typhus I Maresch	—	++	±	±	±	—
2. „ 4	—	+++	+	±	±	—
3. „ 28	—	+	—	—	—	—
4. „ 54	—	++	±	—	—	—
5. „ II ₁	—	+++	+	+	±	—
6. „ XIX	—	+++	+	±	—	—
7. „ B ₁	—	±	±	—	—	—
8. „ Fischer	—	+++	±	—	—	—
9. „ Perzke	—	++	±	—	—	—
10. „ Reisner	—	+++	±	±	±	—
11. „ Stepan	—	±	—	—	—	—
12. „ Wojak	—	+	±	±	—	—
13. „ agglut. Jankich	—	±	—	—	—	—
14. „ Antoužik	—	++	±	—	—	—
15. „ Levy	—	++	±	—	—	—
16. „ Mangin	—	+++	±	±	±	—
17. „ Metzger	—	++	+	—	—	—
18. „ Reisner Stuhl	—	+	±	—	—	—
19. „ Schmidt	—	+++	±	—	—	—
20. „ Sorgen	—	±	—	—	—	—
21. „ Weissberg	—	++	+	±	—	—
22. „ I	—	+++	++	±	—	—
23. „ II ₄	—	±	—	—	—	—
24. „ V ₄	—	++	±	—	—	—
25. „ VI ₄	—	+	+	—	—	—
26. „ XIII ₄	—	++	±	±	—	—
27. „ B ₄	—	+	—	—	—	—
28. „ K	—	++	+	±	—	—
29. „ Conradi	—	+	—	—	—	—
30. „ Jak. Kohn	—	++	+	±	±	—

Art in Betracht kommen neben solchen, die durch Säure hydrolysiert werden, wahrscheinlich auch solche, deren Hemmungswirkung durch Säure verstärkt wird. Bei einem noch größeren Überschuß an Säure erfolgt überhaupt keine Agglutination mehr, wahrscheinlich infolge der intensiven, elektrischen Entladung.

Ein Vergleich von Tabelle VII und I läßt bei den meisten Stämmen in der Agglutinationsstärke und mithin auch in der von ihr abhängigen

Tabelle VIII.
Ausflockung von Paratyphus B-, A- und Colistämmen durch Salzsäure.

	1	2	3	4	5	6
Prozentgehalt an Salzsäure	0·0036	0·012	0·036	0·12	0·36	1·2
Salzsäure	0·3n/100	1·0n/100	0·3n/10	1·0n/10	0·3n.	1·0n.
Wasser (destilliertes) . . .	1·7	1·0	1·7	1·0	1·7	1·0
Kultur	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0
1. Paratyphus B ₁	—	++	++	±	—	—
2. „ B ₃	—	—	—	—	—	—
3. „ B ₄	—	—	+	—	—	—
4. „ B ₂	—	±	+	±	—	—
5. „ B ₂ Sternberg	—	+	++	±	±	—
6. „ B ₃	—	+	+	±	—	—
7. „ B ₃	—	+	+	—	—	—
8. „ B Maresch I	—	++	+	±	—	—
9. „ B ₇	—	+	+	—	—	—
10. „ B ₁ Zupnik	—	±	—	—	—	—
11. Paratyphus A ₃	—	—	+	±	—	—
12. „ A ₄	—	±	+	±	—	—
13. „ A ₃	—	++	++	+	±	—
14. „ A Maresch	—	+	±	—	—	—
15. Coli	—	—	±	+	±	±
16. „ I	—	—	++	+	±	±
17. Kan. Coli	—	++	++	++	+	+
18. Coli Pollak	—	++	++	+	±	±
19. „ haem. II	—	++	++	++	+	—
20. „ haem. 16	—	—	—	—	—	—
21. „ Kind	—	—	++	+	±	—
22. „ immobilis	—	—	+	—	—	—
23. „ anaerogenes	—	++	+	+	±	—

Breite der Ausflockungszone zwischen den Resultaten bei Milch- und Salzsäure einen Parallelismus vermessen; so zeigen die Typhusstämmen Nr. 7, 11, 12, 29 usw., die mit Salzsäure nur geringe Fällung aufweisen, mit Milchsäure starke Agglutination. Umgekehrt wieder wird der durch Milchsäure nicht ausflockbare Stamm Nr. 22 (Tabelle I) von einer 0·01 prozentigen Salzsäure (zwei Röhren) komplett agglutiniert.

Auch zwischen Serum- und Salzsäureagglutination besteht demnach kein Parallelismus derart, daß noch mit hohen Immunserumverdünnungen agglutinable Stämme gegen Säure oft sehr resistent sind und umgekehrt. Bei der Salzsäureagglutination bilden sich ebenso wie bei der Agglutination durch schwach dissoziierte Säuren in jener Auf-

Tabelle IX.
Ausflockung von Dysenteriestämmen durch Salzsäure.

	1	2	3	4	5	6	7
Prozentgehalt an Salzsäure	0·0036	0·012	0·036	0·12	0·36	1·2	3·6
Salzsäure	0·3n/100	1·0n/100	0·3n/10	1·0n/10	0·3n.	1·0n.	0·3n/10
Wasser (destilliertes) . .	1·7	1·0	1·7	1·0	1·7	1·0	1·7
Kultur.	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0
1. Shiga	—	±	+++	+++	+++	+++	+++
2. Shiga-Kruse	—	—	±	+	±	±	—
3. Kruse	—	—	±	+	±	±	—
4. Koller	—	±	+	+	+	±	±
5. Foerster.	—	±	+	++	++	+	±
6. Müller	—	—	—	±	±	—	—
7. Rom	—	—	—	±	—	—	—
8. Jürgens	—	—	—	±	±	—	—
9. Nepustil	—	—	—	±	—	—	—
10. Graz	—	—	±	+	+	—	—
11. Rzeszow	—	—	—	±	±	—	—
12. Uganda	—	—	±	+	±	—	—
13. Colombo	—	—	±	±	±	—	—
14. Galizien P.	—	—	—	+	+	—	—
15. „ P ₁	—	—	—	±	±	—	—
16. „ P ₂	—	—	—	±	±	—	—
17. „ P ₃	—	—	—	±	±	—	—
18. „ T	—	—	—	±	±	—	—
19. „ T ₁	—	—	—	±	—	—	—
20. „ T ₂	—	—	—	±	±	—	—
21. Flexner origin.	—	±	+	+	++	±	±
22. „	—	—	—	±	±	—	—
23. „ Gießen	—	—	±	+	+	—	—
24. „ Peters	—	—	—	±	±	—	—
25. „ Göttingen	—	—	±	+	+	±	—
26. „ VI. III	—	—	±	±	±	—	—
27. Y Virchow	—	±	+	++	++	±	±
28. Y Kühne	—	—	±	+	+	±	—
29. Y Hiss Russel	—	—	—	±	±	—	—
30. Strong I	—	±	+++	+++	+++	++	++
31. „ II	—	±	+	++	++	±	—
32. „ azid.	—	—	—	±	±	—	—

schwemmung, die am stärksten ausflockt, große, lockere Flocken, die sich beim Schütteln leicht homogenisieren; in den Aufschwemmungen mit höherem Säuregehalt entstehen feine, von einander getrennte Körnchen, die sich langsam zu Boden senken.

Tabelle VIII bringt die Resultate der Salzsäureausflockung bei einigen Paratyphus B- und A-, sowie Colistämmen. Paratyphus B- und A-Stämme zeigen stärkste Ausflockung meist in einer 0.04prozentigen (drittes Röhrchen) oder 0.01 und 0.04prozentigen (zweites und drittes Röhrchen) Salzsäure, nur wenige allein in einer 0.01 prozentigen Salzsäure, die auch Typhusstämme am besten ausfällt. Dieses Zusammenfallen der stärksten Agglutination in einem Röhrchen ist nicht etwa durch eine von der Milchsäure unterschiedliche Wirkung der Salzsäure zu erklären, sondern durch die von einem zum anderen Röhrchen stets um das dreifache zunehmende Salzsäurekonzentration, während bei den Milchsäureversuchen die Säuremenge nur verdoppelt wurde. Da die Salzsäureversuche nicht zum Zweck einer diagnostischen Verwertung angestellt wurden, sondern nur um die Wirkung von Mineralsäuren hinsichtlich der Bakterienausflockung festzustellen, wurde auf die Wahl kleinerer Abstände zwischen den Röhrchen, welche den Unterschied zwischen Paratyphus- und Typhusstämmen ebenso wie bei der Milchsäure deutlich hervorheben würden, verzichtet.

Von den neun Colistämmen wurden acht von der Salzsäure ausgeflockt, darunter auch die Stämme Coli imobilis und Coli Kind, die von Milchsäure nicht agglutiniert wurden. Der Stamm Coli haem. 16 wurde von keiner der Säuren beeinflusst. Das Agglutinationsoptimum von Coli schwankt zwischen einer 0.01 und 0.1prozentigen Salzsäure.

Weniger unempfindlich als gegen organische Säuren sind die Dysenteriestämme gegen Salzsäure. Immerhin traten die Resultate, die in Tabelle IX notiert sind, in vielen Fällen erst im Laufe von 12 bis 24 Stunden nach der Ansäuerung ein; und auch dann war die Agglutination oft nur mit der Lupe sichtbar. Die fünf Stämme (Nr. 1, 5, 28, 31, 33), welche allein unter allen Dysenteriestämmen von Essigsäure ausgeflockt wurden (Tabelle VI), gaben bei Verwendung von Salzsäure starke Fällung. Ausflockung, wenn auch zum größeren Teil nur mit der Lupe sichtbare, zeigten innerhalb 24 Stunden alle Dysenteriestämme, die stärkste in einer 0.1 bis 0.4prozentigen Salzsäure-Bakterienaufschwemmung (viertes und fünftes Röhrchen) demnach in einer zehnfach höheren Konzentration als Typhusstämme. Dementsprechend reicht die Agglutinationszone in der Reihe weiter hinauf. Einzelne Stämme zeigen noch in einer 3.6prozentigen Salzsäure (siebentes Röhrchen) Ausflockung.

III.

Typhusbazillen verlieren nach Erhitzen auf 65° ihre Agglutinabilität durch Serum (Widal und Sicard, Eisenberg und Volk)¹; nach Porges² geschieht dies vollkommen erst nach Erwärmen auf 80°; durch weiteres Erhitzen auf Siedetemperatur werden Typhusbakterien, wie dieser Autor zeigte, wieder ausflockbar. Diese Erscheinung bezieht er darauf, daß durch das Erhitzen auf 80° aus dem Nukleoproteid der Bakterien Nuklein abgespalten wird, nach dessen Entfernung (durch Waschen der auf 80° erwärmten Bakterien) oder Zerstörung (durch Kochen) die Ausflockbarkeit wiederkehrt.

Es schien daher von Interesse, der Frage nachzugehen, ob auch die Säureflockung von Veränderungen, die das Bakterienprotein beim Erhitzen erleidet, beeinflußt wird.

In der Arbeit von Beniasch findet sich die Angabe, daß gekochte Kulturen von Typhus-, Paratyphus A- und B-, Enteritis-, Coli- und Dysenteriestämmen alle bei der gleichen Wasserstoffionenkonzentration von 1·1 bis 2·2·10⁻³ ausflocken, ihre Agglutinationszone demnach gegenüber normalen Aufschwemmungen in der Reihe weiter nach rechts rückt. Bei einer schwächeren Wasserstoffionenkonzentration dagegen, als es der Norm entspricht, beginnt die Agglutinationszone von gekochten Kulturen der Cholera- und der anderen Vibrionen, sowie der Diphtheriebazillen, während Milzbrand, Friedländersche Diplobazillen, *Bacillus pyocyaneus*, Staphylokokken und Streptokokken durch Erhitzen zur Siedetemperatur hinsichtlich ihrer Ausflockbarkeit durch Säure nicht beeinflußt werden.

Meine Versuche, deren Resultate in Tabelle X dargestellt sind, erstrecken sich auf 4 Typhusstämme und 1 Cholerastamm, deren Aufschwemmungen in destilliertem Wasser, bevor sie der Prüfung auf Salzsäureagglutination unterzogen wurden, im Wasserbad durch 1/2 Stunde auf 50°, 80° und 100°, ein Teil durch eine ganze Stunde auf 100° erhitzt wurden. Als Kontrolle wurde eine nicht erwärmte Aufschwemmung verwendet. Daß die Verschiedenheit in der Dichte der Bakterienaufschwemmung die Breite der Ausflockungszone bis zu einem bestimmten Grade beeinflussen kann, mußte natürlich, um brauchbare Resultate zu gewinnen, berücksichtigt werden. Das geschah in der Weise, daß die einzelnen Teilaufschwemmungen durch gleichmäßige Verdünnung einer Stammaufschwemmung, die durch Abspülen einer 24stündigen Agarflaschenkultur mit destilliertem Wasser gewonnen worden war, hergestellt

¹ Eisenberg u. Volk, Untersuchungen über Agglutination. *Diese Zeitschrift*. Bd. XI. S. 155.

² Porges, a. a. O.

wurden. Nach Zusatz der Säure kamen die Röhren für 1 Stunde in den Brutschrank und wurden dann bei Zimmertemperatur weiter beobachtet. Der Grad der Agglutination wurde nach 1 Stunde, nach 10 Stunden und nach 24 Stunden notiert.

Eine vergleichende Betrachtung der Resultate bei Typhus in Tabelle X lehrt, daß hinsichtlich der Stärke der Agglutination und Breite der Ausflockungszone zwischen normalen und $\frac{1}{2}$ Stunde auf 50° erhitzten Bakterien kein nennenswerter Unterschied besteht.

Auf 80° erwärmte Bakterienaufschwemmungen sind gegen Säurewirkung weniger empfindlich als normale, was sich in einer Verzögerung im Eintritt der Ausflockung kundgibt. Während bei nicht erhitzten Kulturen nach 1 stündigem Aufenthalt in Bruttemperatur schon eine ausgiebige Agglutination sichtbar wird, kann man diese hier erst nach 24 stündigem Stehen beobachten, nur die ersten, spurenweisen Anfänge einer Ausflockung zeigen zwei Stämme (Typhus Kohn und Mangin) bereits nach 10 Stunden. Neben dieser Verzögerung ist noch eine zweite Veränderung im Ausflockungsprozeß zu konstatieren, nämlich eine Verschiebung der Ausfällungszone in der Reihe weiter nach rechts, also ins Gebiet einer stärker konzentrierten Säure, zugleich auch eine Wanderung der vollkommensten Ausflockung in gleichem Sinne. Während die erste und ausgiebigste Ausfällung normalerweise nach 1 Stunde stets in einer 0.01 prozentigen Salzsäurebakterienaufschwemmung (2 Röhren) beobachtet wird, sehen wir sie hier besonders deutlich bei den Stämmen Kohn und Mangin, die nach 10 Stunden die Anfänge einer Agglutination darbieten, in einer 0.04 und 0.1 prozentigen Salzsäure (3 und 4 Röhren). Wenn auch die Differenzen nach 24 Stunden infolge zunehmender Ausfällung in den Nachbarröhren nicht mehr so deutlich ausgeprägt sind wie zu Beginn der Ausflockung, so merkt man auch hier eine Wanderung des Punktes der stärksten Ausfällung sowie überhaupt der ganzen Agglutination in die Richtung des höheren Prozentgehaltes der Bakterienaufschwemmung an Säure (ca. 3 bis 10 mal konzentriertere Lösung).

Auf 100° erhitzte Typhusbakterienaufschwemmungen zeigen die Veränderungen der auf 80° erwärmten Kulturen, also Verzögerung im Eintritt der Agglutination, Verschiebung der Agglutinationszone und des Punktes der vollkommensten Ausfällung in die Richtung der stärker konzentrierten Säure — jedoch in geringerem Grade. Sie nehmen gleichsam eine Mittelstellung zwischen normalen und auf 80° erhitzten Bakterien ein. Ob sie der Siedetemperatur nur eine halbe oder eine ganze Stunde ausgesetzt werden, ändert nichts an den Resultaten. Nach 1 stündigem Aufenthalt

Tabelle
Säureagglutination

	Nach 1 Stunde						K
	1	2	3	4	5	6	
Prozentgehalt an Salzsäure	0.0036	0.012	0.036	0.12	0.36	1.2	+
Salzsäure	0.3 $\frac{n}{100}$	1.0 $\frac{n}{100}$	0.3 $\frac{n}{10}$	1.0 $\frac{n}{10}$	0.3 n	1.0 n	+
Wasser (destill.)	1.7	1.0	1.7	1.0	1.7	1.0	2.0
Kultur	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Typhus Jak. Kohn. — Normalaufschwemmung . .							
„ „ „ Bakt. vorher $\frac{1}{2}^h$ erhitzt auf 50°	—	++	+	±	—	—	—
„ „ „ „ „ $\frac{1}{2}^h$ „ „ 80°	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ „ „ $\frac{1}{2}^h$ „ „ 100°	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ „ „ 1 ^h „ „ 100°	—	—	—	—	—	—	—
Typhus Weissberg. — Normalaufschwemmung . .							
„ „ Bakt. vorher $\frac{1}{2}^h$ erhitzt auf 50°	—	++	+	—	—	—	—
„ „ „ „ „ $\frac{1}{2}^h$ „ „ 80°	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ „ „ $\frac{1}{2}^h$ „ „ 100°	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ „ „ 1 ^h „ „ 100°	—	—	—	—	—	—	—
Typhus Mangin. — Normalaufschwemmung . . .							
„ „ Bakt. vorher $\frac{1}{2}^h$ erhitzt auf 50°	—	+++	+	±	—	—	—
„ „ „ „ „ $\frac{1}{2}^h$ „ „ 80°	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ „ „ $\frac{1}{2}^h$ „ „ 100°	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ „ „ 1 ^h „ „ 100°	—	—	—	—	—	—	—
Typhus 28. — Normalaufschwemmung							
„ „ Bakt. vorher $\frac{1}{2}^h$ erhitzt auf 50°	—	+	±	—	—	—	—
„ „ „ „ „ $\frac{1}{2}^h$ „ „ 80°	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ „ „ $\frac{1}{2}^h$ „ „ 100°	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ „ „ 1 ^h „ „ 100°	—	—	—	—	—	—	—
Cholera OrNSTein 141. — Normalaufschwemmung .							
„ „ „ Bakt. vorher $\frac{1}{2}^h$ erhitzt auf 50°	—	—	±	±	—	—	—
„ „ „ „ „ $\frac{1}{2}^h$ „ „ 80°	—	++	++	+	+	+	±
„ „ „ „ „ $\frac{1}{2}^h$ „ „ 100°	—	—	++	+	±	±	—
„ „ „ „ „ 1 ^h „ „ 100°	—	—	++	++	±	—	—

Generated on 2019-08-03 11:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3788958
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

X.
erhitzter Bakterien.

Nach 10 Stunden							Nach 24 Stunden						
1	2	3	4	5	6	K.	1	2	3	4	5	6	K.
0.036	0.012	0.036	0.12	0.36	1.2	∅	0.0036	0.012	0.036	0.12	0.36	1.2	∅
$3 \frac{n}{10}$	$1.0 \frac{n}{100}$	$0.3 \frac{n}{10}$	$1.0 \frac{n}{10}$	0.3 n.	1.0 n.	∅	$0.3 \frac{n}{100}$	$1.0 \frac{n}{100}$	$0.3 \frac{n}{10}$	$1.0 \frac{n}{10}$	0.3 n.	1.0 n.	∅
1.7	1.0	1.7	1.0	1.7	1.0	2.0	1.7	1.0	1.7	1.0	1.7	1.0	2.0
1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
-	++	++	++	+	±	-	-	++	+++	++	+	±	-
-	++	++	++	±	±	-	-	++	+++	++	+	+	-
-	-	±	±	-	-	-	-	-	++	++	++	+	-
-	-	++	++	±	-	-	-	+	+++	+++	+	±	-
-	-	++	+	±	-	-	-	±	+++	+++	±	±	-
-	++	++	++	±	-	-	-	++	+++	++	++	±	-
-	++	++	++	+	±	-	-	++	+++	++	+	±	-
-	-	-	-	-	-	-	-	±	++	+++	++	+	-
-	-	++	++	±	-	-	-	+	+++	+++	+	±	-
-	+++	++	+	±	-	-	-	+++	+++	++	±	-	-
-	+++	++	+	±	-	-	-	+++	+++	++	±	±	-
-	-	±	-	-	-	-	-	-	++	+++	++	++	-
-	-	+	+	-	-	-	-	±	++	++	+	+	-
-	-	+	-	-	-	-	-	+	++	++	+	±	-
-	+	+	±	-	-	-	-	++	++	++	±	±	-
-	+	+	±	-	-	-	-	++	++	+	±	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	±	-	-
-	-	±	±	-	-	-	-	±	++	++	±	±	-
-	-	±	-	-	-	-	-	±	++	++	+	±	-
-	-	++	+++	+	+	-	-	-	+++	+++	+++	++	-
-	-	++	+++	++	+	-	-	±	+++	+++	+++	++	-
-	++	+++	++	+	+	-	-	++	+++	+++	+++	+++	-
-	-	++	++	+	+	-	-	±	+++	+++	+++	+++	-
-	-	++	++	+	±	-	-	-	+++	+++	+++	+++	-

im Brutschrank ist noch keine Spur einer Ausflockung vorhanden; nach 10 Stunden, also zu einer Zeit, zu welcher die auf 80° erwärmten Bakterien keine oder nur die ersten Anfänge einer Agglutination aufweisen, beobachtet man hier schon eine ausgiebige Ausflockung, am stärksten in einer 0.04 und 0.1 Prozent. Salzsäure (drittes und viertes Röhrchen). Das zweite Röhrchen (0.01 prozentige Salzsäure), das normalerweise die stärkste Ausflockung darbietet, zeigt noch die homogene Suspension; doch ist hier nach 24 Stunden, zum Unterschied von den auf 80° erwärmten Kulturen, Ausflockung zu sehen, jedoch schwächer als in der Norm.

Die Ursachen für dieses unterschiedliche Verhalten in der Agglutinabilität der auf verschiedene Wärmegrade erhitzten Typhusbazillen könnten in Veränderungen zu suchen sein, die der molekulare Aufbau der Bakterienproteine unter dem Einfluß erhöhter Temperatur erleidet.

Folgen wir der erwähnten Auffassung von Porges, so dürfte der Vorgang etwa folgender sein: durch die Erhitzung auf 80° werden Substanzen (Nuklein) abgespalten, welche die Agglutinabilität der Bakterien-suspension beeinträchtigen. Porges hat bereits gezeigt, daß solche Bakterien nicht nur ihre Ausflockbarkeit durch Immunsrum eingebüßt haben, sondern auch höhere Salzfällungsgrenzen aufweisen. Dies stimmt mit den vorliegenden Versuchen überein, in welchen die Wirkung der Säure an Stelle jener der Salze tritt. Ebenso kehrt, wenn auch nur unvollständig, die Ausflockbarkeit durch Säure nach Kochen der Aufschwemmung wieder. Dies dürfte auf der teilweisen Zerstörung jener hemmenden Substanzen beruhen (Porges). Diese Zerstörung (Hydrolyse?) scheint durch den Säurezusatz unterstützt zu werden. Es gehen ebenso wie bei der Serumagglutination auch bei der Säureflockung Veränderungen des Bakterienproteins Hand in Hand mit Veränderungen der Agglutinabilität.

Eine weitere Analogie zwischen spezifischer und künstlicher Agglutination besteht darin, daß der Serumagglutination, die nach den Untersuchungen von Weil¹ bei Temperaturen von 50° bis 55° rascher als bei Bruttemperatur verläuft, auch eine bei 50° schneller eintretende Säureausflockung entspricht, die wohl auch hier als eine bei höherer Temperatur rascher verlaufende Reaktion anzusehen ist. Aus meinen Protokollen seien hier nur zwei Versuche angeführt, da die Prüfung verschiedener Typhusstämme dasselbe Resultat bot.

Daß Typhusaufschwemmungen nach entsprechender Ansäuerung nach kurzem Aufenthalte im Wasserbade bei 80° oder Siedetemperatur ausgeflockt werden, und zwar am besten aus einer Aufschwemmung mit

¹ Weil, Über den Einfluß der Temperatur auf die spezifische und nichtspezifische Agglutination. *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1904. Bd. XXXVI u. XXXVII. S. 677 u.

Tabelle XI.
Ausflockung von Typhusstämmen durch Salzsäure bei 37° und 50°.

	bei 37°						bei 50° bis 55°					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Prozentgehalt an Salzsäure	0.0036	0.012	0.036	0.12	0.36	1.2	0.0036	0.012	0.036	0.12	0.36	1.2
Salzsäure	0.3 n/100	1.0 n/100	0.3 n/10	1.0 n/10	0.3 n.	1.0 n.	0.3 n/100	1.0 n/100	0.3 n/10	1.0 n/10	0.3 n.	1.0 n.
Wasser (destilliert)	1.7	1.0	1.7	1.0	1.7	1.0	1.7	1.0	1.7	1.0	1.7	1.0
Kultur	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Typhus Metzger nach 1/4 h	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—
„ „ „ 1/3 h	—	±	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—
„ „ „ 3/4 h	—	+	—	—	—	—	—	++	+	—	—	—
„ „ „ 1 h	—	++	±	—	—	—	—	++	+	—	—	—
Typhus Schmidt nach 1/4 h	—	±	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
„ „ „ 1/3 h	—	±	—	—	—	—	—	++	±	—	—	—
„ „ „ 3/4 h	—	+	—	—	—	—	—	+++	+	—	—	—
„ „ „ 1 h	—	++	+	—	—	—	—	+++	+	±	—	—

demselben Säuregehalt, der auch unter normalen Verhältnissen das Optimum für die Ausfällung bedeutet, ist durch die rasche hydrolytische Zerstörung der abgespaltenen hemmenden Substanzen zu erklären (siehe Porges).

Es erübrigt nur noch auf die Resultate beim Cholerastamm „Ornstein 141“ (Tabelle X) einzugehen. Wie die Tabelle zeigt, ist hier das Erwärmen auf 80° am wirksamsten; die Ausflockung tritt bereits bei einer geringeren Säurekonzentration ein, und die Ausflockung nimmt die breiteste Zone an; also gerade das Gegenteil der Erscheinungen bei Typhuskulturen. Als Erklärung dafür dürfen wir wohl annehmen, daß Unterschiede in der chemischen Konstitution der Bakterienleiber der Cholera- und Typhuskulturen bestehen insofern, als durch Erhitzen aus letzteren agglutinationshemmende Substanzen abgespalten werden, nicht aber aus ersteren.

IV.

Die Bakterien besitzen nach den grundlegenden Untersuchungen von Cramer¹ in ausgedehntem Maße die Fähigkeit, sich in ihrer quantitativ chemischen Zusammensetzung dem Nährboden anzupassen. Wie sehr der Gehalt der einzelnen den Bakterienleib aufbauenden Substanzen, demnach auch der Eiweißkörper, von der chemischen Beschaffenheit des Nährsubstrates abhängt und sich mit diesem ändert, konnte er beim Choleravibrio und anderen Mikroorganismen klar darlegen. 35 Prozent, ja selbst 100 Prozent können derartige Schwankungen in ihrer chemischen Zusammensetzung je nach der Natur des Nährbodens betragen.

Es erschien mir von Interesse, der Frage nachzugehen, ob auch diejenigen Veränderungen der Bakteriensubstanz, denen ein Wachstum auf verschiedenen Nährböden zugrunde liegt, die Säureausflockung der Bakterien zu beeinflussen vermögen. Daß bei der Serumagglutination Beziehungen zwischen Beschaffenheit des Nährbodens und Empfindlichkeit gegen homologes Serum bestehen, wurde schon mehrfach nachgewiesen und wird im Laufe dieses Abschnitts an geeigneter Stelle noch besprochen werden.

Tabelle XI bringt die Resultate der Salzsäureagglutination bei Wachstum dreier Typhusstämme, eines Coli- und eines Cholerastammes in flüssigen Nährböden (Normalbouillon) im Vergleich zu jener einer Schrägagarkultur, zugleich eine Untersuchung der Frage, ob die Form, in der der Stickstoff den Mikroben als Nährsubstrat geboten wird, demnach

¹ Cramer, *Archiv f. Hygiene*, Bd. XII, S. 157; Bd. XIII, S. 76; Bd. XVI, S. 171; Bd. XXII, S. 167; Bd. XXVIII, Nr. 1.

als Amidosäure-, Pepton- oder Eiweißstickstoff, ob ferner ein Zuckergehalt der Nährlösung auf die Art der Säureagglutination einen Einfluß hat. Die Zusammensetzung der verschiedenen Nährböden wie der Versuchsanordnung richtet sich ganz nach jener, die Glässner¹ bei seinen Versuchen über die Beeinflussung der Agglutinogenbildung durch verschiedene chemische Beschaffenheit des Nährbodens wählte.

Aminosäurenährbod.	Wittepeptonnährlös.	Eiweißnährlösung.
Asparagin . . . 4 ^{grm}	Wittepepton . . . 10 ^{grm}	Ovalbumin . . . 10 ^{grm}
Kochsalz . . . 5 „	Kaliumphosphat . . . 2 „	Kaliumphosphat . . . 2 „
Milchs. Ammon . . . 6 „	Kochsalz . . . 5 „	Kochsalz . . . 5 „
Kaliumphosphat . . . 2 „	Aqu. destill. . . 1000 „	Aqu. destill. . . 1000 „
Glyzerin . . . 40 „	(Sodazusatz)	(Sodazusatz)
Aqu. destill. . . 1000 „		
(Sodazusatz)		
Wittepeptonzuckerlösung		Eiweißzuckerlösung
Wittepepton 10 ^{grm}	Ovalbumin 10 ^{grm}	
Glukose 5 „	Glukose 5 „	
Kaliumphosphat 2 „	Kaliumphosphat 2 „	
Kochsalz 5 „	Kochsalz 5 „	
Aqu. destill. 1000 „	Aqu. destill. 1000 „	
(Sodazusatz)	(Sodazusatz)	

Die Eiweißlösungen wurden durch Reihelfilter filtriert und vor ihrer Verwendung zur Prüfung auf Sterilität noch einige Zeit im Brutschrank gelassen, die übrigen Nährlösungen im strömenden Dampf sterilisiert. Die verwendeten Stämme wurden drei- bis fünfmal in der gleichen Nährlösung überimpft. Die Säureagglutination wurde, um bei dem langsamen Wachstum genügend Bakterienmaterial erhalten zu können, an viertägigen Kulturen angestellt, die abzentrifugiert und, um die Reste der Nährflüssigkeit zu entfernen, mit destilliertem Wasser dreimal nachgewaschen worden waren. Eine Probe der Aufschwemmung wurde vor der Verwendung mit Phenolphthalein auf die Abwesenheit von Spuren von Alkali untersucht.

Die Bakterien, die in flüssigen Nährböden gewachsen sind, einerlei, ob sie ihren Stickstoffbedarf aus einer Asparagin-, Pepton- oder Eiweißlösung bezogen haben, weisen in den Resultaten der Säureagglutination vollkommene Übereinstimmung untereinander auf, an der auch ein eventueller Zuckergehalt der Nährlösung nichts ändert (Tabelle XII). Der Unterschied zu den Resultaten der spezifischen Agglutination, bei der, wie

¹ Glässner, Über den Einfluß der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens auf die Immunkörper. *Zeitschrift f. experimentelle Pathologie u. Therapie.* 1905. Bd. I. S. 640.

Tabelle XII.
Ausflockung von Bakterien aus flüssigen Nährböden durch Salzsäure.

		1	2	3	4	5	6	K
Prozentgehalt an Salzsäure		0.0036	0.012	0.036	0.12	0.36	1.2	6
Salzsäure		0.3 n/100	1.0 n/100	0.3 n/10	1.0 n/10	0.3 n.	1.0 n.	6
Wasser (destilliert).		1.7	1.0	1.7	1.0	1.7	1.0	2.0
Kultur		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Typhus Weissberg,	Normalagar . . .	—	++	+	±	—	—	—
	Normalbouillon . .	++	±	—	—	—	—	—
	Asparaginlösung . .	++	±	±	—	—	—	—
	Peptonlösung . . .	+	±	—	—	—	—	—
	Eiweißlösung . . .	++	±	—	—	—	—	—
	Peptonzuckerlösung	+	±	—	—	—	—	—
Typhus Fischer,	Normalagar . . .	—	++	+	—	—	—	—
	Normalbouillon . .	+++	±	±	—	—	—	—
	Asparaginlösung . .	++	±	—	—	—	—	—
	Peptonlösung . . .	++	±	—	—	—	—	—
	Eiweißlösung . . .	++	—	—	—	—	—	—
	Peptonzuckerlösung	++	±	—	—	—	—	—
Typhus Mangin,	Normalagar . . .	—	+++	±	±	—	—	—
	Normalbouillon . .	+++	±	—	—	—	—	—
	Asparaginlösung . .	++	+	±	—	—	—	—
	Peptonlösung . . .	±	—	—	—	—	—	—
	Eiweißlösung . . .	++	±	—	—	—	—	—
Coli Knd,	Normalagar . . .	—	±	+	±	±	—	—
	Normalbouillon . .	—	+	—	—	—	—	—
	Asparaginlösung . .	—	±	—	—	—	—	—
	Peptonlösung . . .	—	+	±	—	—	—	—
	Eiweißlösung . . .	—	+	—	—	—	—	—
Cholera Ornatein 141,	Normalagar . . .	—	—	±	±	—	—	—
	Normalbouillon . .	—	+	±	—	—	—	—
	Asparaginlösung . .	—	±	±	—	—	—	—
	Peptonlösung . . .	±	+	+	±	—	—	—
	Eiweißlösung . . .	—	±	±	—	—	—	—

Glässner¹ zeigte, die Empfindlichkeit der Bakterien gegen homologes Serum von der Quantität des Stickstoffs im Nährboden bis zu einem bestimmten Grad abhängt, erscheint im Wesen der gegenüber der Säureausflockung unendlich feiner abgestimmten und daher auch viel leichter beeinflussbaren Reaktion der Serumagglutination begründet.

¹ Glässner, a. a. O.

Hingegen zeigen sämtliche auf flüssigen Nährböden gewachsene Bakterien eine leichtere Säureagglutinabilität als jene von festen, so zwar, daß die stärkste Ausflockung schon aus einer Aufschwemmung erfolgt, die nur den dritten Teil jener Säurekonzentration enthält, die Bakterien von festen Nährböden am vollkommensten ausfällt.

Die folgenden Versuche, deren Resultate in Tabelle XIII, XIV und XV dargestellt sind, haben den Zweck zu untersuchen, ob die Reaktion des Nährmediums für die Säureausflockung der Bakterien von Bedeutung ist. Zur Verwendung kamen Nährböden, die 3 Prozent Agar enthalten, da sich der 2prozentige sowohl saure wie alkalische Agar, weil viel zu weich, als ungeeignet erwies. Durch entsprechende Beimengung von Natronlauge beziehungsweise Salzsäure wurde ein Agar bereitet, der 3 Prozent Normalnatronlauge (= etwa 0.1 Prozent konzentrierter Natronlauge), beziehungsweise 3 Prozent Normalsalzsäure (= etwa 0.1 Prozent konzentrierter Salzsäure) enthält.

Typhusstämmen wachsen auf diesen saueren und alkalischen Nährböden anfangs meist recht kümmerlich, aber bereits nach wenigen Überimpfungen ist üppigeres Gedeihen infolge Gewöhnung an den neuen Nährboden zu beobachten. Cholera wächst auf sauerem Nährsubstrat sehr spärlich, vorzüglich dagegen bei alkalischer Reaktion, Coli auf beiden Nährböden sehr üppig.

Zur Verwendung gelangten 36- bis 40stündige Kulturen, deren Aufschwemmung in destilliertem Wasser erst neutralisiert werden mußte. Zu diesem Zwecke wurde eine Probe, die einen bestimmten Volumteil der Bakteriensuspension betrug, mit $\frac{1}{100}$ Normalsalzsäure, beziehungsweise $\frac{1}{100}$ Normalnatronlauge genauestens neutralisiert und das entsprechend größere Quantum Säure oder Lauge der Aufschwemmung hinzugefügt, eine Probe derselben hierauf nochmals auf ihre Reaktion untersucht.

Die Resultate der Säureagglutination waren bei den Kulturen vom Neutralagar (Tabelle XII) dieselben, wie bei Verwendung des obligaten Agar, der sich auch nur durch minimale Differenzen in der Reaktion von jenem unterscheidet.

Typhuskulturaufschwemmungen von sauerem Nährboden zeigen ein verschiedenes Verhalten. Bei drei Stämmen (Typhus Perzke, Weißberg und 54) erfolgte beste Ausflockung bei dreifach stärkerer Säurekonzentration als bei der Aufschwemmung vom Neutralagar, bei den zwei anderen (Typhus Antonžik und XIX) ist hinsichtlich der Stelle vollkommenster Agglutination kein Unterschied gegen die Norm zu beobachten, was auch für beide Colistämme und den Cholerastamm ungefähr zutrifft. Es ist nun der Beachtung wert, daß jene zwei Typhuskulturen, die, obwohl von sauerem Nährboden stammend, normale Resultate gaben, schon eine wieder-

Tabelle XIII. Salzsäureausflockung von Bakterien, die auf festen Nährböden von verschiedener Reaktion gewachsen sind.

	Resultate nach 1 Stunde							Resultate nach 24 Stunden						
	1	2	3	4	5	6	K	1	2	3	4	5	6	K
	0-0036	0-012	0-036	0-12	0-36	1-2	∅	0-0036	0-012	0-036	0-12	0-36	1-0	∅
Prozentgehalt an Salzsäure	0-0036	0-012	0-036	0-12	0-36	1-2	∅	0-0036	0-012	0-036	0-12	0-36	1-0	∅
Salzsäure	0-3n/100	1-0n/100	0-3n/10	1-0n/10	0-3n.	1-0n.	∅	0-3n/100	1-0n/100	0-3n/10	1-0n/10	0-3n.	1-0n.	∅
Wasser (destilliert)	1-7	1-0	1-7	1-0	1-7	1-0	2-0	1-7	1-0	1-7	1-0	1-7	1-0	2-0
Kultur	1-0	1-0	1-0	1-0	1-0	1-0	1-0	1-0	1-0	1-0	1-0	1-0	1-0	1-0
Typhus { Neutralagar	-	++	±	-	-	-	-	-	++	++	++	±	±	-
{ Saurer Agar	-	-	++	±	-	-	-	-	-	++	++	±	±	-
{ Alkalischer Agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	-
Typhus { Neutralagar	-	++	+	±	-	-	-	-	++	++	++	++	±	-
{ Saurer Agar	-	-	+	±	-	-	-	-	±	++	++	++	±	-
{ Weissberg { Alkalischer Agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	-
Typhus { Neutralagar	-	++	-	-	-	-	-	-	++	++	++	±	±	-
{ Saurer Agar	-	±	+	-	-	-	-	-	+	++	++	±	±	-
{ Alkalischer Agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Typhus { Neutralagar	-	++	±	-	-	-	-	-	++	++	++	±	±	-
{ Saurer Agar	-	+	-	-	-	-	-	-	+	++	++	±	±	-
{ Antönzlik { Alkalischer Agar	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++	±	±	-
Typhus { Neutralagar	-	++	±	-	-	-	-	-	++	++	++	±	±	-
{ Saurer Agar	-	+	-	-	-	-	-	-	+	++	++	±	±	-
{ Alkalischer Agar	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++	±	±	-
Coli 1 { Neutralagar	-	-	++	+	±	±	-	-	++	++	++	++	++	-
{ Saurer Agar	-	±	+	±	±	±	-	-	+	++	++	++	++	-
{ Alkalischer Agar	-	-	+	++	-	-	-	-	-	++	++	++	++	-
Coli anae- { Neutralagar	-	++	+	±	±	±	-	-	-	++	++	++	++	-
rogenes { Saurer Agar	-	++	++	++	±	±	-	-	-	++	++	++	++	-
{ Alkalischer Agar	-	+	++	++	±	±	-	-	-	++	++	++	++	-
Cholera { Neutralagar	-	±	±	±	-	-	-	-	±	±	±	±	±	-
Orustein { Saurer Agar	-	-	±	±	-	-	-	-	±	±	±	±	±	-
{ Alkalischer Agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle XIV.
Flüssige Nährböden von verschiedener Reaktion.

		Resultate nach 1 Stunde							
		1	2	3	4	5	6	K	
Prozentgehalt an Salzsäure		0·0036	0·012	0·036	0·12	0·36	1·2	∅	
Salzsäure		0·3 n/100	1·0 n/100	0·3 n/10	1·0 n/10	0·3 n.	1·0 n.	∅	
Wasser (destilliert) . . .		1·7	1·0	1·7	1·0	1·7	1·0	2·0	
Kultur		1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	
Typhus K.	Neutralbouillon	++	±	—	—	—	—	—	1 mal überimpft
	Alkal. Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	
Typhus Weissberg	Neutralbouillon	+++	+	±	—	—	—	—	3 mal überimpft
	Alkal. Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	
Typhus Autozik	Neutralbouillon	+	—	—	—	—	—	—	2 mal überimpft
	Alkal. Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	

(Fortsetzung.)

		Resultate nach 24 Stunden							
		1	2	3	4	5	6	K	
Prozentgehalt an Salzsäure		0·0036	0·012	0·036	0·12	0·36	1·2	∅	
Salzsäure		0·3 n/100	1·0 n/100	0·3 n/10	1·0 n/10	0·3 n.	1·0 n.	∅	
Wasser (destilliert) . . .		1·7	1·0	1·7	1·0	1·7	1·0	2·0	
Kultur		1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	1·0	
Typhus K.	Neutralbouillon	+++	++	++	+	±	—	—	1 mal überimpft
	Alkal. Bouillon	++	++	+	+	—	—	—	
Typhus Weissberg	Neutralbouillon	+++	++	++	+	±	±	—	3 mal überimpft
	Alkal. Bouillon	+++	+++	++	±	±	—	—	
Typhus Autozik	Neutralbouillon	+	+	+	—	—	—	—	2 mal überimpft
	Alkal. Bouillon	+	±	—	—	—	—	—	

holte Passage über sauren Agar durchgemacht hatten, während die drei anderen, die eine Verschiebung des Punktes der stärksten Ausflockung aufwiesen, zum erstenmal auf einen sauren Nährboden übertragen worden waren.

Bei Kulturaufschwemmungen von den auf alkalischem Agar gewachsenen Typhusbazillen beobachtet man stets eine bedeutende Verzögerung in der Ausflockung; erst nach 15 bis 20 Stunden beginnt eine spurenweise Ausflockung, die gewöhnlich nicht mehr zunimmt. Die Agglutinationszone ist ganz bedeutend in die Richtung der Aufschwemmungen mit stärkerem Säuregehalt verschoben; die beste Ausflockung erfolgt gewöhnlich aus einer Bakteriensuspension, die 0·36 Prozent Salzsäure

Tabelle XV. Milchsäureausflockung.

	Resultate nach 1 Stunde										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	K	
[H]	1.7.10 ⁻⁶	8.5.10 ⁻⁵	0.7.10 ⁻⁴	1.4.10 ⁻⁴	2.8.10 ⁻⁴	5.5.10 ⁻⁴	1.1.10 ⁻³	2.2.10 ⁻³	4.4.10 ⁻³	0	
Milchsäures Natrium n/10	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0	
Milchsäure	0.06 n/10	0.12 n/10	0.25 n/10	0.5 n/10	1.0 n/10	0.2 n.	0.4 n.	0.8 n.	1.6 n.	0	
Wasser (destilliert)	1.54	1.18	1.36	1.1	0.6	1.4	1.2	0.8	0	2.1	
Kultur	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
Typhus I. Maresch, Neutralagar	±	++	++	+	±	—	—	—	—	4 mal überimpft	
" " Saurer Agar	+	++	++	+	±	—	—	—	—	—	
" " Alkalischer Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Typhus Ross, Neutralagar	—	++	++	±	±	—	—	—	—	2 mal überimpft	
" " Saurer Agar	±	++	++	±	±	—	—	—	—	—	
" " Alkalischer Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

(Fortsetzung.)

	Resultate nach 24 Stunden											
	Resultat nach 2 Stunden						Resultat nach 24 Stunden					
	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	K	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	K
Typhus I. Maresch, Neutralagar	++	++	++	++	++	++	++	++	++	±	±	—
" " Saurer Agar	++	++	++	++	++	++	++	++	++	±	±	—
" " Alkalischer Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Typhus Ross, Neutralagar	+	++	++	++	++	++	++	++	++	±	±	—
" " Saurer Agar	++	++	++	++	++	++	++	++	++	±	±	—
" " Alkalischer Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Agglutination mit Typhus-immunserum "Ozean", Titer 1:4000.	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	K	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	K
Typhus I. Maresch, Neutralagar	++	++	++	++	±	—	++	++	++	+	±	—
" " Saurer Agar	++	++	++	++	±	—	++	++	++	+	±	—
" " Alkalischer Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

enthält (fünftes Röhrchen), demnach aus einer Aufschwemmung mit dreißigfach höherer Konzentration als es bei Typhuskulturen von normalem Agar der Fall ist. Verzögerter Eintritt einer sehr schwachen Ausflockung bei bedeutend höherer Säurekonzentration ist also charakteristisch für die Säureagglutination der Typhuskulturen von stark alkalischem Nährboden.

Als Anpassungserscheinung der Mikroben an einen alkalischen Nährboden wäre eher eine erhöhte Säureempfindlichkeit als eine größere Säureresistenz zu erwarten gewesen, ähnlich der Erscheinung einer vermehrten Säureresistenz eines Teiles der auf saurem Agar gezüchteten Typhusstämmen. Teilweise Neutralisation der zugesetzten Salzsäure durch Alkali vom Nährboden kann an der Ausflockung bei höherer Säurekonzentration nicht schuld tragen, da, wie schon oben erwähnt wurde, die Aufschwemmung vor der Ansäuerung neutralisiert wurde, in einzelnen Fällen auch die Bakterien, um adsorbiertes Alkali, so weit, als dies möglich ist, zu entfernen, vor dem Versuch wiederholt mit $\frac{1}{200}$ Normalsalzsäure gewaschen worden waren. Da übrigens neben der Ausflockung bei höherer Säurekonzentration bei Typhusbazillen von alkalischen Nährböden auch noch andere Unterschiede gegen die Norm, nämlich eine bedeutende Verzögerung und Abschwächung der Ausflockung, zu beobachten sind, muß wohl auf eine direkte Veränderung der Bakteriensubstanz durch das Alkali des Nährbodens geschlossen werden.

Die Annahme der teilweisen Neutralisierung der zugesetzten Salzsäure durch adsorbiertes Alkali wird auch durch den Umstand entkräftet, daß bei Coli und Cholera von alkalischen Nährböden (Tabelle XIII) eine Verschiebung der stärksten Ausflockung in die Richtung der höher konzentrierten Säure, die in gleich ausgedehntem Maße wie bei Typhus zu beobachten sein müßte, nur in sehr geringem Grade zu merken ist. Von einer Verzögerung oder Abschwächung der Ausfällung ist bei ihnen nichts zu sehen.

Die Beobachtungen über veränderte Serumagglutination der Bakterien von alkalischen Nährböden bieten zum Teil weitgehende Analogien zu meinen Versuchen. Tarchetti¹ sah bei Kulturen von Typhusbazillen in Glycerinbouillon mit steigendem Sodazusatz Abnahme der Agglutinabilität, nach 18 Generationen erlosch dieselbe; hingegen erzielte Kirstein² auf stark alkalischem Nähragar (0.24 Prozent Natrium causticum) nur eine geringe Herabsetzung der Agglutinabilität. Laubenheimer³ beobachtete

¹ Tarchetti, Contributo allo studio della serodiagnosi nell'infezione tifoide. *Gazz. d'osped.*, 6. XI. 1898; zit. nach *Handbuch* von Kolle-Wassermann.

² Kirstein, a. a. O.

³ Laubenheimer, Der Dieudonné'sche Blutalkaliagar usw. *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1909. Bd. LII. S. 294.

bei Züchtung von Choleravibrionen auf stark alkalischem Nährboden (Dieudonné) Verringerung ihrer Ausflockbarkeit.

Ein Beispiel für verminderte Serumempfindlichkeit von Typhusstämmen auf alkalischen Nährmedien bietet der Typhus „I. Maresch“ (Tabelle XV), bei dem im Gegensatz zu den Kulturen vom neutralen und sauren Agar, die sich vollkommen gleich verhalten, eine bedeutende Verzögerung in der Ausflockung und verringerte Reaktionsfähigkeit auf Immunsorum zu beobachten ist, die in einer weniger ausgiebigen Ausflockung, die auch nicht mehr bei so hohen Serumverdünnungen wie bei den beiden anderen Kulturen erfolgt, zum Ausdruck kommt.

Gegen Milchsäure scheinen die auf alkalischem Agar gewachsenen Typhusbazillen noch viel resistenter zu sein als gegen Salzsäure (Tabelle XV). Wenigstens wurden die Stämme I. Maresch und Ross, deren Ausflockbarkeit mit Milchsäure geprüft wurde, dauernd nicht agglutiniert. Die Resultate der Säureflockung ihrer Kulturen vom neutralen und sauren Agar zeigen keine Unterschiede gegeneinander.

Auch flüssige alkalische Nährböden wurden hinsichtlich ihrer Einwirkung auf die Säureflockung des Typhus untersucht (Tabelle XIV). In Verwendung kam eine Bouillon, die 0.1 Prozent Natronlauge enthielt. Die Ausflockung der in ihr gewachsenen Typhusbazillen, die erst abzentrifugiert und gewaschen worden waren, erfolgte zwar verzögert, doch war ihre Stärke und Zonenbreite nach 24 Stunden im Gegensatz zu den verschiedenen Resultaten zwischen festen alkalischen und neutralen Nährböden nicht geringer als bei jenen aus der Neutralbouillon. Bemerkenswert ist, daß der Punkt der stärksten Ausflockung mit jenem der Neutralbouillon zusammenfällt, daß hier also im Gegensatz zu den Ergebnissen bei festen alkalischen Nährböden, keine Verschiebung des Agglutinationsoptimums stattfindet.

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß die Säureausflockung bei Züchtung von Typhusbazillen auf Agarnährböden mit verschiedenen Beimengungen, wie Traubenzucker, Milchzucker, Glycerin usw., desgleichen bei Züchtung auf Gelatine, Kartoffel und anderen Nährböden keine nennenswerte Veränderung erfuhr.

V.

Da es sich herausstellte, daß die Säuren bei einer gewissen Art von Bakterien einen bestimmten Grad von Spezifität besitzen, war es zu versuchen, ob nicht bei Kombination mit Immunsorum eine Verstärkung der spezifischen Säurewirkung zu erzielen sei. Während der Bearbeitung

dieser Frage erschien die Publikation von Ch. Krumwiede und J. Pratt¹, die Säureausflockungsversuche mit sensibilisierten Typhusbazillen anstellten und hierbei eine Verbreiterung der Agglutinationszone erzielten; bei Vorbehandlung von Typhusbazillen mit homologem Serum in einer Verdünnung, die noch keine Agglutination hervorruft, bekamen sie bei Zusatz von Säure schon bei einer schwächeren Wasserstoffionenkonzentration als unter normalen Verhältnissen Ausflockung. In einigen Fällen hat Normalserum in der Verdünnung 1:1000 die gleiche Wirkung, bisweilen wieder hemmt es die Säureausflockung selbst in höheren Verdünnungen. Typhusserum, das bei zwei Paratyphusstämmen zur Sensibilisierung verwendet wurde, verhält sich in seiner Wirkung nicht anders als Normalserum.

Ähnliche Versuche, wie die eben erwähnten, habe ich ebenfalls ausgeführt, die mit Rücksicht auf die Publikation der genannten Autoren nur kurz angeführt seien.

Zur Untersuchung herangezogen wurden, wie Tabelle XVI zeigt, vor allem solche Stämme, die mit Säure schlecht ausflocken, an denen also eine eventuelle Serumwirkung um so deutlicher zutage treten kann. Gleichdichte Bakterienaufschwemmungen einer 24 stündigen Agarkultur, die durch gleichmäßige Verdünnungen einer Stammaufschwemmung mit destilliertem Wasser hergestellt worden waren, wurden zum Teil sofort der Salzsäurewirkung ausgesetzt (linke Tabellenhälfte), zum Teil vor der Ansäuerung erst $\frac{1}{2}$ Stunde bei Bruttemperatur gehalten, nach Mischung mit dem gleichen Volumenteil einer mit destilliertem Wasser hergestellten Immunserum-, ferner einer ebenso starken Normalserumverdünnung, außerdem einer konzentrierteren Normalserumverdünnung ($\frac{1}{100}$ bis $\frac{1}{160}$ [rechte Tabellenhälfte]), so daß auf diese Weise eine Bakterien-serumsalzsäuremischung gewonnen wurde. Die Flüssigkeitsmenge war immer die gleiche (3^{ccm}). Zur Verwendung kamen jene höchsten Serumverdünnungen des Typhusimmunserums „Ozean“ (Titer 1:4000), welche (siehe Tabelle I) eben noch spurenweise Agglutination hervorrufen und die durch Zufügen des gleichen Volumenteiles einer Bakterienaufschwemmung noch auf das Doppelte verdünnt wurden, so daß dadurch eine, wie die Kontrollen auch zeigten, sicher nicht mehr agglutinierende Immunserumverdünnung erzielt wurde.

Eine Betrachtung der Tabelle XVI lehrt, daß alle Typhusstämmen nach vorangegangenem Zusatz von Immunserum eine gegenüber den nicht vorbehandelten Aufschwemmungen breitere Ausflockungszone, sowie überhaupt ausgiebigere Agglutination aufweisen, die übrigens auch früher als in der Norm eintritt. Dabei erfährt nur das quantitative,

¹ Ch. Krumwiede u. J. Pratt, a. a. O.

Tabelle XVI.
Anschließungsversuche durch eine Kombination von Serum und Säure.

	1	2	3	4	5	6	K
Prozentgehalt an Salzsäure	0.0036	0.012	0.036	0.12	0.36	1.2	0
Kultur	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Sensibilisierung durch Serumverdünnung $\frac{1}{2}$ bei 37°	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
hierauf Wasser (destill.)	0.7	0	0.7	0	0.7	0	1.0
Salzsäure	$0.3 \frac{n}{100}$	$1.0 \frac{n}{100}$	$0.3 \frac{n}{10}$	$1.0 \frac{n}{10}$	$0.3 n$	$1.0 n$	0
1. Typhus 2x nach 1 ^h 24 ^h	+	+	-	+	-	±	-
2. Typhus B ₁ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
3. Typhus B ₂ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
4. Typhus B ₃ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
5. Typhus B ₄ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
6. Typhus B ₅ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
7. Typhus B ₆ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
8. Typhus B ₇ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
9. Typhus B ₈ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
10. Typhus B ₉ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
11. Typhus B ₁₀ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
12. Typhus B ₁₁ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
13. Typhus B ₁₂ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
14. Typhus B ₁₃ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
15. Typhus B ₁₄ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
16. Typhus B ₁₅ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
17. Typhus B ₁₆ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
18. Typhus B ₁₇ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
19. Typhus B ₁₈ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
20. Typhus B ₁₉ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
21. Typhus B ₂₀ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
22. Typhus B ₂₁ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
23. Typhus B ₂₂ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
24. Typhus B ₂₃ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
25. Typhus B ₂₄ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
26. Typhus B ₂₅ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
27. Typhus B ₂₆ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
28. Typhus B ₂₇ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
29. Typhus B ₂₈ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
30. Typhus B ₂₉ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
31. Typhus B ₃₀ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
32. Typhus B ₃₁ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
33. Typhus B ₃₂ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
34. Typhus B ₃₃ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
35. Typhus B ₃₄ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
36. Typhus B ₃₅ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
37. Typhus B ₃₆ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
38. Typhus B ₃₇ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
39. Typhus B ₃₈ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
40. Typhus B ₃₉ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
41. Typhus B ₄₀ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
42. Typhus B ₄₁ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
43. Typhus B ₄₂ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
44. Typhus B ₄₃ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
45. Typhus B ₄₄ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
46. Typhus B ₄₅ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
47. Typhus B ₄₆ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
48. Typhus B ₄₇ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
49. Typhus B ₄₈ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
50. Typhus B ₄₉ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
51. Typhus B ₅₀ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
52. Typhus B ₅₁ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
53. Typhus B ₅₂ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
54. Typhus B ₅₃ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
55. Typhus B ₅₄ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
56. Typhus B ₅₅ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
57. Typhus B ₅₆ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
58. Typhus B ₅₇ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
59. Typhus B ₅₈ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
60. Typhus B ₅₉ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
61. Typhus B ₆₀ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
62. Typhus B ₆₁ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
63. Typhus B ₆₂ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
64. Typhus B ₆₃ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
65. Typhus B ₆₄ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
66. Typhus B ₆₅ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
67. Typhus B ₆₆ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
68. Typhus B ₆₇ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
69. Typhus B ₆₈ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
70. Typhus B ₆₉ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
71. Typhus B ₇₀ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
72. Typhus B ₇₁ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
73. Typhus B ₇₂ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
74. Typhus B ₇₃ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
75. Typhus B ₇₄ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
76. Typhus B ₇₅ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
77. Typhus B ₇₆ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
78. Typhus B ₇₇ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
79. Typhus B ₇₈ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
80. Typhus B ₇₉ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
81. Typhus B ₈₀ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
82. Typhus B ₈₁ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
83. Typhus B ₈₂ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
84. Typhus B ₈₃ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
85. Typhus B ₈₄ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
86. Typhus B ₈₅ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
87. Typhus B ₈₆ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
88. Typhus B ₈₇ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
89. Typhus B ₈₈ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
90. Typhus B ₈₉ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
91. Typhus B ₉₀ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
92. Typhus B ₉₁ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
93. Typhus B ₉₂ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
94. Typhus B ₉₃ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
95. Typhus B ₉₄ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
96. Typhus B ₉₅ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
97. Typhus B ₉₆ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
98. Typhus B ₉₇ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
99. Typhus B ₉₈ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
100. Typhus B ₉₉ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-
101. Typhus B ₁₀₀ nach 1 ^h 24 ^h	+	+	±	±	-	-	-

nicht das qualitative Verhalten der Ausflockung eine Veränderung, indem das Agglutinationsoptimum in derselben Aufschwemmung beobachtet wird, wie bei den nicht vorbehandelten Bakterien.

Dieselben Erscheinungen, aber in geringerem Maße, bieten die Versuche mit gleichen Verdünnungen von Normalserum, deren Resultate eine Mittelstellung zwischen jenen des Ausflockungsversuches normaler Aufschwemmungen und jener mit Immunsrum vorbehandelter Bakterien einnehmen.

Setzt man stärkere Konzentrationen (1:100, 1:150) von normalem, an sich nicht agglutinierendem Serum zu Typhusbazillen (sie wurden von Normalserum nur bis zur Verdünnung 1:50 ausgeflockt) und prüft dann ihre Säureempfindlichkeit, so zeigt sich bei den meisten Stämmen eine erhöhte Ausflockbarkeit. Dabei treten zwei Agglutinationszonen auf, die eine bei einem Salzsäuregehalt der Aufschwemmung von 0.01 Prozent (2. Röhrechen), die andere bei einem Salzsäuregehalt von 0.36 bis 1.2 Prozent (5. und 6. Röhrechen). Innerhalb einer bestimmten Breite (Salzsäuregehalt von 0.036 bis 0.12 Prozent [3. und 4. Röhrechen]) fehlt stets jede Ausflockung sowohl bei Verwendung von Salzsäure wie Milchsäure. Dieselben Erscheinungen waren bei dem Typhusstamme „Perzke“ auch bei der Normalserumverdünnung 1:2000 zu beobachten. Gleiche Serumverdünnungen, wie in den eben erwähnten Versuchen (1:100), in demselben Verhältnis angesäuert, zeigen auch nach langem Stehen bei Bruttemperatur keine sichtbare Ausfällung.

Auf 60°, 70°, 100° (1/2 Stunde) erhitztes Normalserum verhielt sich genau so wie nicht erhitztes.

Nicht nur bei Serum, sondern auch bei gleichzeitiger Verwendung von Ovalbumin und Säure waren zwei Agglutinationszonen zu beobachten (Tabelle XVII).

Tabelle XVII.
Salzsäureausflockung in Gegenwart von Ovalbumin.

	1	2	3	4	5	6	K
Prozentgehalt an Salzsäure	0.0036	0.012	0.036	0.12	0.36	1.2	∅
Typh. Sorgen	—	±	—	—	—	—	—
	{ 1 ^h	±	—	—	—	—	—
	{ 24 ^h	±	+	±	±	—	—
„ „ Nach vorherig. Zusatz von	{ 1 ^h	++	—	—	—	—	—
1 ^{ccm} Norm.-Ser. (1:100)	{ 24 ^h	++	—	—	+	±	—
„ „ Nach vorherig. Zusatz von	{ 1 ^h	+	—	—	—	—	—
1 ^{ccm} Ovalbumin (1:10)	{ 24 ^h	++	—	±	+	±	—
„ „ Nach vorherig. Zusatz von	{ 1 ^h	±	—	—	—	—	—
1 ^{ccm} Ovalbumin (1:100)	{ 24 ^h	+	+	±	±	—	—

Dies, sowie die gleiche Wirksamkeit von gekochtem wie nicht erhitztem Normalserum läßt die Möglichkeit einer Mitwirkung der Normalagglutinine, die übrigens, wie oben erwähnt, in dieser Verdünnung keine Ausflockungskraft mehr besitzen, an der Gestaltung der Resultate mit Sicherheit ausschließen.

Die gesteigerte Ausflockung bei Verwendung der Normalserumverdünnung 1:100 dürfte zu erklären sein durch eine Veränderung der Oberflächenspannung und der inneren Reibung im Medium, in dem die Verteilung des Eiweiß in der Flüssigkeit durch die Anwesenheit der Bakterien eine ungleichmäßige wird, d. h. eine stärkere Konzentration der Eiweißteilchen in der Umgebung der Bakterien auftritt, welche dann der Säurewirkung stärker ausgesetzt sind. Diese Veränderungen im umgebenden Medium machen sich auch dem Auge durch eine Änderung des optischen Lichtbrechungsvermögens kenntlich. Es entsteht nämlich in der Bakterienserumaufschwemmung sofort bei Zusatz von Salzsäure, die einer Konzentration von 0.01 Prozent entspricht (2. Röhrchen), eine auffallende Trübung.

Das Fehlen der Ausflockung in einer bestimmten Breite (Salzsäurekonzentration von 0.036 Prozent bis 0.12 Prozent; 3. und 4. Röhrchen), welches das Auftreten zweier Agglutinationszonen bedingt, läßt sich infolge Komplizierung der Verhältnisse durch gleichzeitige Anwesenheit zweier Kolloide kaum erklären und findet eine Analogie in den „unregelmäßigen Reihen“, die Bechhold¹ bei Ausflockung von Mastix, sowie Agglutininbakterien unter dem Einfluß bestimmter Salze beobachtete. Von der Art der Mikroorganismen ist die Ausflockungshemmung unabhängig.

Auch der Dysenteriestamm „Colombo“ und der Colistamm „haem. 16“, der sich als einziger unter neun untersuchten Colikulturen als gegen Salzsäure vollkommen resistent erwiesen hatte (Tab. VIII), wurden mit an sich nicht agglutinierenden Serummengen vorbehandelt (beide wurden von Normalserum nur bis zur Verdünnung 1:60 agglutiniert) und dann auf ihre Ausflockbarkeit durch Salzsäure geprüft (Tab. XVII), wobei ungefähr die gleichen Resultate wie bei den Typhusstämmen gewonnen wurden.

Auch konzentriertere Verdünnungen (1:100) von abgeschwächtem Typhusimmunserum („Ozean“, Titer 1:4000), das durch $\frac{1}{2}$ stündiges Erhitzen auf 60° seine Agglutinationskraft so weit eingebüßt hatte, daß es erst nach $1\frac{1}{2}$ stündigem Stehen bei Bruttemperatur in der Typhusaufschwemmung spurenweise Ausflockung hervorrief, wurden zur Vor-

¹ Bechhold, Die Ausflockung von Suspensionen, bzw. Kolloiden und die Bakterienagglutination. *Zeitschrift f. physik. Chemie.* Bd. XLVIII. S. 385.

Tabelle XVIII. (Fortsetzung.)

	1	2	3	4	5	6	K
Prozentgeh an Salzs.	0.0036	0.012	0.036	0.12	0.36	1.2	∅
Salzsäure	0.3 ⁿ / ₁₀₀	1.0 ⁿ / ₁₀₀	0.3 ⁿ / ₁₀	1.0 ⁿ / ₁₀	0.3n	1.0n	∅
Wasser (destill.)	1.7	1.0	1.7	1.0	1.7	1.0	2.0
Kultur	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Prozentgehalt an Salzsäure	0.0036	0.012	0.036	0.12	0.36	1.2	∅
Kultur	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Serumverdünng. } Sensibilisie- } rung durch } 1/2 ^h bei 37° } hierauf Wasser (destill.) .	0.7	∅	0.7	∅	0.7	∅	1.0
Salzsäure	0.3 ⁿ / ₁₀₀	1.0 ⁿ / ₁₀₀	0.3 ⁿ / ₁₀	1.0 ⁿ / ₁₀	0.3 n.	1.0n	∅
Paratyph. B-Imm.-Ser.- } Verd. 1:100 auf 60° erh. } ^{1h} } ^{24h}	+	+	+	+	+	+	±
Typh.-Imm.-Ser.-Verd. } 1:100 auf 60° erhitzt } ^{1h} } ^{24h}	±	+	+	+	+	+	±
Norm.-Ser.-Verdünnung } 1:100 auf 60° erhitzt } ^{1h} } ^{24h}	-	+	+	+	+	+	-
Shiga-Imm.-Ser.-Verd. } 1:100 auf 60° erhitzt } ^{1h} } ^{24h}	±	-	-	-	-	-	±
Norm.-Ser.-Verdünnung } 1:100 auf 60° erhitzt } ^{1h} } ^{24h}	-	-	-	-	-	-	-
Shiga-Imm.-Ser.-Verd. } 1:100 auf 60° erhitzt } ^{1h} } ^{24h}	±	-	-	-	-	-	±
Norm.-Ser.-Verdünnung } 1:100 auf 60° erhitzt } ^{1h} } ^{24h}	-	-	-	-	-	-	-
Shiga-Imm.-Ser.-Verd. } 1:100 auf 60° erhitzt } ^{1h} } ^{24h}	±	-	-	-	-	-	±
Norm.-Ser.-Verdünnung } 1:100 auf 60° erhitzt } ^{1h} } ^{24h}	-	-	-	-	-	-	-

behandlung von Typhuskulturaufschwemmungen verwendet, desgleichen dieselben Serumverdünnungen nach $\frac{1}{2}$ stündigem Erwärmen auf 70 bis 75°, die dann nicht anders wirken als Normalserum (Tab. XVIII).

Eine Betrachtung der Resultate in Tabelle XVIII lehrt, daß die Agglutination in jener Typhusaufschwemmung, die 0.01 Prozent Salzsäure enthält (Punkt der stärksten Ausflockung für Typhus) in Gegenwart des auf 60° erwärmten Immunserums sehr rasch eintritt (meist in wenigen Minuten) und innerhalb einer Stunde oft einen höheren Grad erreicht als in der Normalaufschwemmung nach 24 stündigem Stehen.

Aus dieser Differenz gegenüber den normalen Verhältnissen sowie aber auch gegenüber den Resultaten, die bei Gegenwart von Normalserum in der Aufschwemmung unter sonst gleichen Verhältnissen zu beobachten sind, darf mit Sicherheit auf ein Zusammenwirken der Serumagglutination mit der ausflockenden Kraft der Salzsäure geschlossen werden, so daß die starke Ausflockung in Gegenwart von Immunserum als eine Summierung der ausflockenden Wirkungen der Säure, des Serum-eiweiß und der Agglutinine anzusehen ist. Spezifische und künstliche Agglutination können sich gegenseitig in ihrer Wirkung unterstützen.

Auch hier sind ganz so wie bei Normalserum zwei Ausfällungszonen zu beobachten, getrennt durch eine Zone spurenweiser, also nicht wie bei Normalserum vollkommen fehlender, Ausflockung, eine Differenz, die auf der Wirkung der Immunserumagglutinine beruht.

Die Verstärkung der Säureausflockung bei Typhusstämmen tritt in gleichem Maße in Gegenwart von Typhus- wie Paratyphus B-Immunserum auf (siehe Stamm Conradi); dasselbe Verhalten zeigen auch die Paratyphus B-Stämme. Das Optimum der Ausflockung bieten letztere nicht bei einer Salzsäurekonzentration von 0.036 Prozent dar (3 Röhrchen), wie die Normalaufschwemmung, da dieser Punkt der Reihe bereits in die Zone der Agglutinationshemmung fällt, sondern bei 0.01 Prozent (2. Röhrchen), sowie Typhusstämmen. Aus demselben Grunde ist auch bei den Dysenteriestämmen eine Verschiebung des Ausfällungsoptimums gegenüber der Norm in die Richtung höherer Säurekonzentration zu beobachten. Diese Verschiebung, die durch das stete, von der Art der Mikroorganismen unabhängige Fehlen der Ausflockung bei einer bestimmten Säurekonzentration (0.036 bis 0.12 Prozent) bedingt ist, schließt die Verwendung dieser Methode zu diagnostischen Zwecken aus.

Zum Schluß sei nur ganz kurz erwähnt, daß aus Typhuskulturen verschiedener Stämme gewonnene Extrakte, die — an Präzipitinogen sehr reich — noch in der Verdünnung 1:200 mit dem Typhusimmenserum „Ozean“ ein deutliches Präzipitat gaben, bei Säurezusatz in allen Verhältnissen, auch bei längerer Beobachtungsdauer, keine sichtbare Ausflockung zeigten, während gleichalterige, auf demselben Nährboden gewachsene Typhuskulturen auf Säurezusatz binnen $\frac{1}{2}$ Stunde in normaler Weise agglutiniert wurden.

Die Extrakte wurden aus 10 tägigen in Asparaginlösung gewachsenen Typhuskulturen gewonnen (Agar gibt mit Säure Niederschläge), aus denen die Bakterien bis zur vollkommenen Klärung der Kulturflüssigkeit abzentrifugiert wurden (was etwa 8 bis 12 Stunden dauerte), worauf die obenstehende Flüssigkeit, die die Bakterienextrakte enthält, abpipettiert wurde.

Diese Unterschiede ließen sich etwa so auffassen, daß bei Serumzusatz zum Extrakt die Präzipitine des Serums energisch die Präzipitinogene des Extraktes adsorbieren, wodurch sich verhältnismäßig große, dem Auge noch sichtbare Flöckchen bilden können, während bei Säurezusatz zu dem an Präzipitinogen relativ wohl reichen, absolut aber armen Extrakt eine unter der Grenze des optischen Auffassungsvermögens stehende Ausfällung entstehen dürfte.

Zusammenfassung.

1. Die Ergebnisse meiner Untersuchungen, die sich bei Prüfung einer großen Reihe von Typhus- und Paratyphusstämmen mit organischen Säuren (Milch-, Essigsäure) mit jenen von Michaelis und Beniasch decken, weichen in einem wichtigen Punkte — der Säurefällbarkeit eines beträchtlichen Teiles der Colistämme — von ihren Resultaten ab. Da nun scheinbar gerade die nicht typischen Colistämme mit Säure leicht ausflocken und das Agglutinationsoptimum bei derselben Wasserstoffionenkonzentration wie die Paratyphus- und Enteritissämme aufweisen, eine Unterscheidung demnach unmöglich ist, wird die praktische Verwertbarkeit der Säureflockung als diagnostisches Hilfsmittel auf ein Minimum eingeschränkt.

2. Die von Michaelis und Beniasch festgestellte Tatsache, daß die Art der Säure für den Prozeß der Säureagglutination bedeutungslos ist, indem weder die Säure als solche, noch ihr Anion hierbei eine Rolle spielt, diese vielmehr ausschließlich von der Wasserstoffionenkonzentration abhängt, hat nur für organische Säuren Geltung, da die stark dissoziierten Mineralsäuren (Salzsäure) erst bei einer bedeutend höheren Wasserstoffionenkonzentration den gleichen Effekt hervorrufen.

3. Serum- und Salzsäureflockung erhitzter Typhusbazillen weisen untereinander weitgehende Analogien auf. Auf 80° erwärmte Typhusbazillen zeigen eine stark vermehrte Säureresistenz, die in einer bedeutenden Verzögerung der Ausflockung zum Ausdruck kommt, deren Optimum bei einer drei- bis zehnfach höheren Säurekonzentration liegt, als unter normalen Verhältnissen. Gekochte Typhuskulturaufschwemmungen bieten dieselben Veränderungen, aber in geringerem Grade, dar. Ein Cholerastamm, in gleicher Weise behandelt, zeigte das entgegengesetzte Verhalten, nämlich gesteigerte Säureempfindlichkeit. Bei einer Temperatur von 50 bis 55° werden Typhusbazillen durch Säure rascher ausgeflockt als bei Bruttemperatur.

4. In Nährlösungen, welcher Art auch immer, gewachsene Bakterien flocken bei geringerer Säurekonzentration aus, als dieselben Bakterien von festen Nährböden. Typhuskulturen von stark alkalischem Agar weisen eine spärliche und stark verzögerte Ausflockung bei bedeutend höherer Säurekonzentration, als jene von normalem Agar auf. Coli und Cholera von alkalischem Nährboden zeigen keine derartigen Eigentümlichkeiten. Auf saurem Nährboden gewachsene Typhuskulturen bieten keine konstanten Abweichungen von der Norm dar.

5. Typhuskulturaufschwemmungen flocken nach vorangegangenen Zusatz von an sich nicht mehr agglutinierenden Immunsersumverdünnungen bei entsprechender Ansäuerung ausgiebiger aus als mit Säure allein. Gesteigerte Ausflockung, jedoch in geringerem Grade, bewirkt auch die Anwesenheit von gleich stark verdünntem Normalserum. Die Gegenwart konzentrierterer Normalserumverdünnungen (1:100) hat das Auftreten zweier Agglutinationszonen zur Folge, die durch eine von der Art der Bakterien unabhängige Zone vollkommen fehlender Ausflockung getrennt sind.

Spezifische und künstliche Agglutination können sich gegenseitig in ihrer Wirkung unterstützen, wie Ausflockungsversuche mit einer Kombination von Säure und konzentrierten Verdünnungen (1:100) von Immuns serum, dessen Agglutinine durch Erhitzen auf 60° abgeschwächt wurden, beweisen.

6. Aus Typhuskulturen, die von Säure gut ausgeflockt werden, gewonnene Extrakte, die — an Präzipitinogen sehr reich — noch in der Verdünnung 1:200 mit Typhusimmuns serum ein deutliches Präzipitat geben, zeigen bei Säurezusatz keine sichtbare Ausfällung.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Modena.]

Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum der Tauben.

Von

Prof. **Francesco Sanfelice.**

(Hierzu Taf. VII.)

I. Gegenwärtiger Stand der Frage.

Die unter den unentgeltlich gebrauchten Namen „Epithelioma contagiosum“ und „Vögelpocken“ bekannte Krankheit der Tauben kann auf zahlreiche Untersuchungen von Seiten der Pathologen und Bakteriologen zurückblicken. Die Krankheit erscheint unter Knötchenform an den nicht von Federn bedeckten Teilen des Kopfes, an den Augenlidern, in den Augenwinkeln und an den untern Teilen des Schnabels. Bei Größerwerden fließen die Knötchen zusammen, wonach die Schädigung an der Oberfläche ein blumenkohlartiges Aussehen annimmt. Über die von der Erkrankung betroffene Oberfläche der Haut zieht sich dann eine dicke Kruste, die sich ohne Narbenbildung löst. Die Krankheit kann auf die Bindehaut, die Blinzelhaut, die Hornhaut und auf die innere Schleimhaut des Schnabels, der Nase, der Zunge, des Maules und der Stimmritze übergreifen. Verenden die Tiere 3 bis 4 Wochen nach Beginn der Krankheit, so werden in den inneren Organen keinerlei Schädigungen angetroffen.

Die Schädigung ist auf die Epithelzellen der Haut beschränkt und besteht in einer bedeutenden Verdickung der Epithelschicht, die mehr der Vergrößerung der Zellen als ihrer Wucherung zuzuschreiben ist. Ziemlich selten sind die Kernteilungsfiguren, die in der tiefen Schicht der Malpighischen Zellen angetroffen werden. Die Zellen sind bedeutend vergrößert; dieser Vergrößerung ist denn auch die Bildung der Geschwulst

Zeitschr. f. Hygiene. LXXVI

. 17

zuzuschreiben. Die Zellen erscheinen vakuolisiert, das Zellnetz färbt sich mit den sauren Farbstoffen schlecht und sehr langsam, dagegen ziemlich gut mit dem Hämallumen. In dem subepithelialen Bindegewebe besteht keine Einwanderung von Epithelzellen. Die Grenzen zwischen subepitheliale Bindegewebe und der tiefen Malpighischen Schicht sind deutlich erhalten. Aus eben diesem Grunde ist der Name „Epithelioma“ schlecht angebracht. Aus dem Gesagten geht ferner hervor, daß auch der Name „Taubenpocken“ nicht richtig ist. Die Krankheit ist in 100 Prozent der Fälle vom kranken Tier auf das gesunde übertragbar. Die Inkubationsperiode ist verschieden, je nachdem die Impfungen auf der Augenlidhaut oder auf der Haut der Brust vorgenommen werden. An den Augenlidern kommen die Schädigungen 5 bis 6 Tage nach der Impfung zum Vorschein. Auf der Haut der Brust dagegen nach 2 bis 4 Tagen. Streicht man ein Stück erkrankter Haut über die Brusthaut, so entwickelt sich an der Einpflanzungsstelle einer jeden Feder ein Knötchen.

Eigentümlich sind bei dieser Taubenerkrankung die Einschlüsse, die in den Epithelzellen vorgefunden werden. Diese von Bollinger als stark lichtbrechende Kugeln beschriebenen Einschlüsse wurden 1881 von Rivolta und Delprato für Pflanzenparasiten gehalten und Epitheliomyces genannt. Mingazzini glaubte auch, daß diese Einschlüßkörper parasitärer Natur seien und dem Chytridiopsis socius von der Ordnung der Oomyceten zugeschrieben werden müßten, die in den Epithelzellen des Darmes der Schaben leben. Auch ich ließ mich 1897 zur Annahme verleiten, daß die Einschlüßkörper Parasiten seien, und beschrieb so als krankheitsverursachende Erreger einige Sproßpilze, die ich aus der Haut der Tauben isolierte. Im Jahre 1901 studierte Benda¹ die Histologie der Schädigung und entschied zu Gunsten der parasitären Natur der Einschlüsse. Im Jahre 1902 wiesen Marx und Sticker² nach, daß das Virus des Epithelioma contagiosum durch die Berkefeldschen Kerzen hindurchgeht. Im Jahre 1903 hat Michaelis³ eine Arbeit veröffentlicht, in der er seine eigenen Beobachtungen und Untersuchungen besonders über die Einschlüsse mitteilt, die bei Epithelioma contagiosum in den Epithelzellen der Tauben angetroffen werden. Dieser Verfasser hat ferner beobachtet, daß die Einschlüsse in frischem Zustand wie stark lichtbrechende Kugeln erscheinen, die doppelt so groß sind wie ein Kern, ohne Struktur und Bewegung.

¹ Benda, Zelleinschlüsse des Molluscum contagiosum und der Taubenpocke. *Centralblatt f. allgemeine Pathologie*. Bd. VIII.

² Marx u. Sticker, Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum des Geflügels. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1902. S. 893.

³ Michaelis, Mikroskopische Untersuchungen über die Taubenpocke. *Zeitschrift f. Krebsforschung*. Bd. I. S. 105.

Nach Fixierung in Formalin zeigen die Einschlüsse die Reaktion der Fette, wenn sie mit Scharlachrot und mit Osmiumsäure behandelt werden. Mit den sauren und basischen Farbstoffen lassen sich die eingeschlossenen Körper nicht auf spezifische Weise färben. Werden die Schnitte 24 Stunden lang in Alkohol belassen, so findet bei den Einschlüssen die Reaktion der Fettstoffe nicht mehr statt. In den Einschlüssen findet sich außer einem Fettstoff auch eine albuminoide Substanz, die erkannt werden kann, wenn die Schnitte mit einer 3prozentigen doppelchromsauren Kaliumlösung und dann 2 bis 24 Stunden lang mit einer halbgesättigten essigsauren Kupferlösung behandelt werden, von da 1 Stunde lang in eine wässrige Hämatoxylinlösung (1:1000) verbracht und schließlich in einer 1prozentigen Ferricyankaliumlösung differenziert werden. Die Fettsubstanz erscheint in den Zellen in Form kleiner Tröpfchen, die dann zusammenfließen. Weniger gut kann die Bildung der albuminoiden Substanz verfolgt werden. Sicher ist es auf jeden Fall, daß die Entwicklung der beiden Substanzen nicht parallel vor sich geht.

Der Verfasser schließt daraus, daß die Einschlüsse kennzeichnend sind für die Taubenpocke. Was die eingeschlossenen Körper betrifft, lassen sich nach Verfasser zwei Vermutungen aufstellen: 1. Die Einschlüsse sind die spezifische Ursache der Infektion. 2. Sie sind eine spezifische Folge der Infektion. Michaelis ist eher für die zweite als für die erste Vermutung.

Aus der Arbeit des Verfassers ergibt sich nichts, das für oder gegen die parasitäre Natur der Einschlüsse sprechen könnte.

Nach Apolant¹ können unter den Zelleinschlüssen, die bei den Taubenpocken angetroffen werden, zwei ihrer Entstehung und ihrem Wesen nach ganz verschiedene Bildungen festgestellt werden, und zwar größere, die den bekannten Körperchen des Molluscum ähneln, und kleinere, die den von Benda beschriebenen Körperchen entsprechen und deshalb vom Verfasser „Bendasche Körperchen“ genannt wurden. Diese einzeln an den Kern angelehnten oder zu zweien oder mehr im Zellprotoplasma zerstreuten Körnchen sind immer von einem hellen Hof umgeben. Verfasser stellt die parasitäre Natur der Bendaschen Körperchen in Abrede und glaubt, daß es sich um vom Kern ausgehende Entartungen handle. Die ersten Anzeichen einer Entartung zeigt gewöhnlich, aber nicht immer, das Kernkörperchen. Bei den mit Methylgrün und Irisamin gefärbten Präparaten färbt sich das Kernkörperchen rotviolett, während das Kernchromatin eine bläulichgrüne Farbe annimmt. Bei der Entartung des

¹ Apolant, Beitrag zur Histologie der Geflügelpocke. *Virchows Archiv*. Bd. CLXXVI. S. 86.

Kernkörperchens verwandelt sich seine violette Farbe in ein glänzendes Rot. Bei der Entartung des Kernkörperchens tritt eine mehr oder weniger ausgedehnte Zusammenschrumpfung des Chromatins des Kerns ein, das die Farbe der umgewandelten Kernkörperchen annimmt. Für den Verfasser besteht keinerlei Zweifel, daß diese Gebilde den Kern verlassen und zu Bendaschen Körperchen werden.

Ganz verschieden ist die Entstehung der eigentümlichen Körperchen der Taubenpocke, die den Molluscumkörperchen entsprechen. Die Einschlüsse sollen von der Entartung des Zellprotoplasmas herrühren, die mit der Bildung von Tröpfchen beginnt, welche letztere dann durch ihr Zusammenfließen die Bildung der eigentümlichen Körperchen veranlassen soll. Das moruläre Aussehen, das die Einschlüsse des öfteren darbieten, könnte so ihren Ursprung erklären. Apolant stellt irgendwelchen Zusammenhang zwischen der Entwicklung der Bendaschen Körperchen und der der eigentümlichen Körperchen des Epithelioma contagiosum in Abrede. Im Jahre 1906 erschien die Arbeit Burnets¹ über das Epithelioma contagiosum der Tauben, worin er die bedeutsame Tatsache feststellt, daß 10, 15 bis 20 Tage nach Inokulation der Krankheit in der Haut das Blut und die Leber im allgemeinen virulent sind. Die Krankheit kann auch durch den Magendarmkanal weiter verbreitet werden. So erschien wirklich nach der Verabreichung Virus enthaltenden Getreides an dem Augenlid der Taube eine typische Schädigung. Er hat überdies die schon von andern Forschern beobachtete Tatsache bestätigt, daß nämlich die Tauben, die die Krankheit überstanden haben, immun sind. 4 bis 5 Monate nach der Heilung erweisen sich die Tauben der Reinokulation gegenüber unempfindlich. Das Serum der geheilten Tauben und dasjenige der überimmunisierten Hühner besitzt ein sehr schwaches Schutzvermögen und keine bakterizide Wirkung. In den Epithelzellen der kranken Haut hat Burnet außer den Kernen und Einschlüssen auch Körnchengebilde beobachtet, die sich wie der Kern färbten. Das unter dem Epithel liegende Bindegewebe ist der Sitz einer entzündlichen Reaktion, die bei dem Huhn stärker hervortritt als bei der Taube. In Bezug auf die Einschlüsse kommt Verfasser zu drei Vermutungen: 1. Die Einschlüsse sind Parasiten. 2. Die Einschlüsse sind Ausscheidungs- oder Zellentartungsprodukte, die von der Einwirkung des unbekanntes Virus herrühren. 3. Der Einschluß birgt, in eine Ausscheidungs- oder Zellentartungs-substanz eingehüllt, einen Mikroben, dessen Form mit den über seine Fülle und Filtrierbarkeit festgestellten Tatsachen übereinstimmt. Diese letzte Vermutung hat auch Vilpino im Hinblick

¹ Burnet, Contribution à l'étude de l'Épithélioma contagieux des oiseaux. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1906.

auf die Wutkrankheit ausgesprochen; das Negrische Körperchen hätte demnach den Wert einer Hülle, die die basophilen Körnchengebilde einschließt, die die Parasiten wären.

Behandelt man die Ausstrichpräparate mit Löffler'schem Methylenblau oder Karbolsäurefuchsin und dann mit 20 prozentiger Gerbsäure, so lassen die Präparate Körnchenanhäufungen erblicken, die sich in eine Menge äußerst dünner Elemente zerlegen, die bald vereinzelt, bald zu zweien, kettenweise, und in kleinen Gruppen angeordnet liegen. Um jedes dieser stark gefärbten Elemente herum findet sich eine schleimige, weniger stark gefärbte Hülle. Ob diese Körnchen von den Einschlüssen herrühren oder nicht, vermag uns der Verfasser nicht zu sagen. Er glaubt, daß diese Körnchen gerade diejenigen sind, die bei den Filtrationsversuchen durch die Kerzen hindurchgehen. Nach diesem Verfasser stimmt die beträchtliche Anzahl dieser Körnchen mit der außerordentlichen Fülle des Virus überein. Ihre Bewegungslosigkeit und die Scheiden, die sie einhüllen, erklären die Schwierigkeit ihres Filterdurchzugs. Die Annahme, daß diese Körnchen die Ursache der Krankheit seien, ist nach Verfasser weiter nichts als eine bloße Vermutung.

Reischauer¹ liefert nur einen geringen Beitrag zu dieser Frage in seiner im Jahre 1906 veröffentlichten Arbeit. Nach dem Verfasser sind die Einschlüsse keine Entartungsprodukte, sondern Parasiten.

Die Untersuchungen von Lipschütz² aus dem Jahre 1908 bestätigen die erwähnten Ergebnisse Burnets. Tatsächlich hat er bei den vermittels Auskratzung des pathologischen Materials und Verdünnung desselben mit etwas destilliertem Wasser erhaltenen Strichpräparaten, die 10 Minuten lang in zu gleichen Teilen bemessenem Alkohol und Äther fixiert, mit Karbolsäurefuchsin gefärbt, mit Methylenblau nach Löffler oder mit der Giemsa'schen Flüssigkeit präpariert worden waren, die schon von Burnet beschriebenen, winzigen Körperchen beobachtet. Bezüglich der Einschlüsse des Epithelioma contagiosum, die denen entsprechen, die wir bei dem Molluscum contagiosum des Menschen, bei der Wut, der Hühnerpest usw. antreffen, glaubt der Verfasser, daß sie spezifische Erzeugnisse der Reaktion des Gewebes auf das Eindringen eines spezifischen Virus seien und zum Teil von der Entartung des Protoplasmas, zum Teil auch von den Veränderungen des Kerns herrühren. Bei den verschiedenen Krankheiten weisen diese Einschlüsse nicht nur ihre Zahl, sondern auch ihre Form, ihre Größe, ihre ungleichmäßige Verteilung im Gewebe, ihr

¹ Reischauer, Über die Pocken der Vögel. ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihren Erregern. *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1906. I. Abt. Bd. XL.

² Lipschütz, Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum der Vögel. *Ebenda*. I. Abt. Bd. XLVI. S. 609.

ungleichmäßiges Verhalten gegenüber den Farbstoffen und ihren inneren Bau betreffende bedeutende Unterschiede auf. Nach Lipschütz wird das Virus in der ganzen erkrankten Haut, in Organen und dem Blute der Tauben angetroffen, die Einschlüsse dagegen nur in einer verhältnismäßig geringen Zahl der Epithelzellen. Das Fehlen eines Verhältnisses zwischen dem in großen Mengen in dem ganzen pathologischen Substrat vorhandenen Virus und numerisch und lokal beschränkten Vorhandensein der typischen Einschlüsse bringt das Epithelioma contagiosum der Vögel in nahe Beziehung zum Molluscum contagiosum des Menschen, zur Wut- und zur Vogelpest, bei der das Virus im Blut und in fast allen Organen, die von Kleine und Schiffmann beschriebenen Einschlüsse dagegen nur im Gehirn angetroffen werden, wo sie eine gewisse Ähnlichkeit mit den Negrischen Körperchen haben. Nach diesem Verfasser hätten also die eigentümlichen Einschlüsse des Epithelioma contagiosum keinerlei Beziehung zu den äußerst feinen Körperchen, den ätiologischen Erregern der Krankheit und wären nur ein Erzeugnis der Reaktion der Zellelemente auf das Vorhandensein des eben diese winzigen, im Zellplasma bestehenden Körperchen darstellenden Virus. Lipschütz nimmt aus den folgenden Gründen an, daß die winzigen Körperchen parasitärer Natur seien: 1. Weil diese Körperchen in sehr großer Anzahl vorhanden sind. 2. Weil sie von gleicher Größe sind. 3. Weil sie sich den Farbstoffen gegenüber typisch verhalten. 4. Weil sie Teilungsformen aufweisen. 5. Weil sie sich beständig in der Schädigung vorfinden. Die Versuche des Verfassers, mit den winzigen, von ihm für die parasitären Erreger gehaltenen Körperchen Kulturen zu erhalten, sind fehlgeschlagen.

Die von Schmid¹ im Jahre 1909 veröffentlichte Arbeit betrifft die Beziehungen der Taubendiphtheritis zum Epithelioma contagiosum. Schmid hat mit dem Krankheitsstoff der Taubendiphtheritis bei den Tauben die typischen Erscheinungen des Epithelioma contagiosum zu erhalten vermocht.

In einem zusammenfassenden Artikel bestätigt Lipschütz² den Befund der winzigen, schon von Burnet, v. Prowazek und Hartmann beobachteten Körnchen. Verfasser behauptet, daß es noch nicht geklärt ist, ob das Virus des Epithelioma contagiosum durch eine Verletzung der Haut in den Organismus eindringe, sich da verallgemeinere und dann sekundär auf dem Blutwege an verschiedenen Stellen der Haut sich fixiere, oder ob es sich da um eine primitive Verletzung der Haut handle, oder aber, ob der Darmkanal dem Virus zum Eintritt diene.

¹ Schmid, Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Geflügeldiphtherie und Epithelioma contagiosum. *Centralblatt f. Bakteriologie*. I. Abt. Bd. LIII. S. 200.

² Lipschütz, *Handbuch der pathogenen Protozoen*. Leipzig 1911. S. 230.

Das Virus der Taubenpocken hat die stärkste Avidität für die Haut, nur in ihr erzeugt es Veränderungen (Dermotropismus). In den inneren Organen findet sich das Virus im Stadium des latenten Mikrobismus. Auch nach endovenösen Einimpfungen bieten die inneren Organe keine Veränderungen dar, wenngleich sie das Virus beherbergen.

Da das Virus des Epithelioma contagiosum in Geweben vorhanden ist, in denen keine Einschlüsse angetroffen werden, will Lipschütz der den Parasiten gegebene Namen „Chlamydozoen“ nicht angebracht erscheinen; empfehlen würde er dagegen den Namen „Strongylosomen“ oder „Strongyloplasmen“ (winzige, runde, von Burnet und anderen beschriebene Körperchen).

Aus den Untersuchungen von Schuberg und Schubotz¹ ergibt sich, daß die frisch beobachteten Einschlüsse des Epithelioma contagiosum undurchsichtig erscheinen, stark lichtbrechend sind, mit Osmiumsäure schwarz werden, sich mit dem Millonschen Reagens nicht färben und von den Verdauungsflüssigkeiten nicht verändert werden. Die Verfasser fanden in den nach Giemsa gefärbten Präparaten nicht nur die eigentümlichen Einschlüsse in den Epidermiszellen der mittleren Schicht, sondern auch purpurrote, verschieden gelagerte Gebilde, über deren Bedeutung sie sich weiter nicht ausgesprochen haben. Dem vorbeschriebenen Befund Burnets und Lipschütz' gegenüber bleiben die Verfasser skeptisch.

Aus den wichtigsten, vorangeführten Arbeiten erhellt, daß die Ätiologie des Epithelioma contagiosum noch nicht genügend geklärt ist. Man weiß, daß es sich um eine leicht übertragbare Krankheit handelt, man kennt genau die Histologie der Schädigung, bekannt sind alle Verhältnisse, unter denen die experimentelle Übertragung von den kranken auf die gesunden Tiere stattfinden kann, festgesetzt ist ferner die Widerstandsfähigkeit des Virus den physischen und chemischen Agentien gegenüber, aber über die Natur der ätiologischen Ursache bestehen noch viele Unsicherheiten. Auch über die Bedeutung der eigentümlichen, in dem Plasma der Epithelzellen anzutreffenden Einschlüsse ist bis jetzt unter den Forschern noch keine volle Einigung erzielt worden. Denn einige von ihnen halten diese Einschlußkörper für Parasiten, andere dagegen haben nachzuweisen versucht, daß sie teils von den Kernen, teils vom Zellplasma herrührende Entartungserzeugnisse sind.

Nun gibt es aber noch andere Forscher, die daran festhalten, daß die ätiologischen Faktoren des Epithelioma contagiosum die Chlamydozoen sind, besondere Mikroorganismen, die weder zu den Protozoen noch zu

¹ Schuberg u. Schubotz, Zur Frage der Geflügelpocken. *Centralblatt f. Bakteriologie*. I. Abt. Bd. XLVII.

Bakterien gehören, da sie kleiner sind, als die bisher gekannten Bakterien, und die gewöhnlichen Bakterienfilter passieren. Im Gegensatz zu den Bakterien vollbringen sie ihre Entwicklung teilweise im Zytoplasma zum Teil auch im Karyoplasma der Zelle und erzeugen spezifische Reaktionsstoffe und Einschlüsse in den Zellen. An diesen Einschlüssen sind zum Teil Entwicklungsstadien der Parasiten, zum Teil auch Reaktionsprodukte der Zellen beteiligt. Wieder andere Forscher schließlich lassen die winzigen, intrazellulären, filtrierbaren Körnchen oder elementären Körperchen eine ätiologische Rolle spielen, die keine Beziehung hätten zu den Einschlüssen, also das gerade Gegenteil von dem, was diejenigen annehmen, nach deren Ansicht die ätiologischen Faktoren des Epithelioma contagiosum zur Gruppe der Chlamydozoen gehören. Es handelt sich da nicht, was auch genannte Verfasser zugeben, um wissenschaftlich erhärtete Tatsachen, sondern um Vermutungen, die mit der größten Vorsicht aufgenommen werden müssen.

II. Struktur der Veränderung und Entstehung der Einschlüsse.

Die von mir an einigen ins Laboratorium gebrachten Tauben beobachtete Schädigung hatte ihren Sitz am Augenlid und bot sich in Form von getrennten und zusammenfließenden Knötchen dar. Mit dem diesen ersten Tauben entnommenen Krankheitsstoff wurden Inokulationen an der Augenlidhaut und an der Brusthaut nach vorangegangener Abtragung der Federn vorgenommen. Zur histologischen Untersuchung der Verletzung habe ich an Fixierungsflüssigkeiten das Sublimat mit Essigsäure, die Zenkersche Flüssigkeit, die Flemmingsche Flüssigkeit herangezogen und dabei die Osmiumsäure durch Essigsäure ersetzt. Die letztgenannte Fixierungsflüssigkeit in einer Zusammensetzung von 160 Teilen 1 prozentiger Chromsäure, 80 Teilen Handelsformalin und 10 Teilen Essigsäure hat mir die besten Resultate geliefert. Die Stücke werden in dieser Flüssigkeit 24 Stunden belassen und dann ein paar Tage lang in Wasser gewaschen. Zur Färbung habe ich die Methylgrün-Pyrroninmischung, die Biondische Mischung, die von Planese angeratene Mischung, das Methylblau und Eosin nach dem Mannschen Verfahren und der von Lentz angeratenen Formel in den Bereich meiner Versuche gezogen. Den besten Erfolg habe ich bei Anwendung der Mannschen Methode erhalten.

Die Schnitte wurden senkrecht zur Hautoberfläche ausgeführt.

Wie ich bereits angeführt, hat die Schädigung ihren Sitz in den Epithelzellen der Haut. Das Unterhautbindegewebe ist leicht infiltriert. Das Hauptepithel ist bedeutend verdickt; die Verdickung ist nicht der Vermehrung der Epithelzellen, sondern ihrer beträchtlichen Vergrößerung

zuzuschreiben. Beim Epithelioma contagiosum der Tauben werden nicht mehr Kernteilungsfiguren wahrgenommen, als im normalen Epithel der Haut. Nur ganz ausnahmsweise stößt man in der Basalschicht auf einige Mitosen. Das Hautepithel behält, wenngleich es verdickt ist, seine normalen Beziehungen zum subepithelialen Bindegewebe bei. Epithelzapfen werden in dem darunter liegenden Bindegewebe niemals beobachtet.

Die Epithelverdickung ist mehr der Vergrößerung des Zytoplasmas als der Vergrößerung der Kerne zuzuschreiben. Mehr als die Zellen der Basalschicht sind die Zellen der Mittelschicht und der Oberflächenschicht der Malpighischen Zellen verändert.

Die Schädigung tritt 4 bis 5 bis 6 Tage nach der Inokulation in Sicht. Die an den Augenlidern geimpften Tauben verenden zuweilen wenige Tage nach Beginn der Krankheit, nicht so sehr dieser wegen, als vielmehr, weil sie keine Nahrung zu sich nehmen. Die an der Brusthaut geimpften Tauben heilen gewöhnlich nach 5 bis 6 bis 7 Wochen. Nur in Ausnahmefällen habe ich einige bei gleichzeitiger bedeutender Abmagerung verenden sehen. Wird die Impfung an der Brusthaut vorgenommen, so beginnt die Schädigung in den Follikeln der Federn, die größer werden und untereinander in Berührung geraten. In den ersten Tagen der Entwicklung der Krankheit hat die beschädigte Haut eine stark rosarote Farbe, beim Fortschreiten der Krankheit nimmt die kranke Haut, bei der Spitze der Knötchen beginnend, eine gelbliche Farbe an, die sich dann auf den ganzen kranken Teil ausdehnt. Später verschwindet der ganze Oberflächenteil der beschädigten Zone in Form einer Kruste, und es erscheint die Hautoberfläche wieder hergestellt ohne irgend eine Narbenspur. Die Federn wachsen genau so wieder wie vorher. In 5, 6 oder 7 Wochen sind die Tiere vollständig geheilt.

In den Organen der an der Krankheit verstorbenen und auf dem Höhepunkt der Erkrankung getöteten Tiere werden keine Schädigungen wahrgenommen.

Eigentümlich sind beim Epithelioma contagiosum die in dem Plasma der Epithelzellen eingeschlossenen Körper. Werden diese Einschlüsse in frischem Zustande unter Beisetzung physiologischer Flüssigkeit beobachtet, wenn die Krankheit schon vorgeschritten ist, so erscheinen sie wie lichtbrechende Körper verschiedener Größe und verschiedener Form. Es sind darunter solche, die kleiner sind als der Kern, ebenso groß wie der Kern und größer als der Kern. Der Form nach sind sie rund, eiförmig, länglich und haben regelmäßige oder auch gewellte Umrisse; in diesem letzteren Falle haben sie moruläres Aussehen und scheinen aus mehr oder weniger regelmäßigen beieinander liegenden oder miteinander vereinigten Massen zu bestehen. Was die Struktur anbetrifft, so sind die einen homo-

gen, andere bieten Vakuolen verschiedener Größe dar, wieder andere haben ein feinstkörniges Aussehen; in diesem letzteren Falle läßt sich nur schwer sagen, ob es sich da um feinste Vakuolen handelt oder um feinste eng aneinander gerückte Körnchen.

In den nach Fixierung in einer Mischung von Alkohol und Äther zu gleichen Teilen mit der Giemsa'schen Flüssigkeit zwei Stunden lang behandelten Ausstrichpräparaten erscheinen die Einschlüsse in einer roten etwas ins Blau stechenden Farbe und bieten feinste, längliche oder runde, deutlich begrenzte Vakuolen dar ohne jede Spur von Körnchengebilden.

In den mit der Methylgrün-Pyroninmischung gefärbten Schnitten lassen sich die Einschlüsse schwach in Blau gefärbt erblicken, die Zellkerne dagegen in Rot. Bei Färbung der Schnitte mit der Mischung Pianeses nehmen die Einschlüsse eine schwach grünliche Farbe an. In diesen Schnitten sieht man ohne Mühe im Zellplasma gruppenweise oder vereinzelt gelagerte, stark dunkelblau gefärbte feinste Körnchen, die, wenn sie gruppenweise liegen, in einer schwach rot gefärbten Substanz enthalten sind.

Die nach dem Mannschen Verfahren gefärbten Schnitte geben die besten Bilder ab. In diesen Schnitten sind die Einschlüsse rosarot gefärbt, die Zellkerne und das Zellplasma dagegen blau. Die Formen der Einschlüsse sind sehr verschieden; gewöhnlich sind sie gleichmäßig gefärbt. Nicht selten weisen die eingeschlossenen Körper Vakuolen auf (Taf. VII, Figg. 1 und 2).

Zum Verfolg der Entstehung der Einschlüsse mußte nach Impfung der Augenlider notwendigerweise nach je 24 Stunden eines derselben entfernt und damit zur Anfertigung von senkrecht zur Oberfläche ausgeführten Reihenschnitten geschritten werden.

Bei Verwendung der stets gleichen Fixierungs- und Färbeverfahren gelang es mir, den Ursprung der Einschlüsse festzustellen und auszuschießen, daß sie parasitärer Natur sein könnten.

Die Schädigung beginnt mit einer Vergrößerung der Zellelemente des Malpighischen Epithels derart, daß man auch schon in den ersten Tagen die Stellen erkennen kann, an denen die Krankheit beginnt. Nicht nur die Kerne, sondern auch die Zellplasmen sind bedeutend vergrößert (Taf. VII, Fig. 12). Die Kernkörperchenmassen erscheinen etwas größer als die der normalen Kerne. Das Zellplasma läßt um den Kern herum oft Vakuolen erblicken. In den ersten Stadien der Schädigung läßt sich in den Zellelementen nichts beobachten, was der Eosinfärbung zugänglich wäre. Erst wenn die Schädigung weiter vorgeschritten ist, lassen sich von dem Eosin ganz in Rot gefärbte Kernmassen nachweisen (Taf. VII, Fig. 15), während

das Kernnetz, die Kernmembranen und die Zellplasmen blau gefärbt sind. Verfolgt man das Fortschreiten der Schädigung noch weiter, so wird man Zeuge der Ausstoßung der vom Eosin rot gefärbten Kernkörperchenmassen aus dem Innern der Kerne. Es lassen sich da leicht Kerne wahrnehmen (Taf. VII, Figg. 4, 8), mit einer kleinen, roten, zur Hälfte noch im Kern und zur andern Hälfte im Zellplasma steckenden Masse. Darauf folgen die Stadien, in denen diese kleine rote Masse im Zellplasma, gewöhnlich inmitten eines kleinen hellen Hofes neben dem Kern (Taf. VII, Figg. 3, 5) zu sehen ist, oder aber in kurzer Entfernung vom Kern (Taf. VII, Figg. 4 bis 6). Gewöhnlich bekommt man bei den Kernen, bei denen kurz vorher eine Ausstoßung stattgefunden hat, keine Kernkörperchenmassen zu sehen. Hat dagegen die ausgestoßene Kernkörperchenmasse eine gewisse Größe erreicht, was bedeutet, daß ihre Ausstoßung schon einige Zeit vorher stattgefunden hat, so können in den Kernen wieder rot gefärbte Kernkörperchenmassen wahrgenommen werden. Diese Beobachtung legt den Gedanken nahe, daß sich in den Kernen jene kleinen mit Eosin rot färbbaren Massen von neuem bilden können. Sonach können also von ein und demselben Kern wiederum rot gefärbte Massen ausgestoßen werden (Taf. VII, Fig. 8) und zwar zu einer Zeit, in der sich im Zellplasma ziemlich große Einschlüsse befinden. Sind die Kernkörperchenmassen erst ins Zellplasma gelangt, so nehmen sie an Größe zu; je mehr sie zunehmen, desto mehr nimmt bei der Färbung ihre rote Farbe ab (Taf. VII, Figg. 10, 16, 17). Oft werden neben den Kernen außer den Kernkörperchenmassen, die leicht zu unterscheiden sind, da sie dieselbe Größe wie die Kernkörperchen besitzen, verschieden große, stark rot gefärbte Körnchen wahrgenommen (Taf. VII, Fig. 11). Es läßt sich schwer sagen, ob diese Körnchen zum Kern hinausgetrieben worden sind, oder ob sie das Zerstückelungserzeugnis einiger schon ausgestoßener Kernkörperchenmassen sind. Diese Körnchen entsprechen sehr wahrscheinlich denjenigen, die Apolant mit dem Namen „Bendasche Körperchen“ unterschieden hat. Als sicher können wir heute annehmen, daß diese Körnchen, wenn sie größer werden, zu den Einschlüssen führen (Taf. VII, Figg. 9, 13, 14), die sich uns als eine Gruppierung von eng aneinander liegenden kleinen roten Körperchen darbieten, die häufig vakuolisiert erscheinen.

Meinen Beobachtungen nach dürfen die Bendaschen Körperchen für keine von den Einschlußkörpern abweichenden Gebilde gehalten werden, sondern als Anfangsstadien einiger Einschlußformen. Im allgemeinen nehmen die ausgestoßenen Kernkörperchenmassen zumeist eine runde, längliche oder moruläre Form an, die oft eine oder mehr Vakuolen aufweist und an Ausdehnung kleiner, größer oder ebenso groß wie der Kern ist (Taf. VII, Figg. 1, 2, 8, 10, 16, 17).

Aus dem vorstehend Erwähnten geht klar hervor, daß zwischen dem *Epithelioma contagiosum* der Vögel und dem *Molluscum contagiosum* der Amphibien viele Ähnlichkeiten bestehen. Wie sich meiner kürzlich veröffentlichten Arbeit¹ entnehmen läßt, sind die sich nach dem Mannschen Verfahren rot färbenden Körper, die Mingazzini² für dieselben Parasiten gehalten hat, wie beim *Molluscum contagiosum* des Menschen, vom Kern herrührende Gebilde. Genau wie beim *Epithelioma contagiosum* der Tauben, beginnt die Veränderung, der die Epithelzellelemente der Haut des *Discoglossus pictus* unterliegen, mit einer Vergrößerung der Kerne und der Zellplasmen, sowie mit einer Umgestaltung des Gehalts der Kerne an Chromatin. Während die nicht veränderten Kerne der Oberhautzellen ein chromatisches Netz mit blau oder rot gefärbten Kernkörperchen aufweisen, sehen in den Kernen der Zellen, in denen die Veränderung beginnt, die rot gefärbten Kernkörperchen viel größer aus, als die der normalen Kerne. Mit der Volumenzunahme der Kernkörperchenmasse fällt die Vermehrung des Kernvolumens zusammen. Schreitet die Veränderung der Zellelemente weiter fort, so verschwinden die Umrisse des Kerns, und es werden dann sowohl die großen als auch die kleinen Kernkörperchenmassen frei und täuschen endozelluläre Parasiten vor. Während beim *Epithelioma contagiosum* der Vögel die eigentümlichen Einschlüsse durch Ausstoßung der Kernkörperchenmassen zustandekommen und die Kerne unversehrt bleiben, rühren beim *Molluscum contagiosum* der Amphibien die Einschlüsse zwar auch von den Kernkörperchenmassen her, mit dem Unterschied jedoch, daß da die Kerne in dem Augenblick zugrunde gehen, in dem sie die eingeschlossenen Körper in Freiheit setzen.

Kürzlich hat Ottolenghi³ nachgewiesen, daß die Kleineschen Körperchen, die sich im Gehirn der an Pest verendeten Gänse vorfinden und eine gewisse Ähnlichkeit mit den Negrischen Körperchen haben, den Kernen der Nervenzellen entstammen. Außerdem glaubt Ottolenghi, daß die Kleineschen Körperchen die Parasiten der Vogelpest nicht enthalten.

So gibt es also nunmehr drei Krankheiten, das *Epithelioma contagiosum* der Vögel, das *Molluscum contagiosum* der Amphibien, und die Vogelpest, die über ein filtrierbares Virus verfügen, und bezüglich deren nachgewiesen ist, daß die Einschlüsse, die die Hüllen der Parasiten (Chlamydozoen) hätten darstellen sollen, weiter nichts sind als dem Kern entstammende Gebilde.

¹ Sanfelice, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1913. I. Abt. Bd. LXX.

² Mingazzini, Il Mollusco contagioso degli anfi. *Ricerche Laboratorii biologici*. Bd. IX. S. 141.

³ Ottolenghi, Über einen besonderen Befund bei der Geflügelpest. *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1913. I. Abt. Bd. LXVII. S. 510.

III. Das Wesen des Virus.

Wie ich bereits angeführt habe, ist das Epithelioma contagiosum der Tauben eine Krankheit, die sehr leicht von kranken Tieren auf gesunde Tiere übergeht. Ich habe bis jetzt viele Hunderte von Inokulationen vorgenommen und dabei immer die Ansteckung erfolgen sehen. Es kann somit also behauptet werden, daß bei Übertragung des Krankheitsstoffes vom kranken Tier auf das gesunde Tier ein positives Resultat bei 100 Prozent der Fälle erreicht wird. Sowohl an den Augenlidern wie auch auf der Haut der Brust kommt die Krankheitsansteckung beständig in weitem Maße zustande, wenn man darauf achtet, daß die Impfung mit einer genug Krankheitsstoff enthaltenden Emulsion vorgenommen wird. Der Übergang des pathologischen Materials von den Tauben auf die Hühner veranlaßt keine beträchtlichen Schädigungen. 4 bis 5 Tage nach der Impfung entstehen auf der Augenlid- oder Brusthaut kleine gelbliche Knötchen, die im Verlauf weniger Tage abheilen. In den Schnitten dieser Knötchen lassen sich dieselben Schädigungen wahrnehmen, die schon bei den Tauben beschrieben worden sind, mit Zelleinschlüssen, die der Form und dem Ursprung nach genau dieselben sind, wie die vorbeschriebenen.

Es scheint demnach, daß das Virus bei der Übertragung des Krankheitsmaterials von den Tauben auf die Hühner abgeschwächt wird. Bei den Tauben dagegen führt das Virus stets zu ziemlich weit um sich greifenden Erscheinungen.

Es ist als sicher anzunehmen, daß das Virus des Epithelioma contagiosum sich nicht nur in der kranken Haut vorfindet, sondern nach den Untersuchungen Löwenthals, Burnets, Lipschütz', Uhlenhuths und anderer Forscher auch im Blut, und in verschiedener Menge fast in allen parenchymatösen Organen, so in der Leber, der Milz, den Nieren und dem Gehirn. Besagte Verfasser haben nachgewiesen, daß 8 bis 10 Tage nach der Impfung in die Haut sich experimentell das Vorhandensein des Virus in den Organen nachweisen läßt. Es ist ferner festgestellt worden, daß selbst vier Wochen nach vollständiger Heilung die Leber und die Nieren noch Virus enthielten.

Noch nicht geklärt ist bis heute die Frage, ob das Virus durch eine Hautverletzung hindurch in den Organismus eindringt, sich dort verbreitet und dann sekundär auf dem Blutwege sich an verschiedenen Stellen der Haut festsetzt, oder ob es sich da um eine primäre Schädigung der Haut handelt und eine sekundäre Verbreitung im Organismus.

Zur Lösung dieser Frage habe ich mehrere Tauben in die Brusthaut geimpft, nach 1—2—3—4—5—6—7—8—9—10 und mehr Tagen die Tiere dann getötet und schließlich mit den Organen die Brusthaut der

gesunden Tauben inokuliert. Aus dieser langen Reihe von Versuchen hat sich herausgestellt, daß schon nach einem Tage, kaum 24 Stunden nach erfolgter Inokulation, sich das Virus in der Leber und in den Nieren vorfinden ließ. Bis heute verfüge ich über Organversuche bis zum 71. Tag nach erfolgter Inokulation und auch in den Organen der 71 Tage nach der Verimpfung des Krankheitsstoffes getöteten Tauben läßt sich das Virus finden. Diese Versuche werden natürlich fortgeführt; ihr Erfolg soll in einer späteren Arbeit bekannt gegeben werden.

Schon jetzt verfügen wir über die wichtige Tatsache, daß mit den Organen der nach 1—2—3—4—5 Tagen getöteten Tauben auf der Haut der gesunden Tauben beschränkte Beschädigungen erhalten werden, es aber den Anschein hat, als ob mit dem Zunehmen des zwischen Impfung und Tötung verlaufenen Zeitabstandes in den betreffenden Organen sich insofern auch eine Zunahme des Virus feststellen läßt, als die Beschädigungen immer größer werden und mit den Organen der 7 Tage nach Impfung getöteten Tauben schon sehr ausgedehnte Beschädigungen zustande kommen.

Mit den Organen der wenige Tage nach der Impfung getöteten Tauben entwickelten sich auf der Haut der Brust 3 bis 4 bis 5 voneinander getrennte Knötchen, die bis zur Heilung derart beschränkt bleiben, während mit den Organen der 7 bis 8 bis 10 Tage nach der Inokulation getöteten Tiere die Beschädigung weit um sich greift und alle Follikeln erfaßt. Mit den Organen der viele Tage nach der Impfung getöteten Tauben — zu einer Zeit, wo die Hautbeschädigung bereits geheilt ist — lassen sich wieder wenig ausgedehnte Schädigungen nachweisen, wie dies schon bei Verwendung der Organe der wenige Tage nach der Impfung getöteten Tiere der Fall war.

Allem Anschein nach ist also das Virus in den ersten Tagen nach der Einverleibung des Krankheitsstoffes nur spärlich vorhanden, nimmt aber dann in den folgenden Tagen quantitativ zu, bleibt eine bestimmte Anzahl Tage lang in bedeutender Menge vorhanden und nimmt dann schließlich quantitativ wieder ab.

Die mit der Leber, den Nieren, der Milz, den Lungen und dem Herzblut erzielten Erfolge waren ungefähr immer dieselben.

Von dem Augenblick an, als wir schon 24 Stunden nach erfolgter Impfung in den Organen das Virus antreffen, müssen wir annehmen, daß das Virus durch die Hautverletzungen hindurch in den Kreislauf dringt und sich dann ebenso im Organismus verbreitet, wie es sich in der Brusthaut lokalisiert, die der Federn beraubt worden ist, oder in der Haut der Augenlider, nachdem diese zuvor mit einer Lanzette oder mit Schmirgelpapier oberflächlich verletzt worden war. Die Festsetzung des Virus in

der Haut muß schon eingetreten sein, wenn das Virus in den Kreislauf eingedrungen ist und sich im ganzen Organismus verbreitet hat.

Interessant ist das Vorkommnis, daß die Vermehrung des Virus in den Organen mit dem Auftreten der Hautveränderung zusammenfällt, was den Gedanken nahelegt, daß die Hautveränderung einen Bildungsherd des Virus darstelle. Die Verminderung des Virus in den Organen fällt mit der Heilung der Hautschädigung zusammen, was die wichtige Tatsache bestätigt, daß die Hautschädigung wirklich einen Bildungsherd des Virus darstellt.

Noch eine andere bemerkenswerte Tatsache habe ich bei den mit von der Krankheit erfaßten Taubenorganen in die Brusthaut geimpften Tauben festzustellen vermocht. Die Inkubationsperiode war nämlich bei den Tauben, denen Organe eingepflicht worden waren, die von 1—2—3—4—5 Tage lang kranken Tieren herrührten, viel länger als diejenige, die bei Tauben beobachtet werden konnte, die mit von 8—10—15—20—30—40 Tage lang kranken Tieren entnommenen Organen geimpft worden waren. Bei den letztgenannten Tauben betrug die Inkubationsperiode 6 bis 7 Tage, bei den ersteren dagegen 14 bis 20 Tage. Bei den mit 50—60—70 Tage lang krank gewesenen Tieren entstammenden Organen geimpften Tauben war die Inkubationsperiode ebenso lang, wie bei den mit 1—2—3—4—5 Tage lang krank gewesenen Tieren entnommenen Organen geimpften Tauben. Die kurze Inkubationsperiode fiel mit dem Höhepunkt der Hauterscheinungen zusammen. Mit anderen Worten heißt das, daß, wenn das Virus in den Organen reichlich vorhanden ist, die Inkubationsperiode kürzer ist, dagegen länger, wenn das Virus spärlicher vorhanden ist.

Die Tauben, welche die Krankheit überstanden haben, sind der kutanen Reinokulation des Virus gegenüber immun. Das Ergebnis meiner Nachforschungen bestätigt somit die schon von anderen Forschern beobachtete Tatsache. Die erneute Einführung des Virus in die Haut wurde von mir 45—53—75—81—110 Tage nach der ersten Hautinokulation vorgenommen. Das Ergebnis war stets negativ. Es können aber diese Tauben, wenngleich sie von der Krankheit geheilt sind, doch nicht für immun im wahren Sinne des Wortes erklärt werden, weil das Virus immer noch sowohl in der Haut wie in den Organen vorhanden ist, was sich durch Verimpfung in die Haut gesunder Tauben nachweisen läßt. Da also das Virus sich immer noch im Organismus vorfindet, kann sich das in die Haut reinokulierte Virus wahrscheinlich nicht auf der Zelle festsetzen, weil diese noch besetzt sind. Daß sie in Wirklichkeit solches noch enthalten, geht schon daraus hervor, daß, wenn man die Haut der kaum geheilten Tauben abkratzt und mit dem Abkratzungsmaterial die Haut gesunder Tauben inokuliert, man ein positives Resultat erhält.

Weitere Versuche werden uns darüber belehren, ob in der Haut und in den Organen seit langer Zeit geheilter Tauben noch Virus vorhanden ist oder nicht.

Diese Erklärung würde auch mit dem übereinstimmen, was Burnet beobachtet hat und von mir bestätigt werden konnte, daß nämlich das Blutserum der Tauben, die die Periode der Hautschädigung hinter sich haben, zusammen mit einer Emulsion des Virus die Einwirkung dieses auf die Haut der gesunden Tauben nicht zu verhindern vermag. Es bestehen also im Blutserum der Tauben, die die Krankheit überstanden haben, keine Antikörper, die das Virus zu vernichten vermögen.

Nachdem nun einmal nachgewiesen war, daß die Einschlüsse keine Parasitenformen und weniger noch Hüllen hypothetischer Parasiten sein konnten, da sie Ausstoßungsprodukte der Kerne darstellen infolge von Veränderungen, denen die Epithelzellen der Haut unterliegen, mußte ausfindig gemacht werden, ob die winzigen, rundlichen, von Burnet und Lipschütz beobachteten Körperchen Parasiten sein können.

Burnet hat gegenüber der Vermutung, daß es sich da um einen parasitären Befund handeln könnte, seine Bedenken und bekennt sich zu der Anschauung, daß nur die Erhaltung von Kulturen darüber Gewißheit verschaffen kann. Lipschütz dagegen nimmt die Vermutung, daß die winzigen Körperchen die Erzeuger der Krankheit vorstellen, ohne jeden Vorbehalt an. In Wahrheit sind jedoch die von diesem Forscher zugunsten der Vermutung — daß besagte Körperchen die eigentlichen Erreger des Epithelioma contagiosum der Tauben sind — vorgebrachten Gründe nicht sehr überzeugend.

Daß diese Körperchen in den mit dem Löfflerschen Methylenblau oder mit der Giemsaschen Flüssigkeit gefärbten Präparaten vorgefunden werden, steht außer Zweifel, daß sie aber Parasiten sein sollen, das kann nicht so ohne weiteres angenommen werden. Die pathologischen Verhältnisse des Protoplasmas und der ganz bedeutende Schwellungszustand der Epithelzellen könnten den Befund und die Gegenwart äußerst kleiner Körperchen veränderten Protoplasmas erklären. Eins ist jedoch gewiß, daß nämlich die für Parasiten gehaltenen Körperchen in der kranken Haut überaus reichlich beobachtet werden, aber gar nicht in den Ausstrichpräparaten, die ich in großer Zahl mit solchen Taubenorganen hergestellt habe, bei denen der Krankheitsvorgang den Höhepunkt erreicht hatte. Bei den mit derartigen Organen inokulierten Tauben trat die typische Schädigung der Haut zutage; in den äußerst zahlreichen mit diesen Organen hergestellten Präparaten waren die winzigen Körperchen nicht zu erblicken. Daß diese rundlichen Körperchen Parasiten sind, läßt sich wohl beim Virus der Peripneumonie der Rinder, der Vogelpest

und der Poliomyelitis annehmen, die alle züchtbar sind und sich mittels der mikroskopischen Beobachtung auch in den künstlichen Kulturen leicht erkennen lassen, dagegen muß für die bisher nicht züchtbaren Virusarten die Vermutung von der Hand gewiesen werden, daß die winzigen Körperchen Parasiten darstellen.

Bei einigen filtrierbaren Virusarten wissen wir bis jetzt noch nicht, ob die von den durch die Porzellankerzen filtrierten Flüssigkeiten bewiesene Virulenz in Beziehung steht zu biologisch organisierten Elementen oder zu einem von den Zellen selbst erzeugten flüssigen Ansteckungsstoff, oder besser gesagt zu einer toxischen Substanz. Gegen diese letztere Vermutung kann auch der Versuch Remlingers nichts ausrichten, der beim Zentrifugieren des Filtrats wutkranken Marks beobachtete, daß der untere Teil der Flüssigkeit virulent war, der obere Teil dagegen vollständig wirkungslos, da die Virulenz des Filtrats wohl an Körperchenteile des Protoplasmas gebunden sein könnte, die die Poren der Porzellankerzen zu durchdringen vermögen, nicht aber an parasitäre, nicht zum Protoplasma gehörende Körperchen. Nach allen den Nachforschungen, die in den letzten Jahren über das kolloidale Wesen des Protoplasmas angestellt worden sind, läßt sich der Durchgang protoplasmatischer Körperchen durch die Porzellankerzen bei Ausschluß der Annahme, daß sie Parasitenformen sein können, wohl verstehen.

Diese Ausführungen veranlaßten mich, mit einer Reihe von Versuchen der Frage auf den Grund zu gehen und zu prüfen, ob aus der kranken Haut der Tauben eine Substanz herausgeholt werden konnte, welche die typische Beschädigung auf der Haut der gesunden Tauben zu erzeugen vermochte.

Zu diesem Zwecke machte ich mich daran, aus der kranken Haut der Tauben die Nukleoproteide auf folgende Weise herauszuziehen. Der ganze erkrankte Teil der Brusthaut wurde in kleine Stücke zerschnitten und zusammen mit sterilem Kieselsand in einem Mörser zerrieben. Nachdem so die ganze Masse zu einer Art Brei verwandelt war, wurde sie in einem Volumen einer 1 prozentigen Kaliumhydratlösung verrührt, die dem Gewicht nach das 3- oder 4fache des Gewichtes des pathologischen Stücks ausmachte. Nach einem 4—8—10—14—18—20—24 und mehrstündigem Verbleib des Breies in der Kaliumhydratlösung bei einer Raumtemperatur von 14 bis 15° C wurde das Gemisch durch ein Stück Leinen filtriert, um die Flüssigkeit von den festen Bestandteilen zu trennen, und dann das etwas dickflüssige Filtrat in das doppelte Volumen 1 prozentiger Essigsäure gebracht. Der dabei zustande gekommene flockige Niederschlag wurde auf einen glatten Papierfilter aufgenommen, mit destilliertem und sterilisiertem Wasser gewaschen und dann mit einer sterilisierten Platin-

spatel direkt auf die zuvor entfederte Brusthaut der gesunden Tauben übertragen.

Die mit der Präparation und Inokulation der Nukleoproteide einhergehenden Versuche beliefen sich auf 30; alle haben ohne Ausnahme zu positivem Ergebnis geführt. Die Inkubationsperiode ist genau dieselbe, wie die bei der direkten Einverleibung des krankhaften Stoffes der Haut bei den Tauben beobachtete. Die Schädigung hatte stets die ganze Hautzone ergriffen, auf welche Nukleoproteide übertragen worden waren. Alle mit Nukleoproteiden geimpften Tauben sind innerhalb derselben Zeit geheilt, wie die direkt mit der Krankheitsstoffemulsion der Haut injizierten.

Aus meinen später von Burnet bestätigten Versuchen hat sich ergeben, daß das Virus des Epithelioma contagiosum der Tauben nach 5 minutigem Verbleiben in der 1 prozentigen Kaliumhydratlösung vernichtet ist. Wenn vor Filtrierung des aus dem kranken Hautbrei und der 1 prozentigen Kaliumhydratlösung bestehenden Gemisches in die Haut der gesunden Tauben mit Teilen der sorgfältig mit destilliertem Wasser gewaschenen und 4—8—10—14—18—24 Stunden lang mit der 1 prozentigen Kaliumhydratlösung in Berührung gebliebenen Breimasse Injektionen vorgenommen werden, so ist das dabei erhaltene Ergebnis stets negativ. Aus diesen Beobachtungen muß gefolgert werden, daß die 1 prozentige Kaliumhydratlösung das Virus des Epithelioma contagiosum nicht zerstört, sondern nur dessen Einwirkung verhindert. Das muß notwendigerweise anerkannt werden, sonst könnten wir uns die mit der Injektion der Nukleoproteide erhaltenen positiven Erfolge nicht erklären. Das Virus dürfte sich in diesem Falle genau so verhalten, wie eine Säure, insofern als es zusammen mit einem Alkali seine Wirksamkeit verlieren, dagegen, vermittels einer Säure von dem Alkali losgetrennt, seine Freiheit wiedererlangen und seine schädliche Wirkung von neuem auf die Epithelzellen ausüben dürfte. — Ich will hier nur beiläufig bemerken, daß die wirklichen Schleimstoffe sich wie Säuren verhalten, in Alkali verdünnt schleimige, etwas dickflüssige Lösungen abgeben, aus denen sie die Essigsäure ausfällt, ohne sie wieder aufzulösen, sobald sie im Überschuß zugesetzt wird.

Die zitierten Versuche beweisen, daß das Virus in der Haut der kranken Tauben vorhanden ist und sich wirklich im Protoplasma der Epithelzellkerne und in den Einschlüssen vorfindet, die sich in den Zellplasmen feststellen lassen, und, wie vorstehend dargetan, Abstammungsprodukte der Kerne sind.

Es entsteht nun die Frage, ob bei mehrstündiger Behandlung der kranken Haut mit der 1 prozentigen Kaliumhydratlösung und der darauffolgenden Fällung mit 1 prozentiger Essigsäurelösung ein Nukleoproteid

des Gewebes, das Nukleoproteid eines mit unseren gewöhnlichen Beobachtungsmitteln nicht wahrnehmbaren, vermuteten Parasiten, oder endlich das Nukleoproteid der von Burnet, Lipschütz u. a. beschriebenen und von ihnen für Parasiten gehaltenen winzig kleinen Körperchen extrahiert wird.

Das Widerstandsvermögen des Virus des Epithelioma contagiosum der Tauben der feuchten Hitze gegenüber ist ebenfalls eingehend untersucht worden. Auf Grund der von mir vorgenommenen und vor einigen Jahren veröffentlichten Nachforschungen habe ich darzutun vermocht, daß das Virus bei einer Temperatur von 60° C in 15 bis 30 Minuten und bei einer Hitze von 70° C innerhalb 5 Minuten vernichtet wird. Nach mir hat Burnet festgestellt, daß das Virus bei einer Hitze von 60° C innerhalb 8 Minuten vernichtet ist. Wäre nun das Nukleoproteid, das sich für die Tauben virulent erweist, von einem vermehrungsfähigen Keim abgegeben, so müßten wir das wahrlich außerordentliche Faktum zugeben, daß dieser Keim der feuchten Hitze gegenüber nur schwachen Widerstand zu leisten vermag, jedoch der Einwirkung der 1 prozentigen Kaliumhydratlösung gegenüber ganz bedeutend standhält. Folgerichtiger ist also die Annahme, daß wir da einem vom Gewebe gelieferten Nukleoproteid gegenüberstehen, und das Virus uns in Form eines flüssigen und keines geformten Ansteckungsstoffes entgegentritt.

Überdies müssen wir in Betracht ziehen, daß zur Erhaltung der Nukleoproteide aus den Mikroorganismen die von den Oberflächen der Nährböden aufgenommenen Kulturbeläge verwendet werden, um eben auf diese Weise eine bedeutende Menge Keime ohne die Organe der an der Infektion verendeten Tiere heranziehen zu können, denn, handelt es sich auch um septikämische Formen, so sind die Keime doch immer verhältnismäßig spärlich und könnten nur sehr kleine Mengen Nukleoproteide liefern.

Ferner ist es nicht glaubhaft, daß die winzig kleinen für die Parasiten der Taubenpocken gehaltenen Körperchen so lange Stunden der Einwirkung der 1 prozentigen Kaliumhydratlösung widerstehen können, wenn wir in Betracht ziehen, daß die Sporen des Milzbrandbacillus, die doch zu den physischen und chemischen Agentien gegenüber am meisten widerstandsfähigen Keimen gehören, der Einwirkung der 1 prozentigen Kaliumhydratlösung nicht so lange zu widerstehen vermögen, wie das Epithelioma contagiosum. Die Sporen des Milzbrandbacillus leisten der Einwirkung der 1 prozentigen Kaliumhydratlösung bei einer Temperatur von 15° C nur 9 bis 10 Stunden Widerstand.

Diese Versuche über das Widerstandsvermögen der Sporen des Milzbrandbacillus der 1 prozentigen Kaliumhydratlösung gegenüber wurden derart ausgeführt, daß wir mit Sporen getränkte Seidenfäden in alkalische Lösung hielten, diese dann zur Neutralisierung des Alkali zuerst in einer

1 prozentigen Essigsäurelösung, sodann in destilliertem Wasser wuschen und sie zuletzt in Petrischalen brachten, in die der Agar gegossen wurde.

Bis also nicht der Gegenbeweis erbracht wird, müssen wir daran glauben, daß das Virus in beträchtlicher Menge im Hautgewebe der kranken Tauben und in mäßiger Quantität auch im Blute und in den Organen derselben enthalten ist. Die Kerne und das Zellplasma der Malpighischen Epithelschicht enthalten das Virus und reagieren in seiner Gegenwart mit einer morphologischen Veränderung, deren Entwicklung man Tag für Tag verfolgen kann, und die schließlich zur Bildung der Einschlüsse führt.

Über den Ursprung dieser zur Hautveränderung führenden toxischen Substanz läßt sich gar nichts sagen. Ausschließen läßt es sich nicht, daß sie ursprünglich das Produkt eines Keimes ist, ebenso wenig, daß sie infolge veränderten Stoffwechsels der Zellelemente oder infolge einer veränderten Tätigkeit des Magendarmkanals entsteht. Vermutungen lassen sich in dieser Hinsicht nicht wenige vorbringen, an wissenschaftlich Nachgewiesenem fehlt es aber noch vollständig.

Nehmen wir an, daß die veränderten Epithelzellen einen Bildungsherd für den Giftstoff, den flüssigen Ansteckungsstoff bedeuten, der den pathologischen Vorgang auslöst, so brauchen wir damit noch nicht das Bestehen eines lebenden vermehrungsfähigen Keimes annehmen, sondern können uns ohne irgend welche Schwierigkeit die Übertragung der Krankheit von Tier auf Tier bis ins Unendliche erklären. Bei jedem Tier, auf das die Krankheit übertragen wird, findet eine neue Erzeugung des Virus von seiten der Zellen statt.

Es ist unleugbar äußerst interessant, zu sehen, wie mit dem aus einem kranken Gewebe extrahierten Nukleoproteid eine Krankheit hervorgerufen werden kann, die alle Anzeichen einer ansteckenden Infektionskrankheit besitzt, sowie, daß die eigenen Zellen des Organismus gerade diejenigen sind, die den Giftstoff erzeugen, der die Ursache ihrer Veränderung ist.

IV. Argumente gegen die Annahme der parasitären Natur des Epithelioma contagiosum der Tauben.

Den Versuchen Marx' und Stickers zufolge gilt es für festgestellt, daß das Virus des Epithelioma contagiosum der Vögel die Berkefeldschen Kerzen passiert, nicht so aber die Chamberlandschen Filterkerzen. Die Nachforschungen genannter beiden Forscher wurden von Juliusberg und Burnet bestätigt. Auch ich habe die Filtrierungsversuche durch Berkefeldkerzen wiederholt und dabei das Virus ins Filtrat

übergehen sehen. In Übereinstimmung mit den vorgenannten Verfassern habe ich nachzuweisen vermocht, daß bei Inokulierung des Filtrats in die Haut der gesunden Tauben die Inkubationsperiode zwei bis dreimal länger ist, und der pathologische Vorgang immer innerhalb relativ enger Grenzen abläuft. Es treten in der Haut der geimpften Tauben voneinander getrennte Knötchen auf. Ich habe in derartigen Fällen niemals die weitgehende Schädigung wahrgenommen, die sich bei der direkten Einverleibung des Virus oder der Nukleoproteide wahrnehmen läßt.

Einige Forscher glaubten dies damit erklären zu können, daß sie annehmen, das filtrierte Material enthalte das Virus in einem weniger vorgeschrittenen Entwicklungsstadium. Dieses im Filtrat vorhandene Virus müßte dann noch weitere Entwicklungsphasen durchmachen, bevor es pathologische Erscheinungen herbeizuführen imstande ist. Diese Erklärung befriedigt leider wenig, weil sie weiter nichts ist als eine reine Vermutung.

Denn wäre das Virus des Epithelioma contagiosum wirklich vielfältigungsfähigen Keimen zuzuschreiben, die die Berkefeldschen Kerzen durchdringen, so müßten die Filtrate zu ebenso großen Schädigungen in der Haut führen, wie die direkte Verimpfung des Virus und außerdem dieselben Inkubationsperioden aufweisen. Bis jetzt hat niemand nachgewiesen, daß die Porzellankerzen in der Lage sind, die pathogenen Keime abzuschwächen. Die Porzellankerzen vermögen einen guten Teil der Toxine, der löslichen, in den Kulturflüssigkeiten enthaltenen Produkte aufzuhalten, sind aber keineswegs imstande, irgend wie abschwächend auf die pathogenen Keime einzuwirken. Die mit den durch die Porzellankerzen filtrierten Flüssigkeiten angestellten Versuche beweisen somit, daß es sich beim Epithelioma contagiosum nicht um lebende Keime handelt, sondern um einen Giftstoff, der zum Teil zurückgehalten wird. Eine weitere Erscheinung, die gegen die parasitäre Natur des Virus spricht, ist seine ungleichmäßige Verteilung im Organismus.

Ich habe vorher schon darauf hingewiesen, daß in den ersten Tagen nach der Verimpfung in die Haut das Virus in den Organen nur spärlich vorhanden ist, denn es führt bei einer längeren Inkubationsperiode zu wenig ausgedehnten Beschädigungen, daß in der Periode der Hauterscheinung das Virus in den Organen reichlicher vorhanden ist, denn es veranlaßt ausgedehnte Schädigungen auf der Haut mit derselben Inkubationsperiode wie bei der direkten Einverleibung der kranken Haut, und daß endlich nach Abheilung der Hautschädigung die Virusquantität in den Organen wieder abnimmt. Wollten wir nun das Vorhandensein von vermehrungsfähigen Keimen in der Haut und den Organen zugeben, so bliebe diese verschiedene Ausdehnung der Schädigung auf der Haut unerklärlich. Würde es sich wirklich um Keime handeln, so müßten

diese, auf die Haut übertragen, ganz unabhängig von ihrer Menge infolge ihrer Vermehrungsfähigkeit immer zu gleich ausgedehnten Schädigungen führen. Auch ist der Gedanke an eine etwaige Abschwächung der Keime in den Organen deshalb auszuschließen, weil, mag es sich auch um nur wenig ausgedehnte Schädigungen handeln, diese doch da, wo sie sich entwickelt haben, ihrer Struktur nach genau ebendieselben sind, wie da, wo die ganze Oberfläche angesteckt worden ist. Es handelt sich also um geringere Mengen eingeführter toxischer Substanz, die zu einer auf Stellen beschränkten Schädigung führt, und nicht um eine minderwertige Virulenz dieser Substanz, denn wo die Knötchen sich auch entwickeln mögen, sind sie makroskopisch und mikroskopisch genau dieselben wie diejenigen, die sich beobachten lassen, wenn alle Follikeln von der Erkrankung erfaßt sind.

Noch ein anderer von mir beobachteter Umstand spricht gegen die Vermutung, daß das Epithelioma contagiosum der Tauben lebenden, in der aus pathologischem Gewebe und physiologischer Lösung aufgeschwemmten Keimen zugeschrieben werden müsse.

Nach Zerreibung der kranken Haut im Beisein von sterilem Sand habe ich mit steriler physiologischer Lösung Emulsionen angefertigt und diese durch Filtrierpapier filtriert. Das Filtrat, das auf die Haut gesunder Tauben überbracht, eine starke typische Schädigung zu verursachen vermag, habe ich in enge, lange Glasröhrchen verbracht. Nachdem ich dann über der Flamme eines der Enden dieser Röhrchen verschlossen hatte, habe ich sie in die Zentrifuge gebracht und nach $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ —1—2 Stunden in der Mitte durchgebrochen und den oberen Teil der Emulsion in die Haut gesunder Tauben inokuliert. Bei allen diesen Tauben hat sich die Krankheit in einer ganz typischen Weise auf der ganzen inokulierten Hautoberfläche entwickelt. Würde es sich nun wirklich um ein aus lebenden Körperchen bestehendes Virus handeln, so würden diese mit der Zentrifugierung sich im unteren Teile der Röhrchen ansammeln und der obere Teil keine pathologischen Erscheinungen hervorrufen können, eben weil er frei von Kernkörperchenelementen wäre. Wenn dieses Argument Remlinger zur Behauptung hinreichte, daß das Wutvirus aus Körperchen bestehe, so müßte es auch seinen Wert für das Virus des Epithelioma contagiosum besitzen und so ausschließen, daß es aus aufgeschwemmten lebenden Keimen bestehen kann.

Interessant sind auch die mit Virusverdünnungen auf der Haut der gesunden Tauben vorgenommenen Inokulationen. Diese Verdünnungen wurden auf eine sehr leichte Weise hergestellt. Es wurde nämlich die kranke Haut in einem Mörser zusammen mit sterilem Sand zerrieben, mit physiologischer Flüssigkeit der Brei zu einer Emulsion verwandelt und diese dann durch Filtrierpapier filtriert. Mit der filtrierten Flüssig-

keit wurden in Uhrgläsern Verdünnungen hergestellt und diese schließlich in die Brusthaut der gesunden Tauben eingeführt. Die so zutage tretenden Schädigungen stehen an Ausdehnung im umgekehrten Verhältnis zu den Verdünnungen. Je mehr das Virus verdünnt wird, desto länger ist die Inkubationsperiode und desto kleiner ist die Schädigung. Hätten wir es da mit lebenden Keimen zu tun, die in spärlicher oder reichlicher Menge in der Emulsion enthalten sind, so müßten sie immer eine gleich ausgedehnte Schädigung herbeiführen, da sie imstande wären, sich auf der Haut der geimpften Taube zu vermehren. Wenn die durch die stärkeren Virusverdünnungen herbeigeführten Schädigungen weniger schwer sind als die durch die geringeren Verdünnungen erzeugten, so bedeutet das, daß wir da einen Giftstoff vor uns haben, der auf ganz verschiedene Weise einwirkt, je nach den Dosen, und keine vervielfältigungsfähigen Keime.

Fassen wir nunmehr die aus den Versuchen hervorgehenden Tatsachen zusammen, so gelangen wir zu nachstehenden Schlußfolgerungen:

1. Beim Epithelioma contagiosum der Tauben sind die eigentümlichen im Verlaufe der Krankheit vorkommenden Einschlüsse von dem Kern herrührende Gebilde und entsprechen den beim Molluscum contagiosum der Amphibien für Parasiten gehaltenen Körpern.

2. Aus der erkrankten Haut der Tauben kann bei Verwendung des Verfahrens zur Extrahierung der Nukleoproteide eine giftige Substanz gewonnen werden, die die Krankheit in den gesunden Tauben wieder zu erzeugen vermag.

3. Die Versuchsergebnisse bei Behandlung der erkrankten Haut mit 1 prozentiger Kaliumhydratlösung sind unvereinbar mit dem Vorhandensein lebender, vermehrungsfähiger Keime, weil für physische und chemische Agentien äußerst widerstandsfähige Keime, wie z. B. die Sporen des Milzbrandbacillus, die Einwirkung der 1 prozentigen Kaliumhydratlösung nicht länger als 9 Stunden auszuhalten vermögen, während das Virus des Epithelioma contagiosum der Tauben 24 Stunden lang Widerstand leistet.

4. Das Epithelioma contagiosum der Tauben ist einem Giftstoff zuzuschreiben, der von den eigenen Zellelementen des erkrankten Hautepithels erzeugt wird und, sobald er in die Haut der gesunden Tauben inokuliert wird, in den betroffenen Zellelementen eine erneute Bildung desselben Giftstoffes veranlaßt. Auf diese Weise läßt sich die serienweise Übertragbarkeit desselben Giftstoffes erklären.

5. Über die Art und Weise der Entstehung der Krankheit läßt sich noch nichts Bestimmtes sagen.

Modena, Mai 1913.

Erklärung der Abbildungen. (Tafel VII.)

Alle Abbildungen sind mit Ok. 4, Ob. $\frac{1}{12}$, Zeiss gezeichnet worden. Die Färbung der Schnitte geschah nach dem Mannschen Verfahren.

Fig. 1. Schnitt eines Taubenaugenlides 4 Tage nach Verimpfung der Krankheit. Einige epidermoidale Zellen weisen im Zellplasma ringförmige, vom Eosin rot gefärbte Einschlusskörper auf. Die Kerne der Zellelemente, in deren Plasma sich die Einschlüsse vorfinden, besitzen keine rot gefärbten Kernkörperchen, wie diejenigen, in deren Plasma keine Einschlusskörper bestehen.

Fig. 2. Augenlidschnitt einer Taube 10 Tage nach Inokulation der Krankheit. Inmitten epidermoidaler Zellelemente, deren von Eosin rot gefärbte Kernkörperchen fassende Kerne und deren Zellplasmen bedeutend vergrößert sind, beobachtet man eine große Zelle mit spärlichem Zellplasma, die einen gleichmäßig gefärbten Einschluss und einen großen Kern mit einer vom Eosin rot gefärbten Kernkörperchenmasse enthält. Neben dem Kern lassen sich kleine rot gefärbte Körnchen wahrnehmen (Bendasche Körnchen).

Fig. 3. Epidermoidales Zellelement des Augenlides einer Taube 6 Tage nach erfolgter Verimpfung der Krankheit. Aus dem Kern ist die vom Eosin rot gefärbte Kernkörperchenmasse ausgestoßen.

Fig. 4. Epidermoidales Zellelement des Augenlides einer Taube 6 Tage nach Übertragung der Krankheit. Im Protoplasmakörper des Zellelementes trifft man einen von einem hellen Hof umzogenen Einschluss an. Die vom Eosin rot gefärbte Kernkörperchenmasse steht gerade im Begriff, aus dem Kern ausgestoßen zu werden.

Fig. 5. Epidermoidales Zellelement des Augenlides einer Taube 6 Tage nach Inokulation der Krankheit. Der Kern läßt keine vom Eosin rot gefärbte Kernkörperchenmasse erblicken. Im Zellplasma gewahrt man einen neu gebildeten Einschluss mit einer zentralen Vakuole.

Fig. 6. Epidermoidales Zellelement der Brusthaut einer Taube 9 Tage nach Verimpfung der Krankheit. Der Kern bietet eine kleine, vom Eosin rot gefärbte Kernkörperchenmasse dar. Im Zellplasma liegt ein von einem hellen Hof umgebener Einschluss.

Fig. 7. Epidermoidales Zellelement des Augenlides einer Taube 10 Tage nach Inokulation der Krankheit. Im Kern läßt sich keine vom Eosin rot gefärbte Kernkörperchenmasse wahrnehmen. Im Zellplasma erblicken wir drei Einschlüsse, darunter einen ringförmigen, der von einem hellen Hof umgeben ist.

Fig. 8. Epidermoidale Zelle des Augenlides einer Taube 6 Tage nach erfolgter Übertragung der Krankheit. Eine vom Eosin rot gefärbte Kernkörperchenmasse steht gerade im Begriff aus dem Kern ausgestoßen zu werden. Im Zellplasma sind zwei kurz vorher ausgestoßene Einschlüsse und ein größerer Einschluß mit hellem Hof sichtbar.

Fig. 9. Epidermoidales Zellelement des Augenlides einer Taube 3 Tage nach Verimpfung der Krankheit. Im Zellplasma liegen dicht nebeneinander kleine, vom Eosin rot gefärbte, fast eine Sporulation vortäuschende Einschlüsse.

Fig. 10. Epidermoidales Zellelement des Augenlides einer Taube 3 Tage nach Verpflanzung der Krankheit. Im Kern wird keine vom Eosin rot gefärbte Kernkörperchenmasse angetroffen. Im Zellplasma findet sich ein halbmondförmiger Einschluß vor.

Fig. 11. Epidermoidales Zellelement des Augenlides einer Taube 2 Tage nach erfolgter Übertragung des Krankheitsstoffes. Neben dem Kern, der keine vom Eosin rot gefärbte Kernkörperchenmasse darbietet, erblickt man kleine, vom Eosin stark rot gefärbte Körperchen (Bendasche Körperchen).

Fig. 12. Augenlidschnitt einer Taube 2 Tage nach Inokulation der Krankheit. Die Kerne und Zellplasmen sind bedeutend vergrößert. Die Kernkörperchen in den Kernen sind noch blau gefärbt.

Fig. 13. Epidermoidales Zellelement des Augenlides einer Taube 4 Tage nach Verimpfung der Krankheit. Im Kern ist keine vom Eosin rot gefärbte Kernkörperchenmasse sichtbar. Im Zellplasma erscheint der Einschluß aus kleinen beieinanderliegenden Massen bestehend.

Fig. 14. Epidermoidales Zellelement des Augenlides einer Taube 10 Tage nach Verimpfung der Krankheit. Der Kern hat dem Eosin zufolge rote Farbe angenommen. Im Zellplasma besteht der Einschluß aus kleinen, unregelmäßigen aneinanderliegenden Massen.

Fig. 15. Augenlidschnitt einer Taube 3 Tage nach Verimpfung der Krankheit. Die Kerne und Zellplasmen sind bedeutend vergrößert. Die Kernkörperchen sind ebenfalls vergrößert und vom Eosin stark rot gefärbt.

Fig. 16. Epidermoidales Zellelement des Augenlides einer Taube 5 Tage nach Verimpfung der Krankheit. Im Zellplasma liegt ein ringförmiger Einschluß. Im Kern ist kein vom Eosin rot gefärbtes Kernkörperchen vorhanden.

Fig. 17. Epidermoidales Zellelement des Augenlides einer Taube 6 Tage nach Verimpfung der Krankheit. Im Zellplasma liegt ein ringförmiger Einschluß.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B.]
(Direktor: Prof. Dr. Martin Hahn.)

Die Differenzierung pathogener und saprophytischer Staphylokokken.

Von

Dr. A. Geisse.

Das chirurgische Ideal, Erzielung völliger Keimfreiheit der Operationswunden, ist noch nicht erreicht und wird vielleicht nie erreicht werden. Welche der vielen Methoden zur Keimfreimachung des Operationsfeldes und der Hände des Arztes auch angewandt wurde, die bakteriologische Untersuchung konnte in der Mehrzahl der Fälle noch Keime, oft noch in ziemlicher Anzahl, nachweisen, und es ist anzunehmen, daß, trotz sorgfältigster Asepsis oder Antisepsis in jeder Operationswunde noch Bakterien vorhanden sind. In der überwiegenden Mehrzahl finden sich nach übereinstimmenden Befunden weiße Staphylokokken, daneben, viel weniger zahlreich, Sarcinen, seltener gelbe Staphylokokken oder saprophytische Bazillenarten. Befunde von pathogenen Streptokokken und Bazillen sind unseres Wissens bisher noch nicht gemacht worden, und bei ihrem sicher sehr seltenen und vereinzelt Vorkommen in Operationswunden, kommen sie praktisch kaum in Betracht.

Es sind daher die, wohl in der Hauptsache von dem Operationsfelde und seiner Umgebung, also der menschlichen Haut bzw. Schleimhaut, aus der Luft und von der Hand des Operateurs stammenden Staphylokokken, welche in erster Linie unser Interesse beanspruchen.

Wir wissen, daß es unter ihnen alle Schattierungen von der höchsten Pathogenität bis zu völliger Harmlosigkeit für den Menschen gibt, und es ist daher eine sichere Unterscheidung der pathogenen und saprophytischen

Arten dieses Mikroorganismus von größter Wichtigkeit für die operative Heilkunde. Von Bakteriologen und Chirurgen sind eine Reihe von Methoden zur Differenzierung der pathogenen und saprophytischen Arten von Traubenkokken angegeben worden, es herrscht aber über den Wert derselben noch keine Übereinstimmung. Die Bedeutung der Frage erfordert daher eine weitere Klarstellung.

Die bisherigen Methoden und Ergebnisse der Unterscheidung pathogener und saprophytischer Staphylokokken sind kurz folgende:

Die mikroskopische Untersuchung läßt uns fast vollkommen im Stich. Wenn wir davon absehen, daß die großen Luftkokken mit Sicherheit als apathogen zu bezeichnen sind, so finden wir zwischen den aus pathogenen Prozessen gezüchteten Staphylokokken und der Unzahl der Haut-, Schleimhaut- und Luftkokken, die für den Menschen völlig harmlos erscheinen, unter dem Mikroskop weder in der Form noch im Verhalten gegenüber Farbstoffen bemerkenswerte Unterschiede.

In der Kultur zeigen beide Arten, gewisse aber mehr graduelle als prinzipielle Verschiedenheiten. Von der Farbstoffbildung können wir soviel mit Bestimmtheit sagen, daß weitaus die größte Zahl der pathogenen Traubenkokken in die Aureusklasse gehören. Doch findet sich auch hie und da ein Albus- oder ein Citreusstamm als Infektionserreger vor.

Die Eigenschaft der Gelatineverflüssigung kommt allen pathogenen Arten zu, wird aber auch in der Regel bei den saprophytischen Keimen beobachtet. Die meisten Forscher bestätigen, daß die ersteren rascher verflüssigen als die saprophytischen Arten. Auf anderen Nährböden sind hie und da Abweichungen innerhalb und zwischen den beiden Arten festgestellt worden, aber eine Unterscheidung pathogener und saprophytischer Traubenkokken auf Grund voneinander abweichender Kulturmerkmale, wie wir sie z. B. bei den Bakterien der Typhus-Coligruppe finden und zur Differentialdiagnose verwenden, ist bisher nicht gelungen.

Hämolysebildung auf Kaninchennährböden: Viele Staphylokokkenkulturen sind imstande rote Blutkörperchen aufzulösen (Staphylolysin). Diese Eigenschaft wurde von R. Kraus entdeckt und von M. Neisser und Wechsberg¹ zuerst eingehend studiert. Kaninchenblut erwies sich als besonders empfindlich gegen Staphylolysin. Alle von Neisser und Wechsberg aus menschlichem Eiter gezüchteten Stämme lösten Kaninchenblutkörperchen auf. Auch ohne daß das Blut vom Serum befreit wurde trat Hämolyse auf. Neisser und Wechsberg gelangten zu der Ansicht, daß nur pathogene Kokken Staphylolysin bildeten. Seitdem ist von einer Reihe von anderen Beobachtern festgestellt worden, daß oft auch sapro-

¹ *Diese Zeitschrift.* 1901. Bd. XXXVI.

phytische Kokken die roten Blutkörperchen des Kaninchens aufzulösen imstande sind. Neisser und Wechsberg verwandten zur Untersuchung auf Staphylolysin das Filtrat alter Bouillonkulturen von Traubenkokken. Nach ihren Beobachtungen tritt das Hämolyisin frühestens vom 4. Tage ab in der Bouillon auf und soll vom 10. bis 14. Tage den Höhepunkt erreichen. Zum Nachweise wurde eine sterile, durch Auswaschen vom Serum befreite Aufschwemmung von roten Blutkörperchen mit fallenden Mengen einer keimfrei filtrierten Staphylokokkenbouillonkultur im Reagensglase versetzt.

Einfacher ist der Nachweis des Staphylolysin mittels Blutagarplatten (Koch)¹: Man mischt einen Teil defibrinierten Kaninchenblutes mit der vier- bis fünffachen Menge 2 bis 3 Prozent. Agars. Eine vorhergehende Entfernung des Serums ist nicht erforderlich, da ihm keine die Hämolyse hemmende Eigenschaft zukommt. Die Hämolyse zeigt sich bekanntlich in Form eines hellen Hofes um die Kolonien, der dadurch entsteht, daß die Deckfarbe des Blutes in Lackfarbe übergeht. Im Gegensatz zu der langsamen Hämolyisinbildung in den Bouillonkulturen der Staphylokokken ist sie auf der Agarblutplatte nach 24 Stunden bei 37° häufig schon sehr deutlich bemerkbar.

Oppenheimer² stellte fest, daß die spezifischen Eigenschaften, welche Neisser und Wechsberg für das im Bouillonfiltrat sich vorfindende Staphylolysin ermittelt hatten, nämlich Inaktivierbarkeit und Neutralisierbarkeit mit spezifischem Antitoxin auch dem Hämolyisin zukommen, das sich auf Blutagarkulturen bildet und zwar soviel rascher als in Bouillon. Zum qualitativen Nachweis des Hämolyisin ist die Kaninchenblutagarmethode daher als völlig ausreichend zu betrachten und wegen ihrer bequemen Ausführbarkeit empfehlenswert. Koch, der diese Methode zuerst ausübte, schloß aus seinen Versuchen ebenso wie Neisser und Wechsberg, daß die Hämolyisinbildung nur den pathogenen Kokken zukomme, und daß deren Virulenz um so größer sei, je rascher und ausgiebiger die Lösung der Blutkörperchen erfolge.

Auch Noguchi³, der nach der Methode von Neisser und Wechsberg arbeitete, fand, daß nur die pathogenen Staphylokokken Hämolyisin bildeten, die saprophytischen Stämme dagegen nicht.

Dreyer und Notmann⁴ bedienen sich der Blutplattenmethode. Ihre pathogenen Stämme zeigten alle Hämolyisinbildung; unter den saprophytischen Arten waren einige mit Hämolyisinbildung, bei anderen fehlte sie.

¹ *Diese Zeitschrift*. 1908. Bd. I.VIII.

² *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1911. Abt. I. Bd. LIX.

³ *Archiv f. klin. Chirurgie*. 1911. Bd. XCVI.

⁴ *Beiträge zur klin. Chirurgie*. 1912. Bd. LXXX.

Axenfeld¹ gibt an, daß nicht selten auch die saprophytischen weißen Staphylokokken der Bindehaut hämolytisch sind.

Tierversuche: Von kleineren Versuchstieren wurden bei Staphylomykose hauptsächlich weiße Mäuse und Kaninchen benutzt, da Meer-schweinchen sich weniger geeignet erwiesen. Subkutane Impfung wurde bei Kaninchen am Ohr, bei Mäusen an beliebiger Stelle vorgenommen (Brunner² u. a.). Bei Mäusen ist diese Form des Tierversuches, wie wir aus eigener Erfahrung bestätigen konnten, unzuverlässig. Am Kaninchen-ohr treten auch bei Injektionen mit indifferenten Flüssigkeiten leicht Rötungen und Nekrosen auf; die Tiere kratzen sich, wenn Juckreiz vorhanden ist, so daß eine richtige Beurteilung dadurch oft unmöglich gemacht wird. Bei Mäusen wurde meist die intraperitoneale Impfung angewandt, und sie ist auch die zuverlässigste Art der Einverleibung. Intra-venös hat besonders J. Koch (a. a. O.) Kaninchen in größeren Versuchsreihen mit Staphylokokken geimpft und diese Form als Methode der Wahl zur Feststellung der Pathogenität bzw. Virulenz des Impfmateri-als warm empfohlen. Nach unserer Ansicht und Erfahrung (s. u.) ist die intravenöse Impfung nur dann völlig zuverlässig, wenn man mit hochvirulentem Material infiziert. Schon 0.5^{ccm} einer 25 stündigen Bouillonkultur von hochvirulenten Traubenkokken enthalten hinreichende Toxinmengen, um ein großes Kaninchen bei intravenöser Injektion innerhalb einiger Stunden zu töten. Bei weniger virulenten Kulturen kommt aber die antitoxische und bakterizide Wirkung des Blutes, die wir weder ausschalten noch berechnen können, stärker zur Geltung und läßt eine fehlerfreie Beurteilung nicht zu. Viel zuverlässiger erwies sich auch uns die von Dreyer auf dem Chirurgenkongreß in Berlin 1912 empfohlene Impfung in das Kniegelenk des Kaninchens. In der von dem Säftestrom des Körpers wenig berührten, luftabgeschlossenen Gelenkhöh- lung finden die Bakterien die besten Entwicklungsbedingungen. Technisch bietet der Eingriff keine Schwierigkeit. Nach Rasierung der Gelenkgegend und Abwaschung mit Alkohol wird die Injektionsflüssigkeit am besten vorn neben der großen Strecksehne eingespritzt. Je nach der Virulenz des bei der Einspritzung verwandten Materials stellen sich entweder schon in den ersten Tagen oder langsamer, nach 4 bis 6 Tagen, mitunter auch noch später die Symptome der Entzündung: Rötung, Schwellung und Schmerzhaftigkeit ein. Bei starkem Befallensein wird das intensiv geschwollene und auf Druck sehr schmerzhaft Knie fest an den Leib angezogen und das Bein nicht mehr benutzt; in leichteren Fällen sind alle Symptome schwächer

¹ *Bakteriologie in der Augenheilkunde.*

² *Erfahrungen und Studien über Wundinfektion und Wundbehandlung.* 1898.

ausgeprägt. Hat man beide Kniegelenke infiziert, so kann das Tier völlig bewegungsunfähig werden. Wenn es nicht getötet wird, geht es nach Tagen oder Wochen durch die Toxine oder infolge von Pyämie zugrunde.

Agglutination: Sie wurde zuerst von Nicolas und Lesien¹ in einem von Ziegen, durch Injektion von pathogenen Staphylokokken gewonnenen Antiserum beobachtet. Kolle und Otto,² welche die Agglutinine bei Traubenkokken eingehend studierten, fanden, daß ein mit pathogenen Staphylokokken durch intraperitoneale Injektion von Kaninchen gewonnenes Antiserum pathogene Traubenkokken stets, saprophytische dagegen nicht agglutinierte. Umgekehrt agglutinierte ein aus saprophytischen Staphylokokken hergestelltes Serum pathogene Traubenkokken nicht. Zu ähnlichen Resultaten gelangte Pröscher.³

Klopstock und Bockenheimer⁴, die mit einem schwächeren, aus pathogenen Kokken hergestellten Antiserum als Kolle und Otto arbeiteten, fanden, daß einige ihrer pathogenen Stämme von ihrem Serum schwer, andere gar nicht agglutiniert wurden.

Kutscher und Konrich⁵ konnten die Befunde von Kolle und Otto auch nicht im vollen Umfange bestätigen, indem ihr mit pathogenen Keimen hergestelltes Antiserum teilweise auch saprophytische Staphylokokken bis 1:100 agglutinierte. Ebenso wurden pathogene Kokken von einem mit saprophytischen Traubenkokken hergestellten Antiserum bis 1:200 agglutiniert.

Die genannten Autoren kommen aber alle zu dem Schluß, daß die Agglutination als eine wertvolle Methode zur Unterscheidung von pathogenen und apathogenen Staphylokokken zu betrachten sei.

Auch Dreyer und Notmann (a. a. O.) bestätigen dies. Sie untersuchten eine Reihe verschiedener, aus menschlichem Eiter stammender, Staphylokokkenstämme mit einem hochwertigen spezifischen Antiserum (Titer 6400) und konnten ziemlich hohe Agglutinabilität — der niedrigste Titer war 400 — feststellen. Eine größere Reihe von Staphylokokken, die sie aus reaktionslos verlaufenden Wunden züchteten, wurde von dem gleichen Serum nicht agglutiniert. Kniegelenkimpfung am Kaninchen bestätigte ihnen, daß die Keime nicht tierpathogen waren.

Noguchi (a. a. O.) teilt nach der Agglutination mit seinem hochwertigen, durch Einspritzung von pathogenen Staphylokokken erhaltenen,

¹ *Société de Biologie*. 1901. Ref. *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1902. Bd. XXXI.

² *Diese Zeitschrift*. 1902. Bd. XI.I.

³ *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1903. Bd. XXXIV. — *Deutsche med. Wochenschrift*. 1903. Nr. 11.

⁴ *Archiv f. klin. Chirurgie*. Bd. LXXII.

⁵ *Diese Zeitschrift*. Bd. XLVIII.

Serum (Titer 10 000) die Traubenkokken in pathogene und saprophytische ein. Er betrachtet auf Grund seiner sehr umfangreichen Untersuchungen die Stämme, welche von seinem Serum in mehr als 200facher Verdünnung agglutiniert wurden, als pathogene, solche, die nur bei einer geringeren als 100fachen Verdünnung reagierten, als saprophytische.

Veiel¹ und Beitzke² benutzten ebenfalls die Agglutination mit einem aus pathogenen Staphylokokken hergestellten Kaninchenantiserum zur Feststellung pathogener Traubenkokken.

J. Koch (a. a. O.) schließt auf Grund von Tierversuchen an Kaninchen, daß von den Agglutinationsverhältnissen Rückschlüsse auf die Virulenz der Staphylokokken nicht zu ziehen sind und glaubt der Hämolysinbildung mehr Bedeutung hierfür zusprechen zu sollen.

Klein³ fand, daß mittels eines durch abgetötete, menschenpathogene Staphylokokken hergestellten Serums eine Differenzierung der saprophytischen und pathogenen Arten durch die Agglutination möglich ist, während dies mit einem aus abgetöteten und lebenden pathogenen Traubenkokken hergestellten Serum nicht strikte gelang.

Komplementbindung: Ballner und Reibmayer⁴ konnten im spezifischen Antiserum von Ziegen keine komplementbindenden Antikörper gegen pathogene Staphylokokken nachweisen. Sie arbeiteten mit einem Extrakt, der aus einer abgetöteten und geschüttelten Aufschwemmung von pathogenen Traubenkokken hergestellt war.

Altmann und Blühdorn⁵ sahen Komplementbindung schon bei Verwendung von Serum, das nach nur dreimaliger intravenöser Injektion von abgetöteten pathogenen Staphylokokkenkulturen vom Kaninchen gewonnen war, auftreten. Als Antigen benutzten sie eine mit 8 prozent. Antiformin hergestellte Lösung von Traubenkokken, in der das Alkali durch 5 prozent. Schwefelsäure neutralisiert und das Chlor durch Natriumsulfit unschädlich gemacht war. Sie stellten sowohl mit pyogenen als auch mit saprophytischen Staphylokokken ein Antiserum her und fanden bezüglich der Komplementbindung ähnliche Verhältnisse, wie sie Kolle und Otto sowie Kutscher und Konrich für die Agglutination gefunden hatten. Das durch Injektion von pyogenen Staphylokokken gewonnene Serum zeigte mit dem Extrakt aus pyogenen Kokken komplementbindende Eigenschaft in stärkerer Verdünnung als mit dem aus saprophytischen Kokken hergestellten Extrakt. Analog verhielt sich das aus saprophytischen

¹ *Münchener med. Wochenschrift.* 1904.

² *Verhandl. der Deutschen Pathol. Gesellschaft.* Breslau, Sept. 1904.

³ *Dissertation.* Bern 1912. Ref. *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1912. Bd. I.I.

⁴ *Archiv f. Hygiene.* Bd. LXIV.

⁵ *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1910. Bd. LVII.

Staphylokokken hergestellte Antiserum. Die Komplementbindung trat hier intensiver bzw. in stärkerer Verdünnung mit dem spezifischen Antigen ein. Agglutinine zeigten die meisten der von Altmann und Blühdorn benutzten Seren nur in geringer Menge. Die Verfasser schließen daraus, daß die komplementbindenden Antikörper in dem Antiserum früher auftreten als die Agglutinine und daß das Auftreten der beiden Körper nicht parallel geht.

Präzipitation wurde bei Staphylokokken beobachtet von Nois, v. Eisler¹ u. a. Sie heben die Schwierigkeit, das Präzipitogen aus den Kokkenleibern zu gewinnen, hervor. Am besten scheinen sich noch Filtrate von alten Bouillonkulturen bewährt zu haben.

Die eigenen nachfolgend niedergelegten Untersuchungen zur Differenzierung der pathogenen und saprophytischen Traubenkokken erstrecken sich auf das mikroskopische und kulturelle Verhalten, auf Hämolysebildung, Agglutination, Präzipitation, Komplementbindung und Tierpathogenität. Die Leukozidinbildung wurde außer Betracht gelassen, da sie eine praktisch brauchbare, einfache Methode zur Differenzierung der Staphylokokkenarten uns nicht zu bieten schien.

Dem Entgegenkommen der chirurgischen Klinik verdanken wir das Material aus eitrigen Prozessen, woraus im ganzen 22 pyogene Staphylokokkenstämme gezüchtet wurden. Nur solche Keime, die in dem Eiter in Reinkultur sich vorfanden — also sicher als die Erreger der Entzündung zu betrachten waren — wurden zu den Versuchen ausgewählt. Ferner wurden von der menschlichen Haut und Schleimhaut und aus der Luft des Kaninchenstalles im ganzen 40 Stämme von Traubenkokken isoliert und zur Untersuchung herangezogen. Diese Stämme werden mit Rücksicht auf ihre Herkunft zunächst als Saprophyten schlechthin bezeichnet, im Gegensatz zu den obigen 22 Stämmen mit pathogener Herkunft.

Unter den Saprophyten fanden sich die Aureusstämme ganz erheblich in der Minderzahl gegenüber den Albusstämmen, so daß es erst in einer größeren Reihe von Plattenkulturen gelang, die gewünschte Anzahl von Aureuskeimen zur Isolierung zu gewinnen. Nur auf der Haut der menschlichen Hand und auch in der Stallluft waren sie verhältnismäßig zahlreicher als an den anderen erwähnten Stellen. Es wurde mit Absicht eine größere Zahl von Aureusstämmen ausgewählt, um gerade auch die saprophytisch wachsenden Aureusstämme auf Pathogenität zu prüfen. Von

¹ Kraus u. Levaditi, *Handbuch der Immunitätsforschung*.

den insgesamt 40 saprophytischen Keimen waren 21 weiße Traubenkokken und 19 zeigten eine mehr oder weniger gelbe Färbung. In der Tabelle II sind diese 19 Stämme alle als Aurei bezeichnet. Es wurden hierin auch diejenigen Arten eingereiht, die nur einen leicht gelblichen Farbstoff bildeten, und die von anderen nicht als typische Aureusarten angesehen, z. B. von Noguchi als Aureialbi (!) bezeichnet werden. Da bekanntlich die Intensität der Farbstoffbildung, je nach den Bedingungen, unter denen die Bakterien wachsen oder je nach den Nährböden, auf denen sie gezüchtet werden, schwankt, so kann eine so weitgehende Differenzierung nach der Farbennüance keinen Anspruch auf Exaktheit machen und erschien uns daher unzweckmäßig.

Die mikroskopische Untersuchung unserer Staphylokokkenstämme ergab keine neuen Gesichtspunkte. Unter den Saprophyten fanden sich einzelne Arten, die sich durch ihre Größe von den anderen unterschieden. Die Mehrzahl hatte das gleiche Aussehen wie die durchweg der kleinen Form angehörenden pathogenen Keime. Im Verhalten zu Farbstoffen zeigten sich auch keine Unterschiede. Nach Gram waren alle Stämme färbbar.

Kultur: Unter den 22 pathogenen Stämmen waren 21 Aureus- und 1 Albusart. Einige bildeten erst nach längerem Stehen am Licht den gelben Farbstoff, so z. B. ein aus Eiter von einem alten Pleuraempyem gezüchteter Stamm erst bei der zweiten Übertragung. In anaerober Kultur blieb die Farbstoffbildung aus; die Fähigkeit hierzu erhielt sich aber trotzdem sehr lange. Auch nach vierwöchentlicher Kultur unter Sauerstoffabschluß trat wieder Farbstoffbildung auf, wenn aerob gezüchtet wurde. Mutationen wurden gelegentlich beobachtet. Sowohl bei alten Schrägagarkulturen von *Staphylococcus aureus*, wie auch bei Wiederzüchtung aus dem Herzblut von Mäusen, die mit einem Aureusstamm infiziert waren, wurden bei Aussaat auf Agarplatte vereinzelt eine oder mehrere weiß wachsende Kolonien gesehen. Eine Verunreinigung glauben wir sicher ausschließen zu können.

Das jeweilige Verhalten der pathogenen und saprophytischen Keime in Gelatinestichkultur und auf Kaninchenblutagar ist weiter unten gesondert angeführt. Von sonstigen Nährböden wurden Löfflerserum, Traubenzuckeragar, Traubenzucker-, Malzzucker-, Lävulose-, Saccharose-, Mannit-, Lackmuslösung, Neutralrottraubenzuckeragar und Lackmusmolke zur Untersuchung herangezogen. Es wurden hierzu zunächst aus den Saprophyten drei solche Stämme (Tabelle II, Nr. 7, 14, 28) ausgewählt, die bei den Versuchen auf Agglutinabilität und Hämolysebildung (s. u.) negativ reagiert hatten, und die auch durch Tier-

versuch als apathogene erkannt waren. Das Verhalten der pathogenen und saprophytischen Arten auf den genannten Nährböden bot keine bemerkenswerten Verschiedenheiten, ausgenommen in der Lackmusmolke. Während die pathogenen Stämme (Tabelle I, Nr. 4, 12, 13) diesen Nährboden nicht veränderten, bzw. nur Spuren von Säure bildeten, stellte sich bei den erwähnten drei saprophytischen Stämmen vom ersten Tage ab eine Rotfärbung ein, die schon nach 48 Stunden ausgesprochen war und blieb. Um dies verschiedene Verhalten weiter zu prüfen, wurden noch 14 pathogene und 21 saprophytische Stämme — letztere waren durch Agglutinationsverfahren (s.u.) als solche festgestellt — in Lackmusmolke verimpft mit folgendem Ergebnis:

Von den 14 pathogenen Traubenkokken ließen 2 Stämme die Molke ganz unverändert, 5 zeigten schwache, 1 etwas stärkere Rötung. Bläuung trat bei 4 Stämmen ganz schwach, bei 2 etwas stärker auf.

Von den 21 Saprophyten zeigten 5 geringe, 9 sehr intensive Rötung und 7 ausgesprochene Bläuung der Lackmusmolke.

Während also die pathogenen Stämme sich der Molke gegenüber beinahe indifferent verhielten, wurde bei den Saprophyten ein erheblich ausgesprochener Ausschlag und zwar sowohl nach der Seite der Säure- wie der Alkalibildung beobachtet. Traubenkokken, die in Lackmusmolke stark Säure oder Alkali bilden, sind hiernach mit Wahrscheinlichkeit als Saprophyten anzusehen. Die Alkalibildner gehörten fast ausnahmslos den großen Formen an, während die kleineren saprophytischen Traubenkokken meist stark Säure bildeten.

Das Verhalten der pathogenen und der saprophytischen Kokkenarten im Gelatinestich, auf Kaninchenblutagar und bei Agglutination mit einem aus pathogenen Staphylokokken hergestellten Serum ist in den Tabellen I und II niedergelegt.

Zur Gewinnung des Antiserums wurden Staphylokokken, die aus Eiter, in dem sich die Keime in Reinkultur vorfanden, auf Schrägagar frisch gezüchtet waren, verwandt. Von der Gewinnung eines Antiserums durch Injektion saprophytischer Traubenkokken wurde abgesehen. Die bislang mit einem solchen Serum erzielten Resultate (man vergleiche die oben erwähnten Arbeiten) sind vielfach schlecht, wie es auch nicht anders zu erwarten war, da es sich bei den saprophytischen Traubenkokken nicht um eine einheitliche, sondern um mehrere, von einander verschiedene Arten handelt.

Da man bei den Traubenkokken ebenso, wie bei den Typhusbazillen mit einer weitgehenden Verschiedenheit der Agglutininbildung auslösenden Rezeptoren rechnen muß, wurden die Kaninchen alle mit mehreren verschiedenen Stämmen geimpft. Wir durften hoffen, in einem polyvalenten Serum Agglutinine für die größere Zahl der Keime zu erzielen

Tabelle I.

Keime aus menschlichen Eiterungen.

(Da die Herkunft des Eiters nicht immer zu ermitteln war, wurde von der Notierung derselben ganz abgesehen.)

Nummer	Bezeichnung	Farbstoffbildung	Gelatineverflüssigung innerhalb 8 Tagen	Hämolyse auf Kaninchenblutagar nach 24 Stunden	Agglutinations-titer (Serum 59, Titer 12800)	Kontrolle: Normalserum von Kaninchen 1:100	Kontrolle: Kochsalz
1	A	aureus	+	+	1 600	negativ	negativ
2	B	„	+	+	12 800	„	„
3	D	„	+	+	1 600	„	„
4	E	„	+	+	6 400	„	„
5	G	„	+	schwach	3 200	„	„
6	H	„	+	+	3 200	„	„
7	K	„	+	+	12 800	positiv	„
8	L	„	sehr schwach	+	3 200	negativ	„
9	M	albus	+	+	3 200	„	„
10	N	aureus	+	+	12 800	Spur positiv	„
11	O	„	+	+	6 400	negativ	„
12	P	„	+	+	12 800	positiv	„
13	Q	„	+	+	12 800	negativ	„
14	R	„	+	schwach	6 400	„	„
15	S	„	+	+	12 800	„	„
16	T	„	+	+	3 200	„	„
17	V	„	sehr schwach	+	1 600	„	„
18	W	„	+	+	800	„	„
19	X	„	sehr schwach	schwach	800	„	„
20	Y	„	+	+	1 600	„	„
21	Z	„	+	+	3 200	—	„
22	α	„	+	—	3 200	—	„

Zur Herstellung der Vaccine wurden die auf großen Petrischalen gewachsenen 24 stündigen Kulturen mit etwa 10^{ccm} physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, dann zum Zwecke feiner Verteilung mit sterilen Glasperlen gründlich geschüttelt und endlich durch steriles Fließpapier filtriert, um etwa mitgeschwemmte Agarteilchen abzuscheiden. Die Aufschwemmung wurde 1 Stunde lang bei 60° im Wasserbade zum Zwecke der Abtötung gehalten. Nicht immer wurden so alle Keime vernichtet, was durch Verimpfen einiger Ösen in Bouillon und auf Schrägagar festgestellt wurde. In solchem Falle wurde die Erhitzung 1/2 Stunde lang wiederholt. Auf diese Weise wurde auch bei sehr dichten Aufschwemmungen stets

19*

völlige Abtötung erzielt. Diese Vaccine hielt sich im Eisschrank wochenlang steril. Die Impfungen wurden in die Ohrvene vorgenommen, mit ganz kleinen Dosen beginnend, zunächst 4 Tage nacheinander, dann alle 6 bis 8 Tage unter allmählicher Erhöhung der Einzeldosis bis auf 10^{10} . Es wurden fünf Kaninchen so behandelt, ohne daß wir eines der Tiere verloren. Sie gingen wohl bei zeitweise geringerer Freßlust und mehr oder weniger struppigem Aussehen in der Ernährung etwas zurück, erkrankten aber nicht ernstlich. Abszesse am Ohr in der Umgebung der Injektionsstelle wurden mehrfach beobachtet. Der hiervon entnommene Eiter erwies sich in der Kultur als keimfrei. Nach 6 bis 10 Wochen hatten drei der Tiere einen hohen Agglutinationstiter, einmal wurden 6400 (Serum 54), zweimal 12800 (Serum 38 und 59) gegen einen der zur Injektion benutzten Stämme erzielt.

Zur Agglutination wurde die Blockschälchenmethode nach Pröscher gewählt. Die Beurteilung erfolgte mit unbewaffnetem Auge oder mit der Lupe. In zweifelhaften Fällen wurde die schwache Vergrößerung des Mikroskops zur Hilfe genommen; die Kochsalzkontrolle wurde stets mit dem Mikroskop nachgeprüft. Bei vergleichenden Versuchen, von denen wir mehrere Reihen anstellten, zeigte sich die Blockschälchenmethode der Agglutination im Reagensglase überlegen. Sie ist einfacher in der Ausführung, da das jeweilige Verreiben am Rande eines jeden Gläschens wegfällt; die Mischung der Bakterienaufschwemmung mit der Serumverdünnung mit Hilfe der Pipette ist eine gründlichere, und vor allem ist die Beurteilung der Agglutination eine leichtere und sichere. Auch tritt bei dem Blockschälchenverfahren die Reaktion schneller ein. Wir untersuchten nach 2 stündigem Verweilen der Schälchen im Brutschrank, meist aber war die Agglutination auch bei starker Verdünnung schon vorher eingetreten. Noguchi (a. a. O.), der die Agglutination nach Kolle im Reagensglas vornahm, fand, daß bei einer Verdünnung von 1:5000 bis 1:10000 (letzteres war der Höchstititer seines Serums) die Reaktion innerhalb von 6 Stunden bei 37° kaum bemerkbar war. Er fertigte daher seine Tabellen auf Grund der Resultate nach 12 Stunden. Die Pröschersche Blockschälchenmethode ist auch von anderer Seite (Veiel a. a. O., Amberger und Shiga)¹ als die bessere bezeichnet worden.

Zur Agglutination wurden Kochsalzaufschwemmungen von Agarkulturen der Traubenkokken verwandt und zwar in einer Dichtigkeit, daß sie eine leicht milchige Trübung zeigten. Kulturen, die sich schlecht in Kochsalz verreiben ließen, indem sie dort Klümpchen bildeten — ältere Kulturen zeigen diese Erscheinung häufiger — konnten oft durch Erwärmung oder Schütteln

¹ *Handbuch* von Kolle und Wassermann.

Tabelle II. Saprophytische Keime.

Nummer	Bezeichnung nach der Herkunft	Farbstoffbildung	Gelatineverflüssigung innerhalb von 8 Tagen	Hämolyse auf Kaninchenblutagar nach 24 u. 48 Std.	Agglutinationstiter (Serum 59, Titer 12 800)	Kontrolle: Normalserum 1 : 40	Kontrolle: Kochsalz
1	Haut 1	aureus	+	+	3200	positiv (Titer 160)	negativ
2	" 2	"	+	+	3200	positiv (Titer 160)	"
3	" 3	albus	+	—	0	negativ	"
4	" 4	"	—	—	0	"	"
5	" 5	"	+	+	400	"	"
6	" 6	"	+	sehr schwach	0	"	"
7	Nase 1	"	—	—	0	"	"
8	" 2	"	—	—	0	"	"
9	Luft 1	"	+	+	160	"	"
10	" 2	"	—	+	160	"	"
11	" 3	aureus	+	+	3200	"	"
12	" 4	albus	+	—	160	"	"
13	" 5	aureus	+	—	40	"	"
14	" 6	"	+	—	0	"	"
15	" 7	albus	+	—	160	"	"
16	Haare 1	aureus	+	+	0	"	"
17	Luft 8	"	+	+	1600	"	"
18	" 9	albus	+	—	0	"	"
19	" 10	"	sehr schwach	—	400	"	"
20	" 11	aureus	+	+	6400	"	"
21	" 12	"	+	—	3200	"	"
22	" 13	"	+	—	1600	"	"
23	" 14	"	+	—	160	"	"
24	" 15	albus	+	+	160	"	"
25	" 16	"	+	—	400	"	"
26	" 17	"	+	—	400	"	"
27	" 18	"	+	—	0	"	"
28	" 19	aureus	+	—	0	"	"
29	" 20	"	+	—	400	"	"
30	Haut 9	"	+	—	400	"	"
31	" 10	"	+	+	800	"	"
32	" 12	albus	+	—	800	"	"
33	" 13	"	+	—	400	"	"
34	" 14	"	+	—	0	"	"
35	" 15	aureus	—	—	0	"	"
36	" 16	"	+	—	160	"	"
37	" 17	"	—	+	40	"	"
38	" 18	"	—	—	0	"	"
39	" 19	albus	+	+	160	"	"
40	" 20	"	—	+	160	"	"
				sehr schwach			
				sehr schwach			

brauchbar gemacht werden. Die Neigung zur Klümpchenbildung fand sich bei den Saprophyten häufiger als bei den pathogenen Traubenkokken. Kontrollen wurden mit Kochsalz, sowie mit Kaninchennormalserum angesetzt. Von letzterem wurde anfänglich die Verdünnung von 1:40 gewählt. Als sich aber herausstellte, daß ein größerer Teil der pathogenen Kokken von dem Normalserum in dieser Verdünnung agglutiniert wurde, nahmen wir für die pathogenen Kokken die Verdünnung 1:100. Auch hierbei zeigten noch zwei pathogene Keime (Nr. 7 und 12 der Tabelle I) Agglutination. Bei der Austitrierung ergab sich für beide 1:200 als Endtiter. Auch Noguchi beobachtete Agglutination pathogener Staphylokokken durch normales Kaninchenserum vereinzelt bis zur Verdünnung von 1:200. Von unseren saprophytischen Keimen wurden nur zwei höher als 1:40 und zwar 1:160 von dem Normalserum agglutiniert. Sie erwiesen sich beide als pathogen.

Normales Kaninchenserum zeigt also häufig eine nicht unbeträchtliche Menge von Agglutininen gegenüber pathogenen Staphylokokken, während es die saprophytischen schon in Verdünnung von 1:40 nicht mehr agglutiniert.

Zu Tabelle I (pathogene Keime) bemerken wir folgendes:

Gelatineverflüssigung zeigten alle pathogene Keime. Nach 8 Tagen war nur in 3 Röhrchen die Verflüssigungszone noch sehr klein, nach 8 Wochen fast überall eine totale. Staphylolysin bildeten alle Kulturen. Bei einem der Stämme zeigte sich die Hämolyse erst nach 48, bei den andern schon nach 24 Stunden. Alle pathogenen Keime wurden noch in starker Verdünnung agglutiniert; als niedrigster Titer fand sich 800 (zweimal), als höchster 12 800 (sechsmal). Der Durchschnittstiter der 22 Stämme war 6000.

Zu Tabelle II (saprophytische Keime) erwähnen wir:

Der Beginn der Gelatineverflüssigung zeigte sich in den meisten Röhrchen schon in den ersten 8 Tagen. Einige der Kokkenstämme erwiesen sich als rasche Verflüssiger — unter ihnen hauptsächlich diejenigen, welche sich später als pathogen herausstellten —, die meisten verflüssigten aber viel langsamer als die pathogenen Keime der Tabelle I. Nach Verlauf von 2 Monaten war in allen Röhrchen eine mehr oder weniger starke Auflösung der Gelatine aufgetreten.

Hämolyse bildeten von unsern 40 saprophytischen Keimen 14, d. i. 35 Prozent innerhalb der ersten beiden Tage, die meisten davon schon nach 24 Stunden. Nach Abschluß der in Tabelle II niedergelegten Versuche wurde die Staphylolysinbildung auf Kaninchenblutagar bei weiteren

28 von der menschlichen Haut, und zwar der Umgebung der Vagina gezüchteten Staphylokokken während 4 aufeinander folgender Tage geprüft. Von diesen 28 Stämmen zeigten Hämolyse:

Am Ende des 1. Tages im ganzen	3	Stämme
„ „ „ 2. „ „ „	5	„
„ „ „ 3. „ „ „	13	„
„ „ „ 4. „ „ „	16	„

Die Mehrzahl der saprophytisch wachsenden Traubenkokken produziert also ein Staphylolysin, wenn auch meist langsamer und in erheblich schwächerem Maße als die pathogenen Arten.

Agglutination: Von den 40 saprophytischen Keimen wurden bei einer Verdünnung von 1:40 des hochwertigen Serums 13 Keime oder 32.5 Prozent gar nicht agglutiniert. Einen verhältnismäßig niedrigen Titer bis zu 400 zeigten weitere 18 Keime, d. i. 45 Prozent. Einen höheren Titer von 800 ab — es ist dies der bei den pathogenen Keimen festgestellte unterste Grenzwert der Agglutination —, zeigten 9 Stämme oder 22.5 Prozent der Gesamtmenge.

Die 13 Keime, welche gar nicht agglutiniert wurden, konnten wir mit Bestimmtheit als Saprophyten bezeichnen, und analog — wenn anders wir an eine Spezifität der Agglutinationsreaktion glauben — die letzterwähnten 9 Stämme mit einem Titer von 800 und darüber als pathogen ansehen.

Zur Klassifizierung der restlichen 18 Keime mit relativ niederem Agglutinationstiter (1:40 bis 1:400) bemerken wir: Nach Analogie der Beobachtung über die Mitagglutination verwandter Keime bei der Widalreaktion nehmen wir an, daß nur die Agglutination bei stärkerer Verdünnung als artspezifisch anzusehen ist. Da wir bei unseren pathogenen Keimen (Tabelle I) als unteren Grenzwert den Agglutinationstiter 800 fanden, ergibt sich für uns die Wahrscheinlichkeit, daß die Stämme, welche einen erheblich niedrigeren Agglutinationstiter aufweisen, nicht zu den pathogenen gehören. Vielleicht kann man sie als auf der Grenze nach den pathogenen Arten zu stehend bezeichnen, wenn man solche Formen überhaupt annehmen will (vgl. auch Tierversuche). Wenn wir aber sehen, daß von spezifischem, hochwertigem Typhusserum auch Paratyphus- und selbst Kolibazillen in Verdünnung bis zu 400 oder ev. auch höher agglutiniert werden, so spricht dies dafür, daß auch bei der Staphylokokkenagglutination mit hochwertigem Antiserum nur solche Reaktionen als spezifische zu bezeichnen sind, welche auch in hoher Verdünnung noch auftreten. Von andern Untersuchern ist die Mitagglutination besonders von Noguchi studiert worden, der solche

bei seinen mehr als 100 saprophytischen Keimen meist bis zum Titer 1:100 beobachtete. Wenn wir bei unseren Untersuchungen einen nur bis zur Verdünnung 1:400 positiven Ausfall der Agglutination noch nicht als spezifische Reaktion ansehen, so geschieht dies im Hinblick darauf, daß unser Serum sicher pathogene Keime stets noch in Verdünnung 1:800 agglutinierte. Die verhältnismäßig hohe Mitagglutination saprophytischer Keime, welche wir beachteten, erklärt sich leicht aus zwei Momenten: erstens der Hochwertigkeit und Polyvalenz unseres Serums und zweitens aus der Wahl der Blockschälchenmethode, welche eine feinere Beobachtung als das meist bisher geübte Reagensglasverfahren gewährt.

Sehen wir Tabelle II auf das Verhalten der Aureus- und Albusarten gesondert an, so ergibt sich folgendes Bild:

Von den 19 Aureusstämmen saprophytischer Herkunft zeigten 8, d. i. 42 Prozent, und von 21 Albusstämmen 1, d. i. 4.8 Prozent, hohen Agglutinationstiter, und waren demnach als pathogen zu bezeichnen. 7 dieser Keime wurden auch im Tierversuch (s. unten) auf Pathogenität geprüft mit positivem Ergebnis.

Es wurde oben schon darauf hingewiesen, wie verhältnismäßig gering die Zahl der Aureuskeime unter den saprophytischen Staphylokokken ist. Auf vielen der Platten, die mit Abstrichen von der menschlichen Haut beschickt wurden, war oft unter einer Menge von Albuskeimen nicht eine einzige Aureuskolonie gewachsen. Der Prozentsatz der pathogenen Traubenkokken auf der Haut des Menschen ist daher als ein relativ recht geringer zu bezeichnen und dürfte die von uns für die pathogenen Albusstämme gefundene Ziffer von 5 Prozent kaum übersteigen. Auf der Haut der menschlichen Hand waren die pathogenen Aureuskeime verhältnismäßig am zahlreichsten, an den durch die Kleidung bedeckten Körperstellen waren sie viel seltener. So fand sich — bei Gelegenheit anderweitiger Untersuchungen, die hier nicht tabellarisch angefügt sind — auf 16 Agarplatten, die mit Abstrichen von der Haut der Vulva von 4 verschiedenen Patientinnen geimpft waren, unter vielen Hunderten von Albuskolonien nicht ein einziger Aureuskeim. Wir untersuchten 60 dieser Albuskolonien mittels des Agglutinationsverfahrens auf Pathogenität und zwar mit negativem Ergebnis.

Zur Prüfung des durch die Agglutination gewonnenen Ergebnisses auf seine Richtigkeit wurde das Tierexperiment herangezogen.

Es sollte uns zugleich weitere Aufschlüsse über den vergleichenden Wert der Hämolyseprüfung gegenüber der Agglutination zur Differenzierung der pathogenen und saprophytischen Traubenkokken bringen. Denn Staphylolysinbildung und Agglutinabilität gehen bei den einzelnen Keimen wie die Tabellen zeigen nicht immer parallel, sondern zeigen des öfteren ein durchaus entgegengesetztes Verhalten.

Als Versuchstiere wurden weiße Mäuse und Kaninchen benutzt. Erstere werden von manchen Autoren (Kolle u. a.) für ungeeignet gehalten, weil ihre Empfindlichkeit gegenüber dem Staphylokokkengift zu verschieden sei. Auch nach unseren Erfahrungen ist die Mausimpfung nicht sehr zuverlässig, dagegen bewährte sich das Kaninchen im Experiment durchaus. Die Mäuse wurden intraperitoneal geimpft, die Kaninchen ins Kniegelenk, nur in drei Fällen vergleichsweise intravenös.

Zur Impfung wurden aus unseren Staphylokokkenstämmen eine Anzahl ausgewählt und in folgende Gruppen eingeteilt:

1. Pathogene, aus menschlichem Eiter stammende Traubenkokken (7 verschiedene Stämme).
2. Saprophytische Keime.
 - a) Keime, die weder Hämolyse noch Agglutination zeigten (12 Stämme).
 - b) Keime mit hohem Agglutinationstiter (über 800) und Hämolysinbildung (4 Stämme).
 - c) Keime mit hohem Agglutinationstiter (über 800), aber ohne Hämolysinbildung (3 Stämme).
 - d) Keime mit niederem Agglutinationstiter (bis 400), teils mit, teils ohne Hämolysinbildung (8 Stämme, davon 4 hämolytisch, 4 nichthämolytisch).

Resultate der Tierimpfungen.

A. Mäuse (intraperitoneale Impfung).

1. Keime aus menschlichen Eiterungen (Tabelle I).

Es wurden 8 Mäuse mit den 4 Stämmen Nr. 1, 2, 4, 7 der Tabelle I geimpft und zwar:

2 Mäuse mit je 1.0 ^{ccm} ein. 48st. Bouillonkult. v. Nr. 1 bzw. 2 d. Tab. I. Result. † ¹	
2	" " " 0.5 " " 48 " " " 1 " 2 " " I. " †
2	" " " 0.5 " " 24 " " " 3 " 4 " " I. " †
2	" " " 0.2 " " 24 " " " 1 " 3 " " I. " leben

2. Keime von der menschlichen Haut, Schleimhaut und aus der Luft (Tabelle II).

a) Stämme, die weder Agglutination noch Hämolyse zeigten:

Impfung von 12 Mäusen. Je eine Maus wurde mit je 1.0^{ccm} einer 48st. Bouillonkultur eines der Keime Nr. 3, 4, 6, 7, 8, 14, 18, 27, 28, 34, 35, 38 der Tabelle II geimpft.

Resultat: 11 Mäuse leben, 1 Maus an Peritonitis nach Darmverletzung verendet.

¹ † = verendet.

b) Stämme, die hohen Agglutinationstiter und Hämolyse zeigten:

Impfung von 9 Mäusen mit 4 Keimen (Nr. 1, 2, 11, 20 der Tab. II), und zwar:
 3 M. m. je 1·0^{ccm} ein. 48 st. Bouillonkult. v. Nr. 1 bzw. 2 bzw. 11 d. T. II. Result. †
 3 „ „ „ 0·5 „ „ 24 „ „ „ „ 2 „ 11 „ 20 „ „ II. „ †
 3 „ „ „ 0·2 „ „ 24 „ „ „ „ 2 „ 11 „ 20 „ „ II. „ 2†, 11

c) Stämme, die hohen Agglutinationstiter, aber keine oder nur sehr schwache Hämolyse zeigten:

Impfung von 5 Mäusen mit 3 Keimen (Nr. 17, 21, 22 der Tab. II), und zwar:
 2 M. m. je 1·0^{ccm} einer 48 st. Bouillonkult. v. Nr. 17 bzw. 21 d. Tab. II. Result. †
 2 „ „ „ 0·5 „ „ 24 „ „ „ „ 17 „ 22 „ „ II. „ †
 1 „ „ „ 0·2 „ „ 24 „ „ „ „ 22 „ „ „ II. „ †

d) Stämme, die niedrigen Agglutinationstiter (bis 400 einschließlich) zeigten:

Es wurden 16 Mäuse mit 8 Kulturen (Nr. 5, 10, 13, 15, 19, 36, 37, 40 der Tabelle II) geimpft. Zwei der Stämme hatten einen Agglutinationstiter von 40, zwei weitere von 400 und vier Stämme einen solchen von 160.

Von einer Serie von 8 Mäusen erhielt je eine Maus 0·5^{ccm}, von einer weiteren Serie von 8 Mäusen jede Maus 0·2^{ccm} einer 48 st. Bouillonkultur von einem der obigen Stämme.

Resultat: alle Mäuse lebten.

B. Kniegelenkimpfung an Kaninchen.

Mit jedem der unten bezeichneten Stämme wurde ein Kniegelenk geimpft. Meist wurde nur in eines der Kniegelenke des Kaninchens injiziert. Nur bei einigen der Keime, bei denen nach dem Resultate der Mausimpfung keine oder höchstens eine schwache Reaktion zu erwarten war, wurden, um Tiere zu sparen, beide Gelenke benutzt.

1. Impfung mit 3 Keimen aus menschlichen Eiterungen (Nr 1, 4, 12 der Tabelle I).

Dosis: 0·3^{ccm} einer 24 st. Bouillonkultur.

Resultat: alle drei Impfungen positiv.

2. Impfung mit saprophytischen Traubenkokken (Tabelle II).

a) Impfung mit 12 Keimen, die weder Agglutination noch Hämolyse zeigten (Stämme wie unter A. 2a).

Dosis: 0·5^{ccm} einer 24 stündigen Bouillonkultur.

Resultat: in allen 12 Fällen negativ.

b) Impfung mit 3 Keimen, die hohen Agglutinationstiter und Hämolyse zeigten (Nr. 1, 2, 11 der Tabelle II).

Dosis: 0·3^{ccm} einer 24 stündigen Bouillonkultur.

Resultat: alle 3 Fälle positiv.

c) Impfung mit 3 Keimen, die hohen Agglutinationstiter, aber keine oder nur sehr schwache Hämolyse zeigten (Nr. 17, 21, 22 der Tabelle II).

Dosis: 0.3^{ccm} einer 24stündigen Bouillonkultur,
 Resultat: in 2 Fällen positiv; in 1 Fall (Keim 21) negativ.

d) Impfung mit 9 Stämmen, die niedrigen Agglutinationstiter teils mit, teils ohne Hämolyse zeigten (Nr. 5, 10, 13 der Tabelle II; ferner 6 Keime, bezeichnet mit 1d, 1f, 1h, 1i, 2b, 2d, die in den Tabellen nicht aufgeführt sind, da sie aus anderen Versuchen stammen). Die Agglutinationstiter der 9 Keime lagen zwischen 40 und 400.

Dosis: 0.3^{ccm} einer 24stündigen Bouillonkultur.
 Resultat: in 6 Fällen negativ, in 3 Fällen (Keime 1f, 1d, 2d) schwach positiv.

C. Intravenöse Impfung von Kaninchen.

1. Impfung mit 2.0^{ccm} einer 24stündigen Bouillonkultur des Luftkeimes L 12 (Tabelle II), der hohen Agglutinationstiter aber keine Hämolyse innerhalb 48 Stunden gezeigt hatte.

Resultat: Tod innerhalb 24 Stunden. Im Blut, Urin, Exsudat von Pleura und Peritoneum massenhaft Staphylokokken.

2. Impfung mit 2.0^{ccm} einer 24stündigen Bouillonkultur von dem Stamm L 6 (Tabelle II), der weder Agglutination noch Hämolyse gezeigt hatte.

Resultat: Das Tier blieb völlig gesund, zeigte keinerlei Krankheitserscheinungen.

Zur vergleichenden Bewertung der Kniegelenkimpfung mit der intravenösen Impfung wurde mit dem Keim 1d, der eine leichte Gelenkentzündung mit Eiterbildung hervorgerufen hatte (s. o.), ein Kaninchen intravenös geimpft und zwar mit 2^{ccm} einer 3tägigen Bouillonkultur. Das Tier blieb völlig gesund. Es spricht dieser Versuch für die größere Empfindlichkeit der Kniegelenkprobe und für unsere theoretischen Erwägungen auf S. 285. Von weiteren derartigen Versuchen wurde daher abgesehen.

Unsere Tierversuche bestätigten durchweg die Ergebnisse der Agglutinationsreaktion mit dem aus pathogenen Traubenkokken hergestellten Serum. Alle hochagglutinablen Keime erwiesen sich als pathogene, alle nicht agglutinablen als saprophytische. Auf die schwach agglutinablen Keime reagierten Mäuse gar nicht, Kaninchen nur in 3 von 9 Fällen, und da nur leicht. Die Möglichkeit, daß es sich in diesen 3 Fällen um eine sekundäre Infektion handelte, lehnen wir als sehr unwahrscheinlich ab. Berechtigter erscheint uns die Annahme, daß eine ganz minimale kaum in Betracht kommende Pathogenität auch bei diesen Arten noch praktisch

besteht bzw. sich unter besonders günstigen Umständen — Eindringen einer großen Menge von Keimen an einer Stelle, die einen guten Nährboden darbietet, und wo die Schutzkräfte des befallenen Organismus nicht voll zur Geltung kommen — entwickeln kann. Des Interesses wegen, welches diese 3 Fälle beanspruchen können, da man sie gewissermaßen als eine Pathogenwerdung saprophytischer Keime ansehen kann, führen wir die Protokolle ausführlich an.

Kaninchen dunkelgrau.

26. IV. Rechtes Kniegelenk geimpft mit Keim 1 f, Agglutinationstiter 40. Hämolyse positiv.

Linkes Kniegelenk geimpft mit Keim 1 d, Agglutinationstiter 40. Hämolyse negativ.

Dosis jeweils 0.3^{ccm} einer 24 stündigen Bouillonkultur.

27. IV. bis 1. V. Keine merkbaren Veränderungen der Gelenke.

2. V. An beiden Hinterbeinen etwas Steifigkeit, geringe Schwellung und Druckempfindlichkeit beider Kniegelenke.

18. V. Steifigkeit etwas geringer; beide Gelenke, besonders das rechte, noch verdickt.

24. V. Entblutet. In beiden Kniegelenken findet sich eine geringe Menge dünnflüssigen, gelbgrünen Eiters (bei den anderen Fällen war der Eiter stets dickrahmig und weißlich). Beide Gelenke stark entzündlich verändert. Bauch- und Brustorgane gesund. Keine Schwellung der Drüsen in den Schenkelbeugen. Im Eiter mikroskopisch vereinzelte Kokken. Je zwei mit dem Eiter aus einem Gelenk beschickte Agarröhrchen blieben steril.

Kaninchen Nr. 65.

30. IV. Impfung Kniegelenk links. Keim 1 h, Agglutinationstiter 160. Hämolyse positiv.

Impfung Kniegelenk rechts. Keim 2 d, Agglutinationstiter 160. Hämolyse positiv.

Dosis 0.3^{ccm} einer 24 stündigen Bouillonkultur.

2. V. Rechts etwas Steifigkeit und geringe Schwellung im Gelenk; links normal.

4. V. Befund derselbe.

6. V. „ „

8. V. „ „

18. V. Die Steifigkeit hat abgenommen; das Bein wird wieder benutzt. Es ist aber noch Schwellung zurückgeblieben.

Zum Vergleich sei der Verlauf der Erkrankung bei Impfung mit einem pathogenen Keim hierunter angeführt. Dieser erwies sich, obwohl er schon über 3 Monate auf Agar gezüchtet war, nach Übertragung in Bouillon noch ziemlich virulent.

Kaninchen Nr. 35.

23. V. Impfung in beide Kniegelenke mit dem aus Eiter am 7. II. gezüchteten Keim Q. Agglutinationstiter 12800, Hämolyse positiv.

Dosis 0.3^{ccm} einer 24 stündigen Bouillonkultur.

25. V. Beide Hinterbeine werden nachgeschleppt. Kniegelenke geschwollen und druckempfindlich. Das Tier fiebert und macht schwerkranken Eindruck.

27. V. Die Beine werden wieder etwas gebraucht. Punktion des rechten Kniegelenkes ergibt nur etwas gelbliche Flüssigkeit. Eine Schrägagarkultur, mit einer Öse voll der Punktionsflüssigkeit beschickt, bleibt steril.

30. V. Beide Kniegelenke enorm geschwollen. Das schwerkranke Tier wird getötet. Sektionsbefund: Beide Kniegelenke vereitert. Eiter dick, rahmig, weißlich. Brust- und Bauchhöhle: Blutungen in der Pleura und im Perikard. Trübe Schwellung und Hyperämie der Leber, Milz und besonders der Nieren.

Präcipitine: Auf Präcipitingehalt untersuchten wir 5 Sera: unsere 3 agglutininreichen Sera Nr. 54, 59 und 38, ferner Serum 36, das nach nur 2 Injektionen mit abgetöteten pathogenen Staphylokokken gewonnen und an Agglutinin noch arm war (Titer gegen eigenen Stamm 320); endlich Serum 50 von einem Kaninchen, das mit sicher saprophytischen Traubenkokken geimpft war. Als Antigene wurden benutzt:

1. Ein Digerät aus pathogenen Staphylokokken mit 1 Prozent Kalilauge, das etwa 6 Stunden lang gekocht war (Antigen 1).
2. Eine Auflösung von pathogenen Staphylokokken in 8 Prozent Antiformin nach Angabe von Altmann (s. o.) (Antigen 2).
3. Eine 2 Monate alte Bouillonkultur von pathogenen Staphylokokken (Antigen 3).
4. Eine 1 Monat alte Bouillonkultur von saprophytischen Staphylokokken (die ältere Kultur war unbrauchbar geworden)¹ (Antigen 6).

Die Versuchsanordnung war so, daß das Antigen in den Verdünnungen 1:2, 1:10, 1:20, 1:50, 1:100, 1:1000, mit 0.1^{ccm} des betreffenden Serums in schmalen Reagensgläsern unterschichtet wurde. Als Kontrollen wurden angelegt: Kochsalz + Immunserum, ferner Antigenverdünnung 1:10 und 1:100 + normales Kaninchenserum. Die Beobachtung erfolgte nach 2stündigem Verweilen im Brutschrank und nach weiteren 24 Stunden im Eisraum.

Mit Antigen 1 und 2 waren keine Präcipitate zu erhalten, mit Antigen 3 zeigten Präcipitation:

Serum 38 bis Antigenverdünnung	1:50
„ 54 „ „	1:20
„ 59 nicht	
„ 36 „	
„ 50 „	

¹ Die Antigene wurden durch Zentrifugieren oder durch Filtration geklärt.

Mit Antigen 6 ergab Serum 38 keine Präcipitation.

Die beiden agglutininreichen Sera 54 und 38 enthalten also spezifisches Präcipitin; in dem agglutininarmen Serum konnte solches nicht nachgewiesen werden. Das aus saprophytischen Traubenkokken gewonnene Antiserum 50 zeigte mit dem pathogenen Kokkenantigen keine Präcipitation, ebenso nicht das aus pathogenen Stämmen gewonnene Serum 38 mit dem saprophytischen Kokkenantigen.

Für das Ausbleiben der Präcipitinreaktion bei dem agglutininreichen Serum 59 und Antigen 3 ist wohl der Umstand verantwortlich zu machen, daß es beim Inaktivieren versehentlich eine Zeitlang bis auf 67° erwärmt wurde. Die Agglutinine waren erhalten geblieben, das Präcipitin anscheinend zerstört.

Eine Differenzierung pathogener und saprophytischer Traubenkokken mittels der Präcipitinreaktion ist also nach unseren Untersuchungen möglich. Praktisch kommt dies Verfahren aber kaum in Betracht, da die Agglutination ihm an Exaktheit und Einfachheit der Ausführung so erheblich überlegen ist.

Die Präcipitinbildung im Staphylokokkenantiserum scheint parallel der Agglutininbildung langsam vor sich zu gehen.

Komplementbindung: die 5 Sera 59, 54, 38, 36 und 50 wurden auf komplementbindende Antikörper untersucht. Als Antigene wurden von den auf S. 301 beschriebenen Nummern 1, 2 und 3 benutzt, ferner ein Schüttelextrakt 4 von abgetöteten pathogenen Staphylokokken in destilliertem Wasser, das etwa 6 Stunden geschüttelt und durch Zentrifugieren geklärt war, und Extrakt 5, ein in gleicher Weise wie 4 hergestellter Auszug aus saprophytischen Staphylokokken.

Bei der Einstellung der verschiedenen Extrakte zeigten alle mehr oder weniger Eigenhemmung, Extrakt 1 sogar bis zur Verdünnung 1:40. Letzterer wurde, da er bei der starken Verdünnung wenig brauchbar erschien, nur mit zweien der Sera untersucht. Bei dem Hauptversuch wurde die doppelte Verdünnung der untersten Extraktmenge, bei der noch glatte Lösung eintrat, angewandt. Bei Extrakt 1 (Kalilangedigerat) war dies 1:160, bei Extrakt 2 (Antiformin) 1:20, bei Extrakt 3 (alte Bouillonkultur) 1:10, bei Extrakt 4 (Schüttelextrakt aus pathogenen Kokken) 1:5, bei Extrakt 5 (Schüttelextrakt aus saprophytischen Kokken) 1:20.

Die Ausführung der Versuche erhellt aus Tabelle III. Es sind dort nur die mit den Antigenen 3, 4 und 5 erzielten Resultate niedergelegt. Extrakt 1 und 2 hatten sich als unwirksam erwiesen; es war in allen Röhren Lösung eingetreten.

Aus Tabelle III geht hervor, daß es sowohl mittels der Bouillonkultur als auch des Schüttelextraktes gelang, komplementbindende Antikörper in den agglutininreichen Seren nachzuweisen. Die festgestellte Antikörpermenge erscheint nicht groß. Schon in Verdünnung 1:10 war die Hemmung der Hämolyse meist keine vollständige mehr. Dazu kommt, daß das Antigen aus saprophytischen Kokken auch Hemmungen mit den aus pathogenen Keimen hergestellten Seren zeigte. Wenn sie auch etwas schwächer war, als die mit den pathogenen Antigenen erzielte, so erscheint der Unterschied doch zu gering, als daß die Komplementbindungsmethode zur exakten Differenzierung der pathogenen und saprophytischen Staphylokokken als der Agglutination gleichwertig angesehen werden kann. Vielleicht gelingt es noch, mit anders bereiteten Extrakten bessere Resultate zu erzielen.

Der Frage, ob durch Injektion von anders geartetem Impfmateriale (z. B. von lebenden Staphylokokken) eine größere Produktion komplementbindender Antikörper seitens des Versuchstieres erzielt werden kann, wurde nicht näher getreten, da jedenfalls die Agglutination eine sicherere und mit erheblich weniger Umständen verknüpfte Methode zur Differenzierung der pathogenen und saprophytischen Traubenkokken darstellt.

Die Erscheinung, daß in dem an Agglutinin noch verhältnismäßig armen Serum 36 komplementbindende Antikörper schon fast in gleicher Menge nachweisbar waren, wie in den an Agglutinin reichen Seren 38, 54 und 59, kann für die Richtigkeit der Ansicht von Altmann und Blühdorn (a. a. O.), daß die komplementbindenden Antikörper im Antiserum früher auftreten als die Agglutinine, sprechen. Wir möchten aber aus derartig vereinzelt Versuchen hier noch keinen derartigen Schluß ziehen.

Die wichtige Frage, ob und unter welchen Umständen saprophytische Staphylokokken eventuell pathogen werden können, sollen weitere Untersuchungen, die bereits begonnen sind, zu erklären versuchen.

Das Endresultat der hier niedergelegten Untersuchungen fassen wir dahin:

1. Agglutination mit hochwertigem, polyvalentem Kaninchen-Antiserum, das durch intravenöse Injektion von abgetöteten, aus Krankheitsherden beim Menschen frisch gezüchteten Staphylokokken gewonnen ist, ist ein zuverlässiges Mittel zur Differenzierung von pathogenen und apathogenen Traubenkokken. Pathogene Staphylokokken werden von solchem Serum stets noch in hoher Verdünnung agglutiniert, saprophytische entweder gar nicht oder doch nur bei stärkerer Konzentration

des Serums. Dieser durchschnittliche Grenzwert, bis zu welchem auch Staphylokokken saprophytischer Herkunft agglutiniert werden, ist für jedes Antiserum durch Versuche mit einer Reihe solcher Stämme zu ermitteln.

2. Von Normalkaninchenserum werden saprophytische Staphylokokken nicht oder nur in ganz hoher Konzentration (stärker als 1 : 40) agglutiniert, pathogene Traubenkokken dagegen in höherer Verdünnung bis 1 : 200.

3. Zur Beobachtung des Agglutinationsvorgangs ist die Blockschälchenmethode dem Reagenzglasverfahren vorzuziehen. Die Ausführung ist einfacher, die Beurteilung leichter und genauer.

4. Hämolysebildung auf Kaninchenblutagar wird bei pathogenen Staphylokokken nie vermißt; sie ist meist sehr ausgesprochen und tritt gewöhnlich schon innerhalb 24 Stunden bei Bruttemperatur auf.

5. Die Mehrzahl der saprophytischen Traubenkokken bildet auf Kaninchenblutagar ebenfalls Hämolyse. Die Erscheinung tritt bei den apathogenen Stämmen aber langsamer — oft erst nach 3 Tagen — ein und sie ist ungleich schwächer als bei den pathogenen Formen.

6. Die Gelatineverflüssigung geht bei den pathogenen Traubenkokken in der Regel rasch vor sich, während die Saprophyten vorwiegend langsame Verflüssiger sind. Oft ist bei letzteren die Verflüssigung erst nach vielen Wochen deutlich; sie kommt aber allen Stämmen zu.

7. Lackmusmolke wird von den pathogenen Traubenkokken wenig verändert; gewöhnlich ist eine schwache Säurebildung, seltener eine geringe Bläuung zu beobachten. Dagegen zeigen die Saprophyten in der Molke mit wenigen Ausnahmen einen ausgesprochenen Chemismus. Die Mehrzahl bildet stark Säure, ein Teil Alkali.

8. Unter den saprophytischen Traubenkokken sind die weißen Arten bei weitem vorherrschend. Die Aureusstämme sind viel häufiger pathogen. Von den der Herkunft nach saprophytischen Aureuskeimen — es wurden hierher alle auch nur leicht gelblichen Farbstoff bildenden Arten gerechnet — erwiesen sich 42 Prozent, von den Albuskeimen gleicher Herkunft 4.8 Prozent als pathogen. Da aber der Prozentsatz der Aureuskeime unter allen auf der Haut vorkommenden Staphylokokken

überhaupt ein verhältnismäßig geringer ist, so dürfte sich der Prozentsatz der pathogenen Haut-Traubenkokken kaum höher als 5 Prozent stellen.

9. Präcipitine, sowie komplementbindende Antikörper lassen sich neben den Agglutininen in den mit abgetöteten pathogenen Staphylokokken hergestellten Antiseren durch das spezifische Antigen nachweisen. Als Methode zur Differenzierung pathogener und saprophytischer Traubenkokken sind Präzipitation und Komplementbindung weniger zuverlässig und umständlicher als die Agglutination und sind daher entbehrlich.

10. Die beste Methode des Tierversuches zur Prüfung von Staphylokokken auf Pathogenität und Virulenz ist Impfung in das Kniegelenk des Kaninchens.

[Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.]
(Vorstand: Prof. Bail.)

Experimentelles zur Frage der Streptokokkenimmunität.

Von

Prof. Dr. **Ferdinand Schenk**,
Vorstand der gynäkol. Abteilung der Universitätspoliklinik.

Es ist bekannt, daß es bei vielen Bakterien ungemein leicht gelingt, mit abgetöteten Kulturen bakteriolytische Antikörper zu erzeugen; so zeigte Friedberger, daß bereits bei einmaliger Injektion von $\frac{1}{100}$ Öse abgetötete Typhusbazillen oder Choleravibrionen Bakteriolytine erzeugen, welche in Bruchteilen von Milligrammen schützend wirken.

Ähnliches gilt auch für Hämolytine und Agglutinine.

Diese Tatsachen führten zu der Annahme, daß die Injektion von abgetöteten Bakterien in allen Fällen zu Antikörperbildung führe. Die modernen praktischen Immunisierungsmethoden beruhen ja darauf, daß man durch Injektion von toten Bakterienleibern eine Antikörperbildung anregt und so eine Heilung zu erreichen trachtet (Opsonintherapie).

Es war jedoch schon früher bekannt, daß man nicht bei allen Bakterien durch Injektion von abgetöteten Bakterienleibern Immunität erzeugen könne. Insbesondere gelang dies nicht bei den als reine Parasiten zu betrachtenden Bakterien der hämorrhagischen Septikämie und des Milzbrandes. Bei diesen war die Immunisierung nur durch eine Abschwächungsmethode möglich, welche den Bakterien die zum Tode führende Infektiosität nahm, sie jedoch nicht abtötete (Immunisierungsmethode von Pasteur gegen Milzbrand, Hühnercholera und Schweinerotlauf).

Doch auch diese Abschwächungsmethoden führten nicht immer zu sicheren Resultaten, so daß erst durch die Immunisierung mit Aggressinen eine hohe und sichere Immunität erzeugt werden konnte.

Immerhin zeigte sich, daß man auch bei der hämorrhagischen Septikämie durch Injektion von großen Massen schonend abgetöteter Bakterien einen gewissen Erfolg erzielen konnte, so daß man annehmen mußte, daß die Substanz der Bakterien, welche bei der Vermehrung im Tierkörper leicht in Lösung geht und das Aggressin darstellt, bereits in den Bakterien der Kultur vorgebildet ist und durch Injektion von enorm großen Massen dann eine Antikörperbildung auslöst.

Ein besonderes Interesse bot in dieser Hinsicht die Untersuchung der Streptokokkenimmunität, welche man auf eine besondere Gruppe von Antikörpern, auf Opsonine zurückführt. Von vornherein sollte man erwarten, daß hier ähnlich wie bei den bakteriolytischen Immunkörpern eine Erzeugung von Opsoninen durch Injektion toter Kokken leicht gelinge. Versuche von Weil zeigten jedoch, daß dies durchaus nicht der Fall ist, und daß erst durch Infektion mit lebenden Streptokokken ein wirksames Immuneserum zu erlangen sei.

Diese Verhältnisse genauer zu studieren und insbesondere zu ermitteln, ob auch die anderen Antikörper, wie komplementbindende Antistoffe und Agglutinine denselben Gesetzen folgen, war der Gegenstand der nachfolgenden Untersuchungen. Besonders der letztere Umstand schien wichtig, da in neuerer Zeit vielfach die Tendenz vorherrscht, bei Prüfung von Immuneserum den Reagensglasversuch statt des oft zu keinem Resultat führenden Tierversuches in Anwendung zu bringen. Die Versuchsanordnung gestaltete sich folgendermaßen:

Zu den Versuchen wurde der genau studierte Streptokokkenstamm Aronson verwendet. Die zur Abtötung bestimmten Streptokokkenleiber wurden in Bouillon gezüchtet und hierauf durch Zentrifugieren von der Bouillon befreit, die Aufschwemmung der zentrifugierten Bodensätze wurde in Kochsalzlösung und die Abtötung durch $\frac{1}{2}$ stündiges Erhitzen auf 60° vorgenommen.

Jedes Tier wurde mit dem Bodensatz von 200 ccm Bouillon, welcher in 10 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurde, injiziert Kaninchen I bis III). Von den Tieren, welche lebende Streptokokken erhielten, bekam das eine 0.05, das zweite 0.1 ccm Bouillonkultur intravenös (Kaninchen IV u. V).

Die Blutentnahme ergab bei diesen Tieren betreffs der Keimzahlen folgende Resultate:

	Kaninchen IV	Kaninchen V
Nach 5 Minuten	12 000	3000
Nach 24 Stunden	1400	1200
Nach 3 Tagen	0	0

Nach 10 Tagen wurde sämtlichen 5 Tieren Blut entnommen und das Serum auf seinen Schutzwert geprüft.

	I m m u n s e r u m v o n					Kontrolltier (normales Serum)
	Kanin. I	Kanin. II	Kanin. III	Kanin. IV	Kanin. V	
Maus I 0.5 ^{ccm}	nach 24 Std. †	nach 24 Std. †	nach 24 Std. †	lebt	lebt	nach 24 Std. †
.. II 0.3 ^{ccm}	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
.. III 0.2 ^{ccm}

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die mit großen Massen toter Streptokokken injizierten Kaninchen keine Spur von Schutzwirkung ihres Serums aufweisen, während das Serum der beiden mit lebenden Streptokokken injizierten Kaninchen in hohem Grade schützte. Eine zweite Entnahme wurde bei Kaninchen IV und V nach 16 Tagen ausgeführt.

Das erstere war deutlich abgemagert, jedoch in viel stärkerem Maße war dies der Fall bei Kaninchen V.

Das Blut beider Tiere, in der Menge von 3^{ccm} untersucht, erwies sich als keimfrei.

Die Titration der Sera ergab folgendes Resultat:

	Immuneserum von		Kontrolltier (normales Ser.)
	Kaninchen IV	Kaninchen V	
Maus I 0.5 ^{ccm}	nach 48 Std. †	lebt	nach 24 Std. †
.. II 0.3	desgl.	..	desgl.
.. III 0.2

Dieser Versuch zeigt, daß das Serum von Kaninchen IV nur noch eine geringe Schutzkraft aufwies, obzwar dieselbe noch deutlich nachweisbar ist, denn unbehandelte Tiere leben nie länger als 24 Stunden, sie reicht jedoch nicht mehr aus, um einen vollen Schutz zu gewähren. Hingegen erweist sich das Serum von Kaninchen V genau so wirksam wie vorher.

Da wir nun über sieben Sera verfügten, von welchen drei bezüglich der Schutzkraft vollkommen unwirksam, drei stark und eins schwach wirksam waren, so war es von Interesse, zu prüfen, wie sich dieselben im Reagensglase bezüglich der Agglutination und Komplementbindung verhielten.

Die Prüfung auf Agglutination ließ sich hier aus dem Grunde leicht durchführen, da der Aronsonsche Stamm die Bouillon diffus trübte.

Die Komplementbindung wurde nicht mit Streptokokkenextrakten, sondern mit der viel wirksameren Emulsion vorgenommen, nachdem zuvor die größte Menge der anzuwendenden Emulsion austitriert war. Die Prüfung auf Agglutination und Komplementbindung ergab, daß sämtliche Sera der ersten Entnahme in der Dosis von 0.2 weder agglutinierend noch komplementbindend wirkten, während von den Seris der zweiten Entnahme das Serum von Kaninchen V nur in der höchsten Dosis komplement band und geringe Agglutination aufwies.

Wenn wir das Resultat der Versuche der ersten Entnahme in Betracht ziehen, so sehen wir, daß zwei Sera, welche stark schützend wirken, sich im Reagensglase absolut nicht unterscheiden von solchen, welche keine Spur von Schutzkraft aufweisen. Dies zeigt, wie verfehlt es wäre, auf Grund von Reagensglasversuchen einen Rückschluß auf den Schutzwert des Serums zu ziehen. Daß das Serum des Kaninchens V nach der zweiten Entnahme doch in geringerem Maße komplementbindend und agglutinierend wirkte, dürfte darauf zurückzuführen sein, daß in diesem Falle die Reizwirkung, welche von den Streptokokken ausging, eine besonders starke war.

50 Tage nach der Infektion wurde bei Kaninchen IV und V eine neuerliche Blutentnahme vorgenommen.

Zu dieser Zeit war Kaninchen V zum Skelett abgemagert, es war von seinem ursprünglichen Gewicht von 2500 auf 1200^{grm} heruntergekommen. ein Verhalten, welches bei Tieren, die mit lebenden Streptokokken infiziert werden, die Regel ist.

Kaninchen IV hatte sich von der anfänglichen Abmagerung erholt.

Beide Tiere wiesen wiederum in der Menge von 3^{ccm} Blut keine Keime auf.

	Immuns Serum von		Kontrolltier (normales Ser.)
	Kaninchen IV	Kaninchen V	
Maus I 1.5 ^{ccm}	nach 24 Std. †	lebt	nach 24 Std. †
„ II 0.5 „	desgl.	„	desgl.
„ III 0.3 „	„	„	—

Während das Serum von Kaninchen IV nicht mehr schützte, war das Serum von Kaninchen V ebenso wirksam wie vorher.

Im weiteren Verlauf zeigte sich zu unserer größten Überraschung, daß Kaninchen V sich zu erholen begann, so daß wir in der Lage waren, eventuell den Zeitpunkt zu bestimmen, in welchem die Schutzstoffe aus dem Serum verschwanden. Dies ist deshalb von Interesse, da es zu den allergrößten Ausnahmen gehört, daß ein mit einer größeren Menge von lebenden Streptokokken infiziertes Tier längere Zeit am Leben bleibt.

So waren wir 80 Tage nach der Infektion noch in der Lage, eine neuerliche Blutentnahme auszuführen.

	Immunserum von Kaninchen V	Kontrolltier (normales Serum)
Maus I 1.0 ^{ccm}	lebt	nach 24 Std. †
.. II 0.5 „	„	desgl.
.. III 0.25 „	nach 4 Tagen †	—

Auch hier erwies sich das Serum noch als wirksam in der Dosis von 1 und 0.5 ^{ccm} und bei einer weiteren Blutentnahme nach weiteren 14 Tagen, also 94 Tage nach der Infektion, schützte das Serum noch in der Dosis von 0.25 ^{ccm}.

Die im Vorstehenden festgestellten Tatsachen sind nach zwei Richtungen hin von Interesse. Zunächst deshalb, weil das Serum des einen infizierten Tieres so lange Zeit seine Schutzkraft beibehält, obzwar bereits nach kurzer Zeit lebende Streptokokken im Blut nicht mehr nachweisbar sind. Wir wissen, daß in der Regel der Antikörpertiter bei immunisierten Tieren nach kurzer Zeit (am 10. bis 12 Tag) seinen Höhepunkt erreicht, ungefähr eine Woche auf der Höhe bleibt, dann allmählich absinkt, so daß nach 4 bis 5 Wochen nur ganz geringe Mengen von Immunkörpern im Blut nachweisbar sind. In unseren Versuchen war dies auch bei Kaninchen IV der Fall.

Ganz anders jedoch verhielt sich Kaninchen V; denn noch nach 3 Monaten konnte eine Abnahme der Schutzkräfte nicht konstatiert werden. Es ist dies wohl mit großer Wahrscheinlichkeit darauf zurückzuführen, daß die Streptokokken bei diesem Tier eine sehr schwere Reaktion hervorgerufen haben, was offenbar ständig einen Reiz auf die Antikörperbildung ausgeübt hat.

Es erscheint uns von Interesse, diese Frage genauer zu verfolgen nach der Richtung hin, daß wir Immunkörper einerseits mit großen Mengen abgetöteter Streptokokken erzeugen und andererseits durch Injektion von unter- bzw. knapptödlicher Dosen von lebenden Streptokokken.

Die Ergebnisse der Untersuchungen bei beiden Gruppen bezüglich der Dauer und Intensität der Schutzwirkung werden uns dann wertvolle Aufschlüsse über die Frage der Herstellung von Immunseris geben.

Der zweite Punkt, der hier von Interesse ist, bezieht sich auf die Anwendung des Streptokokkenimmunserums beim Menschen.

Da wir gesehen haben, daß Tiere nach Infektion mit lebenden Streptokokken sehr schwer erkrankten, trotzdem sie sehr wirksame Schutzstoffe

in ihrem Blute durch lange Zeit hindurch bilden, so wäre es von größtem Interesse, analoge Untersuchungen beim Menschen vorzunehmen.

Es wäre jedoch verfehlt, bei abgeheilten Streptokokkeninfektionen nach Schutzstoffen zu fahnden, sondern man müßte dies im Gegenteil auf der Höhe der Infektion tun.

Sollten bei der Streptokokkeninfektion des Menschen analoge Verhältnisse vorliegen, so wäre in der Tat nicht einzusehen, was die Injektion eines Immunserums für eine Bedeutung haben sollte, da ja jene Stoffe, welche man bestenfalls durch die Injektion des Serums dem Organismus zuführt — man wird ja nur ganz ausnahmsweise Schutzstoffe gegen den infizierenden Stamm einzuführen in der Lage sein — in dem Blute des Infizierten bereits in großer Menge vorhanden sind.

Zusammenfassung.

1. Abgetötete Streptokokken sind sehr wenig geeignet zur Erzeugung von Streptokokkenimmunserum.

2. Die Infektion mit lebenden Streptokokken in der Menge, daß sie im Organismus noch nicht zur Vermehrung gelangen, führt zur Ausbildung eines Schutzserums.

3. Die Intensität der Erkrankung, welche die Injektion von lebenden Streptokokken bei den Tieren hervorruft, ist von großer Bedeutung sowohl für die Quantität als auch für die Persistenz der Schutzwirkung im Blute des infizierten Tieres.

4. Je stärker die der Infektion folgende Erkrankung ist, desto wirksamer und anhaltender sind die Schutzstoffe gegenüber Streptokokken.

5. Diese Feststellung ist sowohl von Wichtigkeit für die Herstellung von Streptokokkenimmunseris, als auch für die Auffassung der Streptokokkenimmunserumtherapie beim Menschen überhaupt.

6. Agglutination und Komplementbindung geben keinen Aufschluß über die Schutzkraft des Streptokokkenimmunserums.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.]
(Leiter: Obermed.-Rat Prof. Dr. Nocht.)

Über die Entwicklung von Rekurrensspirochäten in der Kleiderlaus.

Von

Dr. **Hidezo Toyoda.**

(Hiersu Taf. VIII.)

Lange Zeit hatte man, zum Teil auf Grund von Versuchen Tictins, angenommen, daß Wanzen die Überträger verschiedener Rückfallspirochäten, hauptsächlich derer gemäßigter Zonen, seien. Diese Annahme konnte bei Tierversuchen nicht bestätigt werden; dagegen gelang Übertragung mit Rattenläusen (Manteufel, Neumann). Beim indischen Rückfallfieber hat dann zuerst Mackie Kleiderläuse, *Pediculus vestimenti*, als Überträger verdächtigt, auf Grund epidemiologischer Beobachtungen bei einer kleinen Rückfallfieberepidemie in einer Schule. Es fiel ihm auf, daß bedeutend mehr Knaben als Mädchen erkrankten, und er fand erstere viel stärker verlaust. Bei mikroskopischer Untersuchung der Kleiderläuse fand er 14 Prozent der von den Knaben und 2.7 Prozent der von den Mädchen gesammelten infiziert mit Spirochäten. Weibliche Läuse waren stärker infiziert; der Magen und obere Darmteile enthielten Spirochäten, und ausgepreßter Mundsaft oft sehr zahlreiche. Mackie schloß daraus, daß die Übertragung beim Saugakt stattfände.

Sergent und Foley bewiesen dann zuerst experimentell bei der algerischen Form des Rekurrens die Überträgnernatur der Läuse, indem

sie mit von **Rekurrenkranken** **abgesammelten** Läusen **Gesunde** infizieren konnten und ebenso **Affen** mit zerquetschten Läusen, wenn mindestens **5 bis 6 Tage** nach der Infektion dieser verstrichen waren.

Es folgten die sorgfältigen experimentellen Untersuchungen von **Nicolle, Blaizot und Conseil** in **Tunis** mit großen Versuchsserien. Sie konnten beweisen, daß sowohl **Pediculus vestimenti** wie **capitis** überträgt. **5 bis 6 Stunden** nach dem Saugen verschwanden die Spirochäten, nachdem sie unbeweglich geworden, aus dem Darm. Sie fanden erst nach **8 Tagen** wieder solche und zwar oft in großer Zahl und lebhaft beweglich; bis zum **19. Tage** konnten sie deren Anwesenheit beobachten; eingespritzt waren sie virulent. Der Prozentsatz der infizierten Läuse war **17.57 Prozent**. Die genauere Untersuchung von **8 Läusen** ergab, daß die Spirochäten ausschließlich im **Lakunon** vorhanden sind; **Eier** und **Fäzes** waren frei. Sie nehmen an, daß die Infektion der Menschen nur durch **mechanische Verletzung** der Laus beim Kratzen usw. zustande komme, wodurch infizierter Saft aus dem **Lakunon** austreten könne.

Es waren darnach noch folgende Fragen zu lösen: **1.** bilden die Spirochäten während der beobachteten Zeit ihres Verschwindens etwa andere, schwer erkennbare Entwicklungsstadien? **2.** lassen sich durch mikroskopische Untersuchung Belege dafür erbringen, daß die Übertragung durch den Stich selbst zustande komme?

Die erste Frage war umso wichtiger, als ja bekanntlich **Leishman, Hindle u. a.** annehmen, daß in Zecken ein Zerfall der Spirochäten in kleinste „kokken“ähnliche Körperchen stattfindet, aus denen wieder Spirochäten sich entwickelten. Diese Befunde widersprachen vollständig den von **Borrel und Marchoux** sowie von **v. Prowazek** vor Jahren bei dem Überträger der Hühnerspirochäte Brasiliens, **Argas miniatus**, erhobenen, bei dem in allen Stadien der Entwicklung Spirochäten nachweisbar waren. (Inzwischen von **Marchoux** und **Couvy** nochmals ausführlich nachgeprüft.) Bei **Ornithodoros moubata**, dem Überträger des mittelafrikanischen Rekurrens, konnten dies auch neuerdings **Wittrock** sowie **Kleine** und **Eckard** bestätigen.

Ich versuchte daher obige zwei Fragen experimentell zu prüfen. Allerdings war ich mir der Schwierigkeit der Versuche mit Läusen wohl bewußt, da diese stets schwer am Leben zu erhalten sind, wenn sie nicht an Menschen gefüttert werden können (**Nicolle** und sein Mitarbeiter konnten dies ausführen).

In meinen Versuchen habe ich eine Anzahl Kleiderläuse — **Pediculus vestimenti** — auf stark mit russischen **Rekurrensspirochäten**, auch einmal amerikanischen **Rekurrensspirochäten**, infizierte Mäuse gesetzt. Die Läuse wurden nach dem Blutsaugen bei **Zimmertemperatur** (**20 bis**

25° C) gehalten, indem sie täglich einmal an einem gesunden Affen¹ gefüttert wurden, und von Zeit zu Zeit wurden je 2 oder 3, eventuell noch mehr getötet. Es wurden Cölomsaft, Mageninhalt und Kopf getrennt untersucht, einerseits unter dem Dunkelfeld-Mikroskop, andererseits nach entsprechender Färbung. Zur Färbung der Ausstrichpräparate benutzte ich Giemsa-Lösung (2 Stunden lang gefärbt, oder über Nacht mit verdünnter Lösung gefärbt), Manson-Lösung und Löfflers Geiselfärbungsmethode.

Ferner wurden in bestimmten Zeiträumen nach dem Saugen Läuse in Formalin eingelegt und dann nach der Levaditischen Methode versilbert und geschnitten.

Im folgenden sollen die Ergebnisse meiner Versuche beschrieben werden:

4 oder 5 Stunden nach dem Saugen fanden sich eine Anzahl Spirochäten im Magen der Läuse und bewegten sich ziemlich lebhaft; in den gefärbten Präparaten waren schon zerrissene Formen zu sehen.

Am nächsten Tage verschwanden sie ganz aus dem Magen; es waren aber einmal in den Schnittpräparaten einer Laus in spärlicher Zahl noch solche in ihm zu sehen. Dagegen waren sie bereits im Cölom oft mehr oder weniger zahlreich zu finden, wenn man die Präparate sehr genau untersuchte.

Vom zweiten bis siebenten Tage waren sie im Cölomsaft in einer spärlichen Zahl zu sehen. Es war dabei oft erst nach stundenlanger Untersuchung nur eine Spirochäte zu finden.

Die Tabellen I und II geben eine Übersicht über die einzelnen Befunde.

Tabelle I.
Spirochätenbefund in Ausstrichpräparaten.

Nr. der Serie	Tage nach dem Saugen infizierten Blutes									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	++	—	+	++	+	+	} nicht weiter untersucht			
2	+	—	—	+	+	+				
3	—	+	+	—	—	—	+	—	—	+

Serien 1 und 3 wurden mit russischem Rekurrens, Serie 2 mit amerikanischem geprüft.

¹ Der Affe wurde nicht infiziert, obwohl sehr oft infizierte Läuse ihm angesetzt wurden.

Tabelle II.
Verteilung der Spirochäten (nach Ausstrichen der Serie 1).

Art der Organteile	Tage nach dem Saugen infizierten Blutes					
	1	2	3	4	5	6
Cölomsaft	++	—	+	++	+	} +
Magen-Darmsaft	nicht untersucht	—	—	+	—	
Thoraxsaft	desgl.	—	—	+	—	+

In den Schnittpräparaten einer Laus vom 7. Tage nach dem Saugen beobachtete ich, daß schon eine geringe Anreicherung der Spirochäten stattgefunden hatte. Es waren Spirochäten im Bauch, Thorax, und in der Kopfhöhle zwischen den Organen oder ganz frei nachzuweisen. Die Befunde in diesen Schnittpräparaten lassen auf die Wanderung und das weitere Verhalten der Spirochäten im Körper der Laus wichtige Schlußfolgerungen ziehen. In der beigegebenen Tafel VIII sind einige charakteristische Stellen wiedergegeben.

Fig. 1 und 2 zeigen Stellen aus der Darmwand, in der sich Spirochäten in großer Zahl in eingerolltem Zustande im Schnitt fanden. Einzelne Stadien waren so dicht eingerollt, daß sie fast als schwarze Klümpchen erschienen und nur durch Beobachtung der verschiedenen Übergangsstadien als sicher zugehörig zu den Spirochäten erkannt werden konnten. Die Bedeutung dieser Stadien, ob Ruhe- oder Involutionsform, ist bekanntlich noch strittig.

Im Lakunon, dicht bei einer Drüse, deren Lumen als dunkle Stelle im Schnitt getroffen ist, und die derjenigen Drüse entspricht, die Landois als hufeisenförmig beschrieben hat, fanden sich im Thorax Spirochäten. Fig. 4 und 5 zeigen hier gefundene Spirochäten, und Fig. 3 gibt ein Übersichtsbild über ihre Lage.

Ferner fanden sich gerade an der Kopfgrenze innerhalb der Matrix von Tracheen unterhalb des Cerebralganglions Spirochäten, die Fig. 7 wiedergibt, während Fig. 6 ihre Lagerung in dem etwas schief getroffenen Flachschnitt zeigt.

Da sich die versilberten Läuse sehr schwer schneiden lassen, konnten keine lückenlosen Serien erhalten werden, sonst wären wohl die positiven Befunde reichlicher ausgefallen.

Die Spirochäten in den Läusen waren äußerst fein und mit Giemsa-lösung oder Mansonlösung schwer zu färben, so daß man sie leicht übersehen konnte, während sie in den mit Löfflers Geißelfärbungsmethode gefärbten Präparaten oder Schnittpräparaten ganz deutlich und dick zu

sehen waren. Dies entspricht ganz den Beobachtungen von Borrel und Marchoux und v. Prowazek bei Hühnerspirochäten in Argas.

Es zeigte sich auch, daß der zerriebene Saft der Läuse am 2. und 3. Tage nach der Aufnahme für Mäuse infektiös war.

Längere Zeit konnte ich die Entwicklung leider nicht so genau beobachten, weil die Läuse fast stets 8 Tage nach der Aufnahme starben. Trotzdem kann man aus obigen Versuchen das Folgende schließen:

Die von Läusen aufgenommenen Spirochäten gehen in kurzer Zeit im Darm meistens zu Grunde, und nur wenige durchdringen die Darmwand, gelangen in das Cölom und bleiben in den Körperhöhlen in **unveränderter Gestalt** — nur auffallend dünn und schwer färbbar — zurück; auch Einrollungsstadien scheinen dabei häufig vorzukommen. Die zurückgebliebenen Spirochäten vermehren sich nach einer gewissen Zeit wieder; sie sind in jedem Stadium wahrscheinlich infektiös. Der Befund von Spirochäten im Kopfe, in der Nähe drüsiger Organe, am 7. Tage läßt ein Einwandern der Spirochäten in solche und Infektion durch den Stich als höchst wahrscheinlich erscheinen.

Versuchsprotokolle.

Am 1. IX. 13 wurden Läuse auf eine Maus, die mit russischen Rekurrensspirochäten stark infiziert war, gesetzt. Die Läuse wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und später täglich einmal am Affen gefüttert.

1. 20 Minuten nach dem Saugen viele Spirochäten im Magen einer Laus lebhaft beweglich, in anderen Organen keine Spirochäten. In den gefärbten Präparaten auch nur im Magen Spirochäten.

2. 4 Stunden nach dem Saugen viele Spirochäten auch nur im Magen einer Laus. Ihre Bewegung war sehr schwach, und in gefärbten Präparaten waren schon etwas zerrissene Formen zu sehen.

3. 20 Stunden nach dem Saugen waren viele Spirochäten im Cölomsaft einer Laus zu sehen. Das mit Manson-Lösung gefärbte Präparat zeigte feine dünne Spirochäten, während das mit Löfflerscher Geißelfärbungsmethode gefärbte Präparat ganz deutliche dicke Spirochäten zeigte. Sie hatten noch Bewegung, aber sie war ganz langsam und schwach. In den Präparaten (Ausstrich) von Magen und Thorax waren keine Spirochäten zu finden.

4. 2 Tage nach dem Saugen wurde nur eine Laus untersucht, und dabei waren keine Spirochäten zu finden (es konnten leider nicht mehr Läuse untersucht werden).

5. 3 Tage nach dem Saugen waren spärliche Spirochäten nur im Cölomsaft einer Laus zu sehen. In mit Manson-Lösung gefärbten Präparaten waren die Spirochäten so dünn und fein, daß man sie kaum sehen konnte; in mit Giemsa-Lösung 2 Stunden lang gefärbten Präparaten waren sie dünn, aber doch deutlich sichtbar, während in mit Geißelfärbungsmethode gefärbten Präparaten dicke Spirochäten zu sehen waren.

Einer Maus wurde Zerreibesaft der Laus intraperitoneal eingespritzt. Sie wurde 4 Tage nach Einspritzung positiv.

6. 4 Tage nach dem Saugen wurden zwei Läuse untersucht. Die eine hatte keine Spirochäten in ihrem Körper, die andere hatte ziemlich viele, etwas dicke und zwar deutlich gefärbte Spirochäten in ihrem Cölomsaft. Es scheint, als ob schon Teilung begonnen habe. Im Magen und Thorax befanden sich sehr spärliche Spirochäten. Aber man kann schwer sagen, ob sie sicher in Magen und Thorax waren, weil ohne Beimischung von Cölomsaft der Magen und Thorax nicht isoliert werden konnten.

7. 5 Tage nach dem Saugen wurden wenige dünne Spirochäten nur im Cölomsaft einer Laus gefunden.

8. 6 Tage nach dem Saugen befanden sich spärliche Spirochäten im Cölomsaft, Magen- und Thoraxinhalt (Giemsa-Färbung).

9. 7 Tage nach dem Saugen wurden in Levaditischen einer Laus zwar im Kopf, Thorax und Darm bzw. Darmwand Spirochäten gefunden.

Literatur-Verzeichnis.

1. Borrel et Marchoux, Argas et spirilles. *Compt. rend. de la Soc. de Biologie.* 1905. T. LVIII. p. 362.
2. Mackie, A preliminary note on Bombay spirillar fever. *The Lancet.* 1907. Vol. II. Nr. 2. p. 832.
3. Derselbe, The part played by pediculus corporis in the transmission of relapsing fever. *British medical Journal.* 1907. Vol. II. Nr. 2. p. 1706.
4. v. Prowazek, Zur Entwicklung von „Spirochaeta Gallinarum“. *Mem. do Instituto Oswaldo Cruz.* 1909. Bd. I. S. 79.
5. Sergeant, Gillot et Foley, La spirillose nord-africaine et sa transmission par les poux. *Bull. Soc. de pathol. exot.* 1911. T. IV. p. 438.
6. Dieselben, Recherches sur la fièvre récurrente et son mode de transmission, dans une épidémie algérienne. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1910. T. XXIV. p. 337.
7. Nicolle, Blaizot et Conseil, Étiologie de la fièvre récurrente. Son mode de transmission par le pou. *Arch. de l'Institut Pasteur de Tunis.* 1912. p. 110.
8. Nicolle et Blaizot, Nouveaux points de l'étude expérimentale de la fièvre récurrente du nord de l'Afrique. *Ebenda.* 1912. p. 201.
9. Nicolle, Blaizot et Conseil, Du rôle négatif des poux dans la transmission expérimentale de la fièvre des tiques. *Bull. Soc. de pathol. exot.* 1913. T. VI. p. 106.
10. Dieselben, Étiologie de la fièvre récurrente, son mode de transmission par les poux. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1913. p. 204.
11. Wittrock, Beiträge zur Biologie der Spirochäte des Rückfallfiebers. *Diese Zeitschrift.* 1913. Bd. LXXIV. S. 55.
12. Kleine u. Eckard, Über die Lokalisation der Spirochäten in der Rückfallfieberzecke. *Ebenda.* 1913. Bd. LXXIV. S. 389.
13. Marchoux et Convy, Argas et spirochètes. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1913. p. 450.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. VIII.)

Alle Figuren sind nach Levaditi-Schnittpräparaten gezeichnet; vom 7. Tage nach dem Saugen der betreffenden Laus stammend.

Fig. 1 u. 2. Verschiedene Einrollungsstadien von Spirochäten aus der Darmwand. 1500 mal.

Fig. 3. Stelle aus Thorax mit Spirochäten. Dr. = Drüsenlumen. sp. = Lagerungsstelle der Spirochäten.

Fig. 4 u. 5. Spirochäten von der in Fig. 3 angegebenen Stelle. Dr. = Drüsenwand. Tr. = Tracheenverästelungen. 1500 mal.

Fig. 6. Etwas schräg getroffener Flachschnitt durch den Kopf. A. = Augen. cr. = Cerebralganglion. tr. = Tracheen. sp. = Lagerungsstelle der Spirochäten.

Fig. 7. Spirochäten von der in Fig. 6 bezeichneten Stelle. cr. = Cerebralganglion. tr. = Tracheen. 1500 mal.

[Aus dem hygienischen Institut
(Direktor: Prof. Dr. H. Kossel)
und der medizinischen Klinik zu Heidelberg.]
(Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Krehl.)

Bakteriologische und klinische Beobachtungen bei Ruhrinfektionen.

Von

Dr. med. et phil. **E. G. Dresel**, und Dr. med. **Fritz Marchand**,
Assistent am hygien. Institut. Assistent der med. Klinik.

In früheren Jahren, besonders im Sommer 1911, hatten wir in der Heidelberger Klinik als häufigsten Erreger von akuten infektiösen Darmstörungen den *Bacillus Paratyphi B* kennen gelernt.¹ Dagegen hatten wir bisher den Eindruck gehabt, daß in unserer Gegend Infektionen mit Ruhrbazillen nur verhältnismäßig selten vorkommen. Hauptsächlich durch die Untersuchungen von Kruse² wissen wir allerdings, daß die Bazillenruhr auch in Deutschland in Epidemien aufgetreten ist; aber als allgemeiner verbreitete Krankheitserreger werden die Bazillen der Ruhrgruppe in Deutschland offenbar nicht angesehen. Auch sporadische Fälle von Infektionen mit Bazillen der Ruhrgruppe werden in Deutschland von den meisten Ärzten als Seltenheit betrachtet.

In dem kühlen und feuchten Sommer 1912 wurden an der Heidelberger Klinik in gehäufte Zahl Infektionen mit Ruhrbazillen festgestellt. Da noch eine Reihe von Fragen hinsichtlich des klinischen wie epidemiologischen Verhaltens der Dysenterie nicht genügend gelöst sind, so schien es uns berechtigt, unsere bei diesen Ruhrerkrankungen angestellten Beobachtungen mitzuteilen.

¹ Freund, *Deutsches Archiv f. klin. Medizin.* 1912. Bd. CVII. S. 325.

² Kruse, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 40, u. 1901. Nr. 23 u. 24.
Zeitschr. f. Hygiene. LXXVI

Die Ruhrinfektionen hatten ihren Ausgangspunkt bei einem Patienten, der im April 1912 in die Klinik aufgenommen wurde.

Karl M. hatte als Reiter in Deutsch-Südwestafrika Malaria durchgemacht und hatte damals einmal Blut im Stuhl bemerkt, war aber angeblich nicht als Ruhrkranker behandelt worden. Seit März 1912 hatte Patient Durchfälle und Auftreten von Eiter im Stuhl. Bei der Aufnahme bestand deutliche Anämie mit 50 Prozent Hämoglobin, im Urin war reichlich Eiweiß, am Herzen fand sich ein systolisches Geräusch. Die rektoskopische Untersuchung ergab starke Rötung und wulstige Schwellung der Rektalschleimhaut mit schleimigen und pseudomembranösen Auflagerungen. Der Stuhl enthielt reichlich Eiter und Schleim. Sein Serum agglutinierte am 12. April den Shiga-Kruse-Bacillus bis 1:200 (höher wurde nicht austitriert), am 24. April bis 1:1000 (Ende). Der Kranke, der bis dahin auf der allgemeinen Abteilung lag, wurde bald nach Feststellung der Agglutination isoliert.

In demselben Krankensaal erkrankte am 18. April plötzlich der Patient Josef W., welcher dort bereits seit dem 8. März wegen einer chronischen Sepsis lag, mit schleimig-blutigen Durchfällen. Am 24. April agglutinierte sein Serum den Bacillus Shiga-Kruse bis 1:1000. Aus dem Stuhl wurde der Bacillus Shiga-Kruse gezüchtet. Die Erkrankung verlief unter dem typischen Bilde der Dysenterie und dauerte etwa 4 Wochen.

Die Schwester A. N., welche diese beiden Patienten vor ihrer Absonderung gepflegt hatte, erkrankte am 27. April mit Durchfällen.

Am 28. April hatte sie 21 Stuhlentleerungen unter heftigen Tenesmen. Temperatur 37·6, 6800 Leukozyten, Milzschwellung. Am 1. Mai agglutinierte ihr Serum den Flexnerbacillus 1:50, den Shiga-Bacillus 1:100. Am 20. Mai wurde die Schwester wieder gesund entlassen. Am 2. Juni traten aber von neuem Durchfälle auf, welche einige Tage anhielten. Dann blieb die Schwester gesund.

Anfang Juni erkrankte ferner Schwester H. Sch., welche auf dem Absonderungsbau wohnte, wo die Ruhrkranken verpflegt waren. Am 21. Juni agglutinierte ihr Serum den Flexnerbacillus 1:200, den Shiga-Bacillus 1:1600. Aus dem Stuhl wurde der Shiga-Kruse-Bacillus gezüchtet.

Die Erkrankung der Schwester H. Sch. war eine äußerst schwere, typische Ruhr. Wochenlang litt die Kranke an fortwährenden Durchfällen und Tenesmen, so daß sie in ihrem Ernährungs- und Kräftezustande außerordentlich herunterkam. In der Rekonvaleszenz entwickelte sich eine rasch fortschreitende Lungentuberkulose, die in einigen Monaten zum Tode führte.

In der Zeit vom 7. bis 10. Juni erkrankten ferner die Schwestern H. G., M. Pl. und E. L. mit schnell vorübergehenden dysenterischen Symptomen, so daß sie einige Tage bettlägerig waren. Gleichzeitig litt Schwester J. H. etwa 2 Wochen lang an täglich 6 bis 8 schmerzhaften

Durchfällen, meldete sich aber nicht krank, sondern versah ihren Dienst weiter. Die Agglutinationszahlen dieser Schwestern sind ebenso wie die aller zur Hausepidemie gehörenden Kranken aus der Tabelle I ersichtlich.

In dem Saale, auf welchem Schwester J. H. arbeitete, traten in dieser Zeit bei einem Patienten ebenfalls Durchfälle auf.

B., aufgenommen am 12. Juni 1912, litt seit Februar 1912 an einer hämorrhagischen Diathese mit Gelenkschmerzen, Nasenbluten und Zahnfleischblutungen. Auf der Haut fanden sich zahlreiche Petechien. Es bestand eine erhebliche sekundäre Anämie. Am 18. Juni traten blutig-schleimige Durchfälle auf. Am 24. Juni agglutinierte sein Serum den Bacillus Shiga bis zur Verdünnung von 1:200. Der Tod erfolgte am 27. Juni. Bei der Sektion fand sich neben den Erscheinungen einer allgemeinen hämorrhagischen Diathese eine ziemlich frische Colitis mit fibrinösen Belägen. Leider gelang es nicht, nach dem Tode den Bacillus aus dem Darm zu züchten.

In der zweiten Hälfte des Juni und Anfang Juli erkrankten nun noch einige Schwestern an kurzdauernden Durchfällen und ebenso traten bei einem Patienten auf der Abteilung, wo die oben erwähnte Schwester M. Pl. pflegte, Durchfälle auf (Patient O. B. Nr. 22 der Tabelle I).

Da also eine weitere Ausbreitung der Erkrankungen besonders bei der Beteiligung des Pflegepersonals zu befürchten war, ergab sich die Notwendigkeit, möglichst umfassende Untersuchungen auf Infektionsträger vorzunehmen.

Ermittlung von Infektionsträgern in der Klinik mit Hilfe der Agglutinationsprobe.

Von vornherein bot die bakteriologische Stuhluntersuchung in weit-aus den meisten Fällen wenig Aussicht auf Erfolg, weil die akuten Darmsymptome wie gesagt, gewöhnlich sehr schnell vorübergingen und weil es auch darauf ankam, überstandene Infektionen zu erkennen. Die Stuhluntersuchung wurde daher auf die Personen beschränkt, welche noch an einer ausgesprochenen Darmerkrankung litten.

Dagegen versprach die Agglutination eher einen Einblick in die Ausbreitung der Hausepidemie und eine Erklärung für eine Anzahl nicht typischer leichter Darmerkrankungen zu geben.

So wurde das Blutserum eines Teils der Ärzte, fast aller Schwestern und der in der medizinischen Klinik beschäftigten Hausmädchen auf Agglutination von Typhus, Paratyphus B, Dysenterie Shiga-Kruse und Flexner untersucht.¹

¹ Bei unseren Untersuchungen wurden wir vor allem von Hrn. Dr. Schürer in dankenswerter Weise unterstützt.

Unsere Untersuchungsmethode war folgende:

Durch Venenpunktion wurde mit ausgekochter Kanüle oder Spritze das Blut entnommen und über Nacht im Eisschrank aufgehoben. Am nächsten Morgen konnte dann fast immer ohne Zentrifugieren das Serum mit steriler Pipette abgehoben werden. Dieses wurde mit physiologischer Kochsalzlösung von 0.85 Prozent chemisch reinem Kochsalz im Verhältnis 1:50, 1:100, 1:200 usw. verdünnt und zwar in Mengen von 1^{ccm}. Dahinein wurde je eine Öse 24 Stunden alter Dysenterieschragagarkultur verrieben. Benutzt wurde ein Stamm des Bac. Dysenteriae Shiga-Kruse und ein Stamm des Bac. Flexner, welche dem Hygienischen Institut vom Hygienischen Institut zu Freiburg zur Verfügung gestellt waren. Außerdem wurde die Agglutinationsreaktion auch mit den frisch gezüchteten Stämmen angestellt. Die Ergebnisse stimmten immer überein.

Von Zeit zu Zeit wurden die Dysenteriestämme in Normalimmundysenterieeserum vom Titer 1:1000 aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt auf ihren Agglutinationstiter kontrolliert, der sich als konstant in der Beobachtungszeit erwies, d. h. immer 1:1000 erreichte.

Außerdem wurden gleichzeitig alle Sera auf Agglutinine für Typhus- und Paratyphus B-Bazillen geprüft. Als Kontrollen dienten physiologische Kochsalzlösung und Nährbouillon.

Es ergab sich nun zunächst die Frage, in welcher Verdünnung die Agglutination positiv ausfallen muß, um daraus Schlüsse auf eine überstandene Infektion mit Ruhrbazillen ziehen zu können. Für Typhus und Paratyphus wird gewöhnlich eine positive Widalsche Reaktion in einer Serumverdünnung 1:50 und höher als spezifisch angesehen. Ausnahmsweise kommt eine Agglutination von Typhusbazillen im Serum Gesunder auch noch in einer Verdünnung 1:100 vor, ohne daß ein Anhaltspunkt für eine überstandene Infektion vorliegt und ohne daß Gruppenagglutination wahrscheinlich ist.

Für die Ruhrbazillen ist die Grenze der auch im Normalserum vorkommenden Agglutination nicht so sicher festgestellt. Für den Shiga-Kruseschen Bacillus wird ein Agglutinationstiter 1:50 gewöhnlich als beweisend angesehen. Sicher ist auch, daß die große Mehrzahl der Sera gesunder Personen in dieser Verdünnung nicht agglutinieren (Lüdke).¹ Immerhin ist Agglutination des Shiga-Bacillus 1:50 wiederholt beobachtet worden, ohne daß sonst Verdacht auf eine Infektion bestand; in dieser Höhe scheint uns die Agglutination also noch nicht beweisend zu sein. Dagegen ist Agglutination des Shiga-Kruseschen Bacillus in einer Verdünnung 1:100 als sehr verdächtig anzusehen und Agglutinationen in stärkeren Verdünnungen müssen nach allem, was man weiß, als Zeichen überstandener Infektion beurteilt werden.

¹ Lüdke, *Die Bazillenruhr*. 1911.

Bei der Agglutination des *Bacillus Flexner* muß die Grenze anscheinend weiter gezogen werden. Wir bezeichnen hier als Flexner-Bazillen die ganze Gruppe der giftarmen Ruhrbazillen ohne Rücksicht auf die einzelnen Unterarten, deren strenge Abgrenzung serologisch nur schwer durchführbar ist.

Nach zahlreichen neueren Untersuchungen scheint es sichergestellt zu sein, daß eine sogenannte Normalagglutination für Flexner-Bazillen eine sehr verbreitete Erscheinung ist. So fand z. B. Löwenthal¹ unter 417 Blutproben, die zur Typhusdiagnose, Wassermannschen Reaktion usw. zugeschickt waren, 57mal eine positive (1:100) und 82mal stark angedeutete Agglutination von Y-Bazillen. Schopohl² fand unter 413 Pflinglingen einer Irrenanstalt 205 = 49.6 Prozent positive Agglutination gegen Flexner- bzw. Y-Bazillen, und von 96 neu aus der Heimat aufgenommenen Geisteskranken zeigten 50 = 52.1 Prozent positive Ruhragglutination (1:100). In der Umgebung von Ruhrkranken scheint eine Agglutination mit Serum anscheinend nicht Infizierter häufiger vorzukommen. Das ist ein Hinweis darauf, daß doch möglicherweise die Agglutination der Nichterkranken dennoch auf ein Eindringen von Bakterien in den Organismus zurückzuführen ist. In dieser Hinsicht sind bedeutungsvoll die Beobachtungen, die sonst über die Entstehung sogenannter Normalagglutinine gemacht werden. So fand G. Müller³ bei Neugeborenen viel seltener Normalagglutinine und Pfaundler⁴ beobachtete bei Säuglingen keine oder sehr geringe Agglutination des Serums auf Colibazillen, während bei Erwachsenen starke Agglutination von *Bact. coli* häufig vorkommt.

Immerhin kann man aus einer positiven Agglutination für Flexner-Bazillen bis zum Titer 1:100 keine sicheren Schlüsse ziehen, wenigstens solange keine verdächtigen Krankheitserscheinungen vorliegen.

Zuweilen ist es vielleicht berechtigt, auch schwächere Agglutinationen zur Diagnose heranzuziehen, besonders dann, wenn ein Ansteigen des Agglutinationstiters nach dem Beginn der Erkrankung und ein späteres Sinken zu beobachten ist. Es muß also die Aufmerksamkeit ganz besonders auf das Verhalten des Agglutinationstiters bei wiederholten Untersuchungen des Serums gerichtet sein. Als positiv wurden von uns nur diejenigen Fälle angesehen, bei welchen die Agglutination

¹ W. Löwenthal, *Diese Zeitschrift*. 1912. Bd. LXXII. S. 250—274.

² Schopohl, *Veröffentlichungen aus dem Gebiet der Medizinalverwaltung*. 1913. Bd. II. Hft. 6.

³ G. Müller, *Über Agglutinine normaler Tiersera*. Bern 1901. Zitiert bei Paltauf. *Kolle-Wassermanns Handbuch II*. 1913. Bd. I. S. 318.

⁴ Pfaundler, *Jahrbuch f. Kinderheilkunde*. Bd. L. S. 295.

wenigstens für einen der beiden Ruhrstämme in einer Serumverdünnung von 1:100 nachweisbar war. Agglutination nur in einer Verdünnung von 1:50 wurde nicht berücksichtigt. Agglutination nur bis 1:100 wurde bei fehlenden Krankheitssymptomen als zweifelhaft angesehen. Ganz gegen unser Erwarten ergab sich das sehr überraschende Resultat, daß eine auffallend große Zahl der in der Klinik beschäftigten Personen Agglutinine gegen Ruhrbazillen im Blute beherbergten (s. Tabelle I).

Untersucht wurde das Blut von 42 Krankenschwestern, von 12 Hausmädchen und von 10 Ärzten. Von diesen 64 Personen erwiesen sich 31 (50 Prozent) Sera als negativ gegen Ruhrbazillen und gegen die Bazillen der Typhusgruppe oder nur bis zur Verdünnung 1:50 positiv, ohne daß ruhrverdächtige Krankheitssymptome bestanden hatten (6 Ärzte, 21 Schwestern, 4 Hausmädchen). Bei einem Arzt, der an Typhus erkrankte, waren nur Agglutinine gegen Typhusbazillen nachzuweisen, hier wurden auch Typhusbazillen aus dem Blute gezüchtet. Außerdem wurde bei einem Hausmädchen Agglutination von Typhusbazillen in dem Titer 1:100 festgestellt, ohne daß ein anderer Anhaltspunkt für eine frühere Infektion bestand.

Ein zweifelhaftes Resultat, Agglutination von Ruhrbazillen nur bis zur Verdünnung 1:100 bei völliger Gesundheit, ergab sich bei 10 Angehörigen der Klinik (2 Ärzte, 5 Schwestern, 3 Hausmädchen). Es muß auffallen, daß diese Agglutination in niedriger Verdünnung ohne sonstigen Anhaltspunkt für eine Infektion in der Klinik verhältnismäßig häufig beobachtet wurde. Es liegt immerhin die Vermutung nahe, daß bei der bestehenden Infektionsgelegenheit leichte Infektionen erfolgt sind, ohne daß die betreffenden Personen deutliche Krankheitserscheinungen hatten. An diese Möglichkeit ist besonders auch deswegen zu denken, weil fast bei allen Fällen mit geringer Agglutination bei späterer Untersuchung eine Abnahme des Agglutinationstiters zu beobachten war. (Nr. 22, 25, 27 der Tabelle I.) Da der Nachweis von Bakterien in diesen Fällen nicht gelang, so ist allerdings der strenge Beweis dafür, daß die Agglutination tatsächlich mit dem Eindringen von Krankheitserregern in den Organismus etwas zu tun hat, nicht erbracht. Die Ergebnisse fordern zu weiteren Beobachtungen darüber auf, ob im Bereich einer Endemie häufiger Agglutinine auch bei anscheinend nicht infizierten Personen zu finden sind.

Eine Ruhrinfektion mußte angenommen werden bei 21 (33 Prozent) Angehörigen der Klinik, bei denen entweder ein Agglutinationstiter von über 1:100 oder ein geringerer Titer bei vorhandenen ruhrverdächtigen Krankheitssymptomen festgestellt wurde. Es handelt sich um 1 Arzt, 16 Schwestern, 4 Hausmädchen. Dazu kommen 4 Patienten der Klinik,

welche zur Hausepidemie zu rechnen sind. Die Gesamtzahl der positiven Fälle unter Hinzurechnung der 10 zweifelhaften beträgt also 35.

Von den 16 Schwestern, die sicher als infiziert mit Dysenteriebazillen gelten mußten, waren nur 7 wegen der dysenterischen Erkrankung in klinische Behandlung gekommen und zeitweise isoliert worden. Von den übrigen 9 Schwestern konnten bei 6 erst durch die nachträglich erhobenen Anamnesen ruhrverdächtige Darmstörungen festgestellt werden.

Bei 3 Krankenschwestern (E. Sch. Nr. 11, G. Sch. Nr. 18 und Th. Sp. Nr. 21), die hohe Agglutinationstiter im Serum zeigten, war über verdächtige Darmsymptome nichts zu erfahren. Sie waren teils im I. Pavillon, teils im Isolierbau beschäftigt, so daß sie Gelegenheit zur Infektion hatten. Für eine Infektion in diesen Fällen spricht auch, daß der Agglutinationstiter bei diesen 3 Schwestern in den nächsten Monaten abnahm. Mit größter Wahrscheinlichkeit kann man also annehmen, daß in diesen Fällen tatsächlich Krankheitserreger in den Organismus eingedrungen sind und zur Bildung von Agglutininen geführt haben, ohne daß von den infizierten Personen deutliche Krankheitssymptome bemerkt wurden.

Bei den Hausmädchen konnte ebenfalls über eine Erkrankung nichts in Erfahrung gebracht werden. An diesen anamnestischen Angaben ist ein gewisser Zweifel berechtigt, weil die Mädchen geringe Störungen nicht beachten und weil sie auch bei stärkeren Störungen sich nur ungern krank melden. Das Hausmädchen Kl. Nr. 10 der Tabelle war einer Infektionsgefahr dadurch besonders ausgesetzt, daß es auf dem Isolierbau beschäftigt war. Unter den Ärzten hatte nur Dr. Sch. (Nr. 29 der Tabelle) verdächtige Darmsymptome gehabt. Bei ihm erreichte das Serum auch einen Titer von 1:200 für Bac. Shiga-Kruse. Man muß hier jedenfalls eine Infektion annehmen. Bei 3 Ärzten war die Agglutination nur für Bac. Flexner 1:100 positiv, so daß diese drei Fälle bei fehlenden Krankheitssymptomen zu den zweifelhaften gerechnet werden mußten. Ferner sind zu der Hausepidemie 4 Patienten zu rechnen. Drei davon wurden bereits in der Einleitung besprochen. Außer diesen erkrankte ein Patient Otto B. (Nr. 16), der schon seit Februar wegen einer Spondylitis in klinischer Behandlung war. Im Juni traten länger dauernde uncharakteristische Durchfälle auf. Aus dem Stuhl konnten keine Dysenteriebazillen gezüchtet werden. Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, war am 2. Juli Agglutination von Bac. Flexner 1:200, Bac. Shiga 1:50 aufzuweisen. Der Kranke lag auf der Abteilung, auf welcher Schwester M. Pl. pflegte. Er ist so mit größter Wahrscheinlichkeit zu den Hausinfektionen zu rechnen.

Ätiologie und Verlauf der Erkrankungen.

In den wenigen Fällen unter den Hausinfektionen, bei denen die bakteriologische Diagnose durch Nachweis der Erreger im Stuhl gelang, wurde der *Bacillus Shiga-Kruse* isoliert. Mit größter Wahrscheinlichkeit kann daher angenommen werden, daß alle zur Hausepidemie gehörenden Erkrankungen auf den *Shiga-Kruseschen Bacillus* zurückzuführen sind, wenn auch die Agglutination vielfach kein eindeutiges Resultat ergab. Auf das Verhalten der letzteren im einzelnen soll später eingegangen werden.

Der Verlauf der in der Hausepidemie beobachteten Erkrankungen war durchschnittlich ein leichter. Länger dauernde blutig schleimige Durchfälle wurden nur bei 4 Kranken beobachtet. Die größere Mehrzahl der erkrankten Schwestern litt nur einige Tage an blutigen und schleimigen Durchfällen mit Tenesmen und erholte sich dann wieder in kurzer Zeit.

Wie schon in der Einleitung auseinandergesetzt wurde, war der Ursprung der Hausinfektionen auf die Erkrankung des aus Südwestafrika zurückgekehrten ehemaligen Soldaten M. zurückzuführen. Die in Südwestafrika beobachteten Ruhrerkrankungen scheinen größtenteils auf den *Shigaschen Bacillus* zurückzuführen sein. Im allgemeinen sollen Rückfälle und chronische Ruhr unter den dort erkrankten Soldaten selten vorgekommen sein. Bisher ist anscheinend nur ein aus dem Südwestafrikafeldzug stammender Bazillenträger in Deutschland beschrieben worden.¹ Der bei uns beobachtete Kranke beweist von neuem, daß Leute, die Ruhr durchgemacht haben, später unter Umständen wieder erkranken und für ihre Umgebung gefährlich werden können. Es ist von besonderer Bedeutung, daß ein verhältnismäßig schweres Rezidiv nach einer leichten erstmaligen Erkrankung vorkommen kann. Auch in einigen anderen Fällen konnten wir ein ähnliches Verhalten beobachten. Es kam nämlich wiederholt vor, daß eine positive Agglutinationsreaktion bestand, während keine sicheren Krankheitserscheinungen vorhergegangen waren, daß aber nach einiger Zeit dann doch noch typische dysenterische Krankheitserscheinungen sich einstellten. Ein Beispiel dafür ist die Schwester R. Sch. (Nr. 13 der Tabelle I). Am 1. Juli wurde bei dieser Schwester Agglutination von 1:200 für *Shiga-* und *Flexner-Bazillen* nachgewiesen. Sie

¹ Hillebrecht, Über ruhrartige Erkrankungen in Deutsch-Südwestafrika. *Archiv f. Schiff- u. Tropenhygiene*. 1905. Bd. IX. S. 387. — Bofinger, Über die in Lüderitzbucht beobachteten Ruhrerkrankungen und ihre bakteriologische Untersuchung. *Centralblatt f. Bakteriologie*. Bd. XXXIX. — E. Küster, Ein Dysenteriebazillenträger. *Münchener med. Wochenschrift*. 1908. S. 1833.

hatte zu dieser Zeit noch keinerlei Krankheits Symptome bemerkt oder beobachtet. Erst am 27. Juli meldete sie sich krank und hatte einige Tage typische dysenterische Stuhlentleerungen. Die Agglutination war zuletzt für Flexner-Bazillen in einer Verdünnung 1:500, Shiga-Bazillen 1:300 positiv. Man muß sich also die Vorstellung machen, daß hier die Infektion anfangs eine nur leichte war und entweder gar keine oder doch nur sehr leichte Störungen verursacht hat, und daß dann erst nach Wochen ein schweres Rezidiv sich entwickelt hat. Derartige Beobachtungen sind deswegen besonders bemerkenswert, weil sie mit Sicherheit beweisen, daß eine Ruhrinfektion unbemerkt verlaufen kann und daß auch nach solchen überaus leicht verlaufenden Infektionen Agglutinine im Serum auftreten können. Es ergibt sich so eine Erklärung für diejenigen Fälle, wo wir positive Agglutination für Ruhrbazillen feststellen konnten, ohne daß die betreffenden Personen etwas von einer Erkrankung bemerkt hatten.

Art der Ausbreitung.

Die Ausbreitung der Infektionen erfolgte, wie das bei der Kleinheit der Epidemie in der inneren Klinik mit großer Sicherheit zu beobachten war, durch Kontaktinfektion von Person zu Person, vielleicht auch unter Vermittlung von Gebrauchsgegenständen, wahrscheinlich auch durch Übertragung auf den Aborten. Eine Infektion durch Nahrungsmittel und Wasser war auszuschließen, denn die Beköstigung ist für alle Schwestern eine gemeinsame. Erkrankungen und positive Agglutinationen kamen aber in erster Linie bei Schwestern vor, welche im Pavillon I und im Isolierbau beschäftigt waren, wo die zuerst Erkrankten verpflegt wurden. Eine Verschleppung nach dem Pavillon II fand erst später, wahrscheinlich durch Schwester M. Pl. statt. Eine Ausbreitung unter den Schwestern ist dadurch besonders begünstigt, weil sie alle bei gemeinsamen Mahlzeiten miteinander in Berührung kommen können und weil sie auch durch die wechselnden Nachtwachen auf verschiedenen Abteilungen beschäftigt sind.

Wie schon aus oben angeführten Beispielen hervorgeht, scheinen bei der Übertragung der Infektionen weniger die Schwerkranken, als vielmehr gerade leicht Kranke oder latent Infizierte eine Rolle zu spielen. In dieser Richtung ist epidemiologisch besonders interessant die Schwester J. H. (Nr. 21 der Tabelle). Wie bereits oben erwähnt, erkrankte auf der Abteilung, wo diese Schwester pflegt, der Patient B. (Tabelle Nr. 8), der dort seit 12. VI. wegen hämorrhagischer Diathese lag, am 18. VI. plötzlich mit Durchfällen, die sich durch die Agglutination und durch den Sektionsbefund als Ruhr erwiesen. Anfangs war der Infektionsmodus bei diesem

Patienten unklar gewesen. Als nun am 8. Juli das Serum der genannten Schwester den Bacillus Shiga bis 1:50 agglutinierte, gab die Schwester auf Befragen zu, daß sie Anfang Juni ungefähr 14 Tage lang heftige schmerzhaft Durchfälle gehabt habe. Es ist also höchstwahrscheinlich, daß die Schwester eine leichte Ruhr durchgemacht hatte und daß dadurch die Infektionsmöglichkeit für den Patienten B. gegeben war.

Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß die Bazillendysenterie als außerordentlich ansteckend anzusehen ist. Während Hausinfektionen mit Typhus und Paratyphus in der Heidelberger Klinik bei einer keineswegs sehr strengen Isolierung der Kranken seit vielen Jahren niemals vorgekommen sind, ließen sich Übertragungen von Ruhrinfektionen, wie gesagt, nicht vermeiden, obwohl das Pflegepersonal im allgemeinen gut geschult und gewissenhaft ist. Eine strenge Isolierung aller Ruhrverdächtigen würde nach unseren Erfahrungen dringend nötig sein, um Übertragungen zu vermeiden. Praktisch läßt sich das nur deswegen so schwer durchführen, weil offenbar gerade bei der Ruhr die Leichtkranken und Latentinfizierten eine so große Rolle spielen. Und die Ermittlung aller Infizierten dürfte gewöhnlich auf große Schwierigkeiten stoßen.

Serumuntersuchungen bei anderen Kranken und bei Gesunden.

Durch die Häufung von Ruhrinfektionen und positiven Agglutinationen für Ruhrbazillen unter dem Personal der Klinik wurde unsere Aufmerksamkeit natürlich auf die Frage gelenkt, wie weit auch sonst Darmkrankungen auf eine Infektion mit Ruhrbazillen zurückzuführen sind. Diese Frage lag für uns um so näher, als in dieser Zeit auch in der Psychiatrischen Klinik bei einer Anzahl von dysenterischen Erkrankungen Flexner-Bazillen nachgewiesen wurden. Es wurden daher im Sommer 1912 die Sera einer Reihe von Personen untersucht, die wegen akuter und chronischer Darmstörungen in die innere Klinik aufgenommen waren. Und zwar wurde in der oben beschriebenen Weise die Agglutinationsreaktion sowohl mit Dysenteriebazillen vom Typus Shiga-Kruse und Flexner, als auch mit Typhus und Paratyphus B-Bazillen angestellt. Sehr bald ergab sich die Notwendigkeit, diese Untersuchung auch auf Sera anderer Patienten der Klinik auszudehnen, um ein Vergleichsmaterial zu gewinnen. Es wurden nun alle Sera, die aus der inneren Klinik im Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten wegen Typhusverdacht einliefen, ebenso wie die Sera einer Reihe von Patienten der inneren Klinik, welche keinerlei Darmstörungen hatten, auf Ruhragglutinine untersucht. In der hier vorliegenden Zusammenstellung sind nur diejenigen Beobachtungen berücksichtigt, die sich auf Personen beziehen, über deren

Gesundheitszustand bzw. deren klinisches Verhalten sich der eine von uns in der medizinischen Klinik unterrichten konnte. Nur als Vergleichsmaterial wurde eine Anzahl negativer Agglutinationsresultate herangezogen, die sich auf Sera beziehen, welche dem Untersuchungsamt wegen Typhusverdacht nicht aus Heidelberg, sondern von auswärts zugesandt waren.

Die Gesamtzahl der in dieser Zusammenstellung berücksichtigten Fälle beträgt 180. Sie verteilen sich folgendermaßen:

1. Zur Hausepidemie in der medizinischen Klinik gehörende Personen, gesunde und erkrankte	68
2. Patienten der medizinischen Klinik (abgesehen von denen unter 1), die auf Ruhragglutinine untersucht wurden . .	96
3. Von auswärts wegen Typhusverdacht zugesandte Sera . .	16
<hr/>	
Gesamtzahl der auf Ruhragglutinine untersuchten Personen:	180

Da zahlreiche Personen wiederholt auf Agglutinine untersucht wurden, so ist die Zahl der tatsächlich ausgeführten Untersuchungen eine erheblich höhere.

Positiv für Typhus allein waren 7 Sera, für Paratyphus B 4 Sera; davon waren 5 Sera von auswärts wegen Typhusverdacht eingesandt, während 6 Sera von Kranken aus der medizinischen Klinik stammten. Zu den letzterwähnten Patienten gehörte der oben erwähnte Arzt der Klinik, der an Typhus erkrankt war. Nur in einem Falle war für die Entstehung der Typhusagglutinine kein Grund erkennbar; es handelte sich um ein gesundes Hausmädchen, das schon oben bei Gelegenheit der Besprechung der Hausepidemie erwähnt wurde und dessen Serum *Bac. typhi* 1:100 agglutinierte. Am wahrscheinlichsten ist wohl, daß es sich hier um eine frühere leichte Typhusinfektion gehandelt hat.

Keine Agglutination für Typhus, Paratyphus, Dysenterie, Shiga-Kruse und Flexner wurde im Serum von 80 Personen festgestellt. Es handelte sich um 38 Sera von Kranken aus der medizinischen Klinik, um 11 Sera, die wegen Typhusverdacht von auswärts dem Untersuchungsamt zugeschickt wurden und um die oben besprochenen 31 Personen, die in der medizinischen Klinik der Infektionsgefahr ausgesetzt waren, aber gesund blieben.

Die negativen Agglutinationen bei Patienten der medizinischen Klinik verteilen sich folgendermaßen:

Tuberkulose der Lungen	2
Tuberkulose mit Durchfällen	3
Akute Durchfälle	11
Chronische Durchfälle	2
Colitis	1
Herzinsuffizienz mit Durchfällen	1
Potator mit Magenbeschwerden	1
Hepatitis mit Ikterus	4
Leberzirrhose	1
Cholangitis	1
Psychopathie mit Durchfällen	1
Milztumor, Obstipation	1
Pylorus-Karzinom	1
Arteriosklerose, Obstipation	1
Pseudoleukämie	1
Lues cerebri	1
Morbilli	1
Tabes dorsalis	1
Sepsis	1
Ohne bestimmte Krankheit	2

38

Agglutination von Ruhrbazillen wurde im ganzen bei 89 Personen beobachtet. Abgesehen von den bereits oben besprochenen 35 zur Hausepidemie gehörenden Personen betrug die Zahl der Patienten mit positiver Agglutination gegen Ruhrbazillen (d. h. in einer Verdünnung von 1:100 und höher) im ganzen 54.

In 39 Fällen handelt es sich um Personen, die wegen Krankheitserscheinungen von seiten des Darmes in die Klinik kamen, und zwar waren es teils Kranke mit akuten Infektionen, teils Leute, die wegen chronischer Darmstörungen in der Klinik behandelt wurden.

Nach dem Verhalten der Agglutinationen lassen sich diese 39 Kranken in 2 Gruppen einteilen:

1. Kranke, deren Serum ausschließlich den *Bacillus Flexner* agglutinierte.

2. Kranke, deren Serum den *Bacillus Flexner* und den *Bacillus Shiga-Kruse* beeinflusste, sowie einer, bei dem Agglutinine nur für den *Bacillus Shiga-Kruse* gefunden wurden.

In der Tabelle II sind diese 38 Kranken mit den Agglutinationszahlen zusammengestellt.

Zu der ersten Gruppe, bei der nur Agglutinine gegen Flexner-Bazillen gefunden wurden, gehören 13 Personen, über deren Krankheitserscheinungen weiter unten berichtet werden wird. Bei diesen kann mit Wahrscheinlichkeit eine Infektion mit Flexner-Bazillen angenommen werden. Bei 6 Kranken wurde ein Titer von 1:200 erreicht, während die Sera von 7 Kranken nur bis zur Verdünnung 1:100 agglutinierten. Fast bei allen Kranken, die mehrfach untersucht wurden, konnte gleichzeitig mit der Besserung der Krankheitserscheinungen eine schnelle Abnahme des Agglutinationstiters beobachtet werden. Die Infektionsquelle war bei einigen Patienten festzustellen; der Patient Ad. (Tabelle Nr. 1) hatte sich höchstwahrscheinlich im Untersuchungsamt infiziert, wo er mit der Untersuchung von dysenterischen Ausleerungen zu tun hatte. Ebenso ist die Erkrankung der Patientin Johanna D. (Nr. 17) auf eine Laboratoriumsinfektion zurückzuführen. Es handelte sich um eine Laborantin, die im Untersuchungsamt beschäftigt war. Bei der Patientin Amalie K. (Nr. 18) war die psychiatrische Klinik als Infektionsquelle festzustellen. Wie schon erwähnt, waren dort Erkrankungen an Flexner-Ruhr vorgekommen und die Patientin war bei der Pflege einer Ruhrkranken beteiligt gewesen. Ebenso war die Infektion des Josef Sch. (Nr. 36) wahrscheinlich auf die psychiatrische Klinik zurückzuführen. Dieser Kranke ist epidemiologisch besonders interessant. Er war Wärter in der psychiatrischen Klinik und hatte dort Gelegenheit zur Infektion gehabt, blieb aber gesund. Ende Juli wurde er zu einer 14 tägigen militärischen Übung eingezogen. Erst am letzten Tage der Übung erkrankte er auf dem Übungsplatze mit dysenterischen Erscheinungen und kehrte dann sofort nach Hause zurück. Im Stuhl wurde der Bacillus Flexner gefunden. Man kann also annehmen, daß hier erst längere Zeit nach dem Eindringen der Infektionserreger, vielleicht unter dem Einfluß der veränderten Lebensweise, die Krankheitserscheinungen zu Tage traten.

Bei den übrigen Kranken konnte über die Infektionsquelle nichts ermittelt werden. Nur bei zwei Patienten, Friedrich C. und Ernst R. (Nr. 6 und Nr. 30) muß eine gemeinsame Infektion angenommen werden. Es handelt sich um zwei Angestellte einer Konditorei, die zusammen wohnten. Ein Teil der Kranken stammte aus Heidelberg und der näheren Umgebung, einige kamen auch von außerhalb.

Zu der zweiten Gruppe gehört die größere Zahl der Kranken (26). Nur in einem Falle (Nr. 35) wurde starke Agglutination allein für den Shiga-Kruse-Bacillus festgestellt, bei allen anderen war gleichzeitig Agglutination des Flexner-Bacillus zu beobachten. Zuweilen wurde bei der ersten Untersuchung ausschließlich eine Agglutination für Flexner-Bazillen, bei der zweiten für beide Stämme festgestellt. Stärkere Agglu-

tion des Flexner-Bacillus fand sich bei 3 Kranken, stärkere des Shiga-Bacillus bei 12, gleiche Agglutination für beide Stämme bei 11 Kranken. In zwei Fällen erreichte die Agglutination nur den Titer 1:50 für Bac. Shiga-Kruse, in zwei Fällen 1:100, dagegen erreichten 21 Sera einen Titer von 1:200 für den Bac. Shiga-Kruse; ein Serum agglutinierte bis zur Verdünnung 1:500.

Obwohl bei fast sämtlichen 39 an Darmstörungen leidenden Kranken eine bakteriologische Untersuchung der Fäzes unternommen wurde, gelang es leider nur in zwei Fällen, aus der ersten Gruppe bei dem Patienten Hermann C. (Nr. 5) und bei dem Patienten Josef Sch. (Nr. 36), einen Erreger zu züchten und zwar in beiden Fällen ein Bakterium aus der Flexner-Gruppe. Bei den Kranken der zweiten Kategorie mit Agglutininen für Shiga-Kruse-Bazillen war es in keinem Falle möglich, den Erreger in den Fäzes zu finden. In vielen Fällen wurden auch Blutkulturen angelegt, die stets steril blieben.

Wenn man den in der Literatur niedergelegten Anschauungen folgt, so kann man es wohl als sicher ansehen, daß der größte Teil der Personen der zweiten Gruppe mit dem Shiga-Kruseschen Bacillus infiziert war. Denn, wie schon erwähnt, spielen sogenannte Normalagglutinine für den Shiga-Kruseschen Bacillus in einer Verdünnung über 1:50 offenbar keine Rolle. Daß der Flexner-Bacillus häufig stärker agglutiniert wird, läßt sich nicht gegen eine Shiga-Krusesche Infektion verwerten, denn dies Überwiegen der Gruppenagglutination ist eine auch bei bakteriologisch sichergestellten Shiga-Kruse-Dysenterien häufig beobachtete Erscheinung (vgl. Schroeter und Gutjahr¹, Doerr², Kraegel³, Romm und Balaschow⁴ u. a.).

Ein Vergleich mit der Tabelle der Hausinfektion zeigt das gleiche Verhalten. Es handelt sich bei diesen, wie oben auseinandergesetzt wurde, um Shiga-Kruse-Ruhr. In einigen Fällen (Schwester H. Sch. Nr. 4, Pat. Josef W. Nr. 2) wurde der Shiga-Kruse-Bacillus gezüchtet und bei den anderen Erkrankungen war der epidemiologische Zusammenhang erwiesen. Die Agglutinationszahlen zeigen dennoch vielfach ein Überwiegen der Agglutinine für Flexner-Bazillen. Zu Beginn und beim Abklingen der Agglutination war sogar zuweilen nur die Agglutination für den Flexner-Stamm nachweisbar, so daß in solchen Fällen fälschlich die Diagnose auf Flexner-Ruhr gestellt werden kann.

¹ Schroeter u. Gutjahr, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1911. Bd. LVIII. S. 577.

² Doerr, *Ebenda*. I. Abt. Bd. XXXIV. S. 385.

³ Kraegel, *Ebenda*. 1911. Bd. LVIII. S. 48.

⁴ Romm u. Balaschow, *Ebenda*. 1912. Bd. LXVI. S. 426.

Durch den Castellanischen Versuch könnte ein Teil der zweifelhaften Fälle aufgeklärt werden, doch war das bei der Häufung der Arbeit während der Epidemie nicht durchzuführen.

Die Agglutinationsfähigkeit des Serums war gewöhnlich schon nach Beginn der Krankheitssymptome zu beobachten. Nur in wenigen Fällen waren anfangs noch gar keine Agglutinine nachweisbar. Auffallenderweise handelte es sich gerade in diesen Fällen zuweilen um Kranke, die schon seit längerer Zeit an Kolitis mit schleimig-eitrigen Durchfällen litten und wegen einer Verschlimmerung ihrer chronischen Ruhr in die Klinik kamen. Zum Beispiel hatte der Patient Franz K. (Nr. 17) bereits vor 5 Jahren in Indien Ruhr gehabt, hatte dann wiederholt an Durchfällen gelitten und war im Sommer 1912 wieder mit heftigen Diarrhöen und Kolikschmerzen erkrankt. Am 24. August agglutinierte sein Serum nur Bac. Flexner 1:100, dagegen am 6. September 1:200 und jetzt auch den Bac. Shiga-Kruse 1:200, jedoch nicht ganz so stark als den Flexner-Stamm. Es handelte sich hier höchstwahrscheinlich doch um eine Shiga-Kruse-Ruhr. Man muß annehmen, daß trotz der chronischen Infektion die Agglutinine verschwinden können, um bei einem Rezidiv wieder aufzutreten. Ein negativer Ausfall der Agglutinationsreaktion scheint also nicht absolut gegen das Bestehen einer chronischen Ruhr zu sprechen.

Mitagglutination von Dysenteriebazillen bei sicher typhuskranken Patienten wurde in vier Fällen beobachtet; in einem Falle bestand eine bakteriologisch nachgewiesene Infektion mit dem Bacillus Paratyphi B (s. Tabelle Nr. 5), dabei fanden sich im Serum nur Agglutinine gegen Flexner-Bacillus, nicht gegen Paratyphusbazillen.

		Bacillus Flexner	Bacillus Shiga-Kruse	Typhus	Paratyphus	Bemerkungen
1. Kr.	16. VII.	1:50 1:100	— —	— 1:200	— 1:100	Typhusbazillen
2. Kr.	21. VII.	1:50	1:200	1:200	1:50	Typhusbazillen
3. H.	26. VIII.	—	1:200	—	—	Typhusbazillen
4. Sch.	10. VII.	—	—	—	1:100	Typhusbazillen im Stuhl
	20. VII.	1:100	1:200	1:100	1:100	
	30. VII.	1:100	1:600	1:100	1:100	
5. Z.	26. VII.	1:100	—	—	—	Paratyphusbazillen
	6. VIII.	—	—	—	—	
6. Babette W.	1. VIII.	—	—	—	1:100	Keine Krankheitserreger nachzuweisen
	17. VIII.	1:200	1:200	1:200	1:200	

Bei den Kranken 1 bis 4 der Tabelle konnte der *Bacillus typhi* aus dem Blut oder aus den Fäzes isoliert werden, während bei dem Patienten Z. (Nr. 5) der *Bacillus paratyphi* B im Stuhl gefunden wurde. Bei diesen Kranken spricht auch der klinische Verlauf für Typhus und Paratyphus. Auch bei der Kranken Sch. (Nr. 4) verlief die Erkrankung wie ein gewöhnlicher schwerer Typhus ohne irgendwelche dysenterischen Symptome. Hier ist aber der Anstieg des Agglutinationstiter für den Bac. Shiga-Kruse bis zur Verdünnung von 1:600 doch sehr auffällig und legt den Verdacht nahe, ob hier nicht doch eine Mischinfektion stattgefunden hat. Die Möglichkeit zu einer Infektion war jedenfalls während der Hausepidemie in der Klinik vorhanden.

Auffallend ist, daß auch bei den anderen in der Tabelle verzeichneten Kranken eine Agglutination bis zu 1:200 für den Bac. Shiga-Kruse sich fand, da sich in der Literatur keine Angaben für so hohe Mitagglutination der Dysenteriebazillen bei Typhus finden. Doch ist bei diesen Kranken eine Mischinfektion als ausgeschlossen, zum mindesten als äußerst unwahrscheinlich anzusehen. Man muß also wohl damit rechnen, daß bei einer Infektion mit *Bac. typhi* und *paratyphi* tatsächlich starke Mitagglutination von Dysenteriebazillen vorkommen kann. Besonderes Interesse verdient der Kranke H. (Nr. 3), der klinisch und bakteriologisch an Typhus abdominalis litt. In der Fäzes fand sich der *Bac. typhi*. Sein Serum enthielt aber nur Agglutinine für den Bac. Shiga-Kruse. Leider wurde das Serum nur einmal untersucht, so daß sich über das Auftreten von Agglutininen für Typhus nichts aussagen läßt.

Gleichzeitige hohe Agglutination von Typhus und Dysenterie wurde im Serum einer Kranken beobachtet, bei welcher die Art der Infektion unklar blieb (Babette W. Nr. 6 der Tabelle). Es handelt sich um ein junges Mädchen, bei welchem wegen chronischer Darmbeschwerden eine teilweise Resektion des Kolons ausgeführt war. Sie litt an Verstopfung abwechselnd mit Durchfällen und hatte zeitweise Blut im Stuhl. Die Temperatur war dauernd subfebril; es bestand geringe Leukozytose (12000). Typhus läßt sich mit größter Wahrscheinlichkeit ausschließen. Es handelt sich hier also möglicherweise um eine chronische Ruhrinfektion und um Gruppenagglutination für Typhus und Paratyphus.

Starke Agglutination von Ruhrbazillen, ohne daß der klinische Verlauf für eine Ruhrinfektion sprach, wurde bei 9 Kranken beobachtet. Darunter befanden sich allein fünf Kranke mit Ikterus (s. folgende Tabelle).

Für das Auftreten von Agglutininen für Ruhrbazillen bei Ikterus finden sich Parallelen in der Literatur. Daß der Ikterus an sich nicht ohne weiteres eine Agglutination bedingt, geht aus einigen Beobachtungen hervor, wo wir bei bestehendem Ikterus eine Agglutination nicht feststellen

	Bacillus Flexner	Bacillus Shiga-Kruse	Klinische Diagnose
1. Schw. 16. VII.	1:100	—	Akuter infektiöser Ikterus mit Milzschwellung und Fieber
31. VII.	1:200	—	
2. W. 19. VIII.	1:200	—	„Icterus catarrhalis“
3. M. 21. VIII.	1:200	—	Hänotsche Zirrhose mit Cholangitis. Geringes Fieber. Wassermann +
4. Schm. 23. VIII.	1:200	1:200	Choledochusstein. Empyem der Gallenblase. Operiert. Bact. Coli aus der Gallenblase isoliert
5. H. 1. X.	1:200	—	Karzinom der Gallenblase. Cholangitis. Hohes Fieber. Wassermann +

konnten. Die Gründe sind jedenfalls noch unklar und bedürfen einer weiteren Erforschung. Agglutination von Typhus- und Paratyphusbazillen trat in diesen Fällen nicht ein. Bei den akuten Fällen, die unter dem Bilde einer akuten Infektionskrankheit verlaufen, liegt die Vermutung nahe, daß der unbekannte Erreger den Ruhrbazillen nahe steht und eine Gruppenagglutination erzeugt. Interessant ist namentlich die Kranke Schm. (Nr. 4 der Tabelle). Sie litt an einem Choledochusstein mit Empyem der Gallenblase. Seit 6 Wochen bestand starker Ikterus. Aus dem Gallenblaseneiter wurde das Bact. coli gezüchtet. Es besteht hier also die Möglichkeit, daß durch eine Coliinfektion Agglutinine auch für Ruhrbazillen hervorgerufen wurde. Diese Beobachtung scheint ein Fingerzeig zu sein, in den anderen Fällen ebenfalls an eine Gruppenagglutination zu denken.

In drei Fällen wurde ferner positive Agglutination von Dysenteriebazillen bei Syphilis beobachtet, ohne daß ein sicherer Anhaltspunkt für eine Ruhrinfektion bestand.

	Bacillus Flexner	Bacillus Shiga-Kruse	
1. H. 1. VII.	1:200	1:200	Syphilis im Sekundärstadium. Darmblutung!
10. VII.	1:200	—	
17. VIII.	1:100	1:200	
2. A. 9. X.	1:200	1:200	Viscerale tertiäre Syphilis
26. X.	1:100	—	
3. L. 8. X.	1:200	1:200	Tertiäre Syphilis ohne Darmsymptome

Bei der Patientin H. ist an die Möglichkeit einer Dysenterie zu denken. Es hatten sich bei ihr während einer Schmierkur Durchfall, Kolikschmerzen, Fieber und endlich eine schwere Darmblutung eingestellt. Ruhrbazillen wurden im Stuhl nicht gefunden. Auffallend sind die Schwankungen des Agglutinationstiters.

Bei den beiden anderen Patienten bestand gar kein Anhaltspunkt für eine Ruhrinfektion.

Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, ob tatsächlich bei Syphilis häufiger Agglutination von Ruhrbazillen vorkommt oder ob es sich hier um zufällig vorhandene Normalagglutinine oder von früheren Infektionen stammende Agglutinine handelt.

Ebenso unklar ist ferner eine Erkrankung, die unter den Erscheinungen einer atypischen Pneumonie verlief. Die Kranke hatte Fieber bis 38.5 (Selma D.). Später entwickelte sich ein pleuritisches Exsudat mit abermaligem Temperaturanstieg auf 39.2. Es bestand hartnäckige Obstipation ohne sonstige Darmsymptome. Das Blutserum agglutinierte bei zweimaliger Untersuchung beide Ruhrstämme bis 1:200.

Klinische Beobachtungen.

Aus dem klinischen Verlauf der Erkrankungen, die als Ruhrinfektionen aufzufassen waren, sind einige Einzelheiten hervorzuheben.

In einer Anzahl der Erkrankungen war das typische Bild der Bazillenruhr zu beobachten, wie es vielfach, in neuerer Zeit z. B. von Lüdke ausführlich geschildert wurde. Diese typischen Ruhrfälle kamen besonders unter den schwerer verlaufenden Shiga-Kruse-Infektionen, wie sie bei der Hausepidemie beobachtet wurden, vor. Etwas Neues wäre hier kaum dazuzufügen.

Wichtiger scheint es die Aufmerksamkeit gerade auch den atypischen und leicht verlaufenden Ruhrinfektionen zuzuwenden. Eine Trennung der Shiga-Kruse- und der Flexner-Ruhr nach klinischen Gesichtspunkten erscheint kaum möglich. Richtig ist es wohl, daß schwere typische Ruhr häufiger durch den Shiga-Kruse-Bazillus hervorgerufen wird. Aber aus unseren Beobachtungen geht doch hervor, daß es sich bei abortiv verlaufenden Erkrankungen um Shiga-Ruhr handeln kann und daß andererseits auch der Flexnersche Mikroorganismus ganz schwere und tödliche Erkrankungen hervorzurufen vermag.

Auch ein Teil der leichten kurz dauernden Erkrankungen verläuft unter typischen Ruhrsymptomen, d. h. mit ausgesprochenen Tenesmen und sehr häufigen Stuhlentleerungen in sehr kleinen Blut, und Schleim enthaltenden Einzelportionen. Nur gehen alle Erscheinungen in wenigen Tagen vorüber. Es folgt dann gewöhnlich eine mehr oder weniger lange dauernde Periode mit unbestimmteren Verdauungsbeschwerden, die gewöhnlich hauptsächlich in Kolikschmerzen und Obstipation bestehen. Häufig ist das ganze Kolon druckempfindlich, zuweilen beschränkt sich die Schmerzhaftigkeit auf einzelne Abschnitte, z. B. auf die Gegenden der

Flexura lienalis oder auf das Colon descendens. Bei isolierter Schmerzhaftigkeit am Coecum kann Verdacht auf Appendizitis bestehen. In einigen Fällen waren nur an einem Tage einige blutige oder schleimige Stühle unter Tenesmen entleert worden und es folgte dann eine kurze Periode mit Obstipation und allgemeinem Unbehagen. In den meisten Fällen war im Anfang etwas Fieber vorhanden; der Fieberabfall erfolgte gewöhnlich in wenigen Tagen, manchmal kritisch oder in großen Stufen. Die Leukozytenzahlen waren in den darauf untersuchten Fällen teils normal, teils etwas erhöht. Im Gegensatz zu den meisten Autoren konnten wir in einer großen Anzahl der Ruhrinfektionen eine palpable Milzschwellung feststellen. Unter den akuten abortiv verlaufenden Erkrankungen spielt das Bild der gewöhnlichen akuten Gastroenteritis eine große Rolle, ohne daß es zu ausgesprochenen Schleimstühlen kommt. Und zwar kann die Erkrankung sowohl als schwerer akuter Brechdurchfall verlaufen oder mehr unter dem Bilde einer Allgemeininfektion mit weniger hervortretenden Darmstörungen. Die folgenden Krankengeschichten sollen als Beispiele dieser schnell und leicht verlaufenden Ruhrinfektionen dienen.

1. Friedrich D. (s. Tabelle II Nr. 6), 28jähr. Dienstknecht. War 1906 bis 1908 als Soldat in Deutsch-Südwestafrika. In der Nacht vom 25. bis 26. Juli erkrankte er ganz plötzlich ohne besondere Veranlassung mit Erbrechen und Durchfall. Bis früh morgens fortwährend wäßrige Diarrhöen. Keine Tenesmen. Morgens Wadenkrämpfe, heftiger Durst.

Bei der Aufnahme in die Klinik am 26. Juli: Sehr matt, zyanotisch, Augen eingesunken, Zunge trocken, Urin sehr spärlich, enthält etwas Eiweiß. Temperatur erreicht 37.2° , Puls 110. Noch einige wäßrige diarrrhoische Stühle ohne Blut, ohne Tenesmen. Milz deutlich palpabel. Am 31. Juli Agglut. mit Typhus und Paratyphus negativ, Bac. Flexner 1:200, Bac. Shiga-Kruse 1:50 positiv. Im Stuhl keine Ruhrbazillen nachweisbar. In den nächsten Tagen rasch völlige Erholung.

2. Curt N. (s. Tabelle II Nr. 23), 18 Jahre alt, stud. theol. Am 26. Juni Kopfschmerz, in den nächsten Tagen wieder besser. Am 29. Juni plötzlich Fieber, Kopfschmerz, Erbrechen, viermal Durchfall; bei der Aufnahme am 29. Juni Temperatur 39.6° , Puls 100. Stuhl diarrrhoisch ohne Tenesmen, erbsenbreiartig, Abdomen weich, gurrende Geräusche in den Därmen, Milz deutlich geschwollen. Im Urin etwas Eiweiß. Am 1. Juli Agglut. für Typhus und Paratyphus negativ, für Bac. Flexner und Bac. Shiga-Kruse 1:200 positiv. Bei der bakteriologischen Untersuchung des Stuhls werden keine Erreger gefunden. Die Temperatur fällt kritisch ab. Patient erholt sich dann schnell.

3. Gustav L., 23 Jahre, stud. phil. (s. Tabelle II Nr. 21). Schon vor 14 Tagen nach Fischgenuß starke Durchfälle, dann wieder gesund. Am 25. Juli sehr müde, erschöpft. Am 26. Juli Fieber, drückender Schmerz in der Magengegend, Appetitlosigkeit, Stuhl verstopft.

Am 29. Juli bei der Aufnahme etwas matt, Temperatur 38.6°, Puls 70, Zunge etwas belegt. Große derbe Milzanschwellung. Urin hochgestellt, enthält Eiweiß. Am 30. Juli fleckiges, flüchtiges Exanthem, am Rumpf 5000 Leukozyten, darunter 49 Prozent Lymphozyten, 8 Prozent große Mononukleäre, 1 Prozent Eosinophile. Am 2. August Herpes zoster rechts am Rücken, der sich bald zurück bildet. Erholt sich schnell, doch ist die Milzschwellung bei der Entlassung noch nachweisbar. Am 30. Juli Agglut. für Typhus und Paratyphus negativ, für Bac. Flexner bis 1:200, für Bac. Shiga-Kruse bis 1:50 positiv. Blutkultur steril. In Stuhl keine Erreger nachweisbar. Am 5. August Agglut. nur noch für Flexner 1:50 positiv.

4. Hermann C., 19 Jahr, Konditor (s. Tabelle II Nr. 5). Am 12. Juni mit Leibschmerzen erkrankt, am 16. Juni stärkere Leibschmerzen, Kopfschmerz, Frösteln. Kein Erbrechen, Appetitlosigkeit. Seit 15. Juni Verstopfung.

Aufnahme am 17. Juni. Temperatur 38.0°. An den Unterlappen einige bronchitische Geräusche. Leber überragt etwas den Rippenbogen, Milz deutlich vergrößert und fühlbar, reicht einen Querfinger über den linken Rippenbogen. Die Schmerzen sind hauptsächlich auf die Gegend des Coecum beschränkt. Im Blut 10000 Leukozyten im Kubikmillimeter, 79 Prozent polymorphkernige, 21 Prozent Lymphozyten. Stuhl immer geformt. Am 20. Juni Temperaturanstieg unter Frost auf 39.4°, dann rasche Entfieberung und völlige Erholung. Am 1. Juli wurde aus dem Stuhl ein Ruhrbacillus isoliert, der die Eigenschaften des Y-Bacillus zeigte. Blutkultur blieb steril. Agglut. am 18. Juni negativ, am 4. Juli gegen Bac. Flexner 1:100 positiv, am 9. Juli wieder völlig negativ.

5. Ernst R., 20 Jahre, Konditor (s. Tabelle II Nr. 30), wohnt und arbeitet in demselben Hause wie der vorhergehende Patient. Offenbar gleiche Infektionsquelle. Am 15. Juni mit Müdigkeit, Magenschmerzen, Gliederschmerzen, Kopfweg erkrankt. Am 17. Juni Durchfall, zweimal wäßriger Stuhl ohne Tenesmen, Frösteln. Seit 18. Juni Verstopfung, Kopfschmerz, Nackenschmerzen, Schmerzen in der rechten Unterbauchgegend. Aufnahme am 18. Juni, Temperatur 38.5. Am Rücken ein fleckiges Erythem. Zunge belegt. An den Unterlappen geringe Bronchitis. Druckempfindlichkeit in der Ileocoecalgegend ohne Spannung. Milz deutlich palpabel. Im Blut 8000 Leukozyten im Kubikmillimeter, 72 Prozent polymorph. Leukozyten, 26 Prozent Lymphozyten, 2 Prozent eosinophile Zellen. Es besteht starke Verstopfung. Längere Zeit intermittierendes Fieber. Blutkultur bleibt steril. Im Stuhl gelingt der Nachweis von Erregern nicht. Am 3. Juli Agglut. gegen Flexner 1:100 positiv, am 9. Juli wieder negativ. Agglut. gegen Typhus und Paratyphus immer negativ. Am 9. Juli gesund entlassen.

6. Frau Ida N., (Tabelle II Nr. 25) 40 Jahre. Wohnt mit ihren zwei Kindern in einer Villa bei Heidelberg; durch starke Regengüsse sollen Küche und Keller in letzter Zeit so feucht geworden sein, daß die Speisen verdorben seien. Hat angeblich verschimmeltes Brot gegessen. Am 2. und 3. August appetitlos, am 4. August heftiges Erbrechen 7- bis 8 mal täglich. Keine Durchfälle, Mattigkeit. Am 4. August Aufnahme, Temperatur 37.3°. Allgemeine Erschöpfung und Nervosität. An den Organen nichts zu finden.

Agglut. Flexner 1:100 positiv, Shiga-Kruse 1:200 positiv. Im Stuhl keine Erreger gefunden. Nach einigen Tagen Bettruhe gesund entlassen.

7. Anni N. (Tabelle II Nr. 26), 12 Jahre, Tochter der vorigen. Seit ein paar Tagen appetitlos. Am 3. August Erbrechen, Übelkeit. Am 4. August mehrere schleimige Durchfälle mit Kolikschmerzen mit Tenesmen. Aufnahme am 4. August. Temperatur 37.4°. Zunge belegt. Abdomen weich. Gurrende Geräusche in der Ileocoecalgegend. Deutliche Milzschwellung. Am 5. August viermal schleimige Diarrhöen, dann geformter Stuhl. In den Fäzes konnten keine Erreger gefunden werden. Agglut. am 10. August Flexner 1:100, Shiga-Kruse 1:200 positiv. Am 12. August gesund entlassen.

8. Josef Sch., 28 Jahre (s. Tabelle II Nr. 36), Wärter an der psych. Klinik, wo in letzter Zeit Infektionen mit Bac. Flexner vorgekommen sind. Anfang August zu einer militärischen Übung auf den Übungsplatz Hagenau eingezogen. Am 12. August Mattigkeit, Frösteln, Durchfälle. Am 13. August entlassen, 6 bis 7 Durchfälle mit Schleim und schmerzhaften Tenesmen. Aufnahme am 14. August, Temperatur 37°. Zunge trocken belegt. Unterleib in der Gegend des Colon descendens druckempfindlich. Leber etwas vergrößert, überragt den Rippenbogen um 2 bis 3 Querfinger, deutlich derber Milztumor. Am 14. August noch zweimal diarrhoischer Stuhl mit Schleim, dann geformter Stuhl. In den Fäzes Bac. Flexner nachgewiesen. Am 15. August Agglut. gegen Flexner 1:200 positiv, gegen Bac. Shiga-Kruse, Typhus und Paratyphus negativ. Am 24. August beschwerdefrei entlassen.

Unter den schweren Fällen von Bazillenruhr sind einige hervorzuheben, bei denen die Infektion unter dem Bilde einer schweren typhusartigen Erkrankung mit lange dauerndem hohen Fieber verlief, während die Krankheitserscheinungen von seiten des Darmes mehr oder weniger zurücktreten. Diese typhöse Form der Ruhr scheint sowohl bei Infektionen durch den Flexner-Bacillus, als auch durch den Shiga-Kruseschen Mikroorganismus vorzukommen. Die folgende Krankengeschichte kann als Beispiel dienen:

9. Anna G. (s. Tabelle II), 32 Jahre, Schifffrau, fährt meist auf Rheinschiffen und lebt in hygienisch sehr ungünstigen Lebensverhältnissen. Sie erkrankte im Mai 1912 mit Übelkeit, Nachtschweißen, Schmerzen in der rechten Unterleibsseite und im Kreuz. Anfang Juni trat Erbrechen auf, 2- bis 3 mal täglich dünner Stuhl ohne Tenesmen. Sehr wenig Appetit, Durst. Bei schlechter Pflege starke Gewichtsabnahme. Seit Anfang Juni schwerhörig.

Am 5. Juni Aufnahme in die Klinik. Sehr abgemagerte elende Frau. Lippen, Nase, Ohren zyanotisch. Zunge belegt, Rachenschleimhaut gerötet. Atmung beschleunigt, 35. An beiden Unterlappen diffuse feuchte Rasselgeräusche. Herz nicht dilatiert. Reine Töne, Puls inäqual, weich, frequent 110. Abdomen weich, nicht druckempfindlich, überall gurrende Darmgeräusche, besonders in der Ileocoecalgegend. Milz palpabel, weich. Leber

nicht vergrößert. Ältere Narbe von einer Operation herrührend (Entfernung der Adnexe). Es besteht hohes Fieber 40.1° , im Urin ist etwas Eiweiß. Das Sensorium ist leicht benommen, die Patientin ist sehr schwerhörig.

Leukozytenzahl 9700 im Kubikmillimeter, 83 Prozent polymorphkernige Leukozyten, 17 Prozent Lymphozyten, keine eosinophile Zellen. Blutagarplatten bleiben steril, Agglut. für Typhus und Paratyphus negativ. In den Fäzes keine Erreger gefunden. Am 14. Juni Agglut. für Flexner 1:200 positiv, ebenso am 28. Juni; für Shiga-Kruse, Typhus und Paratyphus immer negativ.

Die genaue Ohrenuntersuchung (Dr. Zimmermann) ergab eine durch Erkrankung des Nervus acusticus (Neuritis) bedingte Schwerhörigkeit. In den ersten 10 Tagen bestand febris continua mit geringen Remissionen, täglich 1 bis 3 breiige bis wäßrige Stuhlentleerungen ohne Tenesmen. Nach dem 18. Juni wurde das Fieber stärker intermittierend, erhob sich abends noch wiederholt über 39° . Erst seit dem 21. Juni erfolgten häufigere Stuhlentleerungen, täglich 6- bis 12 mal unter Tenesmen. Jetzt hatte die Fäzes das typische Aussehen der dysenterischen Entleerungen. Während das Fieber allmählich nachließ, sank der Kräftezustand immer weiter. Der Puls wurde sehr klein und weich, nicht besonders beschleunigt (90) inäqual. Der Appetit lag außerordentlich darnieder, so daß zeitweise jede Nahrung verweigert wurde. Es gelingt nicht, die Durchfälle zu bekämpfen. Trotz Anwendung von Herzmitteln tritt am 10. Juli unter den Erscheinungen schwerster Kreislaufinsuffizienz der Tod ein. Sektion (Dr. Schneider): Hochgradige ausgedehnte chronisch ulzeröse Colitis (Dysenterie). Fettige Entartung der Nieren, der Leber, des Herzmuskels. Geringe Milzschwellung. Status nach Exstirpation der linken Adnexe.

Leider gelang es auch nach dem Tode nicht, aus dem Darm einen Ruhrbacillus zu isolieren. Nach dem Ausfall der Agglutination ist die Erkrankung wohl mit größter Wahrscheinlichkeit als Flexner-Ruhr aufzufassen.

10. Rosa R., 30 Jahre (s. Tabelle II Nr. 29). Patientin erkrankte Mitte Juli mit allgemeinem Krankheitsgefühl, hatte Fieber, nie Durchfälle, sondern Obstipation. Keine Schmerzen bei der Defäkation. Klagt nur über allgemeine Mattigkeit. Anfang August Geburt eines ausgetragenen Kindes. Bei der Aufnahme in die Klinik am 29. August hohes Fieber bis 40.6° mit starken Remissionen. Sensorium leicht benommen. An den Unterlappen bronchitische Rasselgeräusche. Herz nicht dilatiert, systolisches Geräusch. Puls 110. Abdomen weich. Milz derb und vergrößert. Im Urin etwas Eiweiß. Leukozytenzahl 4500, 61 Prozent Leukozyten, 39 Prozent Lymphozyten. Bis Mitte September dauert das intermittierende Fieber an, dann allmähliche Entfieberung. Stuhl immer fest. Gegen Ende September wiederholt wieder Fieber. Leukozytenzahl 11000. Am 9. Oktober plötzlicher Anstieg auf 41.3° , Brechreiz, Schmerzen in der Lebergegend. Leber vergrößert und druckempfindlich. Im Urin Urobilin (Cholecystitis acuta). Nach einigen Tagen wieder entfiebert. Erholt sich langsam. Blutkulturen blieben steril. Aus den Fäzes konnten keine Erreger isoliert werden. Agglut. für Typhus und Paratyphus immer negativ. Am 30. August Agglut. für Bac. Flexner 1:100, für Bac. Shiga-Kruse 1:200 positiv, am 20. September ebenso. Am 21. Oktober nur noch für Bac. Flexner 1:100 positiv, für Bac. Shiga-Kruse negativ.

Also auch hier könnte man das Auftreten starker Agglutination im Blutserum, und den Abfall des Agglutinationstiters während der Rekoneszenz auf eine Allgemeininfektion mit Ruhrbazillen beziehen. Höchstwahrscheinlich handelt es sich um eine Erkrankung durch den Bac. Shiga-Kruse. Wie die Entstehung des eigenartigen typhösen Krankheitsbildes zu erklären ist, darüber lassen sich nur Vermutungen äußern. Man gewinnt jedenfalls den Eindruck, daß die Annahme einer Lokalisation der Ruhrbazillen nur im Darm mit von dort ausgehender Toxinwirkung nicht in allen Fällen zutreffend ist. Vielleicht kann ebenso wie beim Typhus auch ein Eindringen der Ruhrbazillen in den ganzen Körper zustande kommen. Möglicherweise spielen bei dem typhösen Krankheitsbilde der Ruhr auch septische Mischinfektionen eine Rolle.

Die chronischen Ruhrinfektionen.

Sie verlaufen gewöhnlich unter dem Bilde einer gewöhnlichen chronischen Colitis. Wir gewannen den Eindruck, daß ein großer Teil der Kranken mit länger dauernden ausgesprochenen Dickdarmsymptomen, die auch in früheren Jahren oft in der Klinik zur Beobachtung kamen und bei denen bisher „Colitis“ diagnostiziert wurde, tatsächlich an chronischer Bazillenruhr leiden. Je mehr solche Fälle bakteriologisch und serologisch untersucht werden, um so mehr kommt man zu der Überzeugung, daß bei diesen Colitiden die sonst angeschuldigten diätetischen Schädigungen und mechanischen Darmstörungen eine viel geringere Rolle spielen als chronisch infektiöse Schädigungen. Die Beschwerden dieser Kranken bestehen vorwiegend in einer chronischen Obstipation, die zeitweise von plötzlich auftretenden Durchfällen unterbrochen wird. Die rektoskopische Untersuchung ergibt in diesen Fällen teils rein katarrhalische Veränderungen mit Schwellung, Rötung und Schleimbelägen, teils aber auch pseudomembranöse Beläge und oberflächliche Ulzerationen. Bei genauer Temperaturmessung ergibt sich häufig geringfügiges Fieber. Die Diagnose kann nur auf Grund der bakteriologischen und serologischen Untersuchung gestellt werden.

Emilie H., 23 Jahre (s. Tabelle II Nr. 16). War schon zweimal in Krankenhausbehandlung. Beide Male begann die Erkrankung mit Durchfällen und Erbrechen. Nachher bestand Verstopfung und Leibschmerz. Mitte Juni erkrankte sie wieder mit Erbrechen, hatte 2 Tage lang heftige Durchfälle, dann Obstipation, Übelkeit, Leibschmerzen. Aufnahme am 1. Juli 1912. Elend aussehendes Mädchen mit blasser Gesichtsfarbe. Zunge belegt. An Lungen und Herz nichts Besonderes. Abdomen flach. Überall etwas druckempfindlich, die stärkere Druckschmerzhaftigkeit entspricht dem Verlauf des Colon. Urin frei von Eiweiß. Temperatur steigt abends häufig über 37°

bis 37.5° (axillar). Obstipation. Rektoskopisch starke Rötung der Schleimhaut. Agglut. für Bac. Flexner bei zweimaliger Untersuchung 1:100 positiv, für Bac. Shiga-Kruse negativ. Bei vorsichtiger Kost allmähliche Besserung der Beschwerden.

12. Rosa R., 22 Jahre (s. Tabelle II Nr. 28), erkrankte Oktober 1911 an Leibschmerzen, die bald rechts, bald links auftraten. Ende Januar stellten sich unter stärkeren Schmerzen blutig-schleimige Durchfälle ein, gewöhnlich zwei am Tage. Mehrfach Besserungen und Rezidive. Seit Anfang Juni wieder ein Rezidiv. Aufnahme am 27. Juni. Temperatur 37.5° . Milzschwellung. Colon gebläht, fühlbar. Obstipation. Klagt über Leibschmerzen im Verlauf des Colon. Agglut. für Bac. Flexner und Bac. Shiga-Kruse 1:200 positiv. In den Fäzes keine Erreger nachgewiesen. Allmähliche Besserung der Beschwerden.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind folgende:

Vorwiegend auf Grund von Untersuchungen der Agglutinationsfähigkeit der Sera ergab sich, daß sowohl der Shiga-Krusesche als auch der Flexnersche Ruhrbacillus als Erreger akuter und chronischer Darmerkrankungen in Deutschland eine größere Rolle spielt, als gewöhnlich angenommen wird.

Die Erkrankungen zeichnen sich durch eine hohe Kontagiosität aus. Für die Übertragung sind die Leichtkranken und Chronischkranken mindestens ebenso gefährlich wie die Schwerkranken.

Während der bakteriologische Nachweis der Ruhrbazillen in den späteren Krankheitsstadien oft nicht gelingt, kann man fast ausnahmslos durch die Agglutinationsreaktion den Nachweis der Ruhrinfektion führen.

Agglutination bei einer Verdünnung des Patientenserums von mindestens 1:100 für den Bac. Shiga-Kruse muß im allgemeinen als beweisend gelten.

In der Umgebung von Ruhrkranken kommt Agglutination für den Bac. Flexner bis zur Titerhöhe von 1:100 auch bei Gesunden vor und kann auf unbemerkt überstandene leichte Infektionen bezogen werden, besonders wenn sich bei späteren Nachuntersuchungen des Serums eine Abnahme der Titergrenze herausstellt. Aber selbst bei bakteriologisch nachgewiesener Flexner-Ruhr kann die Titergrenze unter einer Serumverdünnung von 1:200 bleiben. Einmalige Serumuntersuchung, besonders im Beginn der Erkrankung kann bei positivem Ausfall der Agglutination für den Bac. Flexner allein zu Irrtümern über den Krankheitserreger führen, da die Agglutinine für den Bac. Shiga-Kruse später auftreten können. Der Titer für den Flexner-Bacillus kann auch bei der Shiga-Kruse-Ruhr bedeutend höher sein als der Titer für den Shiga-Kruse-Bacillus.

Die Ruhrinfektionen treten häufig unter dem Bilde einer schnell und leicht verlaufenden akuten Gastroenteritis auf. Diese leichten Erkrankungen beruhen häufiger auf Infektion mit Flexner-Bazillen, kommen aber ebenso auch bei Shiga-Kruse-Infektionen vor.

Schwere Ruhrinfektionen können in typhöser Form verlaufen, indem die Darmerkrankung mehr oder weniger in den Hintergrund tritt.

Die chronischen Colitiden mit abwechselnder Obstipation und Durchfällen beruhen zum Teil auf Infektion mit Bazillen der Ruhrgruppe.

Bei Typhus und Paratyphus kommt starke Mitagglutination für Ruhrbazillen vor.

Zuweilen ist Agglutination von Ruhrbazillen bei entzündlichen Erkrankungen der Leber zu beobachten, ohne daß sich bisher ein sicherer Grund dafür angeben ließe.

Tabelle I.
Hausepidemie.

Nummer	N a m e n	Datum	Agglutination für Flexner		Datum	Agglutination für Shiga-Krusse		Datum	Agglutination für Flexner		Datum	Agglutination für Shiga-Krusse		B e m e r k u n g e n
			Agglutination für Flexner	Agglutination für Shiga-Krusse		Agglutination für Flexner	Agglutination für Shiga-Krusse		Agglutination für Flexner	Agglutination für Shiga-Krusse		Agglutination für Flexner	Agglutination für Shiga-Krusse	
1	Pat. Karl M.	12. IV.	negativ	1:200	24. IV.	negativ	1:1000	—	—	—	—	—	—	Typische Dysenterie. In Südwestafrika infiziert.
2	" Jos. W.	24. IV.	"	1:1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Typische Dysenterie, erkrankt am 18. IV. in der Klinik infiziert durch Pat. K. M. Im Stuhl Bacillus Shiga-Krusse.
3	Schwester A. N.	1. V.	1:50	1:100	10. VI.	negativ	1:100	22. X.	negativ	negativ	—	—	—	Am 27. IV. an typischer Dysenterie erkrankt. Anfang Juni leichtes Rezidiv.
4	" H. Sch.	10. VI.	1:200	1:200	21. VI.	1:200	1:1600	29. VIII.	1:100	1:50	—	—	—	Am 7. VI. an typischer, schwerer Dysenterie erkrankt. Shiga-Krusse Bacillus im Stuhl.
5	" H. G.	10. VI.	1:200	1:50	21. VI.	1:200	1:800	29. VIII.	1:100	negativ	—	—	—	Am 7. VI. an typischer Dysenterie erkrankt.
6	" M. Pl.	10. VI.	1:200	1:50	21. VI.	1:200	1:500	29. VIII.	1:200	"	—	—	—	Im Juni wiederholt Durchfälle und Leibschmerzen, 10. VI. bis 20. VI. krank gemeldet.
7	" E. L.	21. VI.	negativ	1:500	17. X.	1:100	negativ	—	—	—	—	—	—	Durchfälle um Mitte Juni. Nicht krank gemeldet.
8	Pat. B.	24. VI.	"	1:200	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Seit 12. Juni wegen hämorrh. Diathese in Behandlung. Erkrankte am 19. VI. mit Durchfällen, † am 27. VI.
9	Schwester M. K.	25. VI.	1:100	1:700	17. X.	1:100	negativ	—	—	—	—	—	—	Schleimige Durchfälle. 25. VI. bis 27. VI. krank gemeldet.
10	Hausm. E. Kl.	28. VI.	1:200	1:200	18. X.	1:100	"	—	—	—	—	—	—	Angeblich immer gesund (?).
11	Schwester E. Sch.	29. VI.	1:200	1:50	17. X.	1:100	"	—	—	—	—	—	—	Im Juli Morbillen. Erst später traten schwerere Durchfälle auf.
12	" L. F.	29. VI.	1:50	negativ	20. VII.	1:200	1:50	27. X.	1:50	negativ	—	—	—	

13	Hausmädch.	Wi.	29. VI.	1:200	1:200	—	—	—	Angeblich immer gesund.
14	"	A. E.	29. VI.	1:100	1:100	24. X.	1:100	1:50	"
15	"	N.	29. VI.	1:200	1:100	—	—	—	"
16	"	Su.	29. VI.	1:100	1:100	19. XI.	1:50	negativ	"
17	"	Wa.	29. VI.	1:200	negativ	—	—	—	"
18	Schwester R. Sch.	1. VII.	1:100	1:200	17. VIII.	negativ	1:100	1:100	Typische Dysenterie, 27. VII. bis 7. VIII. krank gemeldet. Agglutination schon vor den Darmsymptomen!
19	"	G. Sch.	1. VII.	1:100	1:200	17. VIII.	"	1:100	Angeblich immer gesund.
20	"	E. F.	1. VII.	1:200	1:200	—	—	—	Vorübergehend Durchfall, später hartnäckige Obstipation.
21	"	Th. Sp.	1. VII.	1:200	1:100	18. X.	1:100	negativ	Angeblich immer gesund.
22	Pat. O. B.	2. VII.	1:200	1:50	—	—	—	—	Schon seit Februar wegen Spondylitis in der Klinik. Seit 22. VI. Durchfälle.
23	Schwester Th. L.	2. VII.	1:100	1:200	18. X.	1:200	1:100	1:100	Pflegt auf dem Isolierbau. Vorübergehend leichte Verdauungsstörungen.
24	"	E. H.	2. VII.	1:100	negativ	18. X.	1:100	1:100	Angeblich immer gesund.
25	"	S. Sch.	8. VII.	1:100	"	18. X.	1:100	1:100	14 Tage lang 2 bis 3 mal täglich Durchfall mit Tenesmen. Nicht krank gemeldet.
26	"	A. W.	8. VII.	negativ	"	26. VII.	negativ	negativ	Typische Dysenterie. 25. VII. bis 30. VII. krank gemeldet.
27	"	J. H.	8. VII.	"	1:50	22. X.	"	"	Anamnestic, 14 Tage lang Durchfall mit Tenesmen 6 bis 8 mal täglich. Nicht krank gemeldet.
28	"	A. B.	10. VII.	1:100	negativ	18. X.	1:50	"	Nur leichte Störung des Allgemeinbefindens.
29	"	M. M.	11. VII.	1:100	"	—	—	—	Angeblich gesund.
30	"	F. M.	15. VII.	1:100	"	19. X.	1:50	negativ	"
31	"	Kü.	24. VII.	1:200	1:100	18. X.	1:50	"	"
32	Dr. Sch.	29. VI.	1:200	1:50	17. VIII.	1:100	1:100	1:100	Anfangs gesund. Im August Durchfälle.
33	Dr. Fr.	5. VII.	1:100	negativ	—	—	—	—	Angeblich gesund.
34	Dr. F.	6. VII.	1:100	"	—	—	—	—	"
35	Hausmädchen H.	29. VI.	1:100	"	—	—	—	—	"

Tabelle II.
Ruhrkranke Patienten der medizinischen Klinik.

Number	N a m e n	Datum	Agglutination für Bacillus Flexner	Agglutination für Bacillus Shiga-Kruse	B e m e r k u n g e n
1	Ad.	19. VI. 26. VI.	1:200 1:50	negativ	Akute Dysenterie. Im Stuhl keine Bazillen nachzuweisen.
2	Julie B.	23. VIII.	1:200	"	Chronische Colitis.
3	Johann B.	29. VI.	1:200	1:200	Am 25. VI. akut erkrankt.
4	Konrad B.	14. VIII.	1:100	0	Am 8. VIII. mit heftigen Diarrhöen erkrankt.
5	Hermann C.	18. VI. 3. VII. 9. VII.	0 1:100 0	0 0 0	Am 12. VI. erkrankt. Leibscherzen, Obstipation. Im Stuhl Y-Bazillen.
6	Friedrich D.	30. VII.	1:200	1:50	Akute Enteritis.
7	Johanna D.	30. VII.	1:200	0	" Dysenterie.
8	F.	9. X.	1:200	1:200	" Enteritis.
9	Johann F.	30. VII.	1:100	0	Am 20. VII. erkrankt. Erbrechen, Unterleibsscherzen, Obstipation.
10	Luise G.	26. VIII.	1:50	1:200	Chronische Colitis.
11	Anna G.	14. VI. 28. VI.	1:200 1:200	0 0	Schwere typhöse Erkrankung. † 10. VII.
12	Ida H.	25. VI.	1:200	1:200	Seit Mitte Juni heftige Durchfälle. Akute Dysenterie.
13	H.	9. X.	1:100	1:200	Akute Enteritis.
14	H.	8. X.	1:200	0	Subakute Enteritis (Arteriosklerose, Diabetes).
15	Heinrich H.	18. VII.	1:50	1:200	Colitis, Kopfschmerz, Gelenkscherzen.
16	Emilie H.	2. VII.	1:100 1:100	0 0	Seit 2 Jahren chronische Colitis.
17	Franz K.	24. VIII 7. IX.	1:100 1:200	0 1:200	Vor 5 Jahren in Indien blutige Durchfälle. Dysenterie- rezidiv.
18	Amalie K.	13. VI.	1:200	1:200	In der psychiatrischen Klinik infiziert. Seit 3. VI. akute Dysenterie.

19	Anton K.	22. VII.	1:100	—	Seit Mitte Juni Kolikschmerzen, Durchfall.
20	Ida K.	10. VIII.	0	0	Seit 5 Wochen Diarrhöen. Colitis.
21	Gustav L.	17. VIII.	1:200	1:200	
		30. VII.	1:200	1:50	Mitte Juli Durchfall, dann Fieber, Leibscherzen. Herpes zoster.
22	Peter N.	11. VII.	0	0	Alte Leberzirrhose. Talmasche Operation. Seit Juli blutig-schleimige Durchfälle
		20. VII.	1:100	0	
		6. VIII.	1:50	0	
23	Kurt N.	1. VII.	1:200	1:200	Akute Gastroenteritis.
24	Theodor N.	2. VII.	1:100	1:100	Seit Juni Durchfälle mit Schleim im Stuhl.
25	Ida N.	8. VIII.	1:100	1:200	Akute Dysenterie.
26	Anni N.	8. VIII.	1:100	1:200	"
27	Margarete P.	23. VII.	1:200	0	Typische, leichte Dysenterie (Nephritis chronic.).
28	Rosa R.	28. VI.	1:200	1:200	Chronische Colitis.
29	Rosa R.	3. VIII.	1:100	1:200	Schwere typhöse Erkrankung.
		20. IX.	1:100	1:200	
		22. X.	1:100	0	
30	Ernst R.	3. VII.	1:100	0	Am 15. VI. erkrankt. Vorübergehend Durchfall, dann Obstipation.
31	Marie R.	26. VIII.	1:200	1:200	Länger dauernde blutig-schleimige Durchfälle.
32	Marie R.	16. VIII.	1:200	1:200	Durchfälle seit Juni, später allgemeine Mattigkeit und Nervosität.
		18. VIII.	1:200	1:200	
33	Berta S.	28. VIII.	1:50	1:200	Durchfälle mit Schleim und Tenesmen. Herzschwäche.
34	Ernst Sch.	31. VIII.	1:100	1:200	Colitis.
35	Adam Sch.	13. VI.	0	1:200	Seit Mai Durchfälle.
36	Josef Sch.	15. VIII.	1:200	0	Am 12. VIII. akut erkrankt. <i>Bac. Flexner</i> im Stuhl.
37	Paul Sch.	26. VIII.	1:50	0	Am 21. VIII. akut erkrankt. Enteritis acuta.
		29. VIII.	1:100	1:200	
38	Martin Sch.	17. VIII.	1:100	1:200	Seit August 1911 heftige Colitis. Colostomie.
39	Monica St.	20. VI.	1:200	1:500	Colitis chronica.

[Aus dem Institut für Seuchenbekämpfung in Daressalam.]

12 Jahre Malariabekämpfung nach dem von Robert Koch angegebenen Verfahren.

Von

Dr. Manteufel,
Stabsarzt in der Kaiserl. Schutztruppe Deutsch-Ostafrika.

Auf Antrag des Kaiserlichen Gouverneurs wurde im Jahre 1901 vom Auswärtigen Amt eine „Expedition zu Bekämpfung der Malaria im Schutzgebiet Deutsch-Ostafrikas nach den Vorschlägen des Geheimen Medizinalrats Professor Dr. Koch“ ausgerüstet, die unter Führung von Ollwig Ende Juli 1901 in Daressalam, dem Sitz des Kaiserlichen Gouvernements, eintraf (1). Hier war die Expedition bis Ende 1903 tätig. Da die Ergebnisse der im Bereich des Stationsorts Daressalam eingeleiteten Malariabekämpfung sehr günstig erschienen, wurden die Arbeiten von der Medizinalverwaltung des Schutzgebietes nach vereinbarten Grundsätzen bis auf den heutigen Tag fortgeführt. Ferner wurde 1905 in Tanga, der zweitgrößten Europäerniederlassung an der Küste, von Ollwig nach dem Daressalamer Vorbilde ebenfalls eine Bekämpfung der Malaria in Angriff genommen, die gegenwärtig auch noch weitergeführt wird. Seit dem Beginn der Malariabekämpfung in Daressalam sind nunmehr volle 12 Jahre verflossen, so daß ein Rückblick auf die bisherigen Ergebnisse von allgemeinem Interesse sein dürfte.

Das Kochsche Verfahren der Malariabekämpfung läuft bekanntlich darauf hinaus, die Malariaparasiten im menschlichen Blut ausfindig zu machen und durch Chiningaben zu beseitigen, um den Malariamaskiten, die ihrerseits die Parasiten nicht von einer Generation zur andern zu vererben vermögen, die Gelegenheit zur Infektion und zur Weiterverschleppung der Krankheit zu nehmen.

Die praktische Durchführung dieses Verfahrens liegt in den Händen von Krankenschwestern, die der deutsche Frauenverein vom Roten Kreuz für die Kolonien zur Verfügung stellt. In Daressalam sind seit Jahren

zwei Schwestern bei der Malariabekämpfung tätig, ihnen ist außerdem ein sprachgewandter und im Mikroskopieren ausgebildeter Goanese beigegeben. In Tanga ist für den Zweck nur eine Schwester eingestellt, indes ist gewöhnlich noch eine zweite nebenamtlich in dem gleichen Sinne tätig. Nach einer vorgeschriebenen Blockeinteilung werden mit Unterstützung farbiger Hilfskräfte alle dort wohnenden und arbeitenden Farbigen ermittelt und auf das Vorhandensein von Malariaparasiten untersucht. Die Blutpräparate werden jetzt nach der von Ross angegebenen Methode der sogenannten „dicken Tropfen“ angefertigt und mit Giemsalösung gefärbt.¹

Alle infiziert befundenen erwachsenen Personen erhalten dann 4 bis 6 Tage lang je 1^{gramm} Chinin in 10prozentiger wässriger Lösung, — Kinder entsprechend weniger — und weiterhin 2 bis 3 Monate lang jede Woche 2^{gramm} in Lösung an zwei aufeinanderfolgenden Tagen. Aus der großen Zahl der so behandelten Fälle läßt sich ermessen, welche große Mühe dieses Vorgehen erfordert, zumal die Farbigen sich mit allen erdenklichen Mitteln der Unannehmlichkeit des Chininnahmens zu entziehen suchen. Nur der unermüdlichen Ausdauer der Malariaschwestern ist es zu verdanken, daß die Maßregel so lange hat durchgeführt werden können.

„Diese Methode“, sagt Koch (2), „schließt natürlich nicht aus, daß man daneben auch andere Maßnahmen zur Einschränkung der Malaria benutzen kann, z. B. die von Ross empfohlene Vertilgung der Mücken oder den in Italien versuchten Schutz gegen Mückenstiche durch Netze.“

Als die eingangs erwähnte Expedition ihre Tätigkeit in Daressalam begann, war die Verwendung von Moskitonetzen bei der europäischen Bevölkerung des Schutzgebietes schon eingebürgert, dagegen hat der Gebrauch von Chinin zu prophylaktischen Zwecken, die Verwendung von Drahtgaze zum Schutz von ganzen Wohnräumen gegen Moskitos, sowie das Vorgehen gegen die Mückenplage erst in den folgenden Jahren allmählich Eingang gefunden. Bei der Beurteilung des Einflusses, den die Kochsche Methode auf die Malariamorbidity der europäischen Bevölkerung ausgeübt hat, müssen die oben erwähnten Faktoren natürlich mit berücksichtigt werden. Freilich dürfte es ganz unmöglich sein, den Anteil jedes einzelnen dieser Faktoren richtig zu bewerten. Ist es doch schon schwierig genug, die jährlichen Erkrankungsziffern an Malaria bei den in Daressalam ansässigen Europäern richtig festzustellen und zu vergleichen. Denn erstens kommen nicht alle Malariaerkrankungen zur amtlichen Kenntnis, da ein gewisser Teil der weißen Bevölkerung in solchen Fällen nach mehr oder minder bewährten Gewohnheiten ohne ärztliche Beratung Chinin nimmt. Zweitens suchen

¹ Das Verfahren ist beschrieben in der Arbeit von Dempwolff unter Nr. 3 der Literatur. Die Originalarbeit von Ross ist unter Nr. 7 zitiert.

nicht alle den gleichen Arzt auf, wenn sie an Fieber erkranken, sondern gehen zu diesem oder jenem, oder beschränken sich darauf, ihre Malaria vom Personal der „Malariabekämpfung“ mikroskopisch feststellen zu lassen. Eine amtliche Anzeige für Malaria ist auch durch die am 1. Januar 1913 in Kraft getretene Gouvernementsverordnung betreffend die Bekämpfung der übertragbaren Krankheiten nicht vorgeschrieben. Drittens ist es auch bei ärztlicher Kontrolle häufig ganz unmöglich, Neuinfektionen und Rückfälle einer früheren Malariaerkrankung sowie Fiebererkrankungen ohne Parasitenbefund bei einer solchen Aufstellung richtig zu bewerten. Und endlich ist man in bezug darauf, ob die Infektion im Orte selbst oder auf Reisen und Ausflügen nach außerhalb erworben wurde, häufig auch nur auf Vermutungen angewiesen.

Alle diese Umstände machen es verständlich, daß die amtlichen Nachweisungen über die jährlichen Bewegungen der Malariaerkrankung nicht einwandfrei sind.

Die Medizinalberichte über die deutschen Schutzgebiete enthalten über die Erkrankungen und Todesfälle an Malaria bei der europäischen Bevölkerung von Daressalam und Tanga die folgenden Zusammenstellungen:

Daressalam.

Europäer in Daressalam	1903/04	1904/05	1905/06	1906/07	1907/08	1908/09	1909/10	1910/11	1911/12
Iststärke	377	350	657	851	827	743	750	930	1024
Morbidität an Malaria und Schwarzwasser	168	141	355	287	268	342	506	460	667
Morbidität in Prozenten der Iststärke	44.5	37.1	54.0	33.7	29.8	48.0	67.5	49.5	65.2
Mortalität an Malaria und Schwarzwasser	0	3	4	6	6	3	5	10	11
Mortalität in Prozenten der Iststärke	0	0.8	0.6	0.7	0.7	0.4	0.7	1.1	1.1

Tanga.

Europäer in Tanga	1903/04	1904/05	1905/06	1906/07	1907/08	1908/09	1909/10	1910/11	1911/12
Iststärke	148	192	205	211	222	258	355	361	437
Morbidität an Malaria und Schwarzwasser	61	178	156	128	206	203	313	265	329
Morbidität in Prozenten der Iststärke	41.2	87.5	76.1	60.7	92.9	78.7	88.1	73.4	75.3
Mortalität an Malaria und Schwarzwasser	2	5	6	3	2	2	3	3	3
Mortalität in Prozenten der Iststärke	1.3	2.6	2.9	1.4	0.9	0.7	0.8	0.8	0.7

Daraus scheint hervorzugehen, daß der Prozentsatz der Erkrankungen weder in Daressalam noch in Tanga geringer geworden ist. In Daressalam hätte sogar danach der Prozentsatz der Todesfälle an Malaria im Laufe der Jahre zugenommen. Indes ist oben bereits auf die mannigfachen Fehlerquellen dieser Ermittlungen hingewiesen worden. Der allgemeine Eindruck, den man bei längerem Aufenthalt im Schutzgebiet gewinnt, ist sicherlich der, daß das Risiko einer Malariainfektion ohne Chininprophylaxe für die in Daressalam ansässigen Europäer im Laufe der Jahre geringer geworden ist, während das in Tanga anscheinend noch nicht der Fall ist.

Für den Wert oder Unwert der Kochschen Methode besagen die obigen Zahlen nicht viel, da wie gesagt, außer dieser noch verschiedene andere Faktoren den Prozentsatz der Malariaerkrankungen beeinflussen.

Ein etwas objektiveres Zahlenmaterial zur Beurteilung der Malaria-morbidität unter den Europäern ist dadurch gewonnen, daß in Daressalam seit dem Jahre 1907 jedes Jahr etwa um die gleiche Jahreszeit sämtliche erreichbaren gesunden Europäer einer mikroskopischen Blutuntersuchung unterzogen werden.

Dabei wurden folgende Zahlen ermittelt:

Im Berichtsjahr 1907/08	bei 295	Untersuchten	1.7	Prozent	Infizierte			
„	„	1908/09	fanden keine Untersuchungen statt					
„	„	1909/10	bei 419	Untersuchten	4.8	Prozent	Infizierte	
„	„	1910/11	„ 521	„	0.6 ¹	„	„	
„	„	1911/12	„ 612	„	4.1	„	„	
„	„	1912/13	„ 682	„	3.4	„	„	

In Tanga wurden bei einer im Februar 1913 erstmalig ausgeführten derartigen Untersuchung unter 253 Europäern 11 Prozent Infizierte gefunden. Die Zahl der Infizierten ist also im letzten Berichtsjahr dort dreimal größer als in Daressalam gewesen. Das plötzliche Anwachsen der positiven Befunde in Daressalam seit 1909 erklärt sich durch die Einführung der Untersuchungsmethode in dicken Tropfen an Stelle der Objektträgersausstriche.

Dempwolff (3) fand nämlich bei vergleichenden Untersuchungen in Daressalam im Ausstrich 8.5 Prozent positive Präparate bei 9758 Untersuchungen, im dicken Tropfen aber 25.7 Prozent positive Präparate bei

¹ Die Zahl ist offenbar unrichtig und durch unsachgemäße Untersuchung zu erklären.

5770 Untersuchungen. Die durch diese Verfeinerung der Untersuchungsmethode hervorgerufene Steigerung der positiven Befunde seit dem Jahre 1909 kommt auch in allen folgenden Übersichten zum Ausdruck. Im ganzen scheint sich in den obigen Zahlen ein langsamer Abfall der Malariainfektionen bei den Europäern bemerkbar zu machen.

Bei der Beurteilung der nächsten Zusammenstellungen ist zu berücksichtigen, daß in Daressalam die Malariabekämpfung seit 1908 an der Peripherie des Ortes aufgehoben werden mußte, weil es mit den verfügbaren Kräften nicht mehr möglich war, die notwendigen Arbeiten in der ganzen Stadt zu bewältigen. Ein zweiter Grund für die Aufgabe des peripheren Hüttenblocks war der, daß die dort wohnhafte Bevölkerung wenig seßhaft ist, da es sich häufig um Leute handelt, die sich nur vorübergehend im Ort aufhalten und bald hier, bald da nächtigen oder andere Gründe haben, sich der Aufsicht durch öfteren Wechsel der Unterkunft oder durch Änderung des Namens zu entziehen. Es ist klar, daß bei einer derartigen Bevölkerung die Durchführung einer 2- bis 3 monatigen Chininkur auf besonders große Schwierigkeiten stößt.

Auch in Tanga ist das Wirkungsgebiet der Malariabekämpfung nach dem Kochschen Verfahren nach ähnlichen Gründen beschränkt worden. Was die Gesamtzahl in den folgenden Übersichten anbelangt, so geben sie nicht die wahre Zahl der unter Chininkontrolle befindlichen Eingeborenen wieder, sondern ungefähr ein vierfaches dieser Zahl, da etwa alle drei Monate immer wieder die gleichen Hüttenblocks zur Untersuchung kommen.

Berichts- jahr	In Daressalam (ungef. 23000 Einw.)		In Tanga (ungef. 9000 Einw.)	
	Untersuchte „gesunde“ Farbige	Darunter Infizierte (in Prozenten)	Untersuchte „gesunde“ Farbige	Darunter Infizierte (in Prozenten)
1904/05	8 000	10	—	—
1905/06	Aufstandsjahr	—	4 138	17
1906/07	14 752	7·5	15 571	10
1907/08	15 263	15	8 645	9
1908/09	28 267	14	11 109	18
1909/10	17 889	21	10 647	43
1910/11	15 960	18	9 662	32
1911/12	24 917	17	13 068	53
1912/13	19 782	20	12 166	77

In diesen Reihen tritt eine Tendenz zum Abfalle in den jährlichen Zahlen nicht in die Erscheinung. In Tanga könnte man vielmehr von dem Gegenteil sprechen. Indes dürfte das letztere ein Trugschluß sein und sich richtiger durch Fehlerquellen erklären, die der Wechsel des Schwesternpersonals mit

sich bringt. Auch wenn man aus den obigen Gesamtzahlen nur die Ergebnisse der bei den Kindern ausgeführten Untersuchungen zusammenstellt, die bekanntlich für die Beurteilung der Malaria morbidität die besten Anhaltspunkte geben, sind die Fortschritte nicht sonderlich günstig zu nennen.

Berichts- jahr	D a r e s s a l a m		T a n g a	
	Untersuchte „gesunde“ Kinder	Davon infiziert (in Prozenten)	Untersuchte „gesunde“ Kinder	Davon infiziert (in Prozenten)
1905/06	keine systematischen Untersuchungen	—	1411	35
1906/07	3234	18.9	3092	34.6
1907/08	4352	27.0	2924	12.3
1908/09	3747	33.4	2870	24
1909/10	5563	29.4	2871	43.4
1910/11	4136	27.7	2020	42.7
1911/12	4800	25.1	2578	60
1912/13	3308	32.0	2712	81.5

Auch hier kommt bei den Zahlen in Tanga eine auffällige Tendenz zum Ansteigen zum Ausdruck, die meines Erachtens zwar nicht tatsächlich als Zunahme der Malariainfektion zu deuten ist, aber doch immer eine Hoffnung auf baldige Abnahme unwahrscheinlich macht. Als Ollwig 1901 in Daressalam die ersten systematischen Feststellungen machte, fand er auf Grund von Ausstrichpräparaten etwa 20 Prozent der Negerkinder infiziert, also etwa den gleichen Prozentsatz wie 1912/13. Ganz so entmutigend wie diese beiden Vergleichszahlen es ausdrücken, dürfte der Erfolg aber doch nicht sein, da man bedenken muß, daß sich durch die Einführung der dicken Tropfenpräparate unsere Untersuchungsmethode erheblich verfeinert hat; der anfängliche Prozentsatz 1901 ist wohl in Wahrheit viel höher anzusetzen als 30.

Ich habe nun in diesem Jahre kurz vor dem Einsetzen der großen Regenzeit in einem Hüttenblock an der Peripherie, wo das Personal der Malaria bekämpfung seit Jahren kein Chinin verabreicht hat, bei 150 gesunden Farbigen Blutproben untersuchen lassen. Es fanden sich dabei unter 150 Untersuchten 52 Infizierte = 34.7 Prozent. Darunter 43 untersuchte Kinder, davon infiziert 27 = 63 Prozent. D. h. im Tätigkeitsbereich der Malaria bekämpfung betrug der Prozentsatz der Infizierten etwa 20 gegenüber 34 in einem unbehandelten Teil der Ortschaft. Das Verhältnis der Kinderinfektionen allein wird durch den Quotienten 30:63 ausgedrückt. Hierbei ist aller-

dings zu berücksichtigen, daß der zum Vergleich herangezogene Außenbezirk wegen seines größeren Reichtums an Anophelesmoskiten viel mehr Gelegenheit zu Infektionen bietet als die inneren Teile des Ortes.

In Tanga hatte eine ähnliche Untersuchung zu der gleichen Zeit nachstehendes Ergebnis:

Unter 104 untersuchten gesunden Farbigen 94 Infizierte = 90.4 Prozent. Darunter waren 39 Kinder, davon infiziert 35 = 90 Prozent.

Hier ist mithin der Unterschied zwischen der unter Chininkontrolle befindlichen und der nicht behandelten Bevölkerung weit geringer als in Daressalam und läßt sich durch die Quotienten 77:90 bzw. 81:90 bei den Kindern allein ausdrücken.

Nach den Aufstellungen Ollwigs (vgl. S. 439 seiner eingangs zitierten Arbeit) sank der Prozentsatz der infizierten Negerkinder in den Jahren 1901 bis 1903 von rund 30 auf etwa die Hälfte.

Angesichts dieser großartigen Erfolge in den ersten zwei Jahren bedeutet der weitere äußerst langsame Fortschritt ohne Frage eine gewisse Enttäuschung, über deren Ursachen man sich Klarheit verschaffen muß.

Mir scheint die Erklärung hauptsächlich in folgenden Punkten zu liegen.

Die Malariabekämpfung mittels Chinin erfreut sich bei den Farbigen einer von Jahr zu Jahr wachsenden Unbeliebtheit. Der erwachsene Neger hat gewöhnlich viel mehr Beschwerden von einer langdauernden Chininkur als von seiner Malaria, da meistens schon 2 bis 3 grm genügen, um bei ihm die Krankheitserscheinungen auf Wochen hinaus zu beseitigen. Die bekannten unangenehmen Nebenwirkungen des Chinins kommen auch den Negern zum Bewußtsein und beeinträchtigen etwas ihre Arbeitsfähigkeit. Diesen Umstand wissen sie geschickt dazu auszunutzen, ihre Arbeitgeber gegen die Maßnahmen der Malariabekämpfung zu beeinflussen. Infolgedessen findet das Personal der Malariabekämpfung auch bei den Europäern immer mehr Widerstand statt Unterstützung. Da gesetzliche Zwangsmittel zum Chininnehmen nicht anwendbar sind, kann es nicht ausbleiben, daß die Durchführung der Kochschen Methode unter dem aktiven und passiven Widerstand der Bevölkerung leidet.

Die ganze Unbeliebtheit der Maßregel macht sich in der Zeit des mohamedanischen Fastenmonats Ramazan bemerkbar, indem dann jeder Neger die Vorschriften des Koran, um die er sich sonst nicht im geringsten kümmert, gegen die Zumutung, Chinin einzunehmen, ausspielt.

Ferner ist oben gesagt worden, daß ein großer Teil der Bevölkerung in Daressalam und Tanga wegen der starken Fluktuation an der Peripherie nicht unter dauernder Kontrolle gehalten werden kann. Auf diese schwache Seite der Malariabekämpfung hat bereits Ollwig 1913 aufmerksam gemacht. Mit der weiteren Entwicklung der beiden Küstenplätze als Hafen und Ausgangspunkt von Eisenbahnen hat der Durchgangsverkehr erheblich zugenommen. Wie oben erwähnt, wohnt gerade die nicht seßhafte Bevölkerung mit Vorliebe an der Peripherie, wo die meisten Träger von Malariaparasiten und die meisten Anophelesmücken zu finden sind. Gerade hier findet man, wie sich gelegentlich von Versuchen mit dem weiter unten besprochenen Giemsa-Spray herausgestellt hat, in den Hütten die Anophelesmücken in höherem Prozentverhältnis als in der Innenstadt, und wahrscheinlich kommen die infizierten Mücken auch zum großen Teil von dort in das innere der Ortschaft, wo man in den Hütten viel Culex- und Anophelesmücken, in den Moskitobrutplätzen der Häuser und Höfe eigentlich nur Culexlarven findet. Das Kochsche Verfahren stößt mithin auf die größten Hindernisse in den Teilen der Ortschaft, wo es am nötigsten wäre, den Anopheles die Möglichkeit zur Infektion zu nehmen.

Bei der europäischen Bevölkerung hat im Laufe der vergangenen Jahre die Aufklärung über die Stechmückengefahr, mechanischer Moskitoschutz, Chininprophylaxe auf Reisen und dergleichen wesentlich dazu beigetragen, daß die Zahl derjenigen, die jahrelang in Daressalam leben, ehe sie ihre erste Malaria bekommen, immer mehr zunimmt. Anders ist es bei Goanesen, Indern, Arabern und Eingeborenen, die aus Mangel an Einsicht oder aus Mangel an Geld an diesen Fortschritten der Hygiene noch wenig Anteil nehmen. Die Goanesen leiden sehr unter der Malaria und erkranken außerordentlich häufig an Schwarzwasser; ähnlich die Inder. Bei den Negern macht sich die Malaria als lebensgefährdende Krankheit im Säuglingsalter so sehr bemerkbar, daß nach Ansicht der meisten Tropenärzte der Hauptteil der enormen Säuglingssterblichkeit ihr zur Last fällt; aber auch beim erwachsenen Neger, der in Malariagegenden aufgewachsen ist, kann von einer absoluten Immunität gegen Malaria nicht die Rede sein. Ich habe solche erwachsene Neger an Gehirnmalaria sterben sehen, zum mindesten aber sind sie dauernd Parasitenträger und erkranken oft, wenn auch in Form abgekürzter Anfälle, an Malariafieber.

Die Aussichten einer medikamentösen Malariabekämpfung im großen würden natürlich sofort besser werden, wenn ein Mittel gefunden würde, das eine kürzere Behandlungsdauer erfordert als das Chinin, ein Mittel, das bei ein- bis zweimaliger Anwendung eine Vernichtung der Malaria- parasiten möglich macht. Solange das aber nicht der Fall ist, kann man

meines Erachtens die Aussichten auf Erfolg nur dadurch in greifbare Nähe rücken, daß man erstens das Personal der Malariabekämpfung verstärkt, um die ganze Bevölkerung unter dauernder Chininkontrolle halten zu können, und daß man zweitens einen gesetzlichen Zwang zum Chininnehmen einführt. Das letztere Mittel dürfte wohl mit unseren Rechtsbegriffen schwer in Einklang zu bringen sein, das erstgenannte aber würde die Kosten der Malariabekämpfung verdreifachen (Mehrausgaben für Personal und Chinin). Damit erhebt sich die Frage, ob diese größeren Geldmittel nicht zweckmäßiger zu Sanierungsarbeiten verwandt werden, die der Moskitoplage entgegenarbeiten und außerdem dauernden koloniasatorischen Wert haben.

Die jährlichen Ausgaben für die Daressalamer Malariabekämpfung nach dem Kochschen Verfahren setzten sich aus folgenden Summen zusammen:

- | | |
|---|-----------|
| 1. Gehälter (zwei Schwestern, ein Goanese, sechs bis acht farbige Hilfskräfte | 9 000 Rp. |
| 2. Sächliche Ausgaben | 1 500 „ |
| 3. Chinin | 4 000 „ |

Sa. 14 500 Rp. = 19332 Mark.

Läßt man die beiden ersten Jahre, die als Versuchsstadium aufzufassen sind und erheblich größere Ausgaben erfordert haben, außer Rechnung, so ergibt sich, daß das Schutzgebiet für die Malariabekämpfung in Daressalam in 10 Jahren bis zum Schluß des Rechnungsjahres 1912 rund 193 320 Mark ausgegeben hat. Für Tanga würde man bei einer ähnlichen Berechnung in 7 Jahren auf etwa 80 000 Mark kommen. Man ersieht daraus, daß die Kosten des Kochschen Verfahrens im Laufe der Jahre zu ganz erheblichen Summen auflaufen. Falls die oben als notwendig bezeichnete Verstärkung des Personals durchgeführt würde, wäre mit einer weiteren Erhöhung der jährlichen Ausgaben auf das Dreifache zu rechnen, Ausgaben, deren Ende nicht abzusehen ist.

Denn es ist mit Sicherheit anzunehmen, daß man in Verkehrszentralen wie den beiden hier in Frage stehenden Plätzen, wo immer wieder von der Land- und Seeseite infizierte Menschen zuwandern, diese Art der Bekämpfung dauernd und solange weiterführen muß, als es dort noch Anophelesmoskitos gibt. Eine Unschädlichmachung sämtlicher menschlichen Parasitenträger scheint mir in der Tat unter den gegebenen Verhältnissen nicht möglich.

Diesen Überlegungen zufolge habe ich im Jahre 1912 den Vorschlag gemacht, den Bereich der medikamentösen Malaria-bekämpfung noch weiter zu beschränken, und zwar auf die in und um die Europäerviertel wohnenden Farbigen, weil durch sie den benachbarten Europäern die meiste Gefahr droht, im übrigen aber den Nachdruck der Malaria-bekämpfung mehr als bisher auf die Abwehr und Vernichtung der Malariamoskiten zu legen.

Eine Vernichtung der Moskiten kann man hier auf zwei verschiedenen Wegen anstreben, möglichst auf jedem von beiden, nämlich durch Beseitigung der Moskitenbrutplätze, die Rossche Methode der Malaria-bekämpfung, und durch Maßnahmen gegen die fliegende Moskitogeneration, wie sie zur Zeit in Deutschland in manchen Orten in der sogenannten Winterkampagne organisiert sind.

Dieses Vorgehen gegen die fliegenden Mücken hat Steudel (4) auch für die Tropen empfohlen und dabei besonders auf eine Beobachtung von Vorwerk (5) aufmerksam gemacht, daß in Garua (Kamerun) die Anophelesmücken in der trockensten Zeit des Jahres viel zahlreicher in den Eingeborenenhütten anzutreffen sind, als sonst. Steudel empfiehlt auf Grund dieser Beobachtung, in der trockenen Jahreszeit eine Vernichtung der fliegenden Mücken in den Eingeborenenhütten zu versuchen.

Als praktisch im großen durchführbar hat sich in Versuchen, die Lurz und ich 1911 und 1912 hier angestellt haben, unter den bekannten Maßnahmen gegen die Mückenplage nur die von Giemsa (6) empfohlene Ausspritzung der Eingeborenenhütten, Ställe, Magazine usw. mit mücken-tötenden Lösungen erwiesen. Durch Zählungen ließ sich dabei feststellen, daß man mit Hilfe der von Giemsa empfohlenen Spritzen in verhältnismäßig kurzer Zeit und ohne viel Vorbereitung eine große Anzahl Mücken in den Eingeborenenhütten vernichten kann. Die Versuche werden jetzt mit dem von Giemsa angegebenen „Mückenfluid“ in großem Umfange in Daessalam fortgesetzt. Ob dadurch ein Einfluß auf die Malariainfektionen unter den Farbigen zu gewinnen sein wird, muß die Zukunft lehren.

Die Beseitigung der Moskitobrutplätze wird bereits seit 1908 in Daessalam lebhafter betrieben, allerdings mit kleinen Mitteln; im ganzen hat es sich dabei um ein regelmäßiges Aufsuchen und Beseitigen von Pfützen, unzweckmäßig angelegten Brunnen, Wasserbehältern, umherliegenden Konservendbüchsen und ähnlichen Schäden durch „Moskitobrigaden“ sowie um regelmäßige Saprolisierung der Einlaufschächte bei der hier vorhandenen rudimentären Kanalisation gehandelt. Es bleibt in dieser Richtung indes noch viel zu tun übrig, besonders durch Vornahme umfangreicher Entwässerungen und Sanierungsarbeiten, für die größere Ausgaben notwendig und bereits angefordert sind.

Das Vorgehen gegen die Moskitoplage wird hoffentlich wirksam unterstützt werden durch eine Gouvernementsverordnung zur Bekämpfung der Stechmückengefahr, die am 1. Januar 1913 in Kraft gesetzt ist. Ferner werden alle Maßnahmen, die zur Abwehr der Mücken beitragen, wie die Abschließung ganzer Wohnräume und Veranden mit Moskitodrahtgaze, die Absonderung der Europäerwohnviertel von den Behausungen der farbigen Bevölkerung von der Verwaltung des Schutzgebietes nach Möglichkeit gefördert werden.

Wenn ich in den vorstehenden Darlegungen zu dem Schluß gekommen bin, daß das Kochsche Verfahren bei der Malariabekämpfung in Daressalam und Tanga die Hoffnungen nicht erfüllt hat, die man nach den anfänglichen schönen Erfolgen Ollwigs daran geknüpft hat, so möchte ich mich aber nicht dahin verstanden wissen, daß ich die Methode in den gegebenen Fällen für nutzlos und entbehrlich halte.

Die Bekämpfung der Malaria ist unter den hiesigen Bedingungen ein so schwieriges Problem, daß alle Mittel, die Erfolg versprechen, herangezogen werden müssen. Die Kochsche Methode an sich hat den Beweis ihrer Brauchbarkeit ja an vielen Orten bereits erbracht, und schließlich ist auch unter den hiesigen offenbar sehr ungünstigen Verhältnissen, ein gewisser Fortschritt erzielt worden.

Daressalam, Ende Juli 1913.

Literatur-Verzeichnis.

1. Ollwig, Die Bekämpfung der Malaria. *Diese Zeitschrift*. 1903. Bd. XLIII.
 2. R. Koch, Die Bekämpfung der Malaria. *Ebenda*. 1903. Bd. XLIII.
 3. Dempwolff, Blutuntersuchungen auf Malaria im Tropfenpräparat. *Archiv f. Schiffs- und Tropenhygiene*. 1908. Bd. XII.
 4. Steudel, Vorschlag zu einer neuen Methode von Malariabekämpfung. *Ebenda*. 1911. Bd. XV.
 5. Vorwerk, *Amtsblatt für das Schutzgebiet Kamerun* v. 15. XI. 1910.
 6. Giemsa, a) Beitrag zur Frage der Stechmückenbekämpfung. *Archiv f. Schiffs- und Tropenhygiene*. 1911. Bd. XV.
 b) Über die Vernichtung der Stechmücken mit Hilfe des Sprayverfahrens. *Ebenda*. 1912. Bd. XVI.
 c) Das Mückensprayverfahren im Dienste der Bekämpfung der Malaria und anderer durch Stechmücken übertragbarer Krankheiten. *Ebenda*. 1913. Bd. XVII.
 7. Ross, The thick-film process for the detection of organisms in the blood. *Thompson Yates laboratories*. 1913. Vol. V.
-

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Pharmazeutischen Instituts
zu Stockholm.]

Zur Kenntnis der biologischen Zersetzung von Arsenverbindungen.

Von

Harald Huss.

Im Jahre 1815 machte das preußische Ministerium durch eine Verordnung vom 12. Januar auf die Giftigkeit der mit Arsenfarben (Schéeles Grün) gestrichenen bzw. tapezierten Wänden aufmerksam (35). Seit dieser Zeit kann man rechnen, daß die Frage über die Vergiftung durch arsenhaltige Gegenstände unter Diskussion gewesen ist. Der Einfluß der arsenhaltigen Gegenstände auf den menschlichen Organismus und die Prozesse, welche denselben veranlassen, bzw. die Verhältnisse, unter denen diese stattfinden, sind seit dieser Zeit ständig Gegenstand eines großen Interesses seitens der Hygieniker gewesen. Hiervon zeugt die stattliche Anzahl der Veröffentlichungen, die über dieses Thema sowohl in den wissenschaftlichen Zeitschriften wie in den Tageszeitungen erschienen sind. Daß das Interesse für diese Frage sich speziell lebhaft in Schweden bekundet hat, dürfte auch den ausländischen Hygienikern, welche mit der Arsenvergiftungsfrage einigermaßen vertraut sind, bekannt sein. Ganz besonders intensiv ist diese Frage bei uns in Schweden in den letzten Jahrzehnten debattiert worden, eine Debatte, die wohl ihren Höhepunkt in den beiden letzten Jahren erreicht haben dürfte. Die Ursache zu dieser eifrigen Diskussion war eine größere Anzahl von Krankheitsfällen, die unter den Beamten der in dem alten Reichstagsgebäude in Stockholm untergebrachten staatlichen Bureaus konstatiert worden waren und die vom untersuchenden Arzt auf die Vergiftung durch arsenhaltiges Zinkweiß enthaltende Ölfarbe

zurückgeführt wurden. Auch in anderen staatlichen Institutionen Schwedens hat man angeblich dieselbe Beobachtung gemacht. Die arsenhaltigen Ölfarben und die Gesundheitsgefahr, welche durch dieselben den Insassen der Wohnungen droht, sind deshalb in der letzten Zeit das Zentrum in der Diskussion gewesen.

Weil es bei der Diskussion, die man über den hier in Frage stehenden Gegenstand führte, öfters betont wurde, daß die Verflüchtigung des Arsens aus arsenhaltigen Gegenständen für gewöhnlich durch die Tätigkeit der auf diesen wachsenden Pilze bzw. anderer Mikroorganismen stattfindet — durch Bunsen, Oppenheim, Philips (15) u. A. ist bekanntlich nachgewiesen worden, daß die arsenhaltigen Farben dadurch schädlich wirken können, daß auf mechanischem Wege von Wandbekleidungen losgelöste, staubfeine Partikelchen in die Lungenkapillaren eindringen — fand ich, daß es von Interesse, aber auch von großer Wichtigkeit sein sollte, festzustellen einerseits, welche Mikroorganismen die Fähigkeit besitzen, das in den betreffenden Gegenständen sich vorfindende Arsen in flüchtige Verbindungen umzuwandeln, andererseits, welche Farben und Arsenverbindungen mit diesen Pilzen zur Bildung derartiger Körper reagieren.

Aus der einschlägigen Literatur findet man, wie schon im Anfange des 19. Jahrhunderts der Gedanke aufgeworfen wurde, daß das Freiwerden des Arsens aus Tapeten mit biologischen Prozessen verbunden wäre. In der Carlsruher Zeitung vom November 1839 äußert nämlich Gmelin (2) seine Ansicht dahin, daß in feuchten, gegen Norden gelegenen Wohnungen, deren Wände mit arsenhaltigen Tapeten bekleidet sind, flüchtige Arsenverbindungen durch die Vergärung der organischen Substanz gebildet werden. Gmelin machte auch die Beobachtung, daß die Luft in solchen Wohnungen einen an Knoblauch erinnernden Geruch besaß. Der Knoblauchgeruch zeigte sich aber intermittierend, bald schwächer, bald stärker; hier und da konnte er ganz verschwinden. Einige Jahre später (17) äußerte Gmelin in einem Schreiben an die badische Regierung als seine Meinung, daß — ganz wie bei der Einwirkung von Kaliumacetat auf arsenige Säure — „bei dem Faulen des Papiers und des Kleisters in Berührung mit arsenigsäurem Kupferoxyd und besonders mit demjenigen, welches Essigsäure enthält“ eine Arsenverbindung entstände. Gmelin erwähnt auch, daß die Verbindung, obschon sie einen „sehr heftigen Geruch“ besitzt, nur eine schwach giftige Wirkung habe.

Der größte Teil der Forscher, welche das hier in Frage stehende Thema behandelt haben, sind zu der gleichen Meinung wie Gmelin gekommen. So z. B. von Basedow (21), welcher meint, die Tapeten seien einer allmählich stattfindenden Zersetzung unterworfen, wobei flüchtige Arsenverbindungen (nach von Basedow Kakodyloxyd) „ausdünsten“.

Martin (21), welcher einen unangenehmen Geruch in solchen Zimmern beobachtete, die mit Schéeles Grün enthaltender Ölfarbe gestrichen waren, deutete diesen Geruch als Beweis dafür, daß die Luft Arsenwasserstoff enthielte. Bezüglich der Entstehung des zwiebelartigen Geruches war Schmidt (23) der Ansicht, daß die von den Respirationsorganen der Insassen ausgeatmete Feuchtigkeit genüge, um denselben hervorzurufen. Schmidt machte dieselbe Beobachtung wie Gmelin, daß der Geruch längere Zeit ausbleiben konnte, um sich dann plötzlich wieder einzustellen; er bemerkt auch, daß der Geruch mitunter in ganz trockenen Zimmern auftreten konnte. In einer Gothenburger Zeitung (56) für 1847 wird in einem Artikel, betitelt „Gefährliche Folgen von dem Tapezieren der Wohnzimmer mit grünen Tapeten“, erwähnt, wie in einer Familie Vergiftungsfälle eingetreten waren, weil in der Wohnung derselben einige Zimmer mit grünen Tapeten überzogen waren. Sobald diese entfernt wurden, hörten die Krankheitssymptome auf. Auf Grund dieses Artikels erhielt Berzelius vom Königlichen Gesundheitskollegium den Auftrag, sich über die Vergiftungsfälle zu äußern. Sein Gutachten wurde in der Schwedischen Staatszeitung (8) am 20. April 1848 veröffentlicht. Aus diesem Gutachten von Berzelius dürfte folgendes von Interesse sein: „... eine erst in den letzteren Zeiten entdeckte, ungemein schöne grüne Farbe, welche Schweinfurtergrün, Mitisgrün oder Kaysergrün und mitunter, mit einer Nuance im Ton, Papageygrün genannt wird, wird seit einigen Jahren immer allgemeiner zu gedruckten Tapeten benutzt, die wegen seiner schönen Farbentöne vielen Beifall gefunden haben. Diese Farbe besteht aus Kupferoxyd, Essigsäure und arseniger Säure, der letztgenannte Bestandteil so lose darin gebunden, daß er durch Auskochen mit Wasser zu einem Teil ausgezogen werden kann. Die schädlichen Einflüsse von dieser Malerfarbe beruhen nicht nur auf der Anwesenheit von Arsen, sondern hängen auch mit dem Vorhandensein von Essigsäure zusammen. Diese Körper haben eine besondere Geneigtheit aufeinander einzuwirken und erzeugen dabei flüchtige Verbindungen, deren Menge durch die in von Menschen ständig bewohnten Zimmern befindliche Feuchtigkeit gesteigert wird. Mit Wasserfarben, in denen dieses Spiel der Verwandtschaften unbehindert fortfahren kann, werden Tapeten gemalt oder gedruckt. Ein Anstreichen mit diesen Farben in Öl würde wahrscheinlich diese Umsetzungen verhindern, da die Ölfarben von der Feuchtigkeit der Luft nicht durchdrungen werden.“ Berzelius ist deshalb der Meinung, das Gesundheitskollegium solle auf die gesundheitliche Gefahr aufmerksam machen, die den Bewohnern von mit solchen Farben gestrichenen Zimmern drohe. Diese Warnung brauchte doch nicht, nach der Ansicht Berzelius', für Schéeles Grün Geltung zu haben, da diese

Farbe keine Essigsäure enthält. Im Jahre 1857 konstatierte Langendorff (23) in einem Fall, wo zwei Personen an chronischer Arsenvergiftung erkrankten, daß das Zimmer, in dem sie Wohnung genommen hatten, sehr feucht war und daß die Tapeten des Zimmers mit einer starken Schimmelpilzvegetation überzogen waren. Die Luft des Zimmers besaß einen unangenehmen Geruch; nach der Meinung Langendorffs rührte dieser Geruch von der Anwesenheit von Arsenwasserstoff her. Die Ansichten waren zu dieser Zeit bezüglich der chemischen Zusammensetzung des bei der Verflüchtigung des Arsens entstehenden Gases sehr geteilt. Die Meinungen divergierten aber auch betreffend die angebliche Giftwirkung der arsenhaltigen Farben. In einer in der vorliegenden Arbeit später zu erwähnenden Publikation von Hamberg (23) zitiert dieser Verfasser die Äußerungen über diese Frage von Baer, einer der heftigsten Verteidiger der Unschädlichkeit der arsenhaltigen Tapeten. Für den Standpunkt Baers besonders charakteristisch sind die folgenden Worte: „Die Furcht vor den grünen Tapeten und Farben ist ganz unbegründet. Will man ein übriges tun, so hat man die Wände einfach mit einem Firnis zu überziehen; dadurch werden alle bösen Geister gebannt. . . . Fühlen sich übrigens die Ärzte gedrängt, für das Wohl der Menschheit zu sorgen, so mögen sie vor allen Dingen dahin streben, daß die feuchten Wohnungen, auf welche leider die Armut angewiesen ist, verschwinden.“ Diese Meinung hat Baer im Jahre 1861 geäußert. Noch in unserer Zeit gehören aber leider die feuchten Wohnungen nicht der Vergangenheit an.

Man hat ja auch bekanntlich angenommen, daß die arsenhaltigen Wandbekleidungen dadurch schädlich wirken könnten, daß auf mechanischem Wege losgelöste, staubfeine Partikelchen von der Farbe in die Lungenkapillaren eindringen. In der Zeit, wo die Farben an die Wandbekleidung so lose gebunden waren, daß dieselben mit leichter Hand abgewischt werden konnten, dürfte diese Art der Vergiftung vielleicht nicht ganz ausgeschlossen gewesen sein, eine derartige Erklärung dürfte aber heutzutage kaum gutgeheißen werden können. Ganz ausgeschlossen muß dieser Vergiftungsweg in denjenigen Fällen sein, wo die arsenhaltige Farbe mit einer anderen, arsenfreien Kleidung bedeckt worden ist. Th. und A. Husemann (30) schreiben auch schon im Jahre 1862 folgendes: „Andererseits dürfte diese Theorie ganz schlecht für diejenigen Krankheitsfälle passen, die in Zimmern angetroffen sind, wo die arsenhaltige Farbe mit anderen Stoffen überdeckt ist, wodurch keine Abstäubung stattfinden konnte.“ In diesem letzteren Falle dürfte das Arsen der Wandfarbe auf keinem anderen Wege als auf dem biologischen freigemacht werden können. Von Vergiftungsfällen, welche beobachtet wurden, nachdem neue, arsenfreie Tapeten auf die alten, arsenhaltigen Wandstoffe

geklebt worden waren, haben Björnström (23), Gräbs (23), Bockelmann (46) u. A. berichtet.

Eine ganz eigentümliche und nach der einschlägigen Literatur zu beurteilen einzig dastehende Meinung bezüglich der chemischen Zusammensetzung des bei der Verflüchtigung des Arsens gebildeten Gases hat Wittstein (54). Wittstein, der in zwei verschiedenen Fällen in Wohnungen, die mit arsenhaltigen Tapeten tapeziert waren, Knoblauchgeruch beobachtete, deutet diesen als von einem Gehalt der Luft an gasförmigem Arsenmetall herrührend. Wittstein macht besonders darauf aufmerksam, daß die Anwesenheit von Feuchtigkeit für das Entstehen dieses Geruches notwendig sei. In Zimmern mit feuchten Wänden verschwindet er nie. Nach Wittstein verursacht die vorhandene Feuchtigkeit, daß die organische Substanz (das Bindemittel, das Papier) der Tapeten auf die Arsenfarbe zur Bildung von Arsengas einwirke.

Vom biologischen Gesichtspunkte aus besonders interessante Mitteilungen über den Arsengehalt der Zimmerluft und dessen Ursprung macht Fleck (15). Dieser Forscher scheint nämlich, soweit ich aus der Literatur ersehen konnte, der erste gewesen zu sein, welcher durch Versuche gezeigt hat, daß Arsenverbindungen durch „organische Materien“ bei gleichzeitiger Anwesenheit von Feuchtigkeit zerlegt werden können. In der Einleitung seiner Arbeit erinnert Fleck daran, daß mehrere Forscher — wie ich eingangs erwähnte — durch Untersuchungen nachgewiesen haben, wie in Zimmern, die mit grünen Arsenfarben gestrichen oder mit Arsengrün haltenden Velourtapeten ausgeschlagen waren, sich auf Möbeln und Fußboden ein Arsen und Kupfer enthaltender Staub niederschlage, der durch Berührung mit den Lungenkapillaren der Bewohner die Veranlassung zur Erkrankung gegeben hat. „Man hat indessen auch festgestellt“, sagt Fleck, „daß die Erscheinung der Arsenvergiftung unter Umständen auftrat, wo ein Verstäuben des Arsengrüns wegen der noch herrschenden Wandfeuchtigkeit oder auf Grund der vollständigeren Befestigung des Anstriches nicht möglich war, und in solchen Fällen hat sich die Anwesenheit des Arsens angeblich durch einen eigentümlichen, knoblauchartigen Geruch bemerkbar gemacht.“ Fleck hat deshalb durch Versuche die Frage beantworten wollen, ob und unter welchen Bedingungen arsenhaltige Farbenüberzüge an Zimmerwänden arsenhaltiges Gas entwickeln. Zu diesem Zweck stellte er folgende Versuche an. Eine Glasglocke wurde auf der Innenseite mit Papier bekleidet, welches mit Schweinfurtergrün in solcher Menge überzogen war, daß $1^{cem} 0.015^{grm}$ As_2O_3 enthielt. Sowohl das Papier wie auch die Farbe waren mit Stärkekleister befestigt. Nach einiger Zeit trat Schimmelbildung und gleichzeitig ein modriger Geruch auf. Knoblauchgeruch war nicht zu bemerken.

Die Luft enthielt nach Fleck Arsen. In einer anderen Glasglocke wurde die Innenseite mit einem Gemisch aus Schweinfurtergrün und Gelatine überzogen. Ein fauler Geruch stellte sich bald in der Kultur ein, und es zeigte sich, daß die Luft arsenhaltig war. Wurden ähnliche Versuche ohne organische Substanzen ausgeführt, fielen sie negativ aus: die Luft erwies sich dann als arsenfrei. Fleck nahm auf Grund des Verhaltens des arsenhaltigen Gases gegenüber Silbernitratlösung an, daß dasselbe aus Arsenwasserstoff oder einer demselben chemisch ähnlich wirkenden Verbindung bestände. „Es beweisen die Versuche,“ sagt Fleck schließlich, „daß die Entwicklung des Arsenwasserstoffs vorwiegend unter Mitwirkung der Zimmerfeuchtigkeit und organischen Materien und zwar hauptsächlich der organischen Bindemittel stattfindet, und endlich wird hierdurch konstatiert, daß überall da, wo organische Stoffe mit freier Arsensäure zusammentreten, die Entwicklung des Gases möglich ist — eine Konsequenz, welche sich nun auch auf die arsenhaltigen Anilinfarben bei Tapeten übertragen läßt.“ In einem Versuch, bei dem mit arseniger Säure versetzter Stärkekleister einige Zeit aufbewahrt wurde, bedeckte sich das Substrat bald mit Schimmelpilzen. Die Vegetation war „mit einem dunkeln Reif von kristallinischem, metallischem Arsen umkleidet.“ „Es hatte also eine Reduktion der arsenigen Säure in dem Vegetationsprozesse der Schimmelpilze stattgefunden und hierdurch ist jedenfalls“, sagt Fleck weiter, „auch der letzte Zweifel darüber, ob die arsenige Säure ein Pilzgift sei oder nicht, vollständig gehoben.“ Zu demselben Schluß bezüglich der Einwirkung der arsenigen Säure auf das Wachstum der Pilze kam auch Johannsohn (31) bei seiner Untersuchung über den Einfluß der arsenigen Säure auf die Gärungsvorgänge. Von derselben Meinung wie Fleck betreffend die chemische Zusammensetzung des biologisch gebildeten Gases waren Selmi (50) und auf einem früheren Stadium auch Hamberg (23). Der letztere änderte später seine Ansicht insofern, daß er bei seinen in den Jahren 1876 bis 1886 ausgeführten Untersuchungen nicht feststellen konnte, ob die arsenhaltigen Gase aus Arsenwasserstoff, Kakodyloxyd oder aus anderen arsenhaltigen Verbindungen bestanden. Hamberg dürfte der erste sein, der exakte Versuche angestellt hat, um Arsen in der Zimmerluft nachzuweisen. In dieser Absicht ließ er Luft von einem scheinbar trockenen Zimmer, welches mit grünen, arsenhaltigen (Schweinfurtergrün) Tapeten tapeziert war, durch Silbernitratlösung passieren. Die schwarze Fällung in der Silbernitratlösung wurde im Marshschen Apparat analysiert, wobei ein undurchsichtiger Spiegel erhalten wurde. Hamberg kam auf Grund dieser Versuchsergebnisse zu der Ansicht, daß eine arsenhaltige Ausdünstung in der Form von Arsenwasserstoff stattgefunden hatte. In seiner im Jahre 1886 publizierten Abhandlung über

die Veränderung der arsenigen Säure in Berührung mit faulenden, animalischen Substanzen berichtet Hamberg (24) über sehr interessante Versuche, die ihn während 9 $\frac{1}{2}$ Jahren beschäftigt hatten. Am 4. Juni 1876 fing Hamberg seine Untersuchung an. 1500 grm arsenfreie Leichenteile wurden in einem großen Kolben mit 1 grm in Natriumkarbonatlösung aufgelöster arseniger Säure versetzt. Auf dieses Gemisch streute er etwas arsenfreie Erde, worauf alles mit Wasser befeuchtet wurde. Der Kolben wurde mit einem Gummistopfen verschlossen, durch welchen zwei Glasröhren führten; durch das eine Rohr wurde frische Luft von außen eingeführt, durch das andere wurde die Luft aus dem Kolben in 4prozent. Silbernitratlösung geleitet. Am 20. Juni beobachtete Hamberg starke Schimmelbildung in dem Kolben. Im Oktober 1876 konnte ein unangenehmer, knoblauchartiger Geruch wahrgenommen werden, der im November noch stärker war. Mit Silbernitratlösung befeuchtete Papierstreifen färbten sich nach einigen Stunden grau, später dunkler und nach einigen Tagen war der Rand der Streifen hellgelb. Am 29. März 1879 wurde erst nach mehreren Stunden Reaktion auf Arsen mit Silbernitrat erhalten. Der Inhalt des Kolbens war eingetrocknet, weshalb die Masse mit Wasser befeuchtet wurde. Durch die Befeuchtung des Kolbeninhaltes fing wieder die Bildung von arsenhaltigen Gasen an. Am 8. Mai 1879 eingehängtes Silbernitratpapier wurde in einigen Stunden dunkel, während Bleiacetatpapier sich unverändert hielt. Am 24. September 1885 wurde ein Papierstreifen mit Goldchloridlösung befeuchtet eingehängt; dieser zeigte sich noch am 29. September unverändert. Dasselbe Resultat ergab ein am 22. November angestellter Versuch mit Goldchloridpapier; die Kolbenluft zeigte sich arsenfrei. Am 25. November 1885 wurden deshalb die Versuche abgebrochen und der Inhalt des Kolbens analysiert. Es zeigte sich dabei, daß von der zugesetzten arsenigen Säure noch 0.55 grm in der Masse vorhanden war, mit anderen Worten während einer Versuchsdauer von 9 $\frac{1}{2}$ Jahren war ungefähr die Hälfte der zugesetzten Arsenmenge in flüchtige Verbindungen übergegangen. Hamberg konstatierte bei diesen Untersuchungen die besonders für die Beurteilung der später in derselben Richtung ausgeführten Versuche wichtige Tatsache, daß die arsenhaltigen Gase in Silbernitratlösung nicht vollständig absorbiert wurden. „Wahrscheinlich“, sagt Hamberg, „weil das Gas das Absorbionsrohr, ohne sich zu zersetzen, passiert hat.“

Zu einem schweren Rechtsirrtum hätten sich, wie Rossbach (46) erzählt, die Richter bei dem bekannten Giftmordprozeß in Jena 1889 beinahe verleiten lassen. In einer Familie waren innerhalb sieben Jahren von 11 geborenen Kindern sechs unter derartigen Erscheinungen gestorben, die auf Phosphorvergiftung deuteten. Von medizinischer Seite wurde mit

aller Kraft die Ansicht vertreten, daß die Kinder von den Eltern mit Phosphor vergiftet worden waren, trotzdem Phosphor in den Leichen überhaupt nicht nachzuweisen war. Die Eltern der Kinder wären auch sicherlich wegen sechsfachen Kindesmordes verurteilt worden, wenn man nicht im letzten Augenblick auf den Gedanken gekommen wäre, die Wohnungsverhältnisse der Familie einer lokalen Inspektion zu unterziehen. Die Wohnung bestand aus sechs Zimmern, die alle mit arsenhaltiger Farbe gestrichen oder mit arsenhaltigen Tapeten überzogen waren. In der Kinderstube enthielt die Farbe der vier Wände zusammen 272 ^{grm} Arsen. Die Zimmer befanden sich alle in dem Erdgeschoß eines an einer schmalen dunklen Gasse gelegenen Hauses, die Kinderstube war sehr feucht. Die Tapeten waren hier teilweise mit einer dicken Schimmelpilzvegetation überzogen. Die Luft war modrig und roch nach Knoblauch. Hieraus wurde der Schluß gezogen, daß die Kinder infolge Arsenvergiftung gestorben waren.

Wie ich im Vorhergehenden erwähnt habe, ist Fleck der erste gewesen, der die zersetzende Einwirkung von „organischer Substanz“ auf Arsenverbindungen durch Versuche nachgewiesen hat. Zu einer wesentlichen Förderung der biologischen Seite der Arsenfrage hat Selmi (50) beigetragen, indem er experimentell nachweisen konnte, daß Schimmelpilze eine aktive Rolle bei der Entstehung der flüchtigen Arsenverbindungen spielen. Giglioli (16) und Bischoff (10) gehören auch zu denjenigen, die verhältnismäßig früh die Aktivität der Pilze bei der Verflüchtigung des Arsens aus arsenhaltigen Objekten erkannten. Bischoff hat arsenhaltiges Futter, von dem ein Pferd vergiftet worden war, auf ein Glasgefäß gefüllt und dasselbe so lange darin aufbewahrt, bis es zu schimmeln anfing. Er machte dann die Beobachtung, daß ein knoblauchartiger Geruch der „Kultur“ entströmte. Weil das entstandene Gas mit Silbernitratpapier reagierte, nahm Bischoff an, daß dasselbe Arsenwasserstoff war, welches durch die reduzierende Wirkung der Schimmelpilze auf die in dem Substrat vorhandene Arsenverbindung entstanden war.

Den exakten Beweis dafür, daß das Vermögen, das Arsen aus seinen Verbindungen frei zu machen, nicht allen, sondern nur gewissen Pilzen zukomme, hat Gosio geliefert. Gosio hat seine Versuche in der Weise ausgeführt, daß er Schalen mit Kartoffelbrei, welcher 0.005 bis 0.01 Prozent arsenige Säure enthielt, einige Tage zu freiwilliger Infektion offen ließ. Nach einiger Zeit trat kräftige Entwicklung von Schimmelpilzen in den Kulturen ein, welche von einem starken Geruch nach Knoblauch begleitet wurde. Aus diesen Kulturen isolierte Gosio eine Anzahl verschiedener Pilze, welche reinkultiviert und danach auf ihr Verhalten zu arseniger Säure geprüft wurden. Hierbei zeigte sich, daß *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus virens*, *Mucor mucedo*, *Mucor racemosus*,

Sterigmatocystis ochracea, *Cephalothecium roseum* und *Penicillium brevicaula* arsenige Säure unter Bildung eines knoblauchartig riechenden Gases zerlegten. Diese Pilze griffen auch Alkaliarsenite und Arseniate, Schweinfurtergrün und Schéeles Grün, einige von ihnen auch Realgar und Auripigment an. Von den genannten Mikroorganismen wurde *Penicillium brevicaula* von Gosio als ein besonders kräftiger Arsenpilz hervorgehoben und von ihm als „ein lebendes Arsenreagens“ bezeichnet. So kleine Mengen wie 0.00002 ^{grm} Natriumarsenit konnten mit diesem Pilz nachgewiesen werden. Es wurde deshalb von Gosio empfohlen, von *Penicillium brevicaula* Gebrauch zu machen, um ganz kleine Mengen Arsen in einem Objekt zu entdecken. Für das Eintreten der Reaktion waren nach Gosio reichliche Sauerstoffzufuhr, Feuchtigkeit und Nahrung notwendig. Ganz besonders reich gestaltete sich die Gasentwicklung, wenn das Substrat, in dem die Pilze gezüchtet werden, Kohlenhydrate enthält. Versuche, die Gosio anstellte, um *Mucor mucedo* unter anaeroben Verhältnissen zu züchten, fielen negativ aus; der Pilz entwickelte sich überhaupt nicht bei der Abwesenheit von Sauerstoff. Bezüglich der chemischen Zusammensetzung des Gases nahm Gosio an, daß dasselbe ein Gemisch aus mehreren Arsenverbindungen sei, ein Gemisch, das kleine Mengen Arsenwasserstoff enthält, außerdem aber aus einer arsenhaltigen Alkyl- oder Aldehydverbindung bestehe.

Diese Ergebnisse der Gosioschen Untersuchungen gaben die Veranlassung zu einer reichen Literatur, die sich hauptsächlich mit der Biologie der Arsenfrage beschäftigt. Von allen Nachfolgern Gosios hat nur einer, Emmerling (14), negative Resultate zu verzeichnen gehabt. Emmerling stellte eine große Anzahl Versuche an, wobei er Bakterien, Hefen und Schimmelpilze auf arsenige Säure in Bouillon, Dextroselösung bzw. Stärkekleister einwirken ließ. Emmerling erhielt aber immer negative Resultate. Auf Grund dieser Ergebnisse ist Emmerling der Ansicht, daß durch arsenhaltige Tapeten hervorgerufene Vergiftungserscheinungen auf Verstäubung beruhen.

In einer anlässlich der Untersuchungen Emmerlings in den Berichten der Deutschen Chemischen Gesellschaft publizierten Entgegnung wiederholt Gosio (19) die Resultate, die seine eigenen Versuche gegeben haben. Die Art der flüchtigen Arsenverbindung hat er doch nicht feststellen können. „Es ist jedoch sicher,“ schreibt Gosio, „daß es sich um eine außerordentlich giftige Verbindung handelt. Denn setzt man eine kleine Maus (*Mus musculus*) in ein Gefäß, in welchem der Schimmelpilz in Gegenwart von Arsen reichlich entwickelt ist, so stirbt dieselbe häufig nach wenigen Sekunden.“ (Vergleiche hiermit Hausmanns, Abel und Buttenbergs und meine eigenen, später in der vorliegenden Arbeit

referierten Versuche!) „Dieser Umstand der außerordentlichen Giftigkeit des Gases, zusammengehalten mit dem anderen, daß die genannten Schimmelpilze sich so leicht auf feuchten Tapeten entwickeln, gibt den unzweideutigen Beleg dafür ab, daß Tapeten mit arsenhaltiger Farbe oder die irgendwie Arsenik enthalten, eine Vergiftung durch arsenhaltige Gase zu veranlassen vermögen.“

Baumert (7) ist der Ansicht, daß man auf Grund der Untersuchungen von Gosio die Theorie betreffend die giftige Wirkung der arsenhaltigen Tapeten dahin modifizieren muß, daß diese an nassen Wänden nicht immer und zwar nur dann durch Entwicklung flüchtiger Arsenverbindungen schädlich wirken, wenn die kleine Gruppe der Arsenschimmelpilze vertreten ist. Da man mit Recht hervorheben kann, daß die Arsenpilze wohl nur selten allein die Schimmelvegetation an feuchten Wänden und anderen feuchten Gegenständen bilden und da außerdem, wie Sanger (47) bei seinen Versuchen fand, die fraglichen Pilze von anderen, „gewöhnlichen“ Schimmelpilzen leicht genug mehr oder weniger effektiv erstickt werden können, so kommt es vor, als ob nur selten die Rede von einer Verflüchtigung quantitativ meßbarer Arsenmengen sein kann. In einem Fall beobachtete Sanger, wie *Penicillium brevicaulis* in einer arsenhaltigen Kultur durch einen solchen „gewöhnlichen“ Schimmelpilz *Penicillium crustaceum* verdrängt wurde; die Entwicklung von knoblauchriechenden Gasen blieb auch aus. Sanger machte bei seinen Untersuchungen über die chemische Beschaffenheit der arsenhaltigen Gase dieselbe Beobachtung wie Hamberg, daß Silbernitratlösung nicht die ganze in dem Gas vorkommende Arsenmenge absorbiere. Auf Grund dieses Befundes spricht er sich dahin aus, daß die flüchtige Verbindung nicht aus Arsenwasserstoff bestehe, da dieser von Silbernitratlösung vollständig absorbiert wird.

Wie ich schon erwähnt habe, machte Gosio in seiner ersten Arbeit auf die äußerst große Empfindlichkeit der biologischen Methode aufmerksam, besonders wenn *Penicillium brevicaulis* zur Anwendung gelangt. Bode (11), welcher auch Versuche hierüber anstellte, fand, daß 0.0005^{grm.} Schweinfurtergrün einen deutlichen Knoblauchgeruch mit *Penicillium brevicaulis* gab. Abba (1) konnte mit Anwendung von *Penicillium brevicaulis* Spuren von Arsen in Kupfersulfat und Ammoniumtartrat nachweisen; das Resultat der biochemischen Untersuchung wurde durch die chemische Untersuchung bestätigt. Mit Hilfe dieser Methode gelang es Abba eine Prüfung von 142 Proben Felle auf Arsengehalt in 3 Tagen auszuführen; hieraus ersieht man, daß der biologische Nachweis des Arsens viel weniger Zeit in Anspruch nimmt, als die chemische Methode. Scholtz (48), welcher auch Versuche über die Empfindlichkeit der bio-

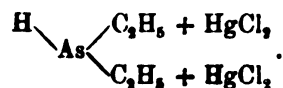
logischen Methode gemacht hat, konnte mit *Penicillium brevicaula* $\frac{1}{300}$ bis $\frac{1}{600}$ mg arsenige Säure nachweisen. Beim Studium der Arsenfrage vom biologischen Gesichtspunkt aus fand Almquist (4), daß eine beträchtliche Anzahl Schimmelpilze die Fähigkeit besitzen, Arsen aus arsenhaltigem Substrat zu verflüchtigen. Almquist hat auch den Versuch gemacht, Arsen in einigen Kalkproben auf biologischem Wege festzustellen. Zu diesem Zwecke mischte er Kalk mit Brot, machte den Brei mit Wasser feucht und impfte nachher mit *Penicillium brevicaula*. Der Pilz gedieh aber sehr schlecht in diesem Substrat. Erst nach einigen Monaten konnte Almquist einen knoblauchartigen Geruch in den Kulturen spüren. „Ich kann nicht meine Versuche als entschieden betrachten,“ sagt der Verfasser, „ich glaube aber, daß ich in zwei Proben sicheren Geruch konstatieren konnte“. Einige Versuche mit Bakterien, die Almquist anstellte, fielen negativ aus. In arsenhaltiger Ölfarbe gelang es Almquist (5) mit Hilfe von gewissen Schimmelpilzen Arsen nachzuweisen. „Streicht man zum Beispiel,“ sagt Almquist, „etwas arsenhaltige Ölfarbe auf Agaragar und läßt gewisse Schimmelpilze neben der Farbe wachsen, so entsteht kräftiger Knoblauchgeruch“. Almquist erwähnt jedoch nicht, in welcher Form das Arsen bei diesem Versuch in der Ölfarbe vorhanden war. Bis zum heutigen Tage ist man doch im allgemeinen der Ansicht gewesen, daß die Ölfarbe als Substrat für Mikroorganismen untauglich sei. Aus diesem Grund sah man auch keine Gefahr darin, Farben, die Arsen als konstituierenden Bestandteil enthielten, zu Ölfarben zu benutzen. Dragendorff (13) läßt doch die Frage offen, ob die Ölfarbe als Wandanstrich gesundheitschädlich wirken kann oder nicht. „Ob dort, wo auf einer Wand Schéeles Grün in Form von Ölfarbe aufgetragen, von der Entstehung von Arsenwasserstoff gesprochen werden kann, muß ich dahingestellt sein lassen. Die mechanische Ablösung ist hier nicht zu befürchten.“ Viel bestimmter betreffend dieser Frage sprechen sich aber Abel und Buttenberg (2) aus. Sie erklären, daß Ölfarbenanstriche keinen Nährboden für Schimmelpilze abgeben. Damit haben Abel und Buttenberg auch als ihre Ansicht ausgedrückt, daß ein Verflüchtigen von Arsen aus Ölfarbe auf biologischem Wege unmöglich sei. Diese beiden Forscher veröffentlichten im Jahre 1899 eine größere Arbeit über die Einwirkung von Schimmelpilzen auf Arsen und seine Verbindungen, in welcher sie ihre Resultate einer Prüfung der biologischen Methode mitteilen. Die Versuche wurden sowohl mit Bakterien wie mit Hefen und Schimmelpilzen ausgeführt. Die mit Bakterien und Hefen angestellten Experimente fielen alle negativ aus. Dagegen zeigte sich eine Anzahl verschiedener Schimmelpilze gegenüber gewissen Arsenverbindungen aktiv. Mit Hilfe der biologischen Methode ist es Abel und Buttenberg gelungen, Arsen

in Tapeten, Papierservietten, Lampenschirmen, Wolle, Lumpen, Anilinfarben usw. nachzuweisen. Meerschweinen wurden arsenige Säure und gleichzeitig Antidotum arsenici gegeben, wonach der Mageninhalt mit Anwendung von *Penicillium brevicaula* biologisch untersucht wurde. Die Anwesenheit des Eisenhydrats störte die Reaktion nicht; sie fiel auch hier positiv aus. Was die Natur der Arsengase anbelangt, meinen Abel und Buttenberg — ganz wie Gosio —, daß sie zu einem kleinen Teil aus Arsenwasserstoff bestehen, während der größere Teil derselben wohl der Gruppe der Arsine angehören dürfte. Bei der Prüfung der Giftigkeit des arsenhaltigen Gases benutzten Abel und Buttenberg Mäuse. Sie kamen dabei zu dem Resultate, daß die mit Luft verdünnten Gase für die Mäuse ungiftig seien. Abel und Buttenberg zeigten durch Versuche, daß die Mäuse bei den von Gosio ausgeführten Versuchen wegen Mangel an Sauerstoff und Überschuß an Kohlendioxyd erstickten. Mäuse, welche in Gefäßen mit Pilzkulturen ohne Zusatz von Arsenverbindungen gehalten wurden, starben, weil der Kohlendioxydgehalt der Luft zu hoch wurde. Wenn das Kohlendioxyd während des Versuches durch Sauerstoff ersetzt wurde, blieben die Tiere gesund. Abel und Buttenberg bemerkten noch, daß sie sich schwindelig und unwohl bei der Beschäftigung mit den Arsenkulturen fühlten. In dieser Hinsicht kamen sie somit zu demselben Schluß wie Gosio, welcher auch leichte Vergiftungssymptome beobachtete, wenn er auf mehrere Kulturen gerochen hatte.

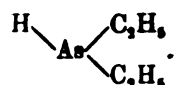
Bis zu dieser Zeit hatten die Forscher nur Vermutungen bezüglich der chemischen Zusammensetzung der von den Arsenpilzen gebildeten Gase aufgestellt. Die letzten aus der Literatur zu verzeichnenden Aussprüche, welche diesen Teil der vorliegenden Frage berühren, stammen von Marpmann und Gosio. Marpmann (41) spricht die Vermutung aus, daß es sich um Arsine handle. Er bringt aber keine Motivierung für diese seine Meinung. Gosio (20) glaubt, *Penicillium brevicaula* sei eine Art alkoholischen Fermentes, welches Arsenik als ein Nahrungsmittel zu sich nehme, „l'élabore dans ces tissus et l'élimine comme noyaux organo-métalliques“. Auf die Veranlassung Gosios führte jetzt Biginelli (9, 21) eine chemische Untersuchung der von den Pilzen gebildeten arsenhaltigen Gase aus. Um die Gase zu absorbieren, bediente Biginelli sich einer stark salzsauren Lösung von Quecksilberchlorid, die von Bergé und Reychler zum Reinigen von Azetylgas empfohlen worden war. Die Lösung hatte die folgende Zusammensetzung:

HgCl ₂	p. 8—12
HCl	„ 20
H ₂ O	„ 80.

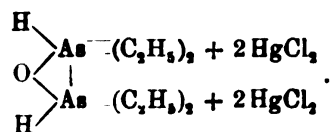
Beim Durchleiten der von den Pilzen in arsenhaltigen Kulturen gebildeten Gase durch diese Lösung erhielt Biginelli einen kristallinen Niederschlag. Die Kristalle waren holodrisch triklin. Die chemische Untersuchung dieser Kristalle ergab die Zusammensetzung:



Für das durch die Pilze erzeugte Gas stellte er die folgende Formel auf:



Biginelli stellte auch einige andere Verbindungen des Diaethylarsins dar. So erhielt er bei der Behandlung des Diaethylarsinquecksilberchlorids mit kochendem Wasser eine sauerstoffhaltige Verbindung von der folgenden Zusammensetzung:



Die Resultate der Untersuchung von Biginelli stimmen also mit der von einigen der früheren Forscher gemachten Annahme bezüglich der chemischen Zusammensetzung des von den Pilzen erzeugten Gases überein.

Die Untersuchungsergebnisse Biginellis sind später von Maasen (39), welcher die Versuche Biginellis wiederholt hat, bestätigt worden. In Übereinstimmung mit Abel und Buttenberg erhielt auch Maasen bei seinen Untersuchungen über das Verhalten verschiedener Bakterien zu Arsenverbindungen negative Resultate. Abweichend von Gosio fand Maasen aber, daß die Zusammensetzung des Nährsubstrates ziemlich gleichgültig für das Entstehen der knoblauchartig riechenden Gase sei. „Auf jedem Substrat, auf dem der Pilz (*Penicillium brevicaulis*) zur Entwicklung gelangt, vermag er auch“, sagt Maasen, „Arsenverbindungen zu zersetzen. Seine Fähigkeit, feste Arsenverbindungen in flüchtige überzuführen, hängt demnach nicht von der Zusammensetzung des Nährbodens ab, und ist vor allem nicht, wie Gosio annimmt, an die Anwesenheit bestimmter Kohlenstoffverbindungen (Kohlenhydrate) gebunden.“

Von den im letzten Jahrzehnt ausgeführten Untersuchungen auf dem hier in Frage stehenden Gebiete sind die folgenden von Wichtigkeit bzw. von größerem Interesse. Maggiora (40) hat die biologische Methode auf 51 Arsenpräparate versucht und auch bei sehr kleinen Mengen stets

Arsingeruch erhalten. Mit Hilfe von *Penicillium brevicaula* hat Cevey (12) nachgewiesen, daß Natriumkakodylat auch von den Arsenpilzen unter Bildung von Arsinen zersetzt wird. Von welcher großen Empfindlichkeit die biologische Methode ist, zeigen die Versuche Segales (49). Segale versuchte auf diesem Wege das Vorhandensein von Arsen in normalen Geweben nachzuweisen. *Penicillium brevicaula* rief auf frischen Organen keinen Knoblauchgeruch hervor, dagegen trat die Reaktion ein, wenn die Organe zuvor durch Autolyse zersetzt waren. Auf diese Weise wurde von Segale Arsen in Schilddrüsen, Milz, Leber, Nieren, Thymus, Hoden, Prostata, Speicheldrüsen, Augapfel, Muskeln, Nebennieren, Placenta, Menstrualblut von Menschen und Tieren nachgewiesen, dagegen gelang der Arsennachweis in Horngebilden, Federn, Haaren und Klauen nicht. Nach dem Verfahren von Marsh konnte in den Flüssigkeiten, worin mit *Penicillium brevicaula* Arsen nachweisbar war, keine Reaktion hierauf erhalten werden. In Brotresten, die zu einer Vergiftung Anlaß gegeben hatten, konnten Krzizan und Plahl (36) die Anwesenheit von Arsen auf biologischem Wege feststellen. Auch aus feuchter Friedhofserde entbanden auf Brot oder Reis gezüchtete Pilze, wie Popp (45) berichtet, flüchtige Arsenverbindungen. Schließlich sind noch die Untersuchungen von Hausmann (26) zu erwähnen. Sehr interessant ist die von Hausmann gemachte Beobachtung, daß eine Aktinie, *Aiptasia diaphana*, in arsenhaltigem Meerwasser ein knoblauchartig riechendes Gas erzeugt, anscheinend durch die Bildung von Arsinen bedingt. Hausmann hält es nicht für ausgeschlossen, daß die mit der *Aiptasia* symbiotisch lebenden Algen und nicht das Tier selbst die Arsine bilden; 0.000005 gsm arsenige Säure waren in dieser Weise nach 24 Stunden nachweisbar. Hausmann hat auch die Frage betreffend die Giftigkeit der Arsine zu beantworten versucht. Hausmann kam dabei zu demselben Resultat wie Abel und Buttenberg. Weiße Mäuse, die über einer arsenhaltigen Brotkultur des *Penicillium brevicaula* gehalten wurden, lebten wochenlang, zeigten nicht die Spur von irgend einer Krankheit, wurden vielmehr sichtlich kräftiger und munterer. In einem anderen Versuche warfen zwei Mäuse sogar Junge, die sich normal entwickelten; die Tiere lebten dann mehr als 2 Monate lang in der intensiv nach Arsin riechenden Luft. Hausmann betrachtet deshalb die von *Penicillium brevicaula* gebildeten Gase als für Mäuse ungiftig und meint außerdem, daß die früher so oft beobachteten Vergiftungen durch arsenhaltige Tapeten der Einatmung von fein verteiltem, pulverförmigem Arsenik, vielleicht auch von Arsenwasserstoff, kaum aber den gasförmigen, von Schimmelpilzen gebildeten Arsinen zuzuschreiben seien. Jedenfalls spielt aber, nach der Meinung Hausmanns, die ungemein große, indi-

viduelle Verschiedenheit gegenüber der chronischen Arsenvergiftung eine ausschlaggebende Rolle auch in dieser Beziehung.

Vor einigen Jahren hat Gosio wieder einen schönen Beitrag zur Diskussion der Arsenfrage geliefert, indem er im Jahre 1906 eine größere Arbeit dem Studium des biochemischen Nachweises des Arsens — Tellurs und Selens — gewidmet hat (21). Gosio hat zahlreiche Proben von den verschiedensten Objekten biologisch geprüft, so z. B. Tapeten, Spielzeug, künstliche Blumen, Kleiderstoffe, Garne usw. Die Anordnung der Versuche war in der Hauptsache immer dieselbe, hier und da mit einer kleinen Änderung in den Details. Wenn z. B. bei nur oberflächlich gefärbten Objekten die Farbschicht genügend dick war, wurde dieselbe einfach abgekratzt und mit dem Substrat vermischt. In anderen Fällen (Stoffe, Papier, Lederwaren u. dergl.) wurde ein kleines Stück des Objektes mit dem Nährsubstrat durchtränkt und darauf mit dem Pilz geimpft. Nur selten war die Benutzung eines Lösungsmittels notwendig, um die Farbe in konzentriertem Zustande zu bekommen. Die biologische Prüfung gab immer dasselbe Resultat wie die chemische Untersuchung, mit Ausnahme von den Fällen, wo die vorhandene Arsenmenge so klein war, daß die chemische Methode, welche weniger ausführlich ist als die biologische, versagte. In sauerstofffreier Atmosphäre oder in evakuiertem Gefäß wuchsen die Gosioschen Arsenpilze nicht. *Penicillium brevicaula* greift Realgar und Auripigment mit derselben Kraft an wie die arsenige Säure. Wie Stoll (52) konnte auch Gosio nachweisen, daß *Penicillium brevicaula* und andere Pilze in der Kultur Ammoniak erzeugen, welches die Schwefelverbindungen des Arsens in Sulfosalze überführt. Da diese Salze in Wasser leicht löslich sind, werden sie auch sehr leicht von den Pilzen zersetzt.

Im vorigen Jahr hat Pool (44) nachgewiesen, daß ein unter anderem auf Reis vorkommender Schimmelpilz, *Monilia sitophila*, auch das Vermögen hat, bei Gegenwart eines Kohlenhydrates Arsenverbindungen zu zersetzen. Die von Pool daraufhin geprüften Verbindungen waren arsenige Säure, Magnesiumpyroarseniat, Arsentrisulfid, Natriumkakodylat; alle diese Verbindungen geben mit dem genannten Pilz Diäthylarsin. Schließlich wäre noch zu erwähnen, daß Hildebrand (28) die chemische Methode zum Nachweise des Arsens der biologischen vorzieht. „Die biologische Methode zeigt zwar große Schärfe,“ schreibt er, „aber das Erkennungsmittel ist der Geruchsinn, also nicht immer verläßlich, daher auch keinen praktischen Wert besitzend. Der chemische Nachweis nach den Methoden Gutzeit und Marsh ist der einzig verläßliche.“ Wie alle anderen Forscher fand auch Hildebrand, daß die Bakterien nicht imstande sind, das Arsen aus seinen Verbindungen zu verflüchtigen.

Wegen der in den letzten Jahren in Schweden häufig vorgekommenen, in der Einleitung schon erwähnten Krankheitsfälle, welche angeblich durch arsenhaltiges Zinkweiß enthaltende Ölfarbe verursacht seien, führten Henrijean und seine Mitarbeiter (27) im Auftrage der Fabrikanten dieses Zinkweißes eine Untersuchung aus, um etwas Licht auf diesen Teil der Arsenfrage zu werfen. Zu diesem Zwecke sind u. a. folgende Versuche von ihnen ausgeführt worden. Drei Zimmer wurden mit Ölfarbe aus arsenhaltigem Zinkweiß gestrichen und die Wände dann mit *Penicillium brevicaula* geimpft. Die Zimmer wurden während der Versuchszeit sehr feucht gehalten, um die Verhältnisse für eine eventuelle Vegetation der Pilze so günstig wie möglich zu gestalten. Innerhalb kurzer Zeit waren aber die Pilze gestorben; in der Zimmerluft konnte auch kein Arsen nachgewiesen werden. Dasselbe Resultat erhielten die Forscher bei einem Versuch, bei dem sie die von den Wänden abgekratzte Farbe mit Brot mischten und das Gemisch mit *Penicillium brevicaula* impften. Dagegen bekamen sie einen ganz schwachen Kakodylgeruch, wenn eine Brotkultur von *Penicillium brevicaula* mit arsenhaltigem Zinkweiß ohne Zusatz von Öl versetzt wurde. Die in dieser Kultur gebildeten Arsinmengen waren aber so äußerst klein, daß sie in 8 Tagen keine Kristallausscheidung in salzsaurer Quecksilberchloridlösung veranlaßten. Bei der Untersuchung der Quecksilberchloridlösung, durch welche die Gase geleitet worden waren, erhielten sie im Marshschen Apparat einen außerordentlich dünnen Spiegel.

Nachdem ich in dem Vorhergehenden die wichtigsten Daten aus der biologischen Arsenforschung referiert habe, gehe ich jetzt dazu über, meine eigenen Versuche und die dabei erhaltenen Ergebnisse zu beschreiben.

Die Untersuchungen sind mit einer größeren Anzahl Bakterien, Hefen, Schimmelpilze und holzzerstörender Pilze ausgeführt worden.

Mit arsinbildenden Mikroorganismen meine ich im folgenden solche Pilze, die in mit arseniger Säure versetzten Kulturen Kakodylgeruch erzeugen. Die Auswahl der arsinbildenden Pilze wurde folgendermaßen durchgeführt. In Reagenzröhrchen sterilisierte Kartoffelstücke wurden mit 0.001 ϵ^m arseniger Säure in sterile Lösung versetzt, worauf das Substrat mit dem betreffenden Mikroorganismus geimpft wurde. Diejenigen Pilze, welche nach einer Zeit von 2 Monaten noch keinen Kakodylgeruch erzeugt hatten, wurden auf arsenhaltige Kartoffelstücke umgeimpft. Nach weiteren 2 Monaten waren die neuen Kulturen noch ohne jeden Knoblauchgeruch, weshalb diese Pilze ausrangiert wurden. Damit will ich aber nicht gesagt haben, daß jeder dieser ausrangierten Pilze überhaupt außer-

stande sei, Arsine zu bilden. Ich halte es im Gegenteil für sehr möglich, daß der eine oder der andere von den daraufhin geprüften Organismen diese Fähigkeit allmählich — und ganz besonders unter natürlichen Verhältnissen beim Zusammenleben mit anderen Mikroorganismen — ausbilden kann. Gosio (18) hat ja bei seinen ersten Versuchen über Arsenpilze gefunden, daß gewisse Pilze nach mehrmaligem Umimpfen auf arsenhaltige Nährböden schließlich arsinbildende Eigenschaften zeigen. Für diese weitläufige Arbeit fehlte mir aber die Zeit.

Als Nährboden für die Pilze habe ich bei allen Versuchen Kartoffelbrei aus 60 Teilen gekochter Kartoffeln und 40 Teilen Wasser benutzt. Der Brei wurde 10 Minuten bei 120° sterilisiert. Einige Versuche mit Brei aus Weißbrot und Wasser zeigten mir, daß dieses Substrat für die hier beschriebenen Untersuchungen keine Vorzüge gegenüber dem Kartoffelbrei besitzt. Die Arsinbildung wurde bei sämtlichen Versuchen durch den Geruch festgestellt. Nach einiger Übung ist es für gewöhnlich ein leichtes auch einen ganz schwachen Kakodylgeruch von anderen, von den Pilzen eventuell erzeugten Gerüchen zu unterscheiden. Das in den arsenhaltigen Kulturen von den Pilzen gebildete Gas hat einen im höchsten Grade durchdringenden, sehr unangenehmen Geruch nach Knoblauch. In konzentrierter Form riecht dasselbe etwa wie ätherisches Senföl. Mitunter ist der Geruch demjenigen der weißen Mäuse nicht unähnlich.

Die folgenden Pilze wurden von mir auf ihre zersetzende Einwirkung auf Arsenverbindungen — in erster Hand, wie gesagt, arsenige Säure — geprüft. Die in Klammern gedruckten Ziffern geben die Nummer des Pilzes in der Sammlung des Laboratoriums an.

Bakterien.

Bacterium coli Escherich	(Sammlung 7)
— — —	(„ 56)
— — —	(„ 68)
— typhi Gaffky	(„ 31)
— — —	(„ 69)

Hefen.

Saccharomyces cerevisiae Hansen . .	(Sammlung 23)
— ellipsoideus Hansen	(„ 24)
— Pastorianus Hansen	(„ 25)
Pichia membranaefaciens Hansen . .	(„ 27)
Willia anomala Hansen	(„ 26)
Rote Wildhefe	(„ 45)

Schimmelpilze.

<i>Actinomyces</i> sp.(?)	(Sammlung 39)
Nr. 26. <i>Streptothrix chromogenes</i>	(Kiel)
„ 44. — , Kot 6	„
„ 62. —	„
„ 92. — Rübenversuch 7	„
„ 173. — odorifera	„
„ 845. <i>Actinomyces chromogenes</i>	„
<i>Aspergillus clavatus</i> Desm.	(Sammlung 80)
— <i>ostianus</i> Wehmer	
— <i>minimus</i> —	
— <i>flavus</i> Link	
— <i>oryzae</i> (Ahlburg) Cohn	(Sammlung 79)
— <i>varians</i> Wehmer	
— <i>candidus</i> Wehmer	(„ 81)
— <i>Wentii</i> Wehmer	
— <i>niger</i> van Tiegh	(„ 74)
— <i>repens</i> de Bary	(„ 75)
— A.	(„ 90)
— D.	(„ 91)
— T.	(„ 64)
<i>Byssochlamys nivea</i> Westling	
<i>Citromyces tubifer</i> Wehmer	
<i>Mucor mucedo</i> Linné	(„ 8)
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.)	(„ 10)
<i>Oospora</i> (?) sp. (Levin)	(„ 86)
<i>Penicillium olivaceum</i> Wehmer	
— <i>Lagerheimi</i> Westling	
— <i>majusculum</i> —	
— <i>palitans</i> —	(Sammlung 83)
— <i>subcinereum</i> —	
— <i>notatum</i> —	
— <i>piscarium</i> —	
— <i>ventruosum</i> —	
— <i>luteum</i> Zukal	(Sammlung 76)
— <i>lanosum</i> Westling	
— <i>Roqueforti</i> Thom	(Sammlung 77)
— — var. <i>Weidemanni</i> Westling	
— <i>chrysogenum</i> Thom	

- Penicillium africanum** Doebelt
- **viridicatum** Westling
 - **expansum** (Link) Thom
 - **frequentans** Westling. . (Sammlung 84)
 - **rugulosum** Thom
 - **spinulosum** —
 - **citrinum** —
 - **cyclopium** Westling
 - **conditaneum** —
 - **decumbens** Thom
 - **stoloniferum** —
 - **biforme** —
 - **glabrum** (Wehmer)
 - **atramentosum** Thom
 - **tabescens** Westling
 - **granulatum** Bainier
 - **solitum** Westling . . . (Sammlung 85)
 - **purpurogenum** (Fleroff) Stoll („ 78)
 - **turbatum** Westling
 - **baculatum** —
 - **corymbiferum** Westling
 - **brevicaule** Saccardo forma α (Sammlung 34)
 - — — — β („ 82)

Rhizopus niger.

Holzerstörende Pilze.

- Coniophora cerebella** A. et Sch. . . (Sammlung 61)
- Merulius lacrymans** Jacq. . . . („ 32)
- Polyporus vaporarius** Fries („ 62)

Den größten Teil der vorstehend aufgezählten Pilze habe ich den folgenden Herren bzw. Institutionen zu verdanken:

Versuchsstation und Lehranstalt für Molkereiwesen, Kiel.

Hrn. Prof. Dr. B. Gosio, Rom.

„ Dr. med. E. Levin, Stockholm.

„ Dr. phil. R. Westling „

Die am Ende der vorliegenden Arbeit erwähnten quantitativen Arsenbestimmungen wurden von Hrn. stud. chem. K. G. Dernby unter der Leitung des Hrn. Prof. P. Klason ausgeführt.

Das Untersuchungsmaterial für die Prüfung des arsinbildenden Vermögens der Pilze ist mir zum Teil überlassen worden von:

Hrn. Prof. Dr. P. Klason, Stockholm.
 „ „ „ C. Neufeld, Würzburg.
 „ Dr. phil. C. Setterberg, Stockholm.
 „ Dr. med. K. Sondén, „
 Aktien-Gesellschaft für Anilinfabrikation, Berlin.
 Chemische Fabrik Griesheim-Elektron, Frankfurt a./M.
 Farbenwerke vorm. Meister, Lucius & Brüning, Höchst a./Main.

Für die liebenswürdige Unterstützung meiner Arbeit durch Überlassung von Pilzkulturen und Untersuchungsmaterial bzw. durch dieselbe fördernde Untersuchungen erlaube ich mir hier den genannten Herren, Institutionen und Fabriken meinen herzlichsten Dank abzustatten.

Von den oben aufgezählten Pilzen haben sich nur die folgenden Schimmelpilze bei meinen Versuchen als arsinbildend erwiesen:

Actinomyces sp.	(Sammlung 39)
Aspergillus A.	(„ 90)
— D.	(„ 91)
— T.	(„ 64)
— candidus	(„ 81)
— clavatus	(„ 80)
Oospora sp. (Levin)	(„ 86)
Penicillium brevicaulis f. α	(„ 34)
— — f. β	(„ 82)

Sämtliche Bakterien, Hefen- und holzzerstörenden Pilze zeigten sich inaktiv gegenüber der arsenigen Säure.

Kurze Notizen betreffend die arsinbildenden Pilze.

Actinomyces sp. Ob der hier in Frage stehende Pilz eine Actinomyces ist oder nicht, muß ich spätere Untersuchungen entscheiden lassen. Die Kulturen des Pilzes erinnern an die von Actinomyces chromogenes Gasp. β alba Lehm. et Neum., wie diese von Lehmann und Neumann (37) beschrieben werden. Auch die Sporenbildung scheint mit derjenigen von Actinomyces chromogenes β alba übereinzustimmen. Leider war diese Actinomyces bei meiner Anfrage in der Kral'schen Sammlung nicht vorhanden, weshalb ein wünschenswerter Vergleich mit diesem Pilz ausfallen mußte. Auf Fleischpeptonagar

bildet *Actinomyces* sp. einen mit dem Substrat zusammenhängenden Belag, der nach der Sporenbildung trocken und kreideweiß wird. Die Oberfläche der Kultur sieht so aus, als ob sie mit Kreide bepudert wäre. Von diesem Pilz habe ich zwei durch die Farbe verschiedene Formen beobachtet. Bei der einen Form bleibt die Agarkultur ständig kreideweiß, bei der anderen geht die Farbe allmählich in grau über. Die erstgenannte Form erzeugt einen schwefelgelben, die letztere einen orangeroten Farbstoff; bei der einen Form ist somit die Unterseite der Agarkultur gelb, bei der anderen dagegen orangefarben. Auf Malzextraktagar sind die Kolonien kreisrund, sphäritenähnlich, knorpelig, grau; im Zentrum entsteht zuerst ein Büschel Lufthyphen, welche nach und nach Sporen ab-schnüren, wodurch die Farbe der Oberfläche schließlich kreideweiß wird. Aber nicht nur die Lufthyphen des Pilzes, sondern auch das dem Nährsubstrat direkt angeschmiegte Myzel erzeugt Sporen. Im Gelatinestich entsteht zuerst eine trichterförmige Einsenkung mit einem kreideweißen Belag auf dem peptonisierten Substrat. Der untere im festen Teil des Nährbodens stehende Teil des Stiches ist einer Flaschenbürste ähnlich. In einer 4 Monate alten Kultur war nur die Hälfte der Gelatinesäule verflüssigt. Die Kultur hatte einen phosphinähnlichen Geruch. In Bouillon bildet der Pilz zuerst auf der Oberfläche des Substrates einen kreideweißen Belag, der nach unten kräftige Myzelschwänze von etwa 1^{cm} Länge aussendet. Am Boden der Kultur entsteht ein flockiges Myzelhäufchen, in dem verhältnismäßig große Kristalle zu sehen sind. Der Pilz wächst nicht bei 37°. Schon ein längerer Aufenthalt im Brutschrank schadet demselben. Eine Bouillonkultur war, nachdem sie 10 Tage im Brutschrank gestanden hatte, ausgestorben. *Actinomyces* sp. fand ich zum ersten Mal vor einigen Jahren bei der mykologischen Untersuchung der Tapeten eines feuchten Wohnzimmers. Ich habe den Pilz mehrmals aus der Flora feuchter Wohnungen isoliert, sowohl von Tapeten wie mit von Ölfarbe überzogenen Wänden, wo er zusammen mit anderen Mikroorganismen wuchs. Bei der Untersuchung von 13 Wohnungen in Stockholm mit feuchten, schimmeligen Wandbekleidungen habe ich nie die Anwesenheit von *Penicillium brevicaulis*, aber in vielen Fällen — doch immer in sehr geringer Menge im Verhältnis zu anderen, hier vegetierenden Pilzen — das Vorhandensein von *Actinomyces* sp. konstatieren können. Der Pilz scheint an den verschiedensten Orten vorzukommen. So habe ich ihn nicht nur in Wohnzimmern, sondern auch im Laboratoriumstaub und im Bodenschlamm von einer kleinen Bucht des Salzsees (Haga-Brunnsviken bei Stockholm) gefunden. Der Pilz wurde auch in kleinen Mengen in der von den Innenwänden des alten Reichstagsgebäudes zu Stockholm abgekratzten Ölfarbe angetroffen.

Aspergillus A und D machten die Hauptflora in der getrockneten Ölfarbe aus, die ich zwecks mykologischer Untersuchung von den Wänden einiger Zimmer im alten Reichstagsgebäude von Stockholm abkratzte. Die beiden Pilze sind von mir nicht näher studiert worden. Herr Dr. phil. R. Westling wird die Identifizierung und Beschreibung dieser sowie des folgenden Pilzes übernehmen.

Aspergillus T entwickelte sich auf der Oberfläche von Speichel, den ich, auf sterilen Kolben gefüllt, im Brutschrank bei 37° stehen ließ. Er ist ein verhältnismäßig schwacher Arsinbildner.

Aspergillus candidus und *clavatus* erhielt ich von Hrn. Dr. R. Westling. Der erstere zeigte sich bei dem ersten Versuch, den ich mit ihm anstellte, als ein äußerst schwacher Arsinbildner, nach dem Umpfen und Weiterführen auf arsenhaltigen Nährböden konnte ich aber konstatieren, daß er ähnlich wie *Aspergillus clavatus* ein ziemlich kräftiges Arsenverflüchtungsvermögen besitzt. *Aspergillus candidus* scheint, trotzdem er Arsinbildner ist, verhältnismäßig empfindlich gegen größere Mengen gelöster arseniger Säure zu sein. Durch einen Zusatz von 0.01^{mm} arseniger Säure zur Kultur des Pilzes wurde die Sporenbildung desselben sichtlich verlangsamt.

Oospora sp. (Levin) ist von Hrn. Dr. med. E. Levin bei der Untersuchung der Luft einiger Kinematographentheater Stockholms gefunden worden (38). Die Zugehörigkeit des Pilzes zu der Gattung *Oospora* ist nicht sichergestellt. In morphologischer Hinsicht ähnelt er auch teilweise *Penicillium brevicaulis*, obschon seine Farbe eine ganz andere ist als diejenige von *P. brevicaulis*. Der Pilz wächst nicht bei 37°, dagegen ausgezeichnet gut auf allen geprüften Nährböden bei Zimmertemperatur. Auf Laktoseagar bildet er einen kräftigen, mit der Zeit durch die reichliche Sporenbildung dunkel kakaobraunen Belag. Auf Kartoffel wächst der Pilz mit siennabrauner Farbe. Im Gelatinestich zeigt er kein Wachstum im Stichkanal, dagegen gutes Oberflächenwachstum, welches mit dem auf Agar ganz übereinstimmt. Die Gelatine wird verflüssigt und allmählich rotbraun gefärbt.

Penicillium brevicaulis. Zwei verschiedene Formen sind von mir untersucht worden. Die eine Form, *P. brevicaulis* α (Sammlung 34) ist von mir vor einigen Jahren aus ranziger Butter isoliert worden. Die Form β (Sammlung 82) ist der von Gosio bei seinen Versuchen benutzte Pilz. Die beiden Pilze unterscheiden sich teils durch das Aussehen und Farbe der Kulturen, teils dadurch, daß das Temperaturoptimum für die eine Form etwas niedriger liegt als für die andere. Bei der Form α ist die Kultur auf Agar gelber, etwas feuchter und durch reichlichere Luft-hyphenbildung charakterisiert. Bei 37° entwickelt sich diese Form über-

haupt nicht. Die Form β bildet auf Agar durch reichliche Sporenbildung mehr trockene, lehmgelbe, hier und da ins Braune gehende Beläge. Sie wächst sehr gut bei 37°. Die optimale Temperatur für die erstere Form scheint bei etwa 20 bis 25° zu liegen. Von Bainier (6) wird *P. brevicaula* zu einer neuen, von ihm aufgestellten Gattung, *Scopulariopsis*, gestellt. Der Pilz soll nach Bainier also *Scopulariopsis brevicaula* heißen. Bainier hat drei Arten dieser Gattung beschrieben, die teils morphologisch, teils durch die Farbe voneinander verschieden sind. Leider waren diese drei Pilze bei meiner Anfrage bei Hrn. Bainier ausgestorben.

Die Prüfung des arsinbildenden Vermögens der Pilze.

Bezüglich der Prüfung der hier erwähnten arsinbildenden Pilze auf ihr Vermögen, aus Arsenverbindungen und anderen Objekten das in ihnen vorhandene Arsen frei zu machen und zu verflüchtigen, ist folgendes zu erwähnen. Auf Erlenmeyerkolben von 200^{cem} Inhalt wurden für gewöhnlich 50^{gram} Kartoffelbrei gefüllt und dieser nach erfolgter Sterilisation mit dem betreffenden Pilz geimpft. Nachdem der Mikroorganismus sich auf dem Substrat reichlich entwickelt hatte, wurde das Untersuchungsobjekt in — je nach der Art des Objektes — gelöster oder ungelöster Form, mit möglichst kleinstem Quantum Wasser sterilisiert, zugefügt. Hierauf wurde mit einem sterilisierten Glasstab umgerührt, wobei jedoch darauf geachtet wurde, daß immer ein Teil der oberflächlich gelegenen Pilzkulturen intakt blieb. Mitunter konnte auch das arsenhaltige Material mit dem Kartoffelbrei zusammen sterilisiert werden; diese Detailanordnung des Versuches hatte den Vorteil, daß das Kulturgefäß nur einmal — für das Impfen — geöffnet werden brauchte. Dies war der Fall mit Tapeten, Stoffen und derartigen Objekten, von denen kleinere Stücke auf den Kartoffelbrei gelegt wurden. Der größere Teil der Oberfläche dieser Objekte konnte somit der zersetzenden Einwirkung der Pilzvegetation ausgesetzt werden. In mehreren Fällen hat es sich gezeigt, daß der Zusatz des Untersuchungsobjektes zum Kartoffelbrei vor dem Sterilisieren für das Wachstum der Pilze unvorteilhaft ist. Wahrscheinlich werden bei diesem Verfahren Stoffe aus den Untersuchungsobjekten extrahiert, die das Substrat den Pilzen weniger zusagend machen. Auf Kartoffelbrei, der mit Erdfarben, Zinkweiß, bronzehaltigen Tapeten und anderen Objekten vermischt sterilisiert wird, wachsen die Pilze für gewöhnlich sehr langsam bzw. schlecht. Sämtliche Kulturen, die ich für meine Versuche ansetzte, wurden bei Zimmertemperatur (17 bis 20°) gehalten. Fast jeden Tag wurde der Geruch der Kulturen geprüft, um mit Sicherheit konstatieren zu können, zu welcher Zeit die auf diese Weise wahrnehmbare Arsin-

bildung einsetzte. Neben den arsenhaltigen Kulturen hielt ich auch ständig arsenfreie Kartoffelkulturen von den Pilzen, um feinere Unterschiede und das Auftreten unbestimmter Gerüche zu kontrollieren. In dieser Weise gestaltet sich das Feststellen des Geruchs leichter und sicherer.

I. Chemisch reine Arsenverbindungen.

Metallisches Arsen. Eine Kultur von *Penicillium brevicaula* gab, mit metallischem Arsen versetzt, nach vier Tagen einen kräftigen Kakodylgeruch. Das Eintreten der Reaktion wird nicht verspätet, wenn das gepulverte Arsen vorher mit großen Mengen Wasser mehrmals ausgekocht wird, ein Zeichen dafür, daß es wahrscheinlich nicht etwa vorhandene sauerstoffhaltige Arsenverbindungen sind, welche die Reaktion einleiten, sondern daß der Pilz selbst imstande ist, das Metall in eine für die Arsinbildung passende lösliche Form überzuführen.

Arsenblei. Die Versuche wurden mit einem Material angestellt, welches 50 Prozent Arsen enthielt. Schon nach 2 Tagen konnte ein kräftiger Kakodylgeruch in einer mit diesem Objekt versetzten Kultur von *Actinomyces* sp. beobachtet werden.

Arsenzink. Das benutzte Arsenzink enthielt 10 Prozent Arsen. Die Untersuchung ergab dasselbe Resultat wie mit Arsenblei. Schon in 2 Tagen erzeugte *Actinomyces* sp. einen intensiven Kakodylgeruch.

Arseneisen. Das Arseneisen hatte einen Gehalt von 50 Prozent Arsen. In einer dreitägigen Kultur von *Actinomyces* sp. war ein deutlicher Kakodylgeruch wahrzunehmen. Nach 4 Tagen hatte der Geruch sich wesentlich gesteigert. In meinem Protokoll wird der Geruch zu dieser Zeit als intensiv bezeichnet.

Arsenkies.¹ Fein geriebener Arsenkies wurde mit Wasser zusammen sterilisiert und einer Kultur von *Actinomyces* sp. bzw. *Penicillium brevicaula* einverleibt. Der nach einiger Zeit in der Kultur auftretende, mehr oder weniger kräftige Kakodylgeruch zeugte davon, daß das Arsen auch in dieser Form den Pilzen zugänglich ist.

Arsendisulfid. Von den arsenbildenden Pilzen habe ich nur *Penicillium brevicaula* und *Actinomyces* sp. auf ihr Verhalten zum Arsendisulfid in der Form von Realgar geprüft. In allen Kulturen, die mit gepulvertem, mit Wasser abgekochtem oder nicht abgekochtem Material versetzt waren, wurde ein nach und nach immer kräftigerer Kakodylgeruch wahrgenommen.

Arsentrisulfid. Von dieser Verbindung habe ich teils das native Auripigment, teils das auf nassem Wege gefällte Arsentrisulfid untersucht.

¹ Aus Versehen ist dieses und einige andere Mineralien zu den chemisch reinen Verbindungen gestellt worden.

Beide Formen gaben vor und nach dem Auskochen mit Wasser mit *Penicillium brevicaule* und *Actinomyces* sp. Bildung von Diäthylarsin.

Arsenpentasulfid. Innerhalb 4 Tage erzeugten *Penicillium brevicaule* und *Actinomyces* sp. mit Arsenpentasulfid schwachen, aber doch deutlich wahrnehmbaren Kakodylgeruch. Die Arsinbildung geht hier offenbar verhältnismäßig langsam von statten.

Arsenhexaoxyd. Aus dem, was ich oben gesagt habe, geht hervor, daß sämtliche arsinbildenden Pilze mit der arsenigen Säure reagieren. Auch die native Säure, das Arsenolith, wird von den darauf hin geprüften Pilzen — *Actinomyces* sp. und *Penicillium brevicaule* — unter Bildung eines intensiven Kakodylgeruchs zersetzt. Da es nicht der Zweck der Untersuchung war, die Empfindlichkeit der biochemischen Reaktion zu prüfen, habe ich keine größere Anzahl dahinzielender Versuche angestellt. Immerhin kann ich doch einige Daten aus dem Untersuchungsprotokoll anführen, welche die von früheren Forschern konstatierte Empfindlichkeit der Methode bestätigen. Aus den von mir ausgeführten Versuchen findet man außerdem, mit welcher außerordentlichen Langsamkeit das Arsen aus den arsenhaltigen Substraten verflüchtigt wird, mit andern Worten, daß für die Erzeugung eines deutlich wahrnehmbaren Kakodylgeruchs verschwindend kleine Mengen Arsen notwendig sind. Eine mit 0.01 μm arseniger Säure versetzte Kultur von *Oospora* sp. (Levin), die am 4. II. 1913 angelegt wurde, riecht immer noch — am 20. X. 1913 — sehr kräftig nach Kakodyl. In einer Kultur von *Penicillium brevicaule*, die einen Zusatz von 0.001 μm arseniger Säure erhalten hatte, konnte Kakodylgeruch während 75 Tage deutlich wahrgenommen werden. Nach dieser Zeit wurde die Kultur fortgeworfen. Eine andere Kultur von *Penicillium brevicaule* wurde mit 0.00001 μm arseniger Säure versetzt. Als der Geruch nach 17 Stunden geprüft wurde, zeigte es sich, daß die Arsinbildung schon im Gange war. Noch 6 Tage später war der Kakodylgeruch sehr deutlich. Eine 0.000001 μm arseniger Säure enthaltende Kultur von *Aspergillus clavatus* erzeugte während 9 Tage deutlichen Kakodylgeruch. Dasselbe Ergebnis wurde mit einer Kultur von *Actinomyces clavatus* mit 0.00001 μm arseniger Säure erhalten. Die angeführten Resultate beweisen unzweideutig, daß die Verflüchtigung des Arsens mit einer fast unglaublichen Langsamkeit fortschreitet, mit andern Worten, wenn so kleine Mengen wie 0.000001 μm arseniger Säure genügen, um einen ohne Schwierigkeit wahrnehmbaren Kakodylgeruch während 9 Tage zu erzeugen, so muß daraus geschlossen werden, daß die Gewichtsmengen von dem betreffenden Gase, welche vom Geruchssinn noch deutlich erfaßt werden können, homöopathisch klein sind.

Arsenpentoxyd. Die Arsensäure wird von *Penicillium brevicaula* unter Erzeugung eines ebenso intensiven Kakodylgeruchs wie in Kulturen mit arsenigen Säuren zersetzt.

Salze der arsenigen Säure und Arsensäure. Bei der Prüfung von Kalium - Arsenit und -Arseniat mit *Actinomyces* sp.,

Natrium-	„	„	„	„	„	„	
Ammonium-	„	„	„	„	„	„	
Magnesium-Ammonium-Arseniat			„	„	„	„	
Silber-Arseniat			„	„	„	„	
Kalium-Arsenit und -Arseniat			„	„	„	„	} u. <i>Penicillium brevicaula</i>
Blei-	„	„	„	„	„	„	
Zink-	„	„	„	„	„	„	} <i>Penicillium brevicaula</i> , } <i>Aspergillus</i> A } u. <i>Aspergillus</i> D.
Kupfer-Arsenit und -Arseniat mit <i>Actinomyces</i> sp.,							
Eisen-	„	„	„	„	„	„	und <i>Penicillium brevicaula</i>
Mangan-Arseniat			„	„	„	„	
Kobalt-	„		„	„	„	„	
Nickel-	„		„	„	„	„	

konnte immer eine kräftige Arsinbildung konstatiert werden.¹ Sämtliche Kulturen hatten einen intensiven Kakodylgeruch. In einer mit Bleiarseniat versetzten Kultur von *Penicillium brevicaula* Form β trat nach längerer Zeit ein Wohlgeruch auf. Ob diese Geruchserzeugung durch die Bildung von Phenylarsinen oder anderen wohlriechenden Verbindungen bedingt war, wurde nicht näher untersucht. Von einer ähnlichen Beobachtung wird im folgenden bei der Beschreibung des Verhaltens der Teerfarbstoffe bei der biologischen Reaktion berichtet werden.

II. Farbstoffe und andere arsenhaltige Objekte.

Schweinfurtergrün. 0.001 ^gmm Schweinfurtergrün verursachten in einer Kultur von *Actinomyces* sp. einen schwachen Kakodylgeruch nach einer Woche. Durch den Zusatz von größeren Mengen Schweinfurtergrün zu Kulturen von *Actinomyces* sp. und *Penicillium brevicaula* wird der Kakodylgeruch außerordentlich verstärkt.

Zinkweiß. Die Ergebnisse der Versuche über die Einwirkung der Pilze auf arsenhaltiges Zinkweiß wurden selbstverständlich von mir mit besonderem Interesse verfolgt. Ist doch mit arsenhaltigem Zinkweiß be-

¹ Die meisten dieser Verbindungen wurden auch von Maggiõra (40) mit positivem Ergebnis geprüft. Erst nachdem die vorliegende Untersuchung abgeschlossen worden war, habe ich die Originalarbeit von M. gelesen.

reitete Ölfarbe, wie ich eingangs erwähnt habe, als der Urheber der in Schweden in den letzten Jahren angeblich konstatierten Arsenvergiftungen angesehen worden. Versuche, die hierüber von Barthel und Klason (34) gemacht wurden, führten zu folgendem Resultat. Zwei Kulturen von *Penicillium brevicaula* wurden mit arsenhaltigem Zinkweiß versetzt. In der einen Kultur glaubten Barthel und Klason einen äußerst schwachen Kakodylgeruch wahrnehmen zu können, während in der zweiten keine Spur von diesem Geruch zu finden war. Klason sagt auf Grund dieser Versuchsergebnisse: „Man kann aus dem Gesagten finden, daß das Arsen im Zinkarseniat für die Arsenpilze wenig oder gar nicht zugänglich ist. Schon 0.000001 μ rm Arsen in der Form von arseniger Säure veranlassen einen sehr deutlichen und anhaltenden Kakodylgeruch. Es ist somit deutlich, daß die Zugänglichkeit des Arsens im Zinkarseniat für die Arsenpilze im direkten Verhältnis zu der Löslichkeit des Zinkarseniats steht, und diese letztere ist äußerst gering“.

Bei meinen Versuchen benutzte ich ein Zinkweiß, das 0.813 μ g Arsen pro Gramm enthielt. Eine größere Anzahl Kulturen von *Penicillium brevicaula* α und β , *Actinomyces* sp., *Aspergillus* A und *Aspergillus* D wurden mit 2 bis 5 μ rm Zinkweiß versetzt und längere Zeit bei Zimmertemperatur belassen. Von allen diesen Kulturen zeigte nur eine einzige durch ihren Geruch an, daß das Arsen aus dem Zinkweiß durch Pilze verflüchtigt werden kann. Dies war der Fall mit einer etwa 3 Monate alten Kultur von *Actinomyces* sp., die 5 μ rm Zinkweiß enthielt. Die Kultur besaß einen äußerst schwachen, gewisse Tage nur mit Schwierigkeit wahrnehmbaren oder auch gar keinen Kakodylgeruch, trotzdem das zugesetzte Zinkweiß einen Gehalt von etwa 0.004 μ rm Arsen hatte. Ein bedeutender Unterschied macht sich also geltend in dem Verhalten der Pilze gegenüber dem in Zinkweiß und dem in wasserlöslichen Verbindungen — z. B. arseniger Säure — gebundenen Arsen. Eine Kultur von irgend einem der Arsenpilze, die 0.004 μ rm Arsen in wasserlöslicher Form enthält, riecht schon innerhalb einiger Stunden intensiv nach Knoblauch. Außerdem hat es sich, wie ich oben anführte, gezeigt, daß größere Mengen (0.2 μ rm) von dem fast wasserunlöslichen Zinkarseniat — die Form, von der man für gewöhnlich annimmt, daß in ihr das Arsen in Zinkweiß vorkommt — einen intensiven Kakodylgeruch schon 3 Tage nach dem Ansetzen der Kultur (*Actinomyces* sp.) erzeugen. Auch wenn diesen 0.2 μ rm Zinkarseniat enthaltenden Kulturen gleichzeitig 5 μ rm Zinkweiß zugefügt werden, entsteht ein intensiver Kakodylgeruch. Es war deshalb von größtem Interesse zu prüfen, ob man einen schwachen oder starken Kakodylgeruch in den Pilzkulturen erhalte, wenn zu diesen ein gleich großes Quantum von dem reinen Zinkarseniat gesetzt wurde, wie nach

der Berechnung in 5 ^{grm} arsenhaltigem Zinkweiß vorhanden war. Außerdem wäre es von Wichtigkeit zu prüfen, ob in einer solchen Kultur, die diesen verhältnismäßig kleinen Zusatz von Zinkarseniat erhielt, die Anwesenheit größerer Mengen Zinkweiß den Kakodylgeruch merklich verringere. Wenn das nicht der Fall wäre und wenn man mit 0.015 ^{grm} reinem Zinkarseniat einen kräftigeren Kakodylgeruch erzeugen könnte als mit 5 ^{grm} Zinkweiß, welches dieselbe Menge Arsen enthielt, dann wäre das vielleicht ein Beweis dafür, daß das Arsen im Zinkweiß nicht als Zinkarseniat, sondern in einer anderen Form vorliege. Zu diesem Zwecke wurden vier Kartoffelbreikulturen angesetzt, zwei mit *Actinomyces* sp. und zwei mit *Penicillium brevicaulis*. Zwei von diesen bekamen einen Zusatz von 0.015 ^{grm} reinem Zinkarseniat (= 0.004 ^{grm} As), die zwei anderen einen Zusatz von 0.015 ^{grm} Zinkarseniat mit 5 ^{grm} arsenfreiem Zinkweiß vermischt. In allen vier Kulturen trat schon nach 2 bis 3 Tagen ein kräftiger Kakodylgeruch auf. Der Geruch war in den mit Zinkweiß versetzten Kulturen nicht schwächer als in den anderen. Sämtliche Kulturen hatten einen viel intensiveren Kakodylgeruch als die oben erwähnte Kultur von *Actinomyces* sp., die mit 5 ^{grm} arsenhaltigem Zinkweiß versetzt war. Diese Ergebnisse sprechen nach meiner Ansicht dafür, daß das Arsen in arsenhaltigem Zinkweiß nicht als Zinkarseniat vorhanden ist, sondern in einer anderen Bindung, vielleicht als basisches Zinkarseniat, vorliegt. Aus dem Vorstehenden geht hervor, daß meine Versuche mit arsenhaltigem Zinkweiß ganz dieselben Resultate gegeben haben, wie die Untersuchungen von Barthel und Klason sowie diejenigen von Henrijean (27).

Ockerfarben. Folgende Ockerfarben wurden von mir biologisch untersucht:

Braunocker, enthaltend	0.786 ^{grm} As pro Gramm	[5.0 ^{grm}],
Mahagoniocker (gebrannt), enthaltend	4.415 „ As „ „	[0.25 „],
Ocre brune	1.180 „ As „ „	[2.0 „],
Rouge ocre	0.270 „ As „ „	[1.5 „].

Die in Klammern gesetzten Zahlen geben die bei der biochemischen Prüfung von der Farbe benutzten Gewichtsmengen an. Von diesen vier Proben gab nur der Mahagoniocker mit *Actinomyces* sp. einen sehr kräftigen Kakodylgeruch. Die anderen, welche mit *Penicillium brevicaulis* bzw. *Actinomyces* sp. geprüft wurden, gaben keinen wahrnehmbaren Geruch. Den Grund zu dem Ausfall der Reaktion bei diesen Ockerfarben habe ich nicht näher untersucht. Aus den Versuchen geht aber hervor, daß das in den Ockerfarben vorkommende Arsen den Arsenpilzen nicht ganz unzugänglich ist. Meine Resultate stehen also nicht ganz im

Einklang mit der von Klason (32) im Jahre 1901 ausgesprochenen Meinung betreffend das Verhalten der Arsenpilze zu Ockerfarben. „Wenn Pilze das Arsen werden freimachen können“, sagt Klason, „muß dasselbe in löslicher Form vorliegen; in den Ockerfarben findet sich das Eisenoxyd zusammen mit dem Arsen; aber bekanntlich ist das Eisenoxydhydrat ein Gegengift gegen Arsen, weil es damit unlösliche Verbindungen bildet.“ „Die von Gosio ausgeführten Experimente hat man dahin gedeutet“, sagt Klason bei einer anderen Gelegenheit in einer interessanten P. M. (33), „daß das Arsen in jeder Form von den Pilzen in flüchtige Form übergeführt werden könne. Die Mitteilungen von den Versuchen Gosios, die mir zugänglich gewesen sind, scheinen doch keine Stütze dafür zu geben, und a priori ist das auch nicht wahrscheinlich. Es ist z. B. bekannt, daß, obschon die Luft 90 Prozent N enthält, so können die höheren Pflanzen sich denselben doch nicht zunutze machen, ähnlich wie sie nicht imstande sind, die Phosphorsäure im Apatit zu verwerten. Ob es sich nicht in derselben Weise mit den Arsenpilzen verhält, daß sie das Arsen in einigen Verbindungen in Gasform überführen können, das in anderen Verbindungen vorkommende Arsen dagegen nicht oder nur mit größter Schwierigkeit angreifen? Die gewöhnlichste Grundfarbe in fast allen Tapeten ist Eisenocker, welche, direkt oder indirekt von arsenhaltigem Schwefelkies stammend, fast immer arsenhaltig ist und das Arsen wenigstens der Hauptsache nach in der Form von arsensaurem Eisenoxyd enthält. Wie gesagt, habe ich auch in der Literatur keine Versuche referiert gefunden, die geeignet sind, zu zeigen, daß die Arsenpilze das Arsen der Ockerfarben in Gasform überführen können.“

Wie ich oben erwähnt habe, erhielten auch Abel und Buttenberg Arsinbildung, wenn sie den Mageninhalt von Meerschweinchen, die arsenige Säure und Antidotum arsenici erhalten hatten, nach der biologischen Methode prüften.

Terrafarben. Eine Probe gebrannter Terra, die 0.747 mg Arsen pro Gramm enthielt, gab in einer Menge von 5 cm^3 keinen Kakodylgeruch mit *Penicillium brevicaulis* bzw. *Actinomyces* sp., trotzdem die Beobachtungszeit auf 7 Monate ausgedehnt wurde. Vier andere Proben mit einem Gehalt von 0.51, 0.675, 4.25 bzw. 47.0 mg Arsen pro Gramm gaben, in einer Menge von 0.3, 1.2, 2.0 bzw. 0.3 cm^3 Kulturen von *Penicillium brevicaulis* bzw. *Actinomyces* sp. zugesetzt, einen mehr oder weniger kräftigen Kakodylgeruch. Eine Terra de Sienne brûlée genannte, auf Zinntuben gefüllte Ölfarbe (zu dekorativen Malereien für Panoramen, Wandgemälde, Salons und feinere technische Arbeiten), welche auf 1 cm^3 5.672 mg Arsen enthielt, gab sowohl mit *Penicillium brevicaulis* wie mit *Actinomyces* sp. einen intensiven Kakodylgeruch. Die

bei diesen Versuchen den Kulturen zugesetzte Farbe hatte ein Gewicht von 2.5 g^{m} . Eine andere Ölfarbe, van Dyk braun genannt und wie die vorhergehende auf Zinntuben gefüllt, kann vielleicht auch hier erwähnt werden. Die Farbe enthielt 2.551 mg Arsen pro Gramm und verursachte in Kulturen von *Penicillium brevicaula* und *Actinomyces* sp. eine kräftige Arsinbildung. Beide Ölfarben gaben auch nach der Extraktion derselben mit Chloroform kräftigen Kakodylgeruch mit den obengenannten Pilzen.

Englisches Rot. In sämtlichen daraufhin geprüften Proben von Englischem Rot zeigte sich das Arsen den Arsenpilzen zugänglich. Drei Proben mit einem Arsengehalt von 0.365, 0.912 und 0.950 mg pro Gramm gaben in einer Menge von 0.6, 2.0 bzw. 2.0 g^{m} in Kulturen von *Actinomyces* sp. und *Penicillium brevicaula* starken Kakodylgeruch. Durch einen leicht ausgeführten Versuch konnte ich mich davon überzeugen, daß die eine der drei untersuchten Proben scheinbar eine verhältnismäßig leicht lösliche und deshalb für die Pilze leicht zugängliche Arsenverbindung enthielt. 5 g^{m} von demjenigen Englischen Rot, das einen Gehalt von 0.950 mg Arsen pro Gramm hatte, wurde 5 mal mit 300 cm^3 Wasser, jedesmal $\frac{1}{2}$ Stunde, ausgekocht. Darauf wurde die Farbe mit sterilem Kartoffelbrei gemischt und mit *Actinomyces* sp. geimpft. Erst nach 26 Tagen konnte ein schwacher Kakodylgeruch in dieser Kultur wahrgenommen werden, ein Geruch, der auch später nicht an Stärke zunahm. Bei der Verwendung nicht ausgekochten Materials trat ein intensiver Kakodylgeruch schon nach 7 Tagen auf.

Aquarell- und Pastellfarben. Neun verschiedene Farben mit einem Arsengehalt von 0.09 bis 1.10 mg pro Gramm wurden mit *Penicillium brevicaula* und *Actinomyces* sp. geprüft. In keinem Falle konnte aber Kakodylgeruch beobachtet werden.

Teerfarbstoffe. Von Teerfarbstoffen habe ich 29 Proben untersucht. Von diesen waren die folgenden als im „technischen Sinne frei von Arsen“ bezeichnet:

Ponceau	3 R stark
Neu-Coccin	O B L
Säuregelb	K O N D
Naphtol-Orange	stark
Bordeaux	S stark.

Die folgenden waren als „Handelsware“ bezeichnet und enthielten nach der Mitteilung der Fabrik „höchstens praktisch nicht zu vermeidende Spuren“ von Arsen:

Ponceau	3 R
Neu-Coccin	
Säuregelb	G
Naphtol-Orange	
Bordeaux	S.

Die folgenden sieben Farbstoffe waren als „arsenfrei“ bezeichnet und enthielten das Arsen „höchstens in minimalen Spuren, wie sie bei den in der Technik üblichen Herstellungsmethoden nicht immer zu vermeiden sind“:

Neufuchsin extra	arsenfrei
Konz. Baumwollblau 2 N	„
Rosanilin Krist. B neu	„
Blau Nr. 2 Type-Base	„
Methylviolett B B Z	„
Säuregrün konz. V N	„
Naphtolgelb S L Z	„

Bei den übrigen 12 Teerfarbstoffen war der Arsengehalt quantitativ bestimmt und wechselte zwischen 0.09 und 53.0^{mg} pro Gramm. Von den 17 erstgenannten Proben wurden für jeden Versuch 5^{g^{mm}} benutzt, von den 12 letzten Farben im Maximum 2^{g^{mm}}, für gewöhnlich nur 0.5^{g^{mm}}. Die Versuche wurden immer mit *Penicillium brevicaula*, bzw. *Actinomyces* sp. ausgeführt. Nur in zwei von sämtlichen Proben konnte Arsen auf biologischem Wege mit Sicherheit nachgewiesen werden. Diese zwei Proben bestanden beide aus Anilinviolett mit einem Gehalt von in dem einen Falle 40.0^{mg} Arsen, in dem anderen 53.0^{mg} Arsen pro Gramm. Die erste Probe gab in einer Menge von 2^{g^{mm}} mit *Penicillium brevicaula* einen intensiven Kakodylgeruch. 0.4^{g^{mm}} von der letzteren Farbe erzeugten nach kurzer Zeit in einer Kultur von *Actinomyces* sp. ebenso einen sehr starken Kakodylgeruch. In einer Kultur von *Actinomyces* sp., der 0.5^{g^{mm}} von einem Dianilblau genannten und 0.17^{mg} Arsen pro Gramm enthaltenden Farbstoff zugesetzt war, glaubte ich einen schwachen Kakodylgeruch wahrnehmen zu können; da aber der Geruch in diesem Fall teils sehr schwach war, teils wahrscheinlich durch andere Gerüche verdeckt wurde, lasse ich offen, ob hier Arsine gebildet wurden oder nicht.

Mehrere von den untersuchten Teerfarben verursachten in den Pilzkulturen einen Wohlgeruch, wahrscheinlich ein Stoffwechselprodukt der Pilze. Es liegt sehr nahe, anzunehmen, daß diese Wohlgerüche unter Umständen einen etwa vorhandenen, schwachen Kakodylgeruch verdecken

können; wenn das der Fall ist, so ist es ein Beweis dafür, daß die biologische Methode nicht bei jeder Gelegenheit zum Nachweis von Arsen geeignet ist. Die Möglichkeit liegt auch vor, daß die Wohlgerüche in den betreffenden Kulturen auf die Bildung von Phenylarsinen oder anderen aromatischen Arsinen zurückzuführen sind. Die Phenylarsine besitzen nämlich, wie Palmer und Dehn (43) erwähnen, im Gegensatz zu den widerwärtig riechenden Alkylarsinen einen sehr angenehmen, an Hyazinthen erinnernden Geruch. Gosio (22) hat auch vor einigen Jahren darauf hingewiesen, daß gewisse Schimmelpilze die Eigenschaft besitzen, phenolartige Verbindungen zu erzeugen.

Tapetenfarben. Von Tapetenfarben habe ich neun Proben untersucht. Sie waren nach der Angabe der Fabrik, von welcher ich sie erhalten hatte, „dem deutschen Nahrungsmittelgesetz gemäß als arsenfrei zu betrachten“. Die Farben tragen die folgenden Bezeichnungen:

Graphitol Echtgelb	6 G
Grela Rot	R
Echtsäuregrün	6 B
Direktgelb	G
Graphitolrot	6 B
Tuchrot	B 0
Tuchgelb	G N
Orange	P 00
Orange	L R.

Durch die biologische Probe konnte in keinem Falle etwa in den Farben vorhandenes Arsen nachgewiesen werden. Bei der Prüfung kamen sowohl *Penicillium brevicaulis* wie *Actinomyces* sp. zur Anwendung.

Tapeten. 17 Tapetenproben mit einem Gehalt von 0.06 bis 0.23 mg Arsen pro 200 gcm wurden biochemisch untersucht. Zwei von diesen Proben, von welchen im allgemeinen nur 50 gcm zur Untersuchung gelangten, gaben schwachen aber deutlichen Kakodylgeruch mit *Penicillium brevicaulis*. Die eine (rot und braun gefärbt) dieser Proben enthielt 0.12 mg, die andere (braun) 0.125 mg Arsen pro 200 gcm. Für gewöhnlich war die Entwicklung der Pilze auf dem mit dem Kartoffelbrei zusammen sterilisierten Tapetenstückchen sehr kräftig. Hier und da konnte man aber die Beobachtung machen, daß gewisse Stoffe oder Farben der Tapeten wachstumshemmend auf die Pilze wirkten. Dieses Verhalten war ganz besonders in denjenigen Kulturen zu sehen, die Stücke von mit Bronze-farben gedruckten Tapeten enthielten. In meinem Versuchsprotokoll ist überall bei solchen Kulturen die Notiz „schlechtes Wachstum“ verzeichnet.

Glanzpapier. Sieben arsenhaltige Proben wurden untersucht. Der Arsengehalt dieser Papiere lag zwischen 0.08 und 14.9 mg pro 200 gcm. Bei vier von diesen Proben konnte Kakodylgeruch in den mit ihnen versetzten Kulturen konstatiert werden. Von einer Probe, die 0.095 mg Arsen per 200 gcm enthielt, kamen 50 gcm zur biologischen Prüfung, von den drei anderen Proben, deren Gehalt 1.84, 10.2, bzw. 14.9 mg pro 200 gcm betrug, wurden 100 gcm für jeden Versuch genommen. Die drei letzten Papiere, die ich von Herrn Professor C. Neufeld in Würzburg erhalten hatte, sind von ihm chemisch untersucht worden (42). *Actinomyces* sp. erzeugte bei ihrer Vegetation auf diesen Papieren einen intensiven Kakodylgeruch, welcher noch nach sechs Monaten dieselbe Stärke besitzt.

Staub. Drei Proben Staub von Kachelöfen, 0.22, 0.40, bzw. 0.5 mg Arsen pro 5 g^{rm} enthaltend, wurden der biologischen Prüfung mit *Penicillium brevicaula* und *Actinomyces* sp. unterworfen. Von diesen gab 1 g^{rm} von der letztgenannten Probe in einer Kultur von *Actinomyces* sp. einen schwachen, aber deutlichen Kakodylgeruch, die anderen Proben verhielten sich negativ.

Wolle. Folgende Wollen kamen zur Untersuchung:

- | | | |
|---|-----------------------------------|--------------------|
| 1. New Zealand gsy 1/2 bred, combing. | Arsengehalt pro 5 g ^{rm} | = 3.05 bis 3.27 mg |
| 2. — — gsy, combing | „ „ 5 „ | = 2.19 „ 2.27 „ |
| 3. West-Australian gsy, combing | „ „ 5 „ | = 0.47 „ 0.58 „ |
| 4. Adelaide gsy lambs | „ „ 5 „ | = 0.69 „ 2.02 „ |
| 5. Cape Natal super combing gsy | „ „ 5 „ | = 0.70 „ 1.08 „ |
| 6. — Western gsy lambs | „ „ 5 „ | = 0.70 „ 0.74 „ |
| 7. Yew Wolle | „ „ 5 „ | = 0.45 „ 0.89 „ |
| 8. — — | „ „ 5 „ | = 0.70 „ 2.39 „ |

Gsy = greasy = ungewaschen.

Die zwei letzten Proben sind Mazamet-Wolle (Tarn-Wolle) von gestorbenen Schafen. Die Ursache zu dem wechselnden Arsengehalt in ein und derselben Wollprobe liegt in dem Umstande, daß das Arsen in der Wolle sehr ungleichmäßig verteilt ist [vgl. (55), S. 62].

Von den untersuchten Proben gaben vier (Nr. 1, 2, 4 und 6) einen deutlichen Kakodylgeruch in Kulturen von *Actinomyces* sp. und *Penicillium brevicaula*. Warum die anderen Wollen, welche auch bedeutende Arsenmengen enthielten, negatives Resultat lieferten, ist schwer zu sagen. Ob die Ursache zu dem negativen Ausfall darin zu suchen ist, daß das Arsen in diesen Proben fester gebunden war als in denjenigen,

die ein positives Ergebnis gaben, lasse ich dahingestellt sein. Abenius (3) hat ja nachgewiesen, daß das Arsen in der Wolle so fest gebunden wird, daß es nur sehr unvollständig auswaschbar ist. Abenius meint, daß das Arsen chemisch gebunden sei. Viele Versuche, die von Abenius angestellt wurden, um mit Natriumkarbonat, Natronlauge, Ammoniak, Schwefelammonium das Arsen aus der Wolle auszuwaschen, fielen negativ aus. Klason (33) macht jedoch darauf aufmerksam, daß schon Hamberg (N. P., Farm. Tidskr. 1865) konstatiert hat, daß man „den Arsengehalt durch sorgfältiges Auswaschen entfernen kann.“ Klason ist der Meinung, daß das Arsen in der Wolle nicht chemisch gebunden sei, teils weil die physikalischen Eigenschaften der arsenigen Säure dem widersprechen, teils weil es in der Tat möglich ist, durch gründliches Auswaschen die Wolle von dem Arsengehalt zu befreien. Nur ist die in der Wolle zurückbleibende Arsenmenge von der Zeit, die zum Auswaschen benutzt wurde, abhängig.

Seidenstoffe. Von fünf arsenhaltigen Seidenproben gab eine, die 0.285 mg Arsen pro 100 gcm enthielt, schwachen, aber deutlich wahrnehmbaren Kakodylgeruch. In den Versuchen wurden 30 bis 40 gcm von den Stoffen benutzt.

Wollgarn. Folgende Proben wurden geprüft:

1. Zefirwolle (rot)	Arsengehalt pro 5 g ^{cm} = 0.215 mg
2. — (hellrot)	„ „ 5 „ = 0.345 „
3. Strickwolle (rotbraun). . .	„ „ 5 „ = 0.115 „
4. — (weiß)	„ „ 5 „ = 0.190 „
5. — (blaugrau)	„ „ 5 „ = 0.170 „

Von diesen Wollgarnen gab 0.5 g^{cm} von der weißen Strickwolle deutlichen Kakodylgeruch in einer Kultur von *Penicillium brevicaulis*. Die übrigen Proben verhielten sich negativ.

Außer den oben behandelten Objekten wurden Teppiche (5 Proben), Kleiderstoffe für Herren (3 Proben), Baumwollgarn (1 Probe) und Seide (3 Proben) geprüft. Der Arsengehalt dieser Waren wechselte zwischen 0.03 und 0.41 mg pro 100 gcm für die Stoffe und pro 5 g^{cm} für die übrigen Objekte. Bei sämtlichen Versuchen wurden negative Resultate erhalten.

Aus den vorstehend mitgeteilten Untersuchungen dürfte man berechtigt sein, die Schlußfolgerung zu ziehen, daß die Arsenpilze imstande sind, unter für sie günstigen Verhältnissen flüchtige Arsenverbindungen aus den meisten, vielleicht aus allen arsenhaltigen Objekten zu bilden.

Aus den Versuchen scheint aber auch hervorzugehen, daß die Anwesenheit von größeren Arsenmengen notwendig ist, um wahrnehmbaren Kakodylgeruch hervorzurufen, wenn das Arsen in einer für die Mikroorganismen schwer angreifbaren Form vorliegt. Wenn die Arsenverbindung zu den wasserlöslichen gehört, genügen sehr kleine Mengen von derselben für die Erzeugung von deutlichem Knoblauchgeruch. Die arsenige Säure und die übrigen wasserlöslichen Verbindungen geben schon in so kleinen Quantitäten wie 0.001 mg einen kurze Zeit nach der Anlage der Kultur auftretenden, kräftigen Kakodylgeruch. Die Schwefelverbindungen scheinen etwas unzugänglicher zu sein und von Schweinfurtergrün sind $0.001 \text{ g}^{\text{cm}}$ notwendig, um eine deutliche Reaktion zu bekommen. In gleicher Weise verhielt es sich mit dem in Ockerfarben, in gebrannter Terra, im Englischen Rot und in vielen anderen Objekten vorkommenden Arsen. Wenn z. B. Englisch Rot durch Kochen mit großen Wassermengen extrahiert wird, erhält man, wie ich schon oben erwähnte, eine Farbe, aus der Arsine nur äußerst langsam gebildet werden. Der Grad der Wasserlöslichkeit der Arsenverbindung diktiert scheinbar zum Teil die Intensität der Arsinbildung. Die chemische Konstitution der Arsenverbindungen, sowie die Aktivität der Pilze sind aber auch von großer Bedeutung. Die Aktivität der Pilze ist sehr verschieden. Von den von mir geprüften Pilzen haben *Penicillium brevicaula* und *Actinomyces* sp. sich am aktivsten gezeigt. Dagegen können die aus der Ölfarbe des alten Reichstagsgebäudes zu Stockholm isolierten Pilze, *Aspergillus A* und *Aspergillus D*, nach allem zu urteilen zu den schwachen Arsinbildnern gezählt werden. Diese beiden Pilze scheinen doch merkwürdigerweise die schwerlöslichen Verbindungen Zinkarsenit und Zinkarseniat — dem Kakodylgeruch nach zu urteilen — fast mit derselben Intensität wie die arsenige Säure zuzusetzen. Man ersieht hieraus, daß ein Teil der Pilze mit derselben Begierigkeit die wasserunlöslichen bzw. schwerlöslichen, wie die wasserlöslichen Verbindungen angreift. In der schwedischen Gesetzgebung wird, wie bekannt sein dürfte, kein Unterschied zwischen wasserlöslichem und wasserunlöslichem Arsen gemacht. Nach den schwedischen Gesetzen ist ein bestimmter Maximalgehalt von Arsen in gewissen Gebrauchsgegenständen wie Tapeten und anderen Wandüberzügen, Kleiderstoffen, Spielzeug u. dergl. gestattet, ungeachtet ob dasselbe in wasserlöslicher Form vorliegt oder nicht. Ob mit Recht oder Unrecht dürfte bei dem jetzigen Stand der Arsenfrage recht schwer zu beurteilen sein. Soweit man aus den Ergebnissen der von mir angestellten Versuche schließen kann, dürfte es wohl richtiger sein, in gesetzlicher Hinsicht einen gewissen Unterschied zwischen den beiden Formen zu machen. In einigen Fällen sieht es allerdings aus, als ob die Ursache zum Entstehen einer kräftigen Arsinbildung auch

in Kulturen mit solchen Objekten, in denen das Arsen in unlöslicher bzw. schwerlöslicher Form vorliegt, darin zu suchen wäre, daß diese Objekte neben der schwerlöslichen Verbindung sehr kleine Mengen wasserlösliches Arsen enthielten. Das Resultat meiner mit Englischem Rot angestellten Versuche deutet darauf hin. Aus diesen Versuchen geht aber hervor, daß die Pilze — wenn auch viel langsamer — auch das im Wasser un- bzw. schwerlösliche Arsen anzugreifen vermögen. Als Hilfsfaktoren bei der Überführung des Arsens in eine für die Pilze leichter angreifbare Form treten sicherlich unter natürlichen Verhältnissen in vielen Fällen die von diesen und anderen Mikroorganismen bei dem Stoffwechsel gebildeten sauren und alkalischen Produkte auf. Nach Stoll (52) und Gosio (21) bildet *Penicillium brevicaulis* in seinen Kulturen Ammoniak; auch bei *Actinomyces* sp. habe ich die Bildung von Ammoniak konstatieren können. Das Ammoniak verwandelt die Sulfide des Arsens in wasserlösliche Verbindungen, welche die Pilze leicht in Arsine überführen. Andererseits kann erwähnt werden, daß *Mucor mucedo*, welcher nach Gosio (21) mit arseniger Säure Arsine bildet, nach demselben Autor nicht die Arsensulfide zu zersetzen vermag, weil der Pilz kein Ammoniakbildner ist. Unter natürlichen Verhältnissen würden vielleicht Bakterien oder andere Mikroorganismen helfend auftreten, indem diese das Sulfid in eine Form verwandeln würden, die von *Mucor* ohne Schwierigkeit in Arsine übergeführt werden könnte. Weiter erlaube ich mir, daran zu erinnern, wie eben durch die Veränderungen, welche das Substrat durch die von verschiedenen Mikroorganismen erzeugten Stoffwechselprodukte erfährt, der eine Mikroorganismus den Nährboden für die Entwicklung des anderen vorbereitet und für ihn zugänglicher macht. Ich glaube deshalb, daß auch, wenn die von mir angestellten Untersuchungen in recht vielen Fällen ein negatives Resultat ergeben haben, man darum nicht berechtigt sein dürfte, die Schlußfolgerung zu ziehen, daß die Arsenverbindung in diesen Objekten unter allen Verhältnissen absolut unzugänglich für die zersetzende Einwirkung der Pilze ist. Die natürlichen Verhältnisse in allen Details nachzuahmen gelingt hier ebensowenig wie bei anderen Laboratoriumsversuchen.

Aus dem, was ich vorstehend geäußert habe, geht hervor, daß ich die Möglichkeit nicht für ausgeschlossen halte, daß die Arsenpilze allein oder in gemeinsamer Arbeit mit anderen Mikroorganismen das Vermögen besitzen, das Arsen aus jedem arsenhaltigen Objekt zu verflüchtigen, wenn die Verhältnisse dafür günstig sind. Auf Grund dessen ist meine Ansicht die, daß alle solche arsenhaltige Handelswaren, welche eventuell der Gegenstand der Einwirkung von Schimmelpilzen werden können, in gesetzlicher Hinsicht gleichgestellt sein sollen, bis es der Wissenschaft gelungen ist.

durch eingehende und bestätigte Untersuchungen nachzuweisen, daß Ausnahmen von der als möglich angenommenen Regel vorhanden sind. Ich möchte aber besonders betonen, daß die Verflüchtigung des Arsens auf biologischem Wege abnimmt bzw. ganz aufhört, sobald die Wasserzufuhr (Feuchtigkeit) vermindert wird. Durch das Entfernen des Wassers wird die Entwicklung der Pilze unmöglich gemacht; gleichzeitig hört natürlich auch jeder mit den Lebensfunktionen derselben verbundene Stoffwechsel auf. Um Schimmelbildung an feuchten Wänden und eventuell damit verknüpfte Arsinbildung zu verhindern, kann man — ähnlich wie es z. B. bei der Holzkonservierung geschieht — verschiedene Mittel, die entwicklungs-hemmend wirken, benutzen. Die Pilzentwicklung wird auch durch das Anbringen luftdichter Überzüge verhindert und zu solchen Überzügen darf man mit Sicherheit Ölfarben mit hohem Leinölgehalt rechnen. So hat Gosio (18) nachgewiesen, daß *Mucor mucedo* nicht ohne Sauerstoff auskommen konnte. Durch Versuche, die ich ausführte, kann ich diese Angabe bestätigen. Unter anaeroben Verhältnissen wurden von mir eine Anzahl von Pilzen (*Actinomyces* sp., *Penicillium brevicaulis*, *Aspergillus* T., *Asp. clavatus*, *Asp. candidus*, *Asp. repens*, *Mucor mucedo*, *Rhizopus niger*, *Merulius lacrymans*, *Lenzites thermophila*, *Coniophora cerebella* und *Polyporus vaporarius*) teils auf Brotbrei, teils auf Malzextraktagar gehalten. Bei sämtlichen Versuchen wurde mit kräftigen, frischen Kulturen geimpft. In keinem einzigen Fall konnte Wachstum beobachtet werden. Die Beobachtungszeit war für die fünf ersten 15 Tage, für die übrigen 20 Tage. Als die erstgenannten Kulturen 5 Tage aerob gezüchtet wurden, entwickelte sich eine kräftige Vegetation mit reichlicher Sporenbildung. Das gleiche war nach 9 Tagen der Fall mit der zweiten Gruppe, mit Ausnahme von *Merulius*, *Coniophora* und *Polyporus*, die alle durch die Anaerobiose getötet worden waren. (Das Resultat dieser Versuche ist speziell betreffend *Lenzites* von einem gewissen Interesse. Von den vier von mir geprüften holzzerstörenden Pilzen gehört *Lenzites* bekanntlich zu den durch kubisches Wachstum charakteristischen Pilzen, welche hauptsächlich im Inneren des Holzes wachsen, also auf eine geringe Sauerstoffkonzentration der Atmosphäre eingestellt sind. Nur die *Lenzites* hat auch die Anaerobiose längere Zeit ausgehalten, während die drei anderen Pilze, die eine höhere Sauerstoffkonzentration für ihr Wachstum beanspruchen, in derselben Zeit zugrunde gegangen sind.)

Wenn wir jetzt die Annahme machen, daß alle arsenhaltigen Objekte ohne Ausnahme unter den oben erwähnten Verhältnissen eine Quelle zur Bildung flüchtiger Arsenverbindungen sein können, so folgt daraus — unter der Voraussetzung, daß die auf biologischem Wege gebildeten Gase

wirklich so giftige Eigenschaften besitzen, wie man ihnen zuschreibt — daß man das Recht hat zu verlangen, entweder daß derartige Waren absolut arsenfrei in den Handel kommen sollen, oder auch, daß der Arsengehalt derselben ein gewisses Maß nicht übersteigen darf. Was die Giftigkeit der Arsine angeht, muß man sagen, daß dieselbe, nach der Literatur zu urteilen, nur wenig studiert worden ist. Sowohl die primären wie die sekundären Arsine werden laut Holleman (29) sofort in der Luft zu Kakodylverbindungen oxydiert. Nach demselben Autor sind diese Verbindungen sehr giftige Körper. Wie ich in der Einleitung zu dieser Arbeit erwähnte, spricht Gmelin (17) von der schwach giftigen Wirkung der Arsine. Gosio (19) kam, wie ich auch schon erwähnt habe, auf Grund seiner Versuche zu der Überzeugung, daß die von den Pilzen auf arsenhaltigen Nährsubstraten erzeugten Gase für weiße Mäuse außerordentlich giftig seien. Auf Grund der Versuche von Abel und Buttenberg (2) und Hausmann (26) kann wohl die Richtigkeit dieser Annahme bezweifelt werden (vgl. S. 362 und 374).

Um mir selbst Klarheit bezüglich dieser Frage zu verschaffen, habe ich auch einige kleine Versuche angestellt, die ich hier kurz referiere.

Versuche mit Meerschweinchen und Kaninchen.

In einen 70×50 cm großen Käfig wurden zwei Meerschweinchen (Gewicht: 1. 110 g^{rm}, 2. 300 g^{rm}) und zwei Kaninchen (1. sehr großes, älteres Tier, 2. kleines, junges Tier) am 12. II. hineingesetzt. Der Käfig, welcher in einem kleinen Abzug aufgestellt war, wurde mit einer größeren Anzahl Kulturen mit starkem Kakodylgeruch umgeben. Auch auf den Boden des Käfigs wurden einige nach Kakodyl riechende Kulturen gelegt. Durch das Zusetzen der Zugklappen des Abzuges war der Luftwechsel in dem Raum möglichst gering. Am 14. II. war das kleinere Meerschweinchen totgebissen, wahrscheinlich von dem anderen Meerschweinchen, welches die vorhergehenden Tage fast gar nichts gefressen hatte, jetzt aber einen sehr guten Appetit zeigte. Alle Tiere hatten ein gesundes Aussehen. Am 15. II. wurde ein neues Meerschweinchen (Gewicht: 180 g^{rm}) in den Käfig hineingesetzt. Der Kakodylgeruch der Kulturen gefällt den Tieren scheinbar nicht, denn wenn man einen Kulturkolben dicht vor die Schnauze eines Tieres hält, weicht es gleich zurück. Am 17. II. hatten alle Tiere guten Appetit. Am 5. III. wurden diese Versuche abgebrochen. Sämtliche Tiere schienen ganz gesund zu sein.

Versuche mit weißen Mäusen.

Am 13. II. wurden zwei weiße Mäuse (Gewicht: 1. 16 g^{rm}, 2. 20 g^{rm}) in eine viereckige Glasschale à 1·5 Liter Inhalt, die vier Buchnersche Röhren mit stark kakodylriechenden Kulturen enthielt, hineingesetzt. Die Schale war mit einer Glasscheibe nur so weit bedeckt, daß eine kleine Spalte für den Luftwechsel vorhanden war. Am 14. II. waren die Tierchen scheinbar

ganz gesund und hatten einen guten Appetit (Möhrenscheiben). Die Mäuse legen sich oft mit der Schnauze dicht vor die Öffnung der Buchnerschen Röhre. Die Schale wurde jetzt mit der Glasscheibe vollständig bedeckt. 15. II Das Befinden der Tiere scheint ausgezeichnet zu sein. Am 17. II. war die kleinere Maus sichtlich krank; sie lag ganz still mit geschlossenen Augen. Nachdem sie aber aus der Schale herausgenommen worden war, erholte sie sich rasch; nach einer halben Stunde fing sie an sich zu putzen und nagte mit gutem Appetit an einem Stück Brot. Die beiden Mäuse lebten nachher in der reingemachten Schale bis zum 13. III., nach welchem Tage sie in 3 Liter fassenden Glastöpfen gehalten wurden, an deren Boden kräftige, kakodylriechende Pilzkulturen sich befanden. Die Glastöpfe waren mit Glasscheiben bedeckt. Am 14. III. schien es der größeren Maus nicht ganz wohl zu sein. Sie lag ganz still und atmete heftig. Sobald aber die Glasscheibe gelüftet wurde, wurde das Tierchen beweglich, lebhaft und ließ sich hineingeworfene Kakes gut schmecken. 26. III. Beide Tiere gesund; sie wurden jetzt in andere 2 Liter fassende Töpfe mit frischen Arsenkulturen gesetzt. Die Töpfe waren wie vorher mit Glasscheiben bedeckt. 28. III. Beide Tiere sehen krank aus. (NB. Die Temperatur im Laboratorium 22.5° und die Töpfe in der Sonne stehend.) Sie wurden jetzt in ein neues, wie vorher bedecktes Gefäß mit intensiv nach Kakodyl riechenden Kulturen gesetzt; beide Tiere erholten sich gleich und fütterten Kakesstücke mit gutem Appetit. 31. III. Die Tiere machen einen stumpfen, kranken Eindruck und sitzen ganz still; sobald sie aber in ein Gefäß mit frischer Luft kommen, sind sie gleich lebhaft und munter. Die Versuche wurden in derselben Weise bis zum 9. IV. fortgesetzt, ohne daß irgendwelche bleibende Krankheitserscheinungen bei den Tieren festgestellt werden konnten. Die Tiere schienen beim Abbrechen der Versuche vollständig gesund zu sein.

Aus diesen Tierversuchen kann man nach meiner Meinung keinen anderen Schluß ziehen, als den folgenden: Die Einatmung von Luft, die verhältnismäßig reich an durch Pilze erzeugten, arsenhaltigen Gasen ist, schadet weder den Meerschweinchen oder Kaninchen noch den weißen Mäusen. Dagegen scheint aus den Versuchen mit Deutlichkeit hervorzugehen, daß die Einatmung von stark kohlenensäurehaltiger Luft für die weißen Mäuse wie für andere lebende Organismen sehr schädlich ist. Wenn das bei den Tieren öfters beobachtete Unwohlsein durch die arsenhaltigen Gase hervorgerufen worden wäre, würden sie sich gewiß nicht so rasch erholen haben, wie dies immer der Fall war, sobald sie sauerstoffreichere Luft atmen konnten.

Von einem gewissen Interesse kann es ja sein, anzuführen, daß ich selbst während 6 Monate — während 3 Monate fast den ganzen Tag, die übrige Zeit mindestens jeden zweiten Tag — in einem Laboratorium arbeitete, wo die Luft infolge der großen Anzahl der dort auf den Arbeitstischen aufgestellten Kulturen ständig einen mehr oder weniger deutlichen Kakodylgeruch besaß. Während dieser Zeit und auch später habe ich

keine Krankheitssymptome bei mir beobachten können. Die Empfindlichkeit für die eventuell giftige Wirkung der Kakodylverbindungen ist wahrscheinlich sehr verschieden. Die Ursache zu der wechselnden Empfindlichkeit gegenüber den betreffenden Gasen dürfte vielleicht darin zu suchen sein, daß die Fähigkeit, die eingeatmeten Gase unschädlich zu machen, bei verschiedenen Menschen verschieden ist. Klason (34) ist nämlich der Ansicht, daß die Empfindlichkeit gegenüber den giftigen Arsengasen wesentlich davon abhängt, mit welcher Schnelligkeit das Blut die Oxydation derselben zu bewerkstelligen vermag. Klason ist bei seinen Untersuchungen zu dem — also von dem von Biginelli abweichenden — Resultat gekommen, daß das biologisch gebildete Gas Äthylkakodyloxyd sei. Arsenwasserstoff war nach Klason in demselben nicht nachzuweisen. Das Kakodyloxyd wird nach der Ansicht Klasons im Körper zu Äthylkakodylsäure oxydiert, und diese Verbindung ist wahrscheinlich, wie Klason sagt, ebensowenig giftig wie die Kakodylsäure. „Da die Schimmelpilze überall vorhanden sind“, sagt Klason schließlich in seinen schon vorher zitierten interessanten P. M., „so geht aus dem Gesagten deutlich hervor, daß das Arsen in allen denjenigen Formen, die die Pilze zu zersetzen vermögen, schädlich wirken kann, und natürlich am meisten schädlich, wenn das Arsen in Kleidern vorhanden ist. Da aber das Kakodyloxyd im Organismus zur wahrscheinlich unschädlichen Äthylkakodylsäure oxydiert wird, hängt der Grad der Empfindlichkeit für das Arsengift wesentlich von der Schnelligkeit ab, mit der das Blut diese Oxydation zu bewerkstelligen vermag.“ Jedenfalls dürfte man aber mit Sicherheit behaupten dürfen, daß die durch die Arsenpilze gebildeten Gase bedeutend weniger giftig wirken als z. B. der Arsenwasserstoff, von dem, wie Stock und Guttmann (51) nachgewiesen haben, schon 0.01 Prozent in der Luft genügen, um Mäuse in kürzerer Zeit als 4 Stunden zu töten. Die Schlußfolgerung dürfte nun also berechtigt sein, aus den oben referierten Versuchsergebnissen zu ziehen, daß vollständige Freiheit von Arsen für die hier in Frage stehenden Gegenstände kaum notwendig sei. Eine derartige Forderung, verglichen teils mit der — nach den oben erwähnten Versuchsergebnissen zu urteilen — geringen Giftigkeit des von den Pilzen gebildeten Gases, teils mit den kleinen Arsenmengen, welche die Pilze unter den für sie günstigsten Bedingungen verflüchtigen, würde sicherlich im höchsten Grade unbegründet erscheinen. Teils um die Empfindlichkeit der biologischen Methode einer Prüfung zu unterziehen, teils und hauptsächlich um mir ein Urteil darüber zu bilden, mit welcher Geschwindigkeit das Arsen von den Pilzen verflüchtigt wird, stellte ich nämlich einige Versuche mit sehr kleinen Mengen arseniger Säure an. Diese Versuche und die dabei erhaltenen Resultate habe ich schon bei der Besprechung der Einwirkung

der Pilze auf die arsenige Säure beschrieben. Da diese Versuche aber in Gefäßen (Reagenzröhrchen) ausgeführt wurden, in welchen die Verdampfungsfläche nur einige wenige Quadratcentimeter ausmachte, und da außerdem bei diesen Versuchen wahrscheinlich nur der in den oberflächlichen Schichten des Substrates befindliche Teil der zugesetzten Säure von den Pilzen in Angriff genommen werden konnte, so war es von Wichtigkeit festzustellen, ob die Verflüchtigung des Arsens in rascherem Tempo stattfinden würde, wenn durch die Vergrößerung der Verdunstungsfläche die Bedingungen hierfür verbessert wurden. Ich führte zu diesem Zwecke die folgenden Versuche aus. Auf gewöhnliche, runde Literkolben wurden 30 cm^3 Kartoffelbrei gefüllt, dem 0.0001 g^{m} Arsen als Alkaliarsenit (1 cm^3 von einer Lösung, die 1 g^{m} As auf 10 Liter Wasser enthielt) zugesetzt wurde. Nach der Sterilisation wurden die Kolben hin und her gerollt, wodurch die ganze Innenfläche derselben mit einer dünnen Schicht von dem Substrat bedeckt wurde. Der eine Kolben wurde mit einer Sporenaufschwemmung von *Penicillium brevicaula*, der andere in derselben Weise mit *Actinomyces* sp. geimpft und beide nachher bei Zimmertemperatur gehalten. Nach 20 Tagen, während welcher Zeit ein kräftiger Kakodylgeruch in beiden Kolben wahrgenommen werden konnte, wurde der Arsengehalt nach einer von Klason ausgearbeiteten Methode (34) bestimmt. In beiden Kolben erwies sich die noch nicht verflüchtigte Arsenmenge 0.00008 g^{m} auszumachen. In 20 Tagen waren also 0.00002 g^{m} Arsen von einer Fläche, deren Größe zu 500 cm^2 berechnet wurde, zur Bildung von flüchtigen Verbindungen verbraucht worden. Für jeden Tag verdunstete somit 0.000001 g^{m} und pro Stunde 0.00000004 g^{m} . Aus diesen Versuchen ist es leicht zu ersehen, mit welcher Langsamkeit das Arsen aus einer der am leichtesten für die Pilze angreifbaren Verbindungen freigemacht und verflüchtigt wird, auch wenn hierfür die besten Bedingungen vorliegen.

Inwieweit derartig kleine in der Zimmerluft eventuell vorkommende Arsenmengen imstande sind, den menschlichen Organismus schädlich zu beeinflussen, überlasse ich den auf dem hier in Frage stehenden Gebiete mehr bewanderten Hygienikern zu beurteilen. Ich erlaube mir aber, darauf aufmerksam zu machen, daß in der Praxis der eventuelle Arsengehalt der Zimmerluft durch Luftwechsel vermindert wird, und außerdem, daß wohl nie in der Praxis so außerordentlich günstige Bedingungen für die Verflüchtigung des Arsens wie in den hier mitgeteilten Versuchen existieren, weder bezüglich der Zugänglichkeit des arsenhaltigen Materials für die Schimmelpilze, noch betreffend die Beschaffenheit des Nährbodens. Außerdem kann man für die Praxis mit der Tatsache rechnen, daß das wasserunlösliche oder wenigstens in Wasser schwer lösliche Arsen, welches

in Erdfarben, Zinkweiß und derartigen Farben, sowie anderen Objekten vorkommt, viel schwieriger von den Pilzen verflüchtigt wird als das Arsen der wasserlöslichen Verbindungen. Daß dies der Fall ist, haben nicht nur meine Versuche, sondern auch diejenigen früherer Forscher bewiesen. Wie ich durch die Versuche mit arsenhaltigem Zinkweiß nachgewiesen habe, ist das Arsen in dieser Farbe in einer Verbindung vorhanden, die nur mit äußerster Schwierigkeit und Langsamkeit von den Pilzen zerlegt wird. Die aus dieser Farbe unter den günstigsten Bedingungen verflüchtigten Arsenmengen müssen somit außerordentlich klein, mit anderen Worten, kaum meßbar sein. Günstig sind aber nur diejenigen Bedingungen zu bezeichnen, die das Wachstum der Arsenpilze in irgendeiner Weise fördern. Vor allem muß aber hierbei der Nährboden den Pilzen zusagend sein. Wenn dies nicht zutrifft, bleibt das Wachstum und gleichzeitig die biologische Zerlegung der Arsenverbindungen aus. Zu den günstigen Bedingungen für die Bildung flüchtiger Arsenverbindungen kann man nicht die mit trocknenden Ölen bereiteten Farben rechnen, denn wie von mir angestellte Versuche zeigten, bildet z. B. das Leinöl bald, wenn es mit Zinkweiß oder Kartoffelbrei gemischt wird, eine feste, wenn auch nicht harte, sondern elastische Haut, die den Pilzen kein zusagendes Substrat bildet, mit anderen Worten, das Wachstum derselben vollständig verhindert. Ich habe in dieser Richtung eine größere Anzahl Versuche ausgeführt, wobei ich ein Gemisch aus Kartoffelbrei, Zinkweiß, Zinkarsenit bzw. Zinkarseniat und Leinöl mit verschiedenen Pilzen impfte; in keinem Fall konnte aber Wachstum, noch weniger Kakodylgeruch in den 6 Monate alten Kulturen beobachtet werden. Die mit arsenhaltigem Zinkweiß bereiteten Ölfarben scheinen somit — soviel ich nach meinen Versuchsergebnissen beurteilen darf — vom biologisch-hygienischen Gesichtspunkte aus ganz einwandfrei zu sein. Nicht trocknendes Öl, mit Kartoffelbrei gemischt, bietet dagegen den Pilzen einen guten Nährboden, auch wenn dieser außerdem Terpentinöl bis zu 10 Prozent enthält. Nicht trocknende Öle sind aber für die Praxis unverwendbar.

Zusammenfassung der Resultate und Schlußfolgerungen.

1. Von den in der Natur vorkommenden Mikroorganismen gibt es eine verhältnismäßig sehr geringe Anzahl Pilze, welchen die Fähigkeit zukommt, das Arsen aus seinen Verbindungen freizumachen und zu verflüchtigen. Diese Pilze können wir mit einer gemeinsamen Bezeichnung Arsenpilze nennen.

2. Die bis jetzt bekannten Arsenpilze sind in den verschiedensten Substraten und an den verschiedensten Orten beobachtet worden, aber, soweit ich gefunden habe, für gewöhnlich in Kleinzahl im Verhältnis zu anderen an denselben Standorten vorkommenden Mikroorganismen vorhanden.

3. Von den von mir geprüften Arsenpilzen ist *Penicillium brevicaula*, einer der aktivsten derselben, niemals bei meinen Untersuchungen von Wohnzimmern gefunden worden, dagegen kommt *Actinomyces* sp. — ein dem *Penicillium brevicaula* an Aktivität ebenbürtiger Arsenpilz — häufig an feuchten Wänden und an anderen Orten vor, aber wie gesagt, immer nur vereinzelt.

4. Aus meinen Untersuchungen glaube ich schließen zu dürfen, daß alle Arsenverbindungen ohne Ausnahme von den betreffenden Pilzen zersetzt werden können, wenn die Verhältnisse hierfür günstig sind.

5. Zur Schaffung der günstigen Verhältnisse sind unbedingt notwendig: sauerstoffhaltige Luft, Feuchtigkeit und ein den Pilzen zusagendes Substrat. Die Abwesenheit eines dieser Faktoren verhindert das Wachstum der Pilze und gleichzeitig die Verflüchtigung des Arsens.

6. Die wasserunlöslichen bzw. schwerlöslichen Verbindungen werden durch die Pilze viel langsamer zersetzt als die wasserlöslichen.

7. Die verflüchtigte Arsenmenge ist — kann man annehmen — proportional der Reaktionsfähigkeit des arsinbildenden Pilzes und der Wasserlöslichkeit der von diesem angegriffenen Arsenverbindung. Die Reaktionsfähigkeit der Pilze ist natürlich aufs engste mit dem Sauerstoffgehalt der Luft, dem Wassergehalt des Nährbodens und der Zusammensetzung des letzteren verknüpft.

8. Die von den Pilzen erzeugten, arsenhaltigen Gase scheinen eine verhältnismäßig geringe Giftigkeit zu besitzen.

Stockholm, Oktober 1913.

Literatur-Verzeichnis.

1. Abba, F., Über die Feinheit der biologischen Methode beim Nachweis des Arsens. *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1898. Abt. II. Bd. IV.
2. Abel, R. u. Buttenberg, P., Über die Einwirkung von Schimmelpilzen auf Arsen und seine Verbindungen. *Diese Zeitschrift*. 1899. Bd. XXXII.
3. Abenius, W., Om arsenikhalt i yllevoror. *Svensk. Kem. Tidskrift*. 1900.
4. Almquist, E., Arsenikhaltiga tapeter och kläder samt mögelfloran i våra bostäder. *Hälsövardsfören. i Stockholm förhandl.* 1899/1900.
5. Derselbe, Yttrande vid Hälsövardsföreningens sammanträde den 22. II. 1902. *Hälsövardsfören. i Stockholm förhandl.* 1902.
6. Bainier, G., Mycothèque de l'École de Pharmacie. XIV. Scopulariopsis (Penicillium pro parte), genre nouveau de mucédinées. *Bull. trimestr. de la Soc. mycolog. de France*. 1907. T. XXIII.
7. Baumert, Über die Zersetzung von Arsenverbindungen und den mikrobiologischen Nachweis kleiner Mengen von Arsen. *Zeitschrift f. Naturwissenschaft*. 1898. Bd. LXXI.
8. Berzelius, J., Yttrande till Kungl. Sundhetskollegium med anledning af en i Nr. 59 af Göteborgs Handels- och Sjöfartstidning den 12. Mars 1847 införd uppsats, angående vådliga följder af att låta tapetsera boningsrum med gröna tapeter. *Post-och Inrikes Tidning*. 1848. Nr. 92.
9. Biginelli, P., Zusammensetzung und chemische Konstitution des arsenhaltigen Gases der Tapeten. Ref. *Chem. Centralblatt*. 1900. 71. Jahrg.
10. Bischoff, C., Zur Bildung des Arsenwasserstoffs aus arseniger Säure. *Vierteljahrsschrift f. gerichtl. Medizin u. öffentl. Sanitätswesens*. 1882. Bd. XXXVII. Neue Folge.
11. Bode, Penicillium brevicaula, ein Pilz mit der Fähigkeit, kleinste Spuren von Arsenik anzuzeigen. *Zeitschrift f. Naturwissenschaft*. 1898. Bd. LXXI.
12. Cevvey, F., L'arsenic au point de vue de l'hygiène et sa recherche par la méthode biologique de Gosio. *Thèse de doctorat*. Lausanne 1902.
13. Dragendorff, G., *Die gerichtlich-chemische Ermittlung von Giften in Nahrungsmitteln, Luftgemischen, Speiseresten, Körperteilen usw.* St. Petersburg 1868.
14. Emmerling, O., Zur Frage, wodurch die Giftigkeit arsenhaltiger Tapeten bewirkt wird. *Bericht d. Deutsch. Chem. Gesellschaft*. 1896.
15. Fleck, H., Über den Arsengehalt der Zimmerluft. *Zeitschrift f. Biologie*. 1872. Bd. VIII.
16. Giglioli, J., Sullo svolgimento d'idrogeno arsenicale dalle muffe cresciute in presenza di sostanze arsenicali. *Annuario della R. Scuola Super. d'Agricoltura di Portici*. 1880. Vol. II. (Ref. in *La Gazzetta chim. Ital.* 1881. Vol. XI.)

17. Gmelin, L., Die Nachteile der grünen Tapeten für die Gesundheit betreffend. *Gutachten, erstattet der Großherzoglich badischen Regierung des Mittelrheinkreises*. Heidelberg 1844. (Zit. bei Maasen, siehe Nr. 39.)
18. Gosio, B., Action de quelques moisissures sur les composés fixes d'arsenic. *Arch. Italienn. de Biologie*. 1898. T. XVIII.
19. Derselbe, Zur Frage, wodurch die Giftigkeit arsenhaltiger Tapeten bedingt wird. *Bericht d. Deutsch. Chem. Gesellschaft*. 1897.
20. Derselbe, Uteriore ricerca sulla biologia e sul chimismo delle arseniomuffe. *Riv. d'igiene e sanità pubbl.* 1900. (Zit. bei Cevy, siehe Nr. 12.)
21. Derselbe, *Studi sulle bioreazioni d'ell arsenico, tellurio e selenio e loro appliazioni pratiche*. Roma 1906.
22. Derselbe, *Alterazione del granturco e loro profilassi*. Roma 1909. (Zit. bei Dafert und Kornauth im *Archiv f. Chemie u. Mikroskopie*. 1912.)
23. Hamberg, N. P., Kemisk undersökning af luften i boningsrum, klädda med arsenikhaltiga tapeter. *Nord. Med. Arkiv*. 1874. Bd. VI.
24. Derselbe, Arseniksyrlighetens förändring i beröring med ruttande animaliska ämnen. *Bih. t. Kungl. Svenska Vet. Ak. Handl.* 1886. Bd. XII. Afd. II.
25. Hausmann, W., Zur Kenntnis des biologischen Arsennachweises. *Beitr. zur chem. Physiol. u. Pathol.* 1904. (Ref. in *Zeitschrift f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel*. 1904. Bd. VIII.)
26. Derselbe, Zur Kenntnis der von Schimmelpilzen gebildeten gasförmigen Arsenverbindungen. *Diese Zeitschrift*. 1906. Bd. LIII.
27. Henrijean, F., Honoré, Schoofs et Waucumont, Recherches sur une prétendue intoxication arsenicale collective en Suède. *Revue d'hygiène*. T. XXXV. Paris 1913.
28. Hildebrand, Über den biologischen Nachweis des Arsens durch Schimmelpilze. *Schrift. d. Naturf. Ges. in Danzig*. 1907. Bd. XII. Neue Folge. (Ref. in *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1908. Abt. II. Bd. XX.)
29. Holleman, A. F., *Lehrbuch der organischen Chemie*. Leipzig 1911.
30. Husemann, Th. u. A., *Handbuch der Toxikologie*. 1862. (Zitiert bei Hamberg, siehe Nr. 23.)
31. Johannsohn, N., Über die Einwirkung der arsenigen Säure auf Gärungsvorgänge. *Archiv f. experim. Pathologie u. Pharmakologie*. 1874. Bd. II.
32. Klason, P., Yttrande vid Kemistsamfundets sammanträde den 21. Febr. 1901. *Svensk Kemisk Tidskrift*. 1901.
33. Derselbe, I arsenikfrågan. *Ebenda*. 1901.
34. Derselbe, P. M. till Statsrådet och Chefen för Kungl. Civildepart. Stockholm, den 25. Mars 1913. *Hygien. Tidskr.* Stockholm 1913.
35. Kraemer, L., Ein Wort gegen die Furcht vor den arsenikhaltigen grünen Malerfarben. *Deutsche Klinik*. 1852. Bd. IV.
36. Kržízan, R. u. Plahl, W., Über eine Vergiftung nach dem Genusse eines arsenhaltigen Brotes. *Österr. Chem. Ztg.* 1904. (Ref. in *Zeitschrift f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel*. 1904. Bd. VIII.)
37. Lehmann, K. B. u. Neumann, R. O., *Atlas und Grundriß der Bakteriologie*. München 1912. 5. Aufl.
38. Levin, E., Luftundersökningar å Stockholms biografer. *Nord. Med. Arkiv*. 1913. Afd. II.
39. Maasen, A., Die biologische Methode Gosios zum Nachweis des Arsens und die Bildung organischer Arsen-, Selen- und Tellurverbindungen durch Schimmelpilze und Bakterien. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. 1902. Bd. XVIII

40. Maggiora, R., Alcune prove con la recente modificazione del Gosio al suo metodo biochimico di ricerca dell'arsenico. *Boll. della Soc. medico-chirurg. di Modena*, 1902. Anno V.
41. Marpmann, Über die biochemische Arsenreaktion. *Pharm. Zentralkalle*. 1900.
42. Neufeld, C. A., Über arsenhaltige Buntpapiere. *Zeitschrift f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel*. 1913.
43. Palmer, A. W. u. Dehn, W. M., Über primäre Arsine. *Bericht d. Deutsch. chem. Gesellschaft*. 1901.
44. Pool, J. F. A., Die biologische Arsenreaktion mit *Monilia sitophila* Saccardo. *Pharm. Weekblad*. Bd. XLIX. (Ref. in *Chem. Centralblatt*. 1912.)
45. Popp, G., Der Arsengehalt der Frankfurter Friedhofserde. *Zeitschrift f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel*. 1907.
46. Rossbach, *Tod durch arsenhaltige Tapeten oder Vergiftung mit Phosphor*. Jena 1890. (Zit. bei Baumert, siehe Nr. 7.)
47. Sanger, Ch. R., On the formation of volatile compounds of arsenic from arsenical wall papers. *Proceed. of the Americ. Acad. of arts and scienc.* 1893/94. Vol. XXIX.
48. Scholtz, M., Über den Nachweis von Arsen auf biologischem Wege in Hautschuppen, Haaren, Schweiß und Urin. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1899. (Ref. in *Zeitschrift f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel*. 1900. Bd. III.)
49. Segale, M., Untersuchungen über das Vorhandensein von Arsen in den normalen Geweben vermittelst der biologischen Methode. *Zeitschrift f. physiol. Chemie*. 1904. (Ref. in *Zeitschrift f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel*. 1904. Bd. VIII.)
50. Selmi, *Nuovo processo generale per la ricerca delle sostanze venefiche e osservazione sulle sviluppo d'idrogene delle muffe*. Bologna 1875. (Zit. bei Cerver, siehe Nr. 12.)
51. Stock, A. u. Guttmann, O., Über den Antimonwasserstoff und das gelbe Antimon. *Bericht d. Deutsch. Chem. Gesellschaft*. 1904.
52. Stoll, *Dissertation*. Würzburg 1904. (Zit. bei Lafar, F., *Handbuch der technischen Mykologie*. 1905/07. Bd. IV. S. 257.)
53. Westling, R., Über die grünen Spezies der Gattung *Penicillium*. *Arkiv för Botanik*. 1911. Bd. XI.
54. Wittstein, Über die Schädlichkeit der arsenikalische Farben enthaltenden Anstriche und Tapeten in Wohnzimmern und ihre Ursache. *Arch. der Pharm.* 1860. Bd. CLIV.
55. *Betänkande afgifvet af kommitterade, som i nåder förordnats att inom Kungl. Civildepartementet granska gällande bestämmelser angående vård och försäljning af arsenik samt andra giftiga ämnen och varor*. I. Stockholm 1906.
56. *Vådliga följder af att tapetsera boningsrum med gröna tapeter*. *Göteborgs Handels- och Sjöfartstidning*. 1847. Nr. 59.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“
zu Berlin.]

(Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)

(Serologische Abteilung. Vorsteher: Geheimrat Prof. v. Wassermann.)

(Tropen-Abteilung. Leiter: Prof. Schilling.)

Spirochätenuntersuchungen.

Von

Dr. G. Arnheim

in Berlin.

(Hierzu Taf. IX u. X.)

I. Kulturelles.

Nachdem ich bereits mehrfach in früheren Publikationen über die Kultur der Spirochäten berichtet habe (1, 2, 3), möchte ich die Ergebnisse weiterer Untersuchungen mitteilen.

Im Verlaufe der letzten Jahre habe ich etwa 150 Fälle verschiedenster Spirochätenaffektionen untersucht, von 113 Fällen besitze ich genauere Aufzeichnungen. Sie betrafen vorwiegend syphilitisches Material aus allen Perioden der Syphilis und die verschiedensten Läsionen bei dieser Krankheit, vorwiegend nässende Genitalpapeln (33 Fälle), Primäraffekte, Sklerosen und Ulzera (38 Fälle), exstirpierte Drüsen (8 Fälle), Hautaffektionen bei sekundärer und tertiärer Lues (Exantheme, serpiginöse und zirzinäre Syphilide, 3 Fälle), sowie den Hoden von syphilitisch gemachten Kaninchen (Passagestämme, 4 Fälle). Ferner wurden Kulturversuche gemacht bei Lungengangrän (6 Fälle), sowie bei anderen ulzerösen und gangränösen Prozessen, Ulcus gangraenosum cruris (Matzenhauer und Rona) (1 Fall), Stomatitis ulcerosa, Angina Vincenti (6 Fälle), bei Darmgangrän (2 Fälle), bei diabetischer Gangrän des Unterschenkels (2 Fälle). Auch wurden kultiviert die Refringensspirochäten aus sogenannten spitzen Kon-

dylomen (Akuminaten, 6 Fälle). Schließlich habe ich eine Reihe menschlicher und tierischer Tumoren auf die Anwesenheit von Spirochäten untersucht und aus ihnen Kulturen angelegt, so von menschlichen Karzinomen des Magens, Ösophagus, Pankreas, Leber usw. in 8 Fällen, von Mäusekarzinomen und Rattensarkomen 4 Fälle. Endlich wurde auch bei Schweinepest nach Spirochäten in den Organen und im Blut der infizierten Tiere gesucht. Doch soll in folgendem zumeist über Untersuchungen an *Spirochaeta pallida* und Refringens als den praktisch wichtigsten Spirochätenarten berichtet werden.

Das Kulturverfahren, welches zur Gewinnung der Kulturen angewandt wurde, unterschied sich von dem von mir beschriebenen in einer kleinen Modifikation. Es wurden nämlich bei der Anfangskultur das Ausgangsmaterial nicht mehr auf den Boden des verflüssigten Serumagarröhrchens gebracht, sondern es wurde zunächst flüssiger Serumagar in einer Höhe von etwa 3^{cm} in das Röhrchen gegossen. Nach dem Erstarren wurde etwas Material in Form eines kleinen Stückchens syphilitischen Gewebes, z. B. einer Papel oder ähnlichem auf den erstarrten Agar gebracht und nun die größere Menge des flüssigen Serumagars dazugegossen. Diese Abweichung von der erstbeschriebenen Methode erlaubt noch besser die Gewinnung von verhältnismäßig reinen Kulturen bereits in früheren Generationen. Infolge ihres bekannten Abwanderungsvermögens sind die Spirochäten nämlich in den unteren Partien des Reagenzröhrchens weit eher angelangt als die bakteriellen Verunreinigungen, die zu dieser Zeit noch vorwiegend in dem oberen Teil der Kultur anzutreffen sind. Man schneidet dann die Kultur am Boden ab und legt in bekannter Weise von der Bodenseite des Röhrchens neue Kulturen an, ohne in die Nähe der versenkten Gewebstücke zu kommen.

Man kann den Vorgang der Abwanderung der Spirochäten in ausgezeichneter Weise zur Anschauung bringen, wenn man eine derartige Ausgangskultur oder den Teil der Kultur, welcher das versenkte Gewebstück umgibt, in Formalin härtet und nach der Levaditischen Methode behandelt. Auf angelegten meridionalen Schnitten finden sich seitwärts von den versenkten Gewebstücken Partien, bei welchen man schon bei schwacher Vergrößerung Ansammlungen von vielen Spirochäten beobachten kann. Die Spirochäten finden sich durchweg in ziemlicher Entfernung vom Zentrum der Agarsäule, und vom Stichkanal beträchtlich weiter als die anderen Mikroorganismen. Taf. IX, Fig. 1 und 2 geben diese Verhältnisse anschaulich wieder. Taf. IX, Fig. 1 zeigt die Mitte der Kultur, den Rand des zur Kultur benutzten Papelstückchens; dieses selbst ist bei der Zubereitung der Kultur zum Schneiden herausgefallen. Taf. IX, Fig. 2 die von dem Zentrum der Kultur abgewanderten feinen Spirochäten bei

schwacher Vergrößerung, Taf. IX, Fig. 3 bei 1000facher Vergrößerung Spirochäten aus syphilitischer Analpapel. Die Spirochäten sind bereits in diesem Stadium der Kultur dicker als die aus frischem syphilitischem Material. Taf. IX, Fig. 4 als Gegensatz Refringensspirochäten aus spitzen Kondylomen (Akuminaten).

Nach der von mir geübten Methode hatte ich anfangs vorigen Jahres drei Reinkulturen gewonnen, die ich jetzt bereits bis zur 30. Generation fortgezüchtet und vielfach zu Übertragungsversuchen auf Tiere, sowie zur Anstellung von biologischen Versuchen benutzt habe.

1. Kultur 105 entstammt einer nässenden Papel, die in frischem Präparat nur Pallida enthielt, keine Refringensspirochäten.

2. Kultur 106 aus einem Primäraffekt an den großen Labien mit außerordentlich vielen Pallidaspirochäten und ganz vereinzelt groben Spirochäten mit stärkerer Lokomotion (Dunkelfeld Refringens?).

3. Kultur 116 gleichfalls aus einer nässenden Papel. Ausgangsmaterial nur Pallida, keine Refringens enthaltend.

In der letzten Zeit habe ich vorwiegend aseptisch extirpierte Primäraffekte zu Kulturzwecken erhalten. Infolge des nur wenig verunreinigten Ausgangsmaterials waren die Resultate noch befriedigender als früher, und es gelang mir weitere 15 Reinkulturen oder wenigstens von Fäulnis-erregern freie, d. h. geruchlose Kulturen zu erhalten. Dreimal konnte die Kultur der Refringens rein erhalten werden, das letzte Mal allerdings erst in der 16. Generation. Einmal gelang die Reinkultur der Angina Vincenti-Spirochäten. Ferner habe ich eine kleine Spirochäte aus dem Darm bis zur 14. Generation fortgezüchtet, ohne sie allerdings vollkommen rein kultivieren zu können.

Um die Frage der Spezifität und der Identität der aus syphilitischem Material kultivierten Spirochäten mit der Pallida entscheiden zu können, war es erforderlich, möglichst viele Kulturen zu erhalten.

Bekanntlich wird noch jetzt von einzelnen teils auf Grund morphologischer Differenzen der Kulturspirochäten, teils aus dem Mangel eklatanter Erfolge im Tierexperiment an der Identität der aus syphilitischem Material gezüchteten Spirochäten gezweifelt. Sie nehmen an, daß entweder bereits in erster Generation ausschließlich Refringensspirochäten zur Entwicklung kommen, oder daß die Pallida von der gleichzeitig mit ihr vorhandenen Refringens überwuchert werde, oder ferner, daß — wenigstens in vielen Fällen — eine dritte der Pallida morphologisch gleichende, aber biologisch verschiedene Spirochäte kultiviert worden sei. [Noguchi (47), Hoffmann (25).] Nach Noguchi (50) wird die biologische Verschiedenheit dieser beiden Spirochäten bei gleicher Morphologie

durch die Abwesenheit des bekannten Gestankes der Kulturen und ferner dadurch gegeben, daß die wirkliche Pallida nur in Kulturmaterial wächst, welchem ein Stück steril entnommenen normalen Gewebes (Kaninchenniere) zugesetzt ist. Meine Kulturen waren stets in erster Generation ohne Zusatz von normalem Gewebe angelegt, da ich mich davon überzeugen konnte, daß ein Stückchen syphilitischen Materials die gleichen wachstumfördernden Eigenschaften besitzt als das normale Gewebe. Durch eine große Zahl von vergleichenden Kulturanlagen mit und ohne Gewebestück konnte nachgewiesen werden, daß nach beiden Methoden Spirochäten sich ganz gleichmäßig entwickelten in jedem Falle, wo sie überhaupt wuchsen, und daß Differenzen ihrer Morphologie und in der Pathogenität nicht bestanden. Von der zweiten Generation, spätestens dritten an habe ich mich dann, wie ich bereits in einer früheren Mitteilung berichtete, gleichfalls der frischen steril entnommenen Gewebstücke bedient, weil die weitere Übertragung der bereits gereinigten Kulturen ohne ein solches nur höchst selten gelang und der Konsum an Nährmaterial sehr erheblich gesteigert war. Die Übertragungsfähigkeit dieser jungen Kulturen wird ohne Zweifel durch Zusatz von Gewebe außerordentlich erleichtert, so daß selbst in diesen frühen Generationen der größte Teil der angelegten Subkulturen bei Anwendung der Gewebstücke bewachsen ist. Die Förderung des Wachstums durch das zugesetzte Gewebstück beruht auf der von ihm bewirkten Anaerobiose. Daß indessen nicht allein die strenge Anaerobiose für die weitere Kultur der Spirochäten, besonders der Pallida maßgebend sein kann, ersieht man daraus, daß es nach einigen Passagen leicht gelingt, auch Bouillonkulturen zu erhalten, freilich auch nur mit Zusatz frischen tierischen Gewebes. Wäre das Wachstum der Spirochäten allein von der strengen Anaerobiose abhängig, so wäre das nicht möglich, da die Bouillon trotz der hinzugefügten sterilen Gewebstücke nie ganz luftleer ist. Wenn trotzdem ein Wachstum in ihr stattfindet, so läßt es sich nur dadurch erklären, daß die Spirochäten infolge längerer Kultur sich an weniger anaerobe Bedingungen adaptiert haben. Es läßt sich schließlich aus der Adaptionsfähigkeit der Spirochäten auch die Möglichkeit nicht von der Hand weisen, daß die Pallida auf Nährböden zu kultivieren ist, welche überhaupt keine Gewebstücke enthalten, ohne daß daraus etwa auf ein differentes biologisches (47) Verhalten der durch beide Kulturverfahren gewonnenen Stämme geschlossen werden braucht.

Die Adaption der Spirochäten an weniger anaerobe Bedingungen muß auch unter normalen Verhältnissen im Organismus bestehen. Wie ließe sich sonst das Vorkommen der Pallida an der Oberfläche der Ulzerationen, von Papeln, sowie in der Mundhöhle bei Plaques usw. erklären, wo doch ständig ein Kontakt mit der Luft stattfindet?

Meine gereinigten Kulturen späterer Generationen wuchsen, wie ich mich außerordentlich häufig überzeugt habe, niemals auf gewöhnlichem Serumagar, sie wuchsen auch nicht in Schereschewskyschem Nährboden, noch in einem Agar, der doppelt soviel Serum, oder noch mehr als Agar enthielt. Selbst bei Zusatz von *Natr. nucleinum* war nur selten ein rudimentäres Wachstum zu konstatieren. Ebensowenig wuchsen die Kulturen in Serumbouillon ohne Gewebstücke. Die Bouillon bleibt klar, wenn keine Verunreinigungen in der Kultur vorhanden sind. Die Spirochäten, wachsen nur um das Gewebstück am Boden. Gehirn- und Hodenstücke von Kaninchen sowie vom Ochsen, die dem Serumagar oder Bouillon zugesetzt wurden, ergaben ausgezeichnete Erfolge für die Kultur.

Die Kulturen sind nach ihrer Reinigung völlig geruchlos. Wenn aber durch Verunreinigung des Nährbodens mit Luftkeimen oder bei Anwendung nicht völlig sterilen Nährmaterials sich neben den Spirochäten in der Kultur Bakterien entwickeln, so können die vorher geruchlosen Kulturen auch in späteren Generationen wieder übelriechend werden. Der Geruch ist kein eigentlicher Fäulnisgestank, sondern hat etwas spezifisches, so daß für den Erfahrenen schon aus ihm auf die Anwesenheit von Spirochäten in einer Kultur geschlossen werden kann. Mehrfach konnte ich die Anwesenheit nur weniger winziger isolierter Spirochätenkolonien in Ausgangskulturen, welche in dem transparenten Nährboden nicht sichtbar waren, nur durch den Geruch feststellen. Syphilitische Föten stinken nicht [E. Hoffmann (27)], ebensowenig Organe von Kindern, die an hereditärer Lues gestorben sind. Das beweist, daß der Geruch nicht durch die Einwirkung der Spirochäten allein zustande kommt. Wohl aber tragen begleitende Mikroorganismen dazu bei, indem unter ihrem Einfluß die Tätigkeit der Spirochäten eine Steigerung erfährt, welche sich darin äußert, daß eine vermehrte Zerlegung und ein stärkerer Abbau der eiweißhaltigen Nährsubstrate in niedrigere Verbindungen besonders der aromatischen Reihe erfolgt.

Die ersten Generationen der Kulturspirochäten waren stets mit begleitenden Mikroorganismen verunreinigt. Niemals ist es mir gelungen, nach meinem eigenen Verfahren oder durch die Kultur nach irgend einem anderen Autor [Noguchi (46), Nakano (41), Sowade (66) u. a.] in der ersten Generation Reinkulturen zu erzielen. Die verunreinigenden Mikroorganismen, die zum Teil mit den normal auf der Haut lebenden saprophytischen, zum anderen Teil mit eitererregenden Keimen identisch sind, spielen eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung der Ausgangskulturen der Spirochäten, Verhältnisse, wie sie möglicherweise auch für den natürlichen Modus der Infektion und das Anhaften der Spirochäten auf der

Oberfläche der Haut nicht ohne Belang sein dürften. Wie groß der Einfluß der „Begleitbakterien“ auf den Ausfall der ersten Kultur ist, ersieht man daraus, daß gerade bei den Affektionen, wo es sich um nicht verunreinigtes Ausgangsmaterial handelt, wie bei späteren Generationen der fortgezüchteten Kaninchenpassagestämme, die Uhlenhuth direkt als „Reinkultur in vivo“ bezeichnet, oder bei manchen Primäraffekten die Kultur mißlingt. Obwohl in derartigen Fällen das Material unzählige Mengen von Spirochäten enthält, konnte ich in solchen Fällen die Kultur selbst nach der komplizierten Methode von Noguchi im Anaerobenapparat nicht erreichen. Um festzustellen, welche von den Begleitern das Wachstum ganz besonders fördern, wurden eine große Zahl derjenigen Keime, die mit den Spirochäten in der ersten Generation gleichzeitig in derselben Kolonie wuchsen oder sich in der Nähe der charakteristischen hauchigen nebelartigen Spirochätenkolonien befanden, isoliert und mit ihnen Versuche angestellt. Es wurde geprüft, ob bei ihrer Gegenwart die reinkultivierten Spirochäten auf gewöhnlichem Serum-Agarnährböden ohne Zusatz von Gewebstücken sowohl im Stich als auch bei Anwendung von Schüttelkulturen zum Wachstum gelangten. Von zehn verschiedenen geprüften Kokken- und Bakterienarten vermochte nur ein einziges, auf den Nährböden einen üppigen dichten Belag bildendes, grampositives Stäbchen diese Bedingung zu erfüllen [ähnlich auch Mühlens (38) mit seinem Bacillus III]. Alle übrigen waren nicht allein dazu imstande. Die Wirkung dieses Stäbchens stellt sich jedenfalls als eine so stark Sauerstoff reduzierende dar, wie sie durch die Kulturbedingungen kaum erreichbar sein dürfte.

Von wesentlichem Vorteil wäre es, eine Kulturanordnung zu treffen, welche erlaubt, die Spirochäten in einem Medium zu züchten, das keine Gewebstücke enthält. Denn die Gefahr der Verunreinigung der Nährböden, die bereits durch den Zusatz des Serums möglich ist, erhöht sich begreiflicherweise durch den weiteren Zusatz der Gewebstücke. Außerdem ist die Herstellung dieser Nährböden recht zeitraubend und kostspielig. Ich habe daher seit langer Zeit Versuche angestellt, durch Zusätze von reduzierenden Körpern die Nährböden für die Kultur der Spirochäten geeignet zu machen. Es wurden versucht Pyrogallol, ferner lösliche Alkalisulfide, Platinmohr usw. Ferner wurden verschiedene Leukoverbindungen, Leukanilin, Leukoviolett, Leukomalachitgrün usw. dem Agar zugesetzt (in verschiedenen Konzentrationen). Alle diese Zusätze ergaben keinen Erfolg, teils wegen ihrer schweren Löslichkeit, teils wegen ihrer antiseptischen Nebenwirkung. Einige Male sah ich ein schwaches Wachstum in Nährböden, welche die Leukoverbindung des Methylenblau enthielten (Rongalitweiß von Grüber) in einer Konzentration von 2 bis 5 Promille.

Es ist leicht, die Kulturen von den begleitenden eitererregenden, peptonisierenden usw. Keimen zu befreien. Dagegen haben mir zahlreiche Versuche die Gewißheit verschafft, daß die absolute Reinkultur der Spirochäten meist nur nach langen Übertragungen zu erreichen ist. Nur in ganz vereinzelt Fällen war sie durch wenige Passagen zu erzielen [im Gegensatz zu Noguchi (48)]. Manche Kulturstämme schienen mit anderen Anaerobiern verunreinigt zu sein, deren Trennung äußerst mühselig, ja bisweilen unmöglich war; andere mit sehr beweglichen Bakterien, die eine stärkere Beweglichkeit als die Spirochäten hatten und den Nährboden schneller infolge ihres schrankenlosen Wachstums durchsetzten, als jene. Aus diesem Grunde gelang mir die Reinkultur einer kleinen Spirochäte aus dem menschlichen Darm bei einem Fall von Darmgangrän nicht, obwohl sie bereits 14 mal übergeimpft war. Die Ausschüttelmethode habe ich als unpraktisch aufgegeben, da sich die Spirochätenkolonien mit Vorliebe um eine Kolonie von anderen Mikroorganismen anzusiedeln pflegen, so daß ich selbst mit kleinsten Materialmengen auf diesem Wege nur selten eine völlige Trennung erzielen konnte [Gegensatz Sh m a m i e (65), Repaci (59)]. Die Reinheit der Kultur muß natürlich durch Prüfung in Bouillon, ferner vermittels des aeroben und anaeroben Plattenverfahrens ermittelt werden, Färbung des Kulturmaterials allein genügt nicht. Kulturen, die ein Oberflächenwachstum zeigen, einen stark entwickelten Impfstich, ferner einen dicken undurchsichtigen Kern, sind makroskopisch bereits als verunreinigt erkennbar.

Von manchen Autoren wurde das gleichzeitige Vorkommen von Spirochäten, besonders der Spironemazäen (Gross) (21) mit bestimmten Mikroorganismen nämlich den fusiformen Bakterien bei Angina Vincenti und anderen ulzerativen Prozessen als ein gesetzmäßiger Vorgang aufgefaßt und für symbiotisch erklärt (Commandon, Vincent u. a.). Diese Annahme stützt sich auf bekannte Vorgänge des Zusammenlebens tierischer und pflanzlicher Organismen. Allgemein wurde bis vor kurzem nach dem Vorgang von Schaudinn die Zugehörigkeit der Spirochäten zum tierischen System angenommen. Gegen diese Annahme hat sich in der letzten Zeit eine Reihe von Autoren gewandt [Balfour (10), Doflein (10), Groß (20) u. a.].

Ganz besonders hat Gross gewisse Bilder bei gefärbten Präparaten als Sporen bakterieller Natur gedeutet. Ferner sind noch andere Gründe für die Zugehörigkeit der Spirochäten zu den Bakterien angegeben worden. So ist besonders die Art der Teilung der Spirochäten, welche vorher von den meisten als Längsteilung angenommen worden war, letzthin wieder angezweifelt worden. Auch nahm man früher wenigstens bei den gröberen Spirochäten das Vorkommen einer undulierenden Membran und geschlecht-

licher Formen (Schaudinn, v. Prowazek) an. Von diesen beiden Forschern wurden nämlich die bei den Trypanosomen bekannten Vorgänge auf ähnliche Bilder bei den Spirochäten übertragen. Bei meinen Untersuchungen habe ich bei den kultivierten Spirochäten niemals im Dunkelfeld das Vorkommen einer undulierenden Membran beobachtet. Ebenso wenig habe ich jemals den Ablauf einer Teilung im Dunkelfeld vollkommen beobachten können, vielmehr immer nur einzelne Stadien, aus denen bindende Schlüsse zu machen nicht möglich war. Teilungsbilder waren übrigens in flüssigen Kulturen reichlicher und deutlicher als in Agarkulturen. Gegen eine Sporulation bakterieller Natur spricht vor allem die geringe Wärmebeständigkeit. So teilt Hartmanni (23) mit, daß Spirochäten aus syphilitischen Affektionen bereits bei 45° C in einer Stunde abgetötet werden.

Übrigens gibt es eine Spezies der großen Wasserspirochäten [Kristospiren, Gross (21)], die in den heißen Thermen von Dax (9) lebende, welche selbst bei einer Temperatur von 58° C fortkommt.

Für die Kulturspirochäten (Pallida) konnte ich das nun freilich nicht bestätigen. Bei einer zufälligen Erhöhung des Thermostaten durch Versagen des Thermoregulators auf 45° während mehrerer Tage wurden die Kulturspirochäten nicht abgetötet. Ich habe, um die Grenze des Wachstums der Pallida in Kulturen zu ermitteln, eine Reihe von Versuchen angestellt.

Thermo-Versuch.

Angelegt am 23. VII. 13; untersucht 29. VII. 13. Ausgangsmaterial gut bewachsene Serumbouillonkultur (30. Generation). Nach dem Versuch wird in jedem Fall eine neue Übertragung gemacht. Im Wasserbade erwärmt nach

				Beweglichkeit	Frische Kultur (Wachstum) (mehrfach untersucht)
1.	2	Minuten	bei 50° C	+	+++
2.	5	"	" 50° C	+	+++
3.	10	"	" 50° C	+	+++
4.	2	"	" 56° C	+	+++
5.	5	"	" 56° C	+	+++
6.	10	"	" 56° C	+	+++
7.	5	"	" 65° C	?	?
8.	5	"	" 70° C	?	?
9.	2	"	" 80° C	0	0
10.	Einmaliges Aufkochen			0	0

Die Grenze des Wachstums lag also bei etwa 60° C nach einer Erwärmung von 5 Minuten. Durch eine Kontrolluntersuchung von Prof. Zettnow wurde ein gleiches Resultat ermittelt, nämlich, daß während 5 Minuten

im Wasserbade bei 65° gehaltene Kulturen ihre Beweglichkeit verloren hatten und nicht mehr übertragbar waren. Daraus ergibt sich eine stärkere Resistenz gegen Hitze als sie wohl Protozoen im allgemeinen zu vertragen pflegen, aber auch eine geringere, wie sie bei den Sporen echter Bakterien ganz besonders der Anaerobier beobachtet wird. Können doch gerade die Sporen der Bakterien, ganz besonders der Anaerobier, infolge ihrer Schutzhülle bedeutende Hitzegrade vertragen, und beruht die Reinkultur vieler von ihnen gerade auf der durch Hitze einwirkung bedingten Zerstörung der Verunreinigungen und des Zurückbleibens auskeimungsfähiger Sporen. Die angeblichen Sporen, die man bisweilen als eine Reihe von ungefärbten Körpern im langgestreckten Spirochätenleibe bei vielen Spirochätenarten finden kann, habe ich gleichfalls zu beobachten Gelegenheit gehabt. Ich halte sie für geschädigte und im Zerfall begriffene Individuen, wie man sie bei ganz alten abgetrockneten und der Luft zugänglichen Kulturen mitunter zu sehen Gelegenheit hat.

Die Spirochäten sind in Kulturen nach längerer Fortzuchtung mannigfachen Veränderungen unterworfen. Bei manchen Arten wird zunächst die charakteristische Beweglichkeit verändert. Wenn man die Pallida aus Kultur im Dunkelfeld untersucht, so findet man, daß ihre Beweglichkeit sich zumeist auf eine solche der distalen Partien beschränkt, ihre lokomotorische Beweglichkeit häufig herabgesetzt ist. Diese Veränderung sieht man bereits ziemlich früh, in späteren Generationen habe ich indessen eine weitere Abnahme im Gegensatz zu anderen Autoren nicht mehr beobachten können. Meine Stämme selbst in der 30. Generation zeigen noch das gleiche Bild hinsichtlich der Motilität wie etwa in der zweiten oder dritten. Eine Abnahme der Beweglichkeit konnte ich auch bei der Refringens beobachten; auch sie verliert in Kulturen ihre charakteristische lokomotorische Beweglichkeit, die ja im Gegensatz zur Pallida außerordentlich lebhaft ist. Die Refringens wird ferner in fortgezüchteten Reinkulturen viel kleiner und zeigt nach längerer Kultur die Neigung leicht abzusterben. Beide, Pallida und Refringens können in fortgezüchteten Generationen außerordentlich ähnlich sein, so daß ihre Unterscheidung bisweilen für den Ungeübten — im Dunkelfeld wenigstens — Schwierigkeiten machen kann. Bei einer kleinen Spirochäte, die ich in einem Fall von Darmgangrän aus einer gangränösen Darmpartie züchtete und bis zur 15. Generation weiter kultivierte, blieb die lokomotorische Beweglichkeit bis dahin recht gut erhalten.

Auch in gefärbten Präparaten der Spirochäten sind bedeutende Abweichungen gegen die Norm aus frischem Material festzustellen [s. auch Levaditi (35)]. Alle von mir kultivierten Spirochäten zeigten erhebliche Abflachungen der Windungen, ferner Verbreiterung, Abplattung der distalen Partie (Periplastfortsätze). Auch findet man in Kulturen Spirochäten

von sehr langen Dimensionen; bisweilen erreichen die Individuen in alten Kulturen fortgezüchteter Generationen die dreifache Größe normaler Spirochäten aus frischem Material. Die beigefügten Photogramme, welche ich größtenteils der Liebenswürdigkeit von Prof. Dr. Zettnow verdanke, werden diese Verhältnisse am besten illustrieren. Vergleicht man die Pallidaspirochäten aus frischem Material (Taf. IX, Fig. 5) mit solchen, die bereits 10 Generationen lang fortgezüchtet sind (Taf. IX, Fig. 6), so kann man bereits beträchtliche Differenzen wahrnehmen. Noch auffallender wird das, je weiter man die Pallida fortzüchtet, wie man sich auf der Taf. X, Figg. 7 und 8 überzeugen kann. Besonders auf der letzteren sieht man dicke Spirochätenzöpfe, bei denen Windungen überhaupt kaum mehr wahrnehmbar sind, und einzelne Spirochäten, welche fast den Eindruck von Rekurrensspirochäten machen. So wechselnd auch die Kulturspirochäten in ihrem Habitus auftreten können, so verschiedene Individuen auch in einer Kultur an Größendifferenzen und Differenzen ihres Umfanges vorkommen können, so habe ich mich doch nicht davon überzeugen können, daß man ganz bestimmte Formen, dickere, dünnere und Normaltypen generationsweise fortzuchten könne [Noguchi (52) entgegengesetzt].

Übergänge von Spirochäten zu stäbchenartigen Gebilden sind sehr häufig. Besonders in einem Fall, der bereits lange fortgezüchtet war (Pallida aus Primäraffekt), fanden sich in einzelnen Generationen vorwiegend Spirochäten, während in den nächsten auffallend viele Stäbchen beobachtet werden konnten. Diese Gebilde [Shmamimes (65) nadelartige Bakterien!] sind bereits längere Zeit bekannt, denn schon Mühlens hat sie bereits in einer seiner Arbeiten beschrieben (38). Sie finden sich bisweilen auch, was beweisend für ihre Spirochätennatur sein dürfte, in klinisch sicher festgestellten Primäraffekten ohne gleichzeitiges Vorkommen von erkennbaren Spirochäten mit typischen Windungen, sind aber ebenso wie jene schwer färbbar und zeigen eine der Pallida ähnliche Bewegung im Dunkelfeld, die dem eines wogenden Getreidefeldes ähnelt [Müller und Scherber (40)]. Gestreckte Spirochäten beschrieben auch bereits Bertarelli (5) und Ruth Tunnicliff (71). Die Annahme der letzteren, daß die Spirochäten in Bakterien übergehen können, ist schon aus dem Grunde unrichtig, weil diejenigen Bakterien, deren gemeinsames Vorkommen mit den Spirochäten zu dieser irrtümlichen Behauptung hat beitragen können, nämlich die fusiformen, sich durch Färbung, Dunkelfeld (Bewegung) und Kultur leicht von ihnen unterscheiden lassen. Auch bei anderen Spirochätenspezies habe ich derartige gestreckte Formen beobachtet. So fand ich sie gleichfalls in einer Reinkultur von Angina-Vincenti-spirochäten (Buccalis). Entsprechend den breiteren Dimensionen dieser Spirochäten waren die dort beobachteten Formen balkenartig dick.

II. Kultur der Refringens.

Nachdem von verschiedenen Autoren behauptet worden war, daß in den Kulturen aus syphilitischem Material entweder ausschließlich oder gemeinsam mit der Pallida die Refringensspirochäte sich befinde, — dazu hatte auch die Annahme eines sog. „Refringenstyp“ der Pallida beigetragen — war es erforderlich, zur Kontrolle die letztere aus Akuminaten, in denen sie häufig in enormen Mengen vorhanden ist, zu züchten. Die Akuminaten stammten von Personen, die frei von syphilitischen Affektionen waren und negative Wassermannsche Reaktion ergeben hatten. Die Kultur wurde auf die gleiche Weise wie die der Pallida durch Versenken eines Stückchens Material in verflüssigtem Serumagar erhalten. In gleicher Weise wie bei den Photogrammen, welche die Abwanderung der Pallida demonstrieren, kann man auf der Taf. IX, Fig. 4 vom Zentralkanal abgewanderte Refringensspirochäten sehen, die ebenfalls nach der Levaditimethode behandelt sind. Man kann deutlich die Unterschiede gegen die Pallida beobachten, auf der einen Seite die stark geschlängelten kleinen wie wohl ziemlich dicken Syphilisspirochäten, auf der anderen Seite die sehr langen flachen und weniger gewundenen Refringensspirochäten. Diese Differenzen schwächen sich indessen, wie schon oben erwähnt, durch längere Kultur erheblich ab; besonders im Dunkelfeld kann man dann mitunter in späteren Generationen Präparate erhalten, wo die Unterscheidung schwierig ist. Im gefärbten Präparat sind jedoch selbst bei längerer Kultur noch Differenzen zu finden. Besonders ist es die Regelmäßigkeit der Windungen, die die Pallida auszeichnet, während bei der Refringens die Windungen immer flacher werden. Auch ist die Zahl der Windungen bei der Refringens von Haus aus geringer als bei der Pallida und nimmt durch die Kultur bisweilen noch mehr ab. In alten Kulturen finden sich auch bei der Refringens zopfartige Bildungen. Auf Taf. X, Figg. 9 bis 11 sind Refringensspirochäten aus Kulturen von verschiedenen Generationen abgebildet. Die Unterscheidung zwischen beiden Spirochätenarten ist, wie man zugeben muß, in fortgezüchteten Kulturen nicht ganz einfach, besonders, wenn es sich um einzelne Individuen handelt. Trotzdem glaube ich auch nicht an eine Überwucherung der Pallida durch die Refringens, weil die Abflachung bei den Refringensspirochäten in späteren Generationen in noch vermehrter Form statthat als bei der Pallida, und dadurch meist Unterschiede vorhanden sind. Taf. X, Fig. 12 zeigt Refringensspirochäten einer Schereschewskymischkultur (etwa 6. Gen.), bei denen die Windungen extrem abgeplattet sind. Derartige Formen müssen als Degenerationsformen angesehen werden. Es ist auffallend, wie schnell sie in Kulturen sich bilden. Alle von mir gezüchteten Spezies der Spiro-

chäten, außer den genannten noch Mundspirochäten, Darmspirochäten von ulzerierenden Karzinomen, Hautgangrän usw. büßten durch die Kultur ihre charakteristischen Formen ein. Es ist daher die Kultur nicht geeignet für das Studium der typischen Morphologie der Spirochäten.

Noch eine morphologische Frage von Bedeutung ist zu erörtern, auf die vor kurzem Shmamime (65) hingewiesen hat, und die ich gleichfalls seit langem verfolgt habe, das ist das Auftreten der Übergangsformen von Pallida und Refringens in frischem Material. Die Frage ist zugleich von praktischer Bedeutung; denn darauf stützt sich ja die morphologische Diagnose der Sp. pallid. Die ersten Untersucher haben nach den bekannten Kriterien streng zwischen Pallida und Refringens geschieden. Ich habe nun eine ganze Reihe von Fällen beobachtet, und zwar vorwiegend bei Primäraffekten vom Manne, bei denen entweder gar keine Pallida oder wenige und zumeist nur refringensartige Spirochäten festgestellt werden konnten, obwohl die tiefliegenden Partien der exstirpierten Gewebstücke untersucht worden waren. Trotzdem enthielten die ersten Kulturen nur Pallida, und es ist mir niemals mit Sicherheit gelungen, auch nur eine einzige Refringensspirochäte in ihnen nachweisen zu können. Das spricht doch dafür, daß diese beschriebenen Formen der Pallida angehörten, um so mehr, weil die zur Aussaat benutzten Partien in der Tiefe lagen und die Refringensspirochäten bei ihren vorwiegend saprophytischen Eigenschaften kaum so weit in das Innere der Gewebe eindringen dürften. Die schematische Unterscheidung zwischen Pallida und Refringens scheint daher in der Weise, wie sie von den ersten Untersuchern aufgestellt worden ist, nicht mehr gerechtfertigt zu sein. Keinesfalls ist aber an eine Umwandlung der einen Spezies in die andere zu glauben, noch kann dadurch die Spezifität der Pallida erschüttert werden. Niemals wird sich die Pallida in eine wirkliche Refringensspirochäte trotz scheinbarer morphologischer Ähnlichkeit umwandeln können. Denn gegen diese Annahme spricht bereits das Vorkommen der Refringens beim Gesunden, sowohl wie auch bei solchen, die an eiternden Prozessen (Balanitis, Akuminaten) leiden. Prozesse, die sicher nichts mit Syphilis gemeinsam haben.

III. Tierexperimente.

War somit der morphologische Beweis der Identität der aus syphilitischem Material gezüchteten Spirochäten mit der Pallida nicht vollkommen, sondern nur mit annähernder Wahrscheinlichkeit zu erbringen, so hätte der Ausfall der Tierexperimente eine desto größere Bedeutung gehabt, wenn er den Nachweis der gelungenen Übertragung der Syphilis hätte zeigen können. Leider waren meine eigenen Versuche wenig erfolgreich, da ich nicht über einen einzigen Versuch verfügte, bei dem mir

die Übertragung einer im Verlauf der Syphilis vorkommenden Affektion vermittelt länger fortgezüchteter Reinkulturen mit positivem Spirochätenbefund gelungen wäre.

Andere [Sowade(67), Tomaszewski(69), Igersheimer(28,29) u. a.] waren mehr vom Glück begünstigt, so daß das Tierexperiment wenigstens für einzelne seltene Fälle den absolut sicheren und auch für fernstehende Skeptiker überzeugenden Nachweis hat liefern können, daß die Pallida kultivierbar, und daß selbst in weiteren Generationen der Kultur die Übertragung möglich ist. Der Grund für das Versagen der meisten Übertragungsversuche ist einmal in einer Abschwächung der Pallida durch die Kultur zu suchen, welche ihren Lebensbedingungen widerspricht. Ferner gelingen Tierexperimente selbst mit frischem syphilitischem Material sowohl bei Affen wie auch bei Kaninchen durchaus nicht regelmäßig, sondern nur in einer gewissen Zahl von Fällen, da begreiflicherweise die Übertragung einer ausschließlich beim Menschen vorkommenden Infektionskrankheit auf Tiere eine gewisse Auslese bedingt. Für die Richtigkeit dieser Annahme spricht auch die Schwierigkeit bei der Anlage der Passagestämme beim Kaninchen. Wie bekannt, ist die erste Passage gewöhnlich schwierig und nur nach Übertragungsversuchen auf eine größere Zahl von Tieren erfolgreich.

Auch Levaditi (35) erzielte die gleichen negativen Resultate mit einer von Noguchi übersandten Originalkultur. Mit dieser Kultur, mit der Noguchi bei einem Affen einen Primäraffekt von ziemlich erheblicher Ausdehnung hervorgerufen hatte, ohne daß es zum Ausbruch sekundärer Erscheinungen gekommen wäre, vermochte Levaditi bei zahlreichen Tierversuchen kein einziges positives Resultat zu erzielen. Die Schlußfolgerung Levaditis, daß diese Kulturspirochäten nicht mit der Pallida Schaudinns identisch sei, sondern mit einer anderen morphologisch ihr ähnlichen Spirochäte, die er „gracilis“ nennt, vermag ich nicht zu teilen. Diese Gracilis ist nichts anderes als die kultivierte und morphologisch veränderte Pallida.

Über meine Tierversuche will ich kurz berichten. Bei 5 Makaken wurde Kulturmaterial von 8- bis 10 tägigen Kulturen in bekannter Weise nach Skarifikation der Stirn mittels Platinösen eingerieben, ferner intradermal in die Stirn verimpft und gleichzeitig in die Geschlechtsorgane injiziert.

Resultat: Makakus 1, infiziert mit Kulturstamm 116, 9. Gen. Am 6. Tage leichte Hodenschwellung. Später 3 Wochen nach der Infektion großes mißfarbenes Ulcus am oberen Augenrande. Taubeneigroßer sehr derber Drüsentumor auf derselben Seite am Kieferrande. Spirochäten nicht nachweisbar. Wassermannsche Reaktion anfangs negativ, später positiv. (Die Wassermannsche Reaktion bei niederen Affen, sowie bei Kaninchen ist bedeutungslos, da ihr Ausfall wechselt).

Makakus 5, injiziert mit Kultur Nr. 140, 4. Gen., durch Reichelkerze durchgewachsene noch nicht völlig gereinigte Kultur; übliche Impfmethode an der Stirn und seitlichen Schläfengegend. Am 5. XI. 12 — 25. XI. 12 an der Stirn diffuse Röte, schuppendes Ekzem — Spirochätenbefund negativ. Abgeschwächte Form des Primäraffektes?

Meerkatze (*Cercopethicus*), infiziert mit Stamm 152 am 2. XII. 12. Seit Anfang Januar 1913, liegt auf dem Rücken, völlig in ihrem Wesen verändert, ohne benommen zu sein. — 10. I. 13 Exitus. Keine Tuberkulose, sonst nichts nachweisbar; Spirochätenuntersuchung negativ.

Auch bei zahlreichen Kaninchenversuchen, die zumeist mit Reinkulturen älterer Generationen, bisweilen auch mit frischen, wenn auch nicht vollkommen reinen Kulturen angestellt wurden (intrakardial, intraskrotal, intravenös, intraperitoneal, subkutan und in die Karotis), waren meist nur wenig charakteristische Allgemeinerscheinungen wie Schnupfen, Bindehautkatarrh, Abmagerung, Haarausfall usw. zu beobachten gewesen. Auch in den von Haaren entblößten Hautpartien konnten Spirochäten nicht gefunden werden. Bei mehreren Kaninchen wurde das Gehirn frisch im Dunkelfeld und nach der Methode von Fontana (16) auf Spirochäten mit negativem Erfolg untersucht. Nur in einem Falle wurde nach Injektion einer Mischkultur in die Hoden eines Kaninchens Hodenschwellung mit ganz vereinzelt Spirochäten beobachtet. Bei einem weiteren Kaninchen fand sich einige Zeit nach der Injektion eine Paraparese der unteren Extremitäten und bei der Sektion Blasenlähmung. Ein ähnlicher Befund ist auch von Weigandt und Jacob (76) beschrieben worden nach Injektion von frischem syphilitischen Material. Da indessen in meinem Falle gleichfalls der Nachweis der Spirochäten nicht erbracht werden konnte, lasse ich es unentschieden, ob nicht eine andere Ursache für die Lähmung vorlag. Bekanntlich ist besonders die Kokzidieninfektion imstande, ganz ähnliche Erscheinungen hervorzubringen.

Bei Mäusen waren selbst bei größeren Mengen von flüssigen Kulturen, intravenös injiziert, irgend welche Erscheinungen nicht zu beobachten.

IV. Biologische Untersuchungen.

1. Agglutination und Präzipitation.

Die Reaktion auf das Vorkommen von Agglutininen wurde in der üblichen Weise angestellt. Aktive syphilitische Seren, welche starke positive Wassermannsche Reaktion ergeben hatten, wurden mit den gleichen Mengen von vielen Spirochäten enthaltenden etwa 14 Tage alten Agarkulturen versetzt. Die Spirochäten wurden vom Bodensatz abpipettiert, mit der gleichen Menge Kochsalzlösung versetzt und einige Minuten geschüttelt.

Von der homogenen, dicht getrübbten Flüssigkeit, die noch zahlreiche, gut erhaltene und lebende (Dunkelfeld-)Spirochäten enthielt, wurden Dosen von je 0.1^{ccm} dem spezifischen Serum und seinen Verdünnungen zugesetzt. Ich habe in keinem Falle eine Agglutination beobachten können. Nur in einigen wenigen Fällen schien mir bei starker Konzentration des Serums eine geringe Lyse vorhanden zu sein. Auch Uhlenhuth und Mulzer (71, 72, 73) konnten mit dem Serum von syphiliskranken Menschen keine Agglutination der Spirochäten von Passagetieren (Kaninchenhoden) erhalten [Zabolotny (80) entgegengesetzt]. Auch eine Präzipitinreaktion, welche von Fornet und Schereschewsky (16) bei Syphilis angegeben worden ist, konnte von mir mittels Kulturspirochäten nicht festgestellt werden. Von der Agglutination verschieden ist die Agglomeration, d. h. die mikroskopische Anhäufung von gut erhaltenen, beweglichen und weiter übertragbaren Spirochäten. Dieser Vorgang, der nichts mit einer immunisatorischen Reaktion zu tun hat, ist sehr häufig in jungen Bouillonkulturen zu beobachten. Es scheint, als ob er dadurch zustande kommt, daß die Spirochäten sich um einen Kern begleitender Bakterien ansiedeln, die ihnen in irgend einer Weise günstige Entwicklungsbedingungen verschaffen.

2. Komplementbindung mit Kulturspirochäten.

Die Wassermannsche Reaktion verdankt bekanntlich ihre Entdeckung dem Umstande, daß zu der Zeit, wo die Kultur der Spirochäten noch nicht bekannt war, als Ersatz dafür Organe von Syphilitikern, besonders von Kindern mit kongenitaler Lues zur Anstellung der Komplementreaktion von Bordet und Gengou benutzt wurden. Wassermann nahm mit Recht an, daß sich in diesen Organen Spirochäten in großen Mengen befänden und sich aus ihnen durch Extraktion Antigene gegen Syphilis gewinnen lassen müßten. Die Reaktion war daher ursprünglich als eine reine Antigenantikörperreaktion gedacht. Diese Annahme ist in der Folge vielfach bestritten worden, da sich ergab, daß die Reaktion zwar für Syphilis spezifisch ist, aber zu ihrer Ausführung unspezifische Extrakte und viele andere Körper verwandt werden können („Lipoidreaktion“). Über das Wesen der Wassermannschen Reaktion sind wir heute noch vollkommen im Unklaren. Im allgemeinen wird sie als ein Zeichen noch nicht erloschener Syphilis aufgefaßt und als ein Symptom dafür, daß sich irgendwo im Körper noch lebende Spirochäten aufhalten [E. Hoffmann (26) u. a.]. Diese Annahme berechtigte zu dem Schluß, daß die durch Komplementablenkung bewirkte Antigenantikörperreaktion mit der Lipoidreaktion parallel gehe. Dafür liegen aber bisher Beweise nicht vor, denn die wenigen Untersuchungen widersprechen sich vollkommen [Mühlens (38), Hoffmann (27), Noguchi (47)]. Ganz besonders ist über die Lebens-

tätigkeit und die biologischen Eigenschaften der Spirochäten so gut wie gar nichts bekannt. Man könnte sich ihre Tätigkeit derart vorstellen, daß infolge eigentümlicher Zerlegungen der Körpersäfte, in denen sie vegetieren, Spaltungen vor sich gehen, welche eine Umwandlung von Albuminaten in fettähnliche Substanzen (Lipoide) zur Folge haben. Durch eine mikroskopische Untersuchung der Kulturen selber läßt sich indessen nachweisen, daß die Spirochäten in dem Nährboden keine merkbare Umsetzung des zugefügten Eiweißes in Fett bewirken. Härtet man nämlich die Kulturen in Formol, schneidet sie dann mit dem Mikrotom und behandelt sie mit fettfärbenden Mitteln (Sudan), so kann man bei derartig behandelten Schnitten keinen Unterschied in der Färbung finden zwischen den von Spirochäten bewachsenen Partien und solchen, die frei von ihnen sind.

Bei der Anstellung der Komplementbindungsreaktion mußte eine große Zahl von Fehlerquellen vermieden werden, die aus dem Kulturmaterial selbst sich ergeben konnten. Es war erforderlich, alle die Bestandteile aus dem Nährboden auszuschalten, die an und für sich anti-komplementär zu wirken vermögen. Das sind Peptone, Albumosen, Serum, Blut, vielleicht auch der Agar. Ich habe zuerst Agarkulturen benutzt und dabei folgendes Verfahren angewandt. Es wurde nur der unterste Teil der Kulturen benutzt, soweit ein Wachstum festgestellt werden konnte. Mehrere Kulturen wurden nach Befreiung von dem zugefügten Gewebstück abgewogen, dann in einem Mörser mit Seesand oder zerstoßenen Glasstücken fein zerrieben, und Kochsalzlösung im Verhältnis von 1:5 zugefügt. Dann wurde kurz zentrifugiert. Die gröberen Partikel sammeln sich am Boden an. Der Abguß wird nun nochmals und zwar für mehrere Stunden mittels der großen elektrischen Zentrifuge zentrifugiert. Im Bodensatz finden sich weißliche Massen von Spirochäten. Nach Entfernung der obenstehenden Flüssigkeit wird der Rückstand, um jede Spur vom Serum zu entfernen, nochmals gewaschen und zur Konservierung Karbolsäure zugesetzt (0.5 Prozent). Die Emulsion muß am nächsten Tage längere Zeit geschüttelt werden, da sich sonst die Spirochäten wieder am Boden des Glases ansammeln. Auch ist es notwendig, sie bald zu verbrauchen, weil sich sonst unsichere Resultate ergeben können. Als Kontrollen wurden mit normalem Serumagar hergestellte Emulsionen, ferner solche von verschiedenen Bakterien, anderen Spirochäten z. B. Refringenskulturen und aus Rattenblut aus geschleuderte Rekurrensspirochäten, Spirillum volutans und ähnliche mehr benutzt. Auch wurden Kontrollen angelegt mit Antigenen aus syphilitischer Leber und Meerschweinchenherzextrakt. Ferner wurden geprüft alkoholische Extrakte aus Kulturspirochäten. Als sehr umständlich hat sich erwiesen, jede von diesen Kontrollen im Vorversuch auf Eigenhemmung zu untersuchen.

Die ersten Bindungsversuche waren wenig erfolgreich. Erst nach Austitrierung des Komplements, wodurch sich eine geringere Dosis als die übliche ergeben hatte, konnten bessere Resultate erzielt werden. Es wurde nämlich gefunden, daß 0.3 Komplement von dem zuerst hergestellten Antigen etwa in Dosen von 0.5 gebunden wurde. Die Wirksamkeit der Kulturspirochäten war demgemäß nur schwach. Später gelang es allerdings bei Anwendung alter Kulturstämme und nach längerer Entwicklungszeit der Spirochäten, Antigene zu erzielen, welche 0.5 Komplement zu binden imstande waren. Es entspricht der alten Bordetschen Forderung, daß zur Absättigung des Komplements reichliche Mengen von Mikroorganismen erforderlich sein müssen. Ferner scheint auch von Bedeutung zu sein eine abgeschwächte Aktivität der Kulturspirochäten. Die alkoholischen Extrakte ergaben niemals Hemmung.

Die Komplementbindung erfolgte nach dem folgenden Schema.

Tabelle I.

Kompl. 0.3 (1:10). Amboz. 3—4 × komplett lösende Dosis.
0.5 5 prozentige Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen.

		Wässriges Spirochäten- Antigen	Syphilitischer Leberextrakt	Lipoid (Meerschwein- chenherz)	Normaler Agar	Rekurrens- spirochäten	Fäulnis- bakterien	Spirillum volutans	Alkohol. Spirochäten- extrakt
I.		0.1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.2	0.2	0.2
Sicher syphilitisches Serum	0.1	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.1	0.1	0.1
	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—
II.		0.1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.2	0.2	0.2
Kontrollserum (sicher nichtsyphilitisch)	0.1	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.1	0.1	0.1
Normalserum	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—

(Dosen je nach der Eigenhemmung wechselnd.)

Nicht alle Kontrollen wurden gleichzeitig angelegt, sondern meist nur ein Teil von ihnen. Die Dosis der Antigene wechselte je nach dem Titer der Eigenhemmung. Außer den aus Agarkulturen hergestellten Antigenen wurden dann später vorwiegend solche aus flüssigen Serum- bouillonkulturen benutzt. Es bietet die Herstellung dieser Antigene den Vorteil der Einfachheit, weil die Entfernung der Agarmassen fortfällt; ferner sind auch etwaige unspezifische Hemmungen durch die Einwirkung der Nährstoffe des Agars nicht zu befürchten. Um die in der Kultur be-

findlichen aus den zugesetzten Gewebstücken stammenden wenigen Blutkörperchen zu entfernen, wurde wie bei den Agarkulturen zuerst langsam zentrifugiert. Der Rückstand wurde entfernt und der Flüssigkeit einige Tropfen Formollösung hinzugesetzt, wodurch die Spirochäten nach ihrer Abtötung leichter zu Boden gerissen werden. Dann wurde zum zweiten Mal scharf und längere Zeit (etwa 2 Stunden) zentrifugiert. So wurden Antigene erhalten, welche bei weitem mehr Spirochäten enthielten als aus den Agarkulturen zu gewinnen waren, was sich äußerlich durch einen stärkeren weißen Bodensatz zu erkennen gab, welcher nur aus Spirochäten bestand.

Von der Publikation der ersten Versuchsreihe der untersuchten Seren will ich absehen, da die Resultate wie erwähnt infolge der wenig wirksamen Antigene unbefriedigend waren, ferner auch deswegen, weil mir die genaueren Diagnosen der betreffenden Fälle nicht bekannt waren. Im weiteren Verlauf wurden dann untersucht 36 Seren von Luetikern, meist Lues II, Lues latens und einige mit Lues III, mehrere paralytische Liquoren, ferner 20 Seren, welche mir als negativ übergeben waren. Das Resultat der mit dem Spirochätenantigen angestellten Reaktion ergibt, wie man aus den mitgeteilten Resultaten ersieht, vielfach die gleichen Resultate, welche man mit der Wassermannschen Reaktion erhält. Doch waren auch mehrfach gerade in solchen Fällen von sicherer Lues, besonders Lues II, wo die Wassermannsche Reaktion eine sehr starke Hemmung ergeben hatte, auffällig viele Differenzen in der Intensität oder gar Ausfälle zu verzeichnen. Umgekehrt fanden sich auch bei einer Reihe negativer Seren unspezifische Bindungen und zwar gerade bei solchen (Fluor albus, Ekzem usw.), wo durch Anamnese und Krankheitsverlauf jeder Verdacht einer bestehenden Lues ausgeschlossen war. Soweit ein Schluß bei der geringen Zahl der geprüften Seren erlaubt ist, kann man sagen, daß die Spirochätenreaktion (Antigenantikörperreaktion) zwar häufig mit der Wassermannschen Reaktion (Lipoidreaktion) parallel geht, daß sie aber der Konstanz entbehrt. Die abweichenden Resultate anderer Untersucher beruhen wahrscheinlich auf dem erwähnten Mißstande der Anwendung zu jungen und schlecht entwickelten Kulturmaterials.

Die Annahme ist daher sicher gerechtfertigt, daß die Komplementbindungsreaktion mittels Kulturspirochäten bei der Syphilis nicht geeignet ist, die Wassermannsche Reaktion zu verdrängen, da ihre Resultate so wenig zuverlässig sind. Für die Praxis kommt sie um so weniger in Betracht, weil daneben auch die Herstellung der Antigene mit großen kulturellen Schwierigkeiten verknüpft ist.

Um größere Mengen Kulturmaterials behufs Anstellung einiger chemischer Versuche mit isolierten Spirochäten zu gewinnen, habe ich sie

Tabelle II.

	Wässrige Spirochäten- emulsion	Alkoholischer Meersch.- Extrakt = Lipoid	Alkoholischer syphilitischer Leberextrakt
1. Lues	+	+	+
2. „ II.	+	+	+
3. „ cerebri (unbeh.)	+	+	+
4. Frische Lues.	+	+	+
5. Ulcus cruris. Lues III	+	+	+
6. Lues III	+	+	+
7. „ III	+	+	+
8. „ II	0	+	±
9. Lues II.	0	+	+
10. Lues II.	±?	+	+
11. Halslues	+	+	+
12. Lues II.	±?	+	+
13. Meningitis gummosa	+	+	+
14. Lues II.	+	+	+
15. „ II.	+	+	+
16. Paralyse	0	+	+
17. Paralyse	+	+	—?
18. Lues II.	0	+	+
19. „ II.	+	+	0
20. Luespapeln, Nephritis luetica	±?	+	+
21. Lues, Exanthem	+	+	+
22. „ III	+	+	+
23. Paralyt. Liquor	+	+	—?
24. Lues II.	±?	+	+
25. „ II.	+	+	+
26. „ cerebri	+	+	+
27. Arteriosklerose	+	±?	±
28. Lues II.	0	+	+
29. Lues II.	+	+	+
30. „ II, Exanthem u. Iritis	+	+	+
31. Paralyt. Liquor	+	+	+
32. „ „	+	+	+
33. „ „	+	+	+
34. Lues cerebri	±?	+	0
35. Lues II, Gehirnlues	+	+	+
36. „ II.	0	+	+

Tabelle III.

	Wässrige Spirochäten- emulsion	Alkoholischer Meerschw.- Extrakt = Lipoid	Alkoholischer syphilitischer Leberextrakt
1. Negativ (ohne Diagnose)	0	0	0
2. „ („ „)	0	0	0
3. Gonorrhoe.	0	0	0
4. „	± ?	0	0
5. Fluor	0	0	0
6. Ekzem	+ ?	0	0
7. Bubo inguinalis	+	0	0
8. Urticaria	0	0	0
9. Keratitis scrophulosa	0	0	0
10. Cholelithiasis	0	0	0
11. Epilepsie	0	0	?
12. Fluor	+	0	0
13. Ulcus cruris	0	0	0
14. „ „	0	0	0
15. Diabetes	0	0	0
16. Asthma	0	0	0
17. Angina	0	0	0
18. Apoplexie	0	0	0
19. Vitium cordis	0	0	0
20. Ekzem	+	0	0

Der Vereinfachung wegen wurde der Ausfall nur mit + = positiv oder 0 = negativ bezeichnet, ohne Rücksicht auf die Intensität der Reaktion. — Die Differenzen im Ausfall sind unterstrichen.

im hohen Kolben mit einem Inhalt von $2\frac{1}{2}$ Liter Serumbouillon (und Gewebstücken) gezüchtet. Nach einer Dauer von 3 Wochen im Thermostaten wurde mehrfach zentrifugiert, der Niederschlag nach dem Entfernen der Flüssigkeit zuerst mit Kochsalzlösung, dann mit destilliertem Wasser nochmals zentrifugiert und in einer Schale im Trockenapparat getrocknet. Die getrocknete Masse wurde mit dem Messer aus der Schale abgekratzt. Ihr Gewicht war sehr gering und betrug nur 0.2^{cm}. Im Dunkelfeld wurde festgestellt, daß der Rückstand aus amorpher Masse bestand und keine Spirochäten mehr enthielt. Mit dieser äußerst geringen Quantität wurden zuerst einige Reaktionen vorgenommen, ferner dann mit dem Rest mehrere Bindungsversuche angestellt. Der Rückstand war unlöslich in Wasser, dagegen in Alkohol und in Ätheralkoholgemischen teilweise löslich, die Xanthoproteinreaktion schwach, die Biuretreaktion stark positiv. Die Hälfte der Substanz wurde in 10^{cm} Wasser (0.1:10 = 1 Prozent) eine Stunde im Schüttelapparat geschüttelt.

Es hatte sich eine schwach milchige Emulsion gebildet, der weitaus größte Teil fiel aber wieder zu Boden. Die mit der Emulsion angestellten Komplementbindungsversuche fielen negativ aus.

Es wäre verfrüht, aus dieser geringen Zahl von Versuchen Schlüsse zu ziehen über die Wirksamkeit der Spirochäten und der in ihnen enthaltenen Substanzen. So viel erscheint sicher, daß die alkohollöslichen in den Spirochäten enthaltenen Substanzen nicht die Ursache der Wassermannschen Reaktion sein können; dazu ist ihre Quantität, wie sich auch bei der oberflächlichen Prüfung ermitteln ließ, viel zu gering. Bekanntermaßen enthalten andere Mikroorganismen ganz besonders die Tuberkelbazillen, in ihrer Leibessubstanz in viel höherem Grade fettartige Körper, ohne daß sie als Antigene gegen Syphilis benutzt werden können. Die Annahme, daß die Spirochäten durch Zerfall ihrer Körpersubstanzen zum Zustandekommen der Wassermannschen Reaktion beitragen, ist wie wenigstens die Untersuchungen an Kulturspirochäten ergeben haben, wenig wahrscheinlich, wenn auch die Ergebnisse der Komplementbindung dafür zu sprechen scheinen. Gegen diese Annahme spricht auch außer der geringen Löslichkeit der Spirochäten in fettlösenden Mitteln die Tatsache, daß die Komplementbindung nicht durch alkoholische Extrakte der Spirochäten zustande kommt (auch Noguchi). Es läßt sich ferner nicht annehmen, daß die Menge der Spirochäten im Organismus zu allen Zeiten, wo die Wassermannsche Reaktion positive Resultate ergibt, eine derartig große ist, daß ihre zu Grunde gegangenen Leiber imstande sind, die Reaktion auszulösen, wenn das nicht mit Kulturmaterial gelingt, in dem doch Spirochäten in ungeheuren Mengen enthalten sind. Vielmehr tragen meine Untersuchungen zur Stütze der Anschauung bei, daß nicht die Spirochäten als solche, das Zustandekommen der Wassermannschen Reaktion bewirken, sondern ihre Stoffwechselprodukte, welche, vielleicht durch Bildung gewisser Fermente, reaktive Veränderungen spezifischer Natur in den Geweben oder Abspaltung von Lipoiden veranlassen (Gewebsreaktion).

3. Weitere biologische Untersuchungen.

Auf Veranlassung von Geheimrat v. Wassermann wurde die Frage geprüft, ob durch Injektion von Spirochätenkulturen in die vordere Augenkammer von Kaninchen sich im Kammerwasser Antikörper gegen Syphilis bilden können (gemeinsam mit Dr. Hoefler). Es wurde Kaninchen mit einer feinen Spritze Kulturmaterial, zumeist Agarkultur, in die Kammer gespritzt und nach 6 bis 10 Tagen das wieder angesammelte Kammerwasser entfernt und untersucht. Bei einem Teil der Fälle trat Pan-

ophthalmie ein. Ob eine verunreinigte Kultur oder mechanische Momente durch starken Druck bei Auspressung des Agars aus der engen Kanüle sie veranlaßt hat, lasse ich dahingestellt. In anderen Fällen erfolgte meist Trübung der Hornhaut. Es entspricht dies schon bekannten Versuchen von Leber (34) und Schellak (61). Ersterer konnte durch Injektion selbst abgetöteter Trypanosomen Keratitis und Trübung hervorrufen. Schellak gleichfalls durch Einträufelung lebender Spirochäten (aus Passagestämmen) in den Konjunktivalsack. Igersheimer (30) führt die Entstehung derluetischen Keratitis nicht auf die Spirochäten selbst, sondern auf die durch ihren sehr reichlichen Zerfall freiwerdenden Stoffwechselprodukte zurück (5·0). — Der Versuch, Antikörper zu gewinnen durch Injektion von Kulturmaterial in die Kammer, verlief negativ.

Es wurden dann ferner Meerschweinchen Schilfsäckchen, die mit Spirochätenkulturen gefüllt waren, in die Bauchhöhle versenkt, um die Frage einer Bildung von Antikörpern zu studieren. Nach einer Zeit von 14 Tagen wurde das Blutserum der Meerschweinchen vermittelt der Wassermannschen Reaktion geprüft. Es ergab sich, daß keinerlei Antikörper gebildet worden waren.

Schließlich wurde noch ein Adsorptionsversuch mit lebenden Spirochäten bei 0° angestellt.

Serum I. Sicher syphilitisch (Wassermannsche Reaktion stark positiv).

„ II. Normales Serum.

„ I. 0·8 + 1·2 NaCl + 2^{ccm} Spirochätenemulsion (Dunkelfeld + + +).

„ II. 0·8 + 1·2 NaCl + 2^{ccm} „ („ + + +).

beide 1 Stunde bei 0° C.

Nach einer Stunde werden die Spirochäten abzentrifugiert und beide Seren in absteigenden Dosen auf das Vorhandensein spezifischer Antikörper geprüft. Auch dieser Versuch ergab kein positives Resultat, indem das syphilitische Serum keine Abnahme der Wassermannschen Reaktion zeigte.

Resistenz, Giftfestigkeit und Gewöhnung der Spirochäten.

Im Verlauf vieler bakterieller wie besonders auch von Protozoen verursachter Erkrankungen treten Remissionen auf, die später von neuen Nachschüben abgelöst werden. Solche Intervalle sind auch im Verlauf der Syphilis sehr häufig. Erklärt wird die Tatsache durch die Bildung von „potenten Antikörpern“ (13), welche eine Vernichtung der Parasiten herbeiführen können. Derartige Antikörper können spontan unter Einfluß der natürlichen Kräfte des Organismus oder aber durch die Einwirkung von Arzneistoffen gebildet werden. Sind die gebildeten Antikörper zu schwach,

um die Parasiten abzutöten, so gewöhnen die Mikroorganismen sich an sie und bilden arzneifeste Stämme. Nach Ehrlich bedarf es, um derartige Stämme zu erzeugen, nur weniger überlebender und angepaßter Individuen, um nach einiger Zeit eine Vermehrung der Parasiten und dadurch ein Rezidiv zustande kommen zu lassen. Da die Abscheidung der dem Organismus intravenös einverleibten Körper sehr schnell vor sich geht, so kann bei zu geringen Dosen eines spezifischen Arzneikörpers und großer Resistenz der Parasiten die „Sterilisatio magna“ ausbleiben, besonders wenn die Parasiten sich an schwer zugänglichen Stellen befinden, z. B. im Gehirn oder in Knochenkanälchen. Erklärt wird das Auftreten arzneifester Stämme durch die Verankerung der Arzneimittel an die Chemozeptoren der Parasiten. Die Rezidivparasiten haben ihre Rezeptoren für die Antikörper, die den Ausgangsstamm abzutöten vermögen, vollkommen eingeübt.

Im einzelnen sind die Vorgänge bei der Bildung der giftfesten Parasiten noch wenig bekannt, insbesondere bei der Syphilis. Die meisten Untersuchungen beziehen sich auf Trypanosomen und Rekurrensspirochäten. Sie sind gemacht worden durch Anlegung von Mäusepassagen, in vitro fehlen derartige Untersuchungen fast vollkommen.

Die Versuche in vitro sind bekanntlich den Vorgängen im Körper nicht gleichwertig zu setzen. Sie müssen mit Vorsicht beurteilt und die möglichen Fehlerquellen einer genauen Kritik unterzogen werden. Ganz besonders schwer wird die Beurteilung in vitro, wenn den Kulturen, wie es bei den Spirochäten erforderlich ist, Blutserum zugesetzt wird. Nach Ehrlich (15) und Busk (7) findet nämlich bei Zusatz von Blutserum zu den Nährböden eine Bindung vieler der zu prüfenden Körper im Reagensglase statt, so daß sie in der Entfaltung ihrer Wirksamkeit beträchtlich behindert sind, wenn sie auch an und für sich keine Eiweißfällung bewirken. Die Verankerung chemischer Stoffe kann daher im Reagensglase durch Zusatz des Blutserums gehindert werden. Trotz dieser Schwierigkeiten wurde versucht über die Wirkungsweise einiger gegen Syphilis angewandter Arzneimittel und über ihre direkte spirillotrope Wirkung im Reagensglase Aufklärung zu gewinnen. Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt:

Reagensgläschen wurden in hoher Schicht mit genau abgemessenen Mengen Nährmaterial gefüllt, und zwar mit 15^{cem} Bouillon und 5^{cem} Pferdeserum, ferner wurde ihnen das übliche Stückchen Kaninchenniere zugefügt. Diesem Nährboden wurden steigende Mengen von Quecksilberpräparaten zugesetzt und sofort nach dem Zusatz mit Spirochätenkulturen geimpft. Ausgangsmaterial bildete zunächst eine Agarkultur, später wurden von dieser ausgehend immer Bouillonkulturen angelegt. In normalen

Bouillonkulturen kann man bereits nach 5 bis 6 Tagen bei meinen fortgezüchteten Kulturen reichliches Wachstum konstatieren. Es wurden, um die antiseptische Komponente der anorganischen Quecksilberpräparate auszuschalten, zunächst komplexe organische Quecksilberpräparate versucht. Es standen mir mehrere Quecksilberpräparate zur Verfügung, die von Schöller und Schrauth¹ hergestellt waren, und mit denen sie gemeinsam mit Cl. Schilling und v. Krogh (61) chemotherapeutische Versuche angestellt hatten. Diese Präparate sind in wässriger Lösung haltbar und koagulieren Eiweiß nicht. Auch wurde aus ihnen kein Quecksilber in metallischer Form ausgefällt, da die geringsten Spuren davon sich durch die Bildung eines schwarzen Niederschlages bemerkbar gemacht hätten. Zunächst wurde das Natriumsalz der Oxyquecksilberbenzoesäure angewandt.

Versuch I.

Angelegt am 30. I. 1913. Untersucht 14. II. 1913. Stammlösung 0·1:10·0 Aqua dest. Ausgangskultur: Agarkultur, Nr. 105, 25. Generation. Abimpfung mittels Kapillarpipetten. Die Vermehrung der Spirochäten wurde durch die Größe des Bodensatzes, sowie nach dem mikroskopischen Bilde im Dunkelfelde beurteilt.

1.	1:50 000	++++	5.	1:20 000	++++
2.	1:40 000	++++	6.	1:15 000	++++
3.	1:30 000	++++	7.	1:10 000	++++
4.	1:25 000	++++	8.	1: 5 000	0

Nimmt man die Blutmenge des erwachsenen Menschen mit 5^{kg} an, so würde sich bei einer intravenösen Dosis von 1^{grm} einer Substanz ein Verhältnis von 1:5000 ergeben. Durch den Versuch konnte festgestellt werden, daß bei Einverleibung von 0·5^{grm} des angewandten Quecksilbersalzes eine Schädigung der Spirochäten innerhalb des Körpers nicht erfolgt wäre, vorausgesetzt, daß die Verhältnisse *in vitro* denen innerhalb des Organismus gleichwertig sind.

Versuch II.

Von der letzten gut bewachsenen Kultur 1:10 000 wird wieder die folgende Versuchsreihe angelegt.

1.	1:10000	++++	4.	1:7000	++++
2.	1: 9000	++++	5.	1:6000	++++
3.	1: 8000	++++	6.	1:5000	++++

Die Grenze des Wachstums reichte bis 1:5000, wobei es unentschieden war, ob die untere Grenze bereits erreicht wurde.

¹ Mit liebenswürdiger Erlaubnis des Hrn. Dr. Schöller.

Versuch III.

Dieselbe Kulturanlage, von 1:5000 der vorigen Reihe ausgehend, am 1. III. 13 angelegt. Untersucht am 8. III. 13.

1. 1:6000	++++	5. 1:4000	++++
2. 1:5500	++++	6. 1:3000	++++
3. 1:5000	++++	7. 1:2500	++++
4. 1:4500	++++	8. 1:1000	++++

In der letzten Verdünnung waren die Windungen der Spirochäten sehr breit.

Versuch IV.

Angelegt am 11. III. 13. Untersucht am 19. III. 13. Zweite Untersuchung am 27. III. 13.

Ab Kultur 1:1000		Kontrollen: Frische Kulturen von Agarkultur Nr. 116 auf normaler Serumbouillon	
1. 1:1000	+++++		+++++
2. 1: 900	+++++		+++
3. 1: 850	++++		+++
4. 1: 800	++++		+++
5. 1: 750	verunreinigt		+++
6. 1: 700	++++		+++
Spirochäten sehr klein.			
7. 1: 650	+++		+++
8. 1: 600	+++		+++
Die meisten Spirochäten sehr gestreckt.			
9. 1: 550	+++		+
		Einzelne Spirochäten, zum Teil sehr lange, fadenartige Individuen. Beweglich.	
10. 1: 500	+++		+
Sehr klein, gut erhalten, beweglich.		Nachträglich sehr gut bewachsen +++	

Es ergibt sich, daß die Kontrollen, die mit einem anderen Stamm als demjenigen, mit dem die fortlaufenden an Quecksilber gewöhnten Reihen angelegt worden waren, fast die gleiche Widerstandsfähigkeit hatten. Bei den mit den stärksten Dosen versetzten Kontrollen waren zuerst nur vereinzelte Spirochäten zu finden, die sich dann nachher beträchtlich vermehrten.

Versuch V.

Angelegt am 22. III. 13. Untersucht am 28. III. 13.

Ab Kultur 1:500	Kontrollen: Frische Kulturen Nr. 106/116
1:500 bis 1:100	++++

Aus dem Resultat ergibt sich, daß ein Unterschied zwischen der in Quecksilber fortgezüchteten Kultur und den Kontrollen nicht besteht. Auf die Möglichkeit der verschiedenen Chemozeptoren der benutzten

Spirochätenstämme will ich hinweisen. In vitro ließen sich Spirochäten in 1 prozentiger Lösung eines organischen Quecksilbersalzes bei voller Erhaltung ihrer Beweglichkeit und geringen morphologischen Abweichungen züchten. Doch waren einzelne der Röhren getrübt und es war anscheinend nachträglich Hg ausgefallen. Das geprüfte Präparat war indessen auch im Tierversuch sehr wenig giftig, und es konnte keine Heilung damit erzielt werden (vgl. Schilling, v. Krogh, Schöller und Schrauth).

Eine zweite Versuchsreihe wurde angelegt mit dem Präparat S. 48, dessen Konstitution mir unbekannt war und von dem die Autoren angeben, daß es eine Verbindung aus der Klasse der ein- oder mehrfach substituierten Oxyquecksilberphenole darstellt.

Auch bei diesem Präparat konnte festgestellt werden, daß es in vitro fast ganz ungiftig war, und daß bei einer Konzentration von 1 Promille noch Spirochäten wuchsen.

Es wurde dann ferner ein derartiger Versuch mit HgCl_2 angestellt, dessen Desinfektionskraft ebenso bekannt ist wie seine Anwendung bei der Syphilis. Für dieses Präparat gilt ganz besonders die organotrope Wirkung, da seine keimtötende Kraft innerhalb des Organismus sehr gering ist (vgl. die Versuche von R. Koch). Ich habe eine Lösung von 0.1 in 10 Kochsalzlösung verwandt. In den hergestellten Verdünnungen blieb das Quecksilber in Lösung und bewirkte keine Eiweißfällung. Geprüft wurde mit flüssigen Kulturen, auch wurde der gleiche Stamm für die Anlegung der Kontrollen benutzt. Das Wachstum fand statt in Verdünnungen von 1:15000 bis 1:5000. Es war aber durch Gewöhnung nicht weiter zu steigern.

Ferner wurden Kulturversuche in salvarsanhaltigen Nährböden angestellt. Salvarsanversuche in vitro sind in letzter Zeit besonders mit Bakterien in größerer Zahl vorgenommen worden, so von Bettmann und Laubenheimer (8), Roos (60), Neufeld und Schiemann (44), Regenstein (58) u. a., für Spirochäten besonders von Gonder (18). Bei den meisten Versuchen konnte festgestellt werden, daß die Spirochäten in salvarsanhaltigen Lösungen in vitro unversehrt bleiben, während bekanntlich die parasitotrope Wirkung des Salvarsans im Tierexperiment von hoher Bedeutung ist. Einige nehmen daher die Mitwirkung der lebenden Körperzelle an, während nach der Ehrlichschen (14) Anschauung bestimmte Gruppierungen der Parasitenzelle ausschlaggebend sind, welche die Verbindung mit dem Salvarsan vermitteln. Roos, Neufeld und Schiemann konnten indessen die direkte entwicklungshemmende und bakterizide Wirkung des Salvarsans auch in vitro nachweisen.

Bei meinen Versuchen wurde zunächst Arsenobenzol verwandt. Das Altsalvarsan wurde in 1 prozentiger Lösung unter Zusatz von Normal-

natronlauge in destilliertem Wasser gelöst und der Serumbouillon zugefügt. Es löste sich in den ersten Versuchen bei schwacher Konzentration vollkommen in dem Kulturmaterial und blieb auch während der Dauer der Kultur 6 bis 8 Tage in gelöstem Zustand. In dem oberen Teil der Kultur konnte noch nach 8 Tagen chemisch Arsen nachgewiesen werden. Auch befand sich das Arsen nicht in Schwebefällung. Je stärker die Konzentration des zugesetzten Salvarsans war, desto schwieriger wurde seine Löslichkeit in Serumbouillon, und es mußte erst in einer Reibschale unter Zusatz von Natronlauge zerrieben werden. Hierbei ging Salvarsan verloren, so daß die Dosierung ungenau wurde. Auch fiel schon gelöstes Salvarsan mehrfach wieder aus und wurde am nächsten Tage am Boden des Röhrchens gefunden. Infolgedessen habe ich mich später des Neosalvarsans bedient, dessen leichte Löslichkeit in allen Substraten die Herstellung von Verdünnungen erheblich erleichterte. Viele von den mit Neosalvarsan versetzten Kulturen zeigten indessen im Laufe der Kulturperiode gewöhnlich schon nach wenigen Tagen eine Braunfärbung der oberen Schicht (Oxydation des Neosalvarsans). Die Braunfärbung nahm von Tag zu Tag zu, bis schließlich die ganze Kultur braun gefärbt war. Während der ersten Zeit blieb jedoch die untere Schicht, in welcher die Entwicklung der Spirochäten stattfindet, ungefärbt.

Versuch VI.

Angelegt am 30. I. 13. Untersucht am 14. II. 13. Kulturmaterial:
Frische Agarkultur 105. Stammlösung: Altsalvarsan 0·1:10·0 Aqua dest.

1. 1:50 000	++++	5. 1:20 000	++++
2. 1:40 000	++++	6. 1:15 000	+++
3. 1:30 000	++++	7. 1:10 000	sehr vereinzelt
4. 1:25 000	++++	8. 1:5 000	0

Versuch VII.

Angelegt am 16. II. 13. Untersucht am 28. II. 13.

1:14 000 bis 1:6000 positiv + + + +

Versuch VIII.

Angelegt am 4. III. 13. Untersucht am 12. III. 13. Stammlösung
0·1:10·0 Altsalvarsan.

1. 1:6000	++++	6. 1:3000	vereinzelt
2. 1:5500	++++	7. 1:2500	0
3. 1:4500	++++	8. 1:2000	
4. 1:4000	++++	eine einzelne sehr lange und in Teilung begriffene.	
5. 1:3500	vereinzelt	9. 1:1000	0

Der Versuch ergab eine Steigerung der Giftfestigkeit von Spirochäten in salvarsanhaltigen Lösungen, da die anfängliche Dosis, in der Spirochäten wuchsen, von 1:15000 bis zu 1:4000 gesteigert werden konnte; doch sind leider in diesem Falle Kontrollen mit einem anderen Stamm nicht angelegt worden. In dem vorliegenden Versuche war die Grenze des Wachstums, in der sich überhaupt noch Spirochäten fanden, bei der Konzentration von 1:4000 noch nicht völlig erreicht. Noch in 2-proz. Lösung fand sich eine gut entwickelte und vermehrungsfähige Spirochäte. Nimmt man die durchschnittliche Menge des Altsalvarsans bei einer intravenösen Injektion mit 0.5 μ m an, so würde sich bei einem Erwachsenen, dessen Blutmenge etwa 5 Liter beträgt, das Verhältnis des einverleibten Salvarsans zum Blut wie 1:10000 stellen. Der gefundenen Zahl 1:2000 sind demnach gleich zu setzen 2.5 μ m Salvarsan. Mit anderen Worten: Wenn die Verhältnisse in vitro denen in vivo entsprechen, so würde im allgemeinen eine Dosis von 0.5 μ m Altsalvarsan die wirksame Konzentration 1:10000 hervorbringen. In Ausnahmefällen könnten jedoch Spirochätenstämme vorhanden sein, bei welchen selbst 2.5 μ m Altsalvarsan noch keine wirksame Konzentration (1:2000) hervorbringen. Es ist jedoch anzunehmen, daß im lebenden Organismus die Verhältnisse anders liegen.

Die weiteren Versuche wurden mit Neosalvarsan angelegt. Sein Gehalt an Arsen ist bekanntlich geringer als der des Arsenobenzols, und es zeichnet sich vor jenem durch eine leichtere Zersetzlichkeit infolge Oxydationswirkung aus. Auf die Mitteilung der Protokolle will ich verzichten, da sie denen mit Altsalvarsan gleichen. In einer ersten Versuchsreihe wurde die Grenze, bei der Spirochäten wuchsen, in Neosalvarsanlösungen 1:2000 festgestellt; in den von dieser Kultur angelegten Subkulturen konnten noch bei 1:900 vereinzelte kümmerliche Spirochäten nachgewiesen werden. Mehrfach, und durch zahlreiche Kontrolluntersuchungen sichergestellt, konnte festgestellt werden, daß in manchen Kulturanlagen bei der ersten Untersuchung nach 6 Tagen eine äußerst sparsame Entwicklung von Spirochäten stattgefunden hatte, die sich später bei wiederholter Untersuchung außerordentlich vermehrt hatten. Auch diese Versuche mit Neosalvarsan sprechen dafür, daß anfänglich eine Salvarsanwirkung in vitro stattgefunden hat, welche aber zu schwach war, um sämtliche Spirochäten abzutöten, und daß später, nach Zerlegung des Salvarsans, die wenigen überlebenden Spirochäten sich zu vermehren Gelegenheit fanden, dieselbe Anschauung, welche auch Ehrlich für den Eintritt der Rezidive im Verlaufe der Syphilis annimmt.

Vergleichen wir schließlich noch einige Angaben über die Resistenz von Spirochäten aus lebendem syphilitischen Material mit solchen, die von Kulturspirochäten gewonnen wurden. Uhlenhuth und Mulzer geben an, daß Sublimat in 1 promilliger Lösung schnelle Zerstörung der Spirochäten bewirke, 0.5 prozentige Karbolsäure, Saponin ebenfalls, doch kann dabei die Form erhalten bleiben. Auch gegen 5 prozentige Antiforminlösung sollen sie nach diesen Autoren relativ widerstandsfähig sein. Für Kali- und Natronlauge sind sie weniger empfindlich als gegen Säuren. Sowade (66) gibt an, daß Alkohol in einer Konzentration über 70 Prozent Spirochäten in Kulturen vernichtet. Ich habe Spirochäten in Bouillonkulturen, welche neben dem gebräuchlichen Sodazusatz 0.5 bis 1 Prozent Natronlauge enthielten, mit gutem Erfolge gezüchtet. Den Einfluß des Antiformins konnte ich weniger indifferent finden, da es mir nicht gelang aus Kulturmaterial, das 5 Prozent Antiformin enthielt, Spirochäten zu kultivieren. In Agarkulturen, welchen ikterischer Ascites zugesetzt war, wuchsen Spirochäten, wenn auch nicht so üppig wie gewöhnlich. Formolzusätze 1:1000 bis 1:750 bewirkten keine Entwicklungshemmung [Procca, Danila und Stove (57)]. Schließlich habe ich noch den Einfluß von Alkohol in verschiedener Konzentration auf Spirochätenkulturen geprüft, indem ich ihnen Alkohol zusetzte. Auch habe ich den Einfluß des Alkohols im mikroskopischen Bilde im Dunkelfeld beobachtet, indem ich den Alkohol vom Rande her zufließen ließ. Es stellte sich heraus, daß bei einer Konzentration über 80° eine fast momentane Abtötung, auch der Kulturspirochäten, erfolgt. Die Spirochäten schrumpfen je stärker die Konzentration des Alkohols ist, die geschrumpften Leiber sind aber auch bei Einwirkung von absolutem Alkohol noch deutlich erkennbar.

Spirochäten bei Schweinepest.

Die umfangreichen Arbeiten von de Schweinitz (68), Dorset (12), Wassermann (79), Uhlenhuth und Händel (75) u. a. haben ergeben, daß die Schweinepest durch ein filtrierbares Virus hervorgerufen wird. Der Erreger, dessen Dimensionen, falls er der Klasse der gewöhnlichen Mikroorganismen zugehört, sehr klein sein müssen, da er das Filter passiert, ist unbekannt. In der letzten Zeit sind von King, Baeslock und Hoffmann (31, 32) Spirochäten als Erreger der Schweinepest beschrieben worden. Die genannten Autoren haben die von ihnen beschriebenen Spirochäten im Blut und in den Darmgeschwüren der mit Schweinepest infizierten Tiere gefunden und schließen daraus auf ihre ätiologische Bedeutung. Gegen die ätiologische Bedeutung von Spirochäten als Erreger der Schweinepest spricht von vornherein der Umstand, daß

28*

alle bisher geprüften Spirochätenspezies nicht unter Druck filtrierbar sind, ferner daß das Salvarsan, das Spezifikum gegen Spirochätenaffektionen, bei der Schweinepest unwirksam ist. Mit mehreren von der Firma Ludwig W. Gans gelieferten Virusarten habe ich eine Reihe von Übertragungsversuchen an Schweinen angestellt. In dem Virus fand ich kleine plumpe Spirochäten von ziemlicher Beweglichkeit und sehr wenigen Windungen. In dem aus der Schwanzarterie stammenden Blute der mit dem Virus infizierten Schweine wurden sie in jedem untersuchten Falle gefunden, dagegen nicht in dem durch Punktion gewonnenen Herzblut. Ihre Zahl war äußerst gering, man mußte ziemlich lange nach einer Spirochäte suchen. Sie sind im Darm gefunden worden, indessen auch an Stellen, wo keine Darmdiphtherie bestand. Aus den Mesenterialdrüsen eines an ausgedehnter Schweinepest mit starker Darmdiphtherie gestorbenen Schweines habe ich die gleichen Spirochäten in Schereschewkyscher Kultur (Mischkultur) gezüchtet. Ich schließe aus dem Befunde, daß die geschilderten Spirochäten aus dem Darmlumen stammen und mit der Schweinepest nichts zu tun haben. Spirochäten sind anscheinend bei Schweinen sehr häufig, wie sie ja überhaupt in faulenden organischen Massen gefunden werden, welche den Schweinen häufig zur Nahrung dienen und in denen sich diese Tiere mit Vorliebe aufhalten.

Burton (6) hat Spirochäten in der Kastrationsnarbe, ferner Sidney Dood (64) bei einer ulzerösen Hautaffektion eines Schweines gefunden, ein Beweis dafür, daß sie auch auf der Haut von Schweinen zu finden sind. Endlich sind auch Spirochäten im Gewebe eines Schweinefoetus gefunden worden, die bekannten „Silberspirochäten“ Salings (61).

Zusammenfassung.

1. Es wurden zahlreiche Spirochätenarten kultiviert, besonders Spirochäten aus syphilitischem Material und Refringensspirochäten aus Akuminaten.
2. Die aus syphilitischem Material gezüchteten Spirochäten entsprechen der Pallida.
3. Alle Spirochäten zeigen in der Kultur nach kurzer Übertragungszeit ausgedehnte Involutions- und Degenerationsformen.
4. Die Pathogenität der Pallida ist nach längerer Züchtung sehr gering. Übertragung von Syphilis auf Tiere durch Kulturen gehört zu den Seltenheiten.
5. Im Ausgangsmaterial syphilitischer Affektionen finden sich häufig refringensartige Pallidaformen.

6. Agglutination und Präzipitation der Syphilisspirochäten durch spezifische Seren konnten nicht beobachtet werden.

7. Komplementbindung mittels Kulturspirochäten (*Pallida*) bei syphilitischen Seren findet sich häufig, aber bisweilen in geringerer Intensität als die Wassermannsche Reaktion. Die Zahl unspezifischer Hemmung ist indessen ziemlich beträchtlich. Auch ist die Reaktion nicht so regelmäßig wie die Wassermannsche Reaktion. Zeitlich scheinen beide zusammen zu fallen.

8. Eine Gewöhnung der Spirochäten an Gifte konnte bei der gewählten Versuchsanordnung nicht nachgewiesen werden. Dagegen trifft die Annahme Ehrlichs zu, daß vereinzelte Spirochäten, welche sich der Einwirkung von Giften entziehen, nach Aufhören dieser Wirkung sich zu vermehren imstande sind.

9. Die Schweinepest wird nicht durch Spirochäten veranlaßt. Die bei Schweinen beobachteten Spirochäten sind Saprophyten.

Literatur-Verzeichnis.

1. Arnheim, G., Kulturversuche der *Spirochaeta pallida*. *Dermat. Centralblatt*. 1909. Nr. 10.
2. Derselbe, Spirochäten bei Lungengangrän und ulzerierendem Karzinom. *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1911. I. Abt. Bd. LIX.
3. Derselbe, Vereinfachte Kulturmethode der *Spirochaeta pallida*. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1912. Nr. 20.
4. Bertarelli, *Spirochaeta pallida* und Osteochondritis. *Centralblatt f. Bakteriologie*. Bd. XLI.
5. Bordet u. Gengou, Les substances sensibilisatrices dans les sérums. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1901.
6. Cleland, J. Burton, Note on spirochaet in castration tumors of pigs. *Parasitology*. 1908. Vol. I. Nr. 3.
7. Busck, C., Die photobiologischen Sensibilisatoren. *Biochem. Zeitschrift*. 1906.
8. Bettmann u. Laubenheimer, Über die Wirkung des Salvarsans auf den Milzbrand. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1912. Nr. 8.
9. Cantacuzène, Sur une Spirochète Thermophile des eaux de Dux. *Compt. rend. de la Soc. de Biologie*. 1910. Nr. 2.
10. Doflein, Die Natur der Spirochäten. *Probleme der Protistenkunde II*. Jena 1911.
11. Dohio u. Hidako, Sind die Spirochäten den Protozoen oder den Bakterien verwandt? *Archiv f. Dermatologie u. Syphilis*. Bd. CXIV.
12. Dorset, Bolton u. Mc. Bryde, The etiology of Hogcholera. *Bureau of Animal Industry*. 1904 u. 1905.
13. Ehrlich, P., *Demonstration*. Frankfurt. Ref. *Münchener med. Wochenschrift*. 1913. Nr. 8.
14. Derselbe, Chemotherapeutische Studien. *Berl. klin. Wochenschrift*. 1907.
15. Ehrlich u. Bechhold, Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Desinfektionswirkung. *Zeitschrift f. physiol. Chemie*. Bd. XLVII.
16. Fontana, Verfahren zur intensiven und raschen Färbung der Treponemen und anderer Spirochäten. *Dermatol. Wochenschrift*. 1912. Bd. LV. Nr. 33.
17. Fornet u. Schereschewsky, Präzipitinreaktion. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1908.
18. Gonder, R., Experimentelle Studien mit Trypanosomen und Spironemen. (Spirochäten.) *Zeitschrift f. Immunitätsforschung*. Bd. XV.
19. Derselbe, Die Stellung der Spirochäten unter den Protisten. *Versammlung Deutscher Naturforscher, Köln 1908*. Ref. *Münchener med. Wochenschrift*. 1908.
20. Groß, J., Über Systematik, Struktur und Fortpflanzung der Spironemacea. *Centralblatt f. Bakteriologie*. Bd. LXV.

21. GroB, J., Zur Nomenklatur der Spirochaeta pallida usw. *Archiv f. Protistenkunde*. 1911.
22. Harrison, Collargolbehandlung der Spirochäten. *Brit. med. Journ.* 1912. 30. November.
23. Hartmanni, Dauer des syphilitischen Ansteckungsstoffes. *Dermatol. Zeitschrift*. 1909. Oktober.
24. Hoffmann, E., Ätiologie der Syphilis. *Handbuch der Geschlechtskrankheiten*. Wien 1912.
25. Derselbe, Dauer der Kontagiosität der Syphilis und Ehekonsens im Licht der neuen Forschung. *Münchener med. Wochenschrift*. 1913. Nr. 1.
26. Derselbe, Verhandl. d. niederrhein. Gesellschaft. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1913. Nr. 2.
27. Hoffmann, W. H., Reinzüchtung der Spirochaeta pallida. *Diese Zeitschrift*. 1910.
28. Igersheimer, Experimentelle Untersuchungen zur Syphilis des Auges. *Münchener med. Wochenschrift*. 1912. Nr. 39.
29. Derselbe, Versamml. der ophthalmol. Gesellschaft zu Heidelberg. Ref. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1912. Nr. 34.
30. Derselbe, Zur Entstehung derluetischen Keratitis. Graefes *Archiv f. Ophthalm.* Bd. LXXXV. Nr. 2.
31. King, W. E., Baeslock, Hoffmann, Studies on the Virus of Hogcholera. *Journ. of Insect. Diseases*. 1913. Vol. XII. Nr. 2.
32. King, W. E. u. Wilson, Studies on the Virus of Hogcholera. *Zeitschrift f. Immunitätsforschung*. 1913.
33. Kolle, Rothermundt u. Peschié, Untersuchungen über die Wirkung von Quecksilberpräparaten auf Spirochätenkrankheiten. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1912. Nr. 84.
34. Leber, A., Über Trypanosomentoxine und trypanotoxische Keratitis parenchymatosa. *Ebenda*. 1908. Nr. 43.
35. Levaditi u. Danulesco, Études des spirochètes cultivés des produits syphilitique. *Compt. rend. de la Soc. de Biologie*. 1912. Nr. 28.
36. Levaditi, Marie u. Bankowsky, Présence du Treponema pallida dans le cerveau des paralytique générale. *Ebenda*. 1913. Nr. 25.
37. Marinesco u. Minea, Présence du Tréponema pallida dans la paralysie générale. *Ebenda*. 1913. Nr. 15. p. 3.
38. Mühlens, P., Über Züchtungsversuche der Spirochaeta pallida und Spirochaeta refringens, sowie Tierversuche. *Klin. Jahrbuch*. Bd. XXIII.
39. Müller u. Stein, Hautreaktion bei Lues und ihre Beziehung zur Wassermannschen Reaktion. *Wiener klin. Wochenschrift*. 1913.
40. Müller u. Scherber, Zur Ätiologie und Klinik der Balanitis erosiva circinata und Balanitis gangraenosa. *Archiv f. Dermatologie u. Syphilis*. 1905. Bd. LXXII.
41. Nakano, Reinzüchtung der Spirochaeta pallida. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1912. Nr. 2.
42. Derselbe, Experimentelle und klinische Studien über Kutireaktion und Anaphylaxie bei Syphilis. *Archiv f. Dermatologie u. Syphilis*. Bd. CXVI. Nr. 2.
43. Derselbe, Immunisationsversuche mit Spirochäten-Reinkulturen. *Ebenda*. Bd. CXVI. Nr. 1.
44. Neufeld u. Schiemann, Über die Wirkung chemotherapeutischer Stoffe. *Centralblatt f. Bakteriologie*. I. Abt. Ref. Bd. LVII. Beiheft.

45. Noguchi, A method for the pur cultivation of pathogenic *Trep. pall.* *Journ. of exp. med.* 1911. T. XIV.
46. Derselbe, Gewinnung der Reinkulturen von *Spirochaeta pallida* und *Spirochaeta pertenuis*. *Münchener med. Wochenschrift.* 1911. Nr. 29.
47. Derselbe, Kulturelle und immunisatorische Differenz zwischen *Spirochaeta pallida*, *Sp. refringens* usw. *Zeitschrift f. Immunitätsforschung.* Bd. XIV. Nr. 4.
48. Derselbe, The direct cultivation of *Trep. pallida* pathogenic for the monkey. *Journ. of exp. med.* 1912. T. XV.
49. Derselbe, Kulturmethode der *Pallida* in flüssigen Nährböden. *Ebenda.* 1912. T. XVI.
50. Derselbe, Cultivation of *Trepan. calligyrum* from Condyl of Man. *Ebenda.* 1913. T. XVII.
51. Derselbe, *Spirochaeta refringens*. *Ebenda.* 1912. T. XV.
52. Derselbe, Morpholog. and patholog. variations in *Trep. pallida*. *Ebenda.* 1912. T. XV. Nr. 2.
53. Derselbe, Zur Züchtung der *Spirochaeta pallida*. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1912. Nr. 33.
54. Noguchi u. Moore, A demonstration of *Trep. pallida* in the brain. *Journ. of exp. med.* 1913. T. XVII.
55. Dieselben, Studien über den Nachweis der *Spirochaeta pallida* bei Paralyse und Tabes. *Münchener med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 14.
56. Novy u. Knapp, 14. Jahresversammlung der Brit. med. Association. *Ref. Ebenda.* 1906. S. 2180.
57. Proca, Danila et Stove, Milieux pour la culture des Spirochètes. *Compt. rend. de la Soc. de Biologie.* 1912. T. VI. Nr. 20.
58. Regenstein, H., Studien über die Anpassung von Bakterien an Desinfektionsmittel. *Dissertation.* Breslau 1912.
59. Repaci, Contribution à la connaissance des microbes spirales de la bouche. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1912. T. XXVI.
60. Roos, Über die Einwirkung von Salvarsan auf Milzbrandbazillen. *Zeitschrift f. Immunitätsforschung.* Bd. XV. Hft. 5.
61. Saling, Th., Silberspirochäten im Gewebe eines Schweinefoetus. *Centralblatt f. Bakteriologie.* Orig. Bd. LXII.
62. Schellak, Verhandl. d. Berliner mikrobiolog. Gesellschaft. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1912. Nr. 6.
63. Schilling, v. Krogh, Schrauth, Schöller, Die Wirkung organischer Quecksilberverbindungen. *Centralblatt f. Chemotherapie.* Bd. I.
64. Sidney Dood, *Journ. of comp. Path.* 1906. Vol. XIX.
65. Shmamime, Über die Reinzüchtung der *Spirochaeta pallida* und der nadel-förmigen Bakterien aus syphilitischem Material. *Centralblatt f. Bakteriologie.* Orig. Bd. LXV.
66. Sowade, Die Kultur der *Spirochaeta pallida*. *Archiv f. Dermatologie.* Bd. CXIV.
67. Derselbe, Eine Methode zur Reinzüchtung der Syphilisspirochäten. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1912. Nr. 17.
68. De Schweinitz u. Dorset, A five of Hogcholera. *Bureau of Animal Industry.* Oktober 1903.
69. Tomaszewski, Beitrag zur Reinzüchtung der *Spirochaeta pallida*. *Berl. klin. Wochenschrift.* 1912. Nr. 17. — *Deutsche med. Wochenschrift.* 1912. Nr. 33.

70. Tunicleff, Ruth, Identity of fusiform bacilli and spirilla. *Journal of infections diseases.* 1906. Vol. III.
71. Uhlenhuth u. Mulzer, Über die experimentelle Impfsyphilis der Kaninchen. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1911.
72. Dieselben, Experimentelle Kaninchensyphilis. *Ebenda.* 1910. Nr. 35. u. 1911.
73. Dieselben, Syphilitische Allgemeinerkrankung bei Kaninchen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1911. Nr. 2. u. 1911. Nr. 51.
74. Uhlenhuth, Mulzer u. Koch, Über die histopathol. Veränderungen bei experimenteller Kaninchensyphilis. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 23.
75. Uhlenhuth u. Händel, Schweinepest und Schweineserum. *Monographie* Kolle-Wassermann. II. Aufl. 1913.
76. Weygandt u. Jacob, Befunde am Zentralnervensystem bei experimenteller Syphilis. (Ärztl. Verein Hamburg.) Ref. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1913. Nr. 26.
77. v. Wassermann, A., Die diagnostische Bedeutung der spezif. Komplementablenkung. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1907. Nr. 1.
78. Derselbe, Methodik d. Immunisierung gegen Schweineseuchebakterien und Schweineseucheserum. *Handbuch der Immunitätsforschung* von Kraus-Levaditi. Jena 1909.
79. Zabolotny u. Maslakowitz, Beobachtungen über die Agglutination der Spirochäten. *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1907. Nr. 44.
80. Zettnow, Färbung und Teilung der Spirochäten. *Diese Zeitschrift.* 1906. Bd. LII.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. IX u. X.)

Die Photogramme sind von Prof. Zettnow, mit Ausnahme von Nr. 7, 9, 10, 12, 13, welche Arnheim anfertigte.

Tafel IX.

Fig. 1. Querschnitt durch ein Stück einer in Serumagar versenkten Papel. Rechts freier Rand des Serumagar. Der Gewebsrest ist bei der Präparation herausgefallen. Links oben ein zapfenartiger Balken im Agar. Behandlung nach Levaditischer Methode. Schwache Vergrößerung. 30 fach.

Fig. 2. Das gleiche Präparat an der Stelle des erwähnten Zapfens. Stärkere Vergrößerung. Demonstration der Abwanderung der Spirochäten. Man sieht zahlreiche Spirochäten außerhalb des versenkten Gewebes in dem angrenzenden Kulturmedium. Vergr. ca. 250 fach.

Fig. 3. Das gleiche Präparat, bei 1000 facher Vergrößerung. Ziemlich dicke Spirochäten von wechselnder Größe mit vielen und engen Windungen, = Pallida.

Fig. 4. Schnitt durch ein Stück einer ebenso in Serumagar kultivierten und gleichfalls nach Levaditi behandelten Akuminate. Vergrößerung 1000fach. Spirochäten von größerer Länge als bei Fig. 3. Windungen sehr flach und in bedeutend geringerer Zahl als bei der Pallida.

Fig. 5. Spirochaeta pallida aus frischer Papel. Giemsa-Färbung. (Präp. von Prof. Zettnow.) Vergr. 1000 fach. Vergleichspräparat.

Fig. 6. Reinkultur der Spirochaeta pallida. 10. Generation. Färbung nach Romanowsky-Schilling. Vergr. 1000fach.

Tafel X.

Fig. 7. Einzelne Pallidaformen aus Serumbouillonkultur. Behandlung nach Harrison mit Kollargol. Vergr. 1000fach.

Fig. 8. Pallida aus alter Serumbouillonkultur. 32. Generation. Sehr lange Formen, Zöpfe. Färbung nach Romanowsky-Schilling. Vergr. 1000fach.

Fig. 9. Einzelne Refringensspirochäten. Ziemlich dicke Spirochäten aus Bouillonkultur. 6. Generation. Kollargol. Vergr. 1000fach.

Fig. 10. Refringensspirochäten aus (schwach verunreinigter) Serumagarkultur. 6. Generation. Färbung nach Romanowsky-Schilling. Vergr. 1000fach. Windungen der Spirochäten ganz unregelmäßig.

Fig. 11. Refringensspirochäten aus Reinkultur in Serumbouillon. 18. Generation. Zum Teil sehr lange Formen. Färbung nach Romanowsky-Schilling. Vergr. 1000fach.

Fig. 12. Alte Refringensmischkultur nach Schereschewsky. Färbung desgl. Vergr. 1000fach. Spirochäten mit ganz flachen Windungen.

Fig. 13. Spirochaeta pallida im Dunkelfeld. 4. Generation. Objektiv Zeiss 4^{mm}. Okular 8. Vergr. 500fach.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“
zu Berlin.]

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

Über die Wirkung einiger Kaltblütersera auf Warmblüter.

Von

Dr. med. **A. A. Jurgelunas,**

Assistent am Bakteriologischen Institut der Kaiserl. Universität in Moskau.

Unsere Kenntnisse über die Wirkung der Kaltblütersera auf Warmblüter sind gering. Mosso hat als erster auf die starke Giftigkeit des Serums der Muränen für eine ganze Reihe von Tieren hingewiesen. Nach seinen Untersuchungen wirkt die intravenöse Injektion von Aalserum in der Quantität von 0.03 bis 0.04 ^{ccm} pro Kilogramm Körpergewicht beim Hunde tödlich. Kaninchen gingen bei ungefähr derselben Dosis zugrunde. Meerschweinchen, Tauben und Frösche starben gleichfalls, waren aber im Vergleich mit den vorgenannten Tieren immerhin widerstandsfähiger gegen das Aalserum.

Die Befunde von Mosso wurden später von Camus und Gley, Kossel und Tschistowitsch bestätigt und ergänzt. So fanden Camus und Gley beim Studium der toxischen Wirkung des Aalserums auf Kaninchen, Meerschweinchen und Igel, daß von diesen Tieren sich das Meerschweinchen durch die größte Empfindlichkeit gegenüber diesem Serum auszeichnet, und daß bei ihm die Dosis von 0.02 ^{ccm} pro 1000^g Körpergewicht bereits tödlich wirkt. Die geringste Empfindlichkeit besitzt der Igel, für den die tödliche Dosis zwischen 0.4 und 0.6 ^{ccm} liegt.

Nach den Beobachtungen von Tschistowitsch erwiesen sich Tauben als sehr empfindlich gegenüber dem Aalserum; die Dosis 0.1 ^{ccm} ruft schnellen Tod des Tieres hervor, während Hühner für das Gift vollkommen unempfindlich sind.

Ferner haben die letztgenannten Autoren nachgewiesen, daß das Aalserum starke hämolytische Eigenschaften für die roten Blutkörperchen einer ganzen Reihe von Tieren besitzt. Es gelang auch ein Anti-Aalserum zu gewinnen, das die Giftigkeit des frischen Serums vollständig neutralisiert.

Bald darauf erschienen Arbeiten, welche die hämolytischen Eigenschaften der Sera einiger anderer Kaltblüter betrafen. Nach Noguchi besitzt das Serum von *Mustelus canis*, *Cynoscion regalis*, *Amphiuma means* und *Rana catesbiana* ausgeprägte hämolytische Eigenschaften für die roten Blutkörperchen einiger Tierarten. Diese hämolytische Kraft der Sera wird bei Erwärmung auf 40 bis 50° vollständig aufgehoben. Noguchi nimmt an, daß die in den Seris von Kaltblütern enthaltenen Hämolsine ihrem Bau nach mit den Hämolsinen der Warmblütersera identisch sind. Zu analogen Schlüssen kam Lazar bei seinen Experimenten mit Froschserum.

Gerade entgegengesetzte Resultate hatten Friedberger und Seelig. Nach ihren Untersuchungen ist in dem Froschserum (*Rana esculenta* var. *radibunda*), das die Fähigkeit besitzt, Hämolyse der roten Blutkörperchen des Menschen, des Kaninchens, des Meerschweinchens und der Ziege hervorzurufen, ein echtes Hämotoxin im Sinne von Ehrlich enthalten. Zu dieser Ansicht kamen sie auf Grund der Beobachtung, daß es ihnen weder bei Anwendung der Aktivierungsmethode noch der Kältetrennungsmethode, noch isotonischer Salzlösungen gelang, das Hämolsin in Bestandteile zu zerlegen. Außerdem haben Friedberger und Seelig gezeigt, daß sich im Serum von Kaninchen, die mit Froschserum immunisiert worden waren, Antitoxine bilden, die das Gift des Froschserums vollständig neutralisieren können.

Nach Liefmann enthält das Froschserum ein Hämolsin, das nach seinem Bau mit dem Hämolsin des Warmblüterserums identisch ist. Er konnte das Komplement in zwei verschiedene Bestandteile zerlegen (Mittelstück und Endstück). Hierzu verwendete der Autor folgende Methoden: 1. Fällung durch (mit HCl) angesäuertes Wasser (nach Sachs und Altmann), 2. durch Wasser unter Einleiten von CO₂.

Die Befunde Liefmanns wurden in der letzten Zeit von Fraenkel, Landsteiner und Rock bestätigt.

Aus dem bisher Gesagten geht hervor, daß das Studium der Sera von Kaltblütern sich hauptsächlich auf die hämolytischen Eigenschaften erstreckte. Die von den verschiedenen Autoren erhaltenen Resultate sind jedoch hinsichtlich der Natur und des Baues der Hämolsine wider-

sprechend. Was die Frage nach der Giftwirkung der Kaltblütersera auf Warmblüter betrifft, so ist sie noch fast ungeklärt. Gegenwärtig ist in dieser Beziehung ziemlich sorgfältig nur das Aalserum allein erforscht.

Auf Anregung von Prof. Jos. Koch habe ich Untersuchungen über die Wirkung der Sera von *Anguilla vulgaris* (Aal), *Tinca vulgaris* (Schleie), *Esox lucius* (Hecht), *Cyprinus carpio* (Karpfen), *Rana esculenta* und *Rana fusca* (Frosch) auf verschiedene Warmblüter angestellt und zwar: Maus, Meerschweinchen und Kaninchen. Parallel hiermit liefen Untersuchungen über die hämolytischen Eigenschaften der Sera von diesen Tieren gegenüber den roten Blutkörperchen des Menschen, des Hammels, des Kaninchens, des Meerschweinchens und der Maus.

Das Blut wurde den Kaltblütern aus dem Herzen mit Hilfe einer Spritze durch direkten Einstich der Nadel in das Herz nach vorangehender Eröffnung des Brustkorbes entnommen. Bisweilen wurde das Herz mit der Schere geöffnet und dann das in die Brusthöhle ergossene Blut mit einer Spritze gesammelt. Zur Gewinnung des Froschblutes bediente ich mich einer fein ausgezogenen Pipette; sie wurde in das Herz eingestochen und das Blut dann aufgesaugt. Das gewonnene Serum wurde jedesmal auf seine Sterilität hin geprüft und dann den Versuchstieren subkutan, intraperitoneal oder intravenös eingespritzt. Die erste Versuchsreihe wurde mit Aalserum an Mäusen und Meerschweinchen angestellt. Zwei Mäuse erhielten subkutane, drei Mäuse und drei Meerschweinchen intraperitoneale Seruminjektionen. Die mit diesem Serum erhaltenen Resultate sind in Tabelle I wiedergegeben.

Tabelle I.

Wirkung des Aalserums auf Mäuse und Meerschweinchen bei subkutaner und peritonealer Einspritzung.

Nummer	Art des Tieres	Körpergewicht in gm	Quantität des Serums in cem	Temperatur der injizierten Tiere						Resultate der Impfung	
				Vor der Injektion		Nach der Injektion					
				1/2 Std.	1/4 Std.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	4 Std.		6 Std.
1	Maus	ca. 20	0.1 subk.	—	—	—	—	—	—	—	Tod nach 10 Std.
2	„	„ 20	0.1 „	—	—	—	—	—	—	—	„ „ 11 „
3	„	„ 20	0.1 perit.	—	—	—	—	—	—	—	„ „ 7 „
4	„	„ 20	0.3 „	—	—	—	—	—	—	—	„ „ 3 „
5	„	„ 20	0.3 „	—	—	—	—	—	—	—	„ „ 2 „
1	Meerschw.	„ 400	1.5 „	38.7	38.4	36.5	35.5	33.0	—	—	„ „ 2 „
2	„	„ 250	0.5 „	38.5	38.6	36.2	34.0	32.1	—	—	„ „ 3 „
3	„	„ 250	0.2 „	38.4	38.7	37.5	36.6	34.5	33.2	—	„ „ 5 „

Die Wirkung des Aalserums auf Mäuse und Meerschweinchen äußert sich in folgender Weise: einige Minuten nach der Einspritzung des Serums beobachtet man an den Tieren heftige Unruhe. Die Tiere laufen im Käfig aus einer Ecke in die andere; die Atmungsbewegungen sind verstärkt und frequenter, die Herztätigkeit ist gleichfalls bedeutend verstärkt, bald treten Krämpfe auf. Nach 10 bis 15 Minuten verschwinden die Konvulsionen, die Tiere werden matt und schwach; sie schleppen mit Mühe den Hinterkörper und legen sich oft auf die Seite; das Fellhaar sträubt sich, es treten erschwerte Atmung, häufigere Darmentleerungen auf, und nach einiger Zeit geht das Tier zugrunde.

Von Interesse ist das Verhalten der Temperatur der Tiere, die Aalserum erhalten haben. Unmittelbar nach der Einführung des Serums beginnt die Temperatur zu fallen; ihre Herabsetzung ist bisweilen sehr bedeutend.

Tabelle II.

Wirkung des Serums vom Schlei auf Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen bei peritonealer, subkutaner und intravenöser Einspritzung.

Nummer	Art des Tieres	Körpergewicht in grm	Quantität des Serums in ccm	Temperatur der injizierten Tiere								Resultate der Injektion
				Vor der Injektion		Nach der Injektion						
				$\frac{1}{4}$ Std.	$\frac{1}{2}$ Std.	$\frac{1}{4}$ Std.	1 Std.	2 Std.	4 Std.	6 Std.		
1	Maus	ca. 20	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	am Leben gebl.
2	"	" 20	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	Tod nach 5 Std.
3	"	" 20	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	am Leben gebl.
4	"	" 20	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	Tod nach 5 Std.
5	"	" 20	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	" " 4 "
6	"	" 20	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	" " 4 "
7	"	" 20	0.4	—	—	—	—	—	—	—	—	" " 2 "
8	"	" 20	0.6	—	—	—	—	—	—	—	—	" " 2 "
9	"	" 20	0.8	—	—	—	—	—	—	—	—	" " 3 "
10	"	" 20	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	" " 3 "
1	Meerschw.	" 240	0.5	38.6	38.5	37.0	35.8	36.5	37.0	37.8	—	am Leben gebl.
2	"	" 230	1.0	38.2	38.3	36.8	35.0	34.8	36.0	37.0	—	" " "
3	"	" 260	1.5	38.5	38.2	36.5	35.0	34.0	36.2	37.1	—	" " "
4	"	" 300	3.0	38.0	38.1	34.0	33.0	32.0	—	—	—	Tod nach 2 Std.
5	"	" 300	3.0	38.3	38.0	35.3	32.8	32.0	—	—	—	" " 2 $\frac{1}{2}$ "
1	Kaninchen	" 900	3.0	39.0	39.1	38.0	37.5	38.1	33.5	38.7	—	am Leben gebl.
2	"	" 920	4.5	38.9	39.0	36.5	34.8	34.0	—	—	—	Tod nach 2 Std.

Die erhaltenen Resultate weisen, wie aus der Tabelle I hervorgeht, auf die starke Giftigkeit des Aalserums für Mäuse und Meerschweinchen hin und bestätigen vollkommen die Befunde von Mosso, Camus und Gley. Die Sektion der Tiere ergab folgendes Bild: In der Bauchhöhle befindet sich etwas trübe Flüssigkeit von rötlicher Farbe. Die Serosa des Magendarmtraktes ist stark injiziert, an vielen Stellen sieht man in der Dicke der Darmwand hämorrhagische Flecken. Die Mesenterialgefäße sind stark erweitert. Hyperämie der parenchymatösen Organe. In den Pleurahöhlen befinden sich einige Tropfen klarer Flüssigkeit. Lungen normal. Das Blut im Herzen ist nicht geronnen.

Weiter wurden Experimente über die Wirkung der Sera vom Schlei, Hecht, Karpfen und Frosch auf Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen angestellt (s. Tabelle II).

Aus Tabelle II geht hervor, daß das Serum des Schleies für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen sehr giftig ist.

Tabelle III.

Wirkung des Serums vom Hecht auf Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen bei peritonealer und intravenöser Einspritzung.

Nummer	Art des Tieres	Körpergewicht in grm	Quantität des Serums in cem	Temperatur der injizierten Tiere								Resultate der Injektion
				Vor der Injektion		Nach der Injektion						
				1/2 Std.	1/4 Std.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	4 Std.	6 Std.		
1	Maus	ca. 20	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	am Leben
2	"	"	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
3	"	"	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
4	"	"	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
5	"	"	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
6	"	"	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
7	"	"	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
8	"	"	0.8	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
9	"	"	0.8	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
10	"	"	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
1	Meerschw.	400	0.5	38.8	38.5	38.1	38.2	38.0	38.3	38.5	—	" "
2	"	340	1.0	38.5	38.3	37.4	36.5	37.5	38.2	38.4	—	" "
3	"	320	2.0	38.4	38.5	36.2	36.4	37.0	37.8	38.0	—	" "
4	"	290	2.0	38.2	38.0	36.5	35.5	33.0	—	—	—	Tod nach 2 Std.
5	"	320	2.0	38.4	38.1	37.1	37.5	38.0	38.2	38.4	—	—
6	"	300	4.0	38.7	38.3	36.8	34.3	33.6	35.5	37.0	—	Tod nach 20 Std.
1	Kaninchen	900	3.0	39.0	39.1	38.2	38.5	38.3	38.0	38.7	—	am Leben
2	"	1000	4.5	38.7	38.5	36.7	34.3	36.6	37.0	37.8	—	" "

Wie aus Tabelle III ersichtlich, rief das Hechtserum bei zwei Meerschweinchen den Tod hervor. In dem einen Falle erfolgte der Tod bei einer Dosis von 2.0^{ccm} 2 Stunden nach der Injektion, in dem anderen Falle bei einer Dosis von 4^{ccm} nach 20 Stunden. Bei beiden Tieren beobachtete man sogleich nach der Einspritzung des Serums heftige Erscheinungen von toxischer Wirkung des Serums nebst Abfall der Temperatur. Das zweite Meerschweinchen erholte sich 6 Stunden nach der Injektion vollkommen und erschien ganz gesund und munter; trotzdem starb es am folgenden Tage um 8 Uhr morgens. Bei der Sektion wurde in Ausstrichpräparaten aus den inneren Organen ein kleines Stäbchen festgestellt. Die Aussaat aus dem Blut ergab dasselbe Stäbchen in Reinkultur. Man muß annehmen, daß dieses Stäbchen die Todesursache des Meerschweinchen gewesen ist. Die Dosis von 4^{ccm} Hechtserum wirkt also für ein Meerschweinchen nicht tödlich. Der Tod des ersten Meerschweinchen bei einer Dosis von 2.0^{ccm} läßt sich vielleicht durch eine erhöhte individuelle Empfindlichkeit dieses Tieres für das Serum erklären, da zwei andere Meerschweinchen, welche dieselben Dosen erhielten, am Leben blieben. Die Kaninchen und Mäuse erwiesen sich als sehr widerstandsfähig gegen das Hechtserum.

Tabelle IV.

Wirkung des Serums vom Karpfen auf Mäuse und Meerschweinchen bei peritonealer Einspritzung.

Nummer	Art des Tieres	Körpergewicht in gm	Quantität des Serums in ccm	Temperatur der injizierten Tiere								Resultate der Injektion
				Vor der Injektion		Nach der Injektion						
				1/2 Std.	1/4 Std.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	4 Std.	6 Std.		
1	Maus	ca. 20	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	am Leben
2	"	" 20	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
3	"	" 20	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
4	"	" 20	0.7	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
5	"	" 20	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	" "
1	Meerschw.	" 280	1.0	38.2	38.4	38.0	38.4	38.2	38.1	38.4		" "
2	"	" 270	2.0	38.1	38.5	38.0	38.1	38.4	38.0	38.5		" "
3	"	" 350	4.0	38.4	38.5	37.3	37.0	38.0	38.1	38.3		" "

Somit erwies sich für Mäuse und Meerschweinchen als fast unschädlich das Karpfenserum. Nur bei einem Meerschweinchen wurde vorübergehender Abfall der Temperatur beobachtet.

Tabelle V.
Wirkung des Froschserums auf Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen bei peritonealer Einspritzung.

Nummer	Art des Tieres	Körpergewicht in gm	Quantität des Serums in ccm	Temperatur der injizierten Tiere								Resultate der Injektion	
				Vor der Injektion		Nach der Injektion							
				1/2 Std.	1/4 Std.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	4 Std.	6 Std.			
1	Maus	ca. 20	0.1	peritoneal	—	—	—	—	—	—	—	—	am Leben
2	„	20	0.3		—	—	—	—	—	—	—	—	Tod nach 3 Std.
3	„	20	0.3		—	—	—	—	—	—	—	—	„ „ 3 „
4	„	20	0.5		—	—	—	—	—	—	—	—	„ „ 2 „
5	„	20	0.5		—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	Meerschw.	320	1.5	peritoneal	38.2	38.0	36.0	37.8	38.0	38.3	38.2	—	am Leben
2	„	240	2.5		38.4	38.2	36.0	34.0	32.0	—	—	—	Tod nach 2 Std.
3	„	320	2.0		38.7	38.5	37.0	35.5	32.5	—	—	—	„ „ 2 „
4	„	310	2.0		38.3	38.0	36.8	34.5	33.0	—	—	—	„ „ 2 „
1	Kaninchen	900	4.0	intravenös	38.7	39.0	37.8	38.0	38.2	38.0	38.4	—	am Leben

Bei Durchsicht der Tabellen kann man feststellen, daß die von mir untersuchten Kaltblütersera nach der Stärke ihrer Giftwirkung folgende Reihe bilden: für das giftigste muß man das Aalserum halten, dann folgen die Sera vom Schlei, Frosch, Hecht und Karpfen. Die Giftigkeit des Aal- und Schleiserums übertrifft bedeutend die Giftigkeit der Warmblütersera. So wirkt nach Mosso für ein Kaninchen die Dosis von 0.26 ccm Aalserum pro Kilogramm Körpergewicht bei intravenöser Einführung tödlich; das Serum vom Schlei ist nach meinen Beobachtungen in der Quantität von 5 ccm tödlich. Dagegen sind pro Kilogramm Körpergewicht eines Kaninchens als tödliche Dosen folgende Serummenngen von Warmblütern erforderlich:

nach Weiss:		nach Uhlenhuth:	
Kälberserum . . .	7 ccm	Rinderserum . . .	6 ccm
Rinderserum . . .	8 „	Hammelserum . . .	11 „
Katzenserum . . .	9 „	Schweineserum . . .	12 „
Hundeserum . . .	11 „	Pferdeserum . . .	60 „
Hammelserum . . .	20 „		
Schweineserum . . .	35 „		
Pferdeserum . . .	44 „		

Nach den neuesten Untersuchungen von Markoff, die im Laboratorium von Prof. Dr. Jos. Koch ausgeführt worden sind, zieht Hundeserum in der Dosis von 0.015 ccm pro Gramm Körpergewicht, peritoneal eingeführt, den Tod

eines Meerschweinchens nach sich; dasselbe Serum hat den Tod eines Kaninchens bei Injektion von 0.01 ^{cem} pro Gramm Körpergewicht zufolge. Meine Beobachtungen, die für die geringere Giftigkeit des Karpfenserums im Vergleich zum Serum vom Hecht und Schlei sprechen, stimmen mit den Erhebungen von Weiss überein; übrigens hat der Autor nur drei Experimente an Kaninchen mit Fischserum angestellt; alle Tiere blieben am Leben.

Nach der Einspritzung von Schlei-, Hecht- und Froschserum nimmt man an den Tieren eine stark ausgesprochene Mattigkeit und Schwäche wahr, im Gegensatz zu dem Erregungsstadium, das unmittelbar nach Injektion von Aalserum beobachtet wird. Im weiteren Verlauf spielen sich die bereits oben beschriebenen Erscheinungen ab, die denjenigen bei Einführung von Aalserum ähnlich sind. Nach der Injektion von Karpfenserum konnte man an den Tieren keine deutlich ausgeprägten krankhaften Erscheinungen wahrnehmen. Nur bei einem Meerschweinchen wurde bald nach der Injektion ein kurzer Abfall der Temperatur beobachtet.

Bei der Sektion der nach Einspritzung von Schlei-, Hecht- und Froschserum zugrundegegangenen Tiere fanden sich in den inneren Organen dieselben pathologischen Veränderungen wie beim Aalserum, nur waren sie hier etwas schwächer ausgeprägt.

Außer den soeben beschriebenen Untersuchungen führte ich noch eine Prüfung der hämolytischen Eigenschaften der Sera derselben Kaltblüter aus. Zu diesem Zwecke nahm ich eine 5 prozentige Lösung sorgfältig gewaschener roter Blutkörperchen vom Menschen, Hammel, Kaninchen, Meerschweinchen und von der Maus in der Quantität von 0.5 ^{cem} und mischte sie mit der gleichen Menge Serum von einem Kaltblüter in verschiedenen Verdünnungen. Das Gemisch wurde dann in den Thermostaten gestellt. Die Resultate, die sich bei der Prüfung der hämolytischen Eigenschaften der Kaltblütersera gegenüber den roten Blutkörperchen des Menschen, des Hammels, Kaninchens, Meerschweinchen und der Maus ergaben, sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Versuchsarten	Quantität der Aufschwemm. roter Blutkörper in cem	Serummenge in cem	Art der Kaltblüter					Resultate
			Aal	Schlei	Hecht	Karpfen	Frosch	
Mensch	0.5	0.5	1: 30	1: 5	1: 5	unverdünnt	1: 5	vollständ. Hämolyse
Hammel	0.5	0.5	1: 10	1:10	unverdünnt	„	1: 5	desgl.
Kaninchen	0.5	0.5	1:300	1:20	1:20	1:10	1:20	„
Meerschw.	0.5	0.5	1: 20	1:10	1: 5	1: 5	1:15	„
Maus	0.5	0.5	1: 5	1:10	unverdünnt	1: 5	1:10	„

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich, sind die roten Blutkörperchen des Kaninchens im Vergleich zu den roten Blutkörperchen der anderen Tiere am wenigsten widerstandsfähig gegen die Wirkung der Kaltblütersera. Bei Zimmertemperatur treten die ersten Anzeichen von Hämolyse der roten Blutkörperchen des Kaninchens sogleich nach der Mischung derselben mit dem Serum auf. Im Thermostaten beobachtet man vollständige Hämolyse gewöhnlich nach $\frac{1}{2}$ Stunde, während die Hämolyse an den roten Blutkörperchen der anderen Tiere später auftritt und sich langsamer vollzieht.

Wenn die Kaltblütersera $\frac{1}{2}$ Stunde lang bis auf 50° erhitzt werden, so verlieren sie ihre hämolytischen Eigenschaften, und nur ausnahmsweise kann man danach Spuren von Hämolyse bei Mischung von roten Blutkörperchen mit dem unverdünnten Serum beobachten.

Auf Grund meiner Untersuchungen komme ich zu folgenden Schlüssen:

1. Die Sera der Kaltblüter, und zwar vom Aal, Schlei, Hecht, Karpfen und Frosch sind giftig für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen. Die Wirkung der Sera der Kaltblüter auf Meerschweinchen und Kaninchen ist durch Auftreten von Krankheitserscheinungen nebst starkem Temperaturabfall charakterisiert.

2. Die stärkste Giftwirkung besitzt das Aalserum, dann folgen nach ihrer Giftigkeit die Sera vom Schlei, Frosch, Hecht und Karpfen.

3. Die Sera dieser Kaltblüter besitzen hämolytische Eigenschaften gegenüber den roten Blutkörperchen des Menschen, Hammels, Kaninchens, Meerschweinchens und der Maus.

4. Die Giftigkeit der Sera dieser Tiere steht nur zum Teil (Aalserum beim Kaninchen) im direkten Verhältnis zu deren hämolytischen Eigenschaften.

5. Die hämolytischen Eigenschaften der Kaltblütersera gehen bei $\frac{1}{2}$ stündiger Erwärmung auf 50° verloren.

Literatur-Verzeichnis.

- Mosso, A., *Archiv f. experimentelle Pathologie u. Pharmakologie*. Bd. XXV. S. 111.
- Camus, L. u. Gley, E., *Soc. de Biologie*. 1898. 29. Jan. — *Compt. rend. hebdomad. des séances de l'Acad. des sciences*. 1898. T. CXXVI. p. 428.
- Kossel, *Berliner klin. Wochenschrift*. 1898. Nr. 7.
- Tschistowitsch, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1899.
- Noguchi, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1903. Bd. XXXIV.
- Lazar, *Wiener klin. Wochenschrift*. 1904. Nr. 40.
- Friedberger, E. u. Seelig, A., *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1908. Bd. XLVI.
- Liefmann, H., *Berliner klin. Wochenschrift*. 1911. Nr. 37.
- Fraenkel, E., *Zeitschrift f. Immunitätsforschung*. 1911. Bd. X.
- Landsteiner, K. u. Rock, H., *Ebenda*. Bd. XIV. S. 14.
- Weiss, O., *Pflügers Archiv*. Bd. LXV. S. 215.
- Uhlhornhuth, *Diese Zeitschrift*. Bd. XXVI. S. 384.
- Markoff, Wl., *Ebenda*. Bd. LXXII. S. 275.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“
zu Berlin.]

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

Über Methoden der Schutzimpfung gegen Tollwut.

Von

Dr. N. Pokschischewsky,

Magister der Veterinär-Medizin (Rußland),

zurzeit kommandiert von der Veterinärverwaltung des Ministeriums des Innern.

Über die Frage der Immunisierung gegen die Tollwut ist viel gearbeitet worden. Aber bis heute ist die Frage noch nicht entschieden, welche Methode die beste ist und welche am sichersten gegen die natürliche Lyssainfektion schützt.

Die ersten Immunisierungsversuche gegen Lyssa wurden bekanntlich von Pasteur auf subkutanem Wege an Hunden angestellt. Als Impfstoff verwendete er Rückenmarksemulsionen von Passagekaninchen, deren Medulla längere oder kürzere Zeit dem Prozeß der Trocknung über Ätzkali unterworfen waren. Pasteur begann mit Rückenmarken, die einen 14 tägigen Trocknungsprozeß durchgemacht, er setzte dann die Immunisierung mit Markemulsionen fort, die von 13, 12, 11, 10 usw. Tage getrockneten Rückenmarken herrührten, ging herunter bis auf die Injektion von 2 tägigen Mark und schloß die Vorbehandlung, indem er den zu immunisierenden Versuchstieren frisches Passagemark einspritzte.

Alle Hunde, die Pasteur auf diese Weise immunisiert hatte, erwiesen sich als immun gegen eine spätere natürliche oder experimentelle Straßenvutinfektion. Im ganzen hat er mit diesem Verfahren 50 Hunde immun gemacht. Nachdem er so an einem großen Material die Wirksamkeit seines Verfahrens dargetan hatte, machte er die ersten Versuche, seine Methode auch an Menschen, die von wutkranken Tieren verletzt worden waren, zu erproben. Die Kenntnis dieser Versuche muß als bekannt vorausgesetzt werden; es erübrigt sich daher, hier weiter darauf einzugehen.

Verschiedene Forscher, darunter besonders v. Frisch, haben in der Folgezeit die Pasteurschen Versuche nachgeprüft, ohne jedoch so günstige Resultate bei Hunden, Kaninchen und anderen Tieren zu erzielen.

Galtier hat im Jahre 1881 mitgeteilt, daß Hammel und Ziegen, denen er den Speichel wutkranker Hunde intravenös injizierte, nicht erkrankten, sondern daß sie vielmehr einer 4 Monate späteren experimentellen Infektion in die Haut und das subkutane Gewebe erfolgreich widerstanden hätten. Er schließt seine Mitteilung mit den Worten: „Les injections de virus rabique dans les veines du mouton ne font pas apparaître la rage et semblent conférer l'immunité.“

Vom Jahre 1884 an haben Nocard und Roux eine große Anzahl von Versuchen über die Vaccination der Wiederkäuer gegen Lyssa angestellt; aber anstatt des Speichels wutkranker Hunde, eines Virus, das Nocard und Roux treffend charakterisieren mit den Worten: „très infidèle“ haben sie sich einer Emulsion der Medulla oblongata an Wut gestorbener Tiere, Hunde und Passagekaninchen, bedient. Die Prüfung auf Immunität geschah durch Einspritzung des Virus in die vordere Augenkammer. Über diesen Infektionsmodus urteilen sie folgendermaßen: „Ce procédé d'inoculation donne la rage presque aussi sûrement que la trépanation et dans un temps très court.“

Die Versuche ergaben, daß die intravenöse Injektion von Straßen- und Passagevirus bei Ziegen und Hammeln keine Wut hervorruft, sondern sie gegen eine spätere intraokuläre Infektion mit Wutvirus immun macht. Nocard und Roux machen ferner auf den Unterschied aufmerksam, der zwischen Hunden und Kaninchen einerseits, Hammeln und Ziegen andererseits besteht; während die intravenöse Einspritzung von Wutvirus Hunde und Kaninchen tötet, verschafft die gleiche Behandlung Schafen und Ziegen Immunität. Die Versuche an Kühen hatten dagegen, was den Impfschutz anbelangt, ein negatives Resultat.

Nachdem Helman gefunden hatte, daß Wutvirus, wenn es Versuchstieren intraperitoneal einverleibt wird, durchweg von den Tieren vertragen wird, und daß selten ein derartig behandeltes Tier die Wut akquiriert, hat er im Laufe seiner Studien über Tollwut (1885 bis 1892), auf die eben erwähnten Tatsachen gestützt, die Immunisierung von Kaninchen und Hunden studiert. In seinen Versuchen erhielten Kaninchen etwa 8^{ccm} 2 Tage lang getrockneten Markes; etwa 12 Prozent der Tiere bekamen die Wut, die anderen erwiesen sich zwar gegen eine subkutane, aber nicht gegen eine subdurale Infektion mit frischem Virus fixe refraktär.

Von 6 Hunden, denen er frisches Rückenmark in die Bauchhöhle spritzte in einer Menge von 70 bis 80^{ccm}, wurden 5 immun, während einer bei der Behandlung zugrunde ging. Über den Infektionsmodus, den

Helman bei der Kontrolle auf Immunität der Hunde anwandte, findet sich nichts mitgeteilt.

Die Einspritzung in die Bauchhöhle machte Helman durch den Inguinalkanal, um die Verletzung von Muskeln und Nerven zu verhüten.

Die Möglichkeit, durch intraperitoneale Impfung Kaninchen gegen die nachfolgende intramuskuläre, aber nicht gegen die subdurale Infektion zu immunisieren, ist auch von di Vestea und Zagari bestätigt worden. Auch Högyes hat mitgeteilt, daß es ihm bei einem Hund gelungen sei, durch intraperitoneale Injektion einer sehr großen Menge von Gehirnschubstanz das Tier immun zu machen. Im übrigen hat Högyes umfangreiche Versuche der präinfektionellen Schutzimpfung an Hunden nach seiner Dilutionsmethode vorgenommen, auf die hier jedoch nicht näher eingegangen werden soll; denn praktische Bedeutung haben diese Versuche nicht gehabt, da die Methode nur unsichere Resultate lieferte.

Im Jahre 1888 hat Ferran zum ersten Male festgestellt, daß frisches Virus fixe, wenn es in großer Menge Versuchstieren subkutan eingespritzt wird, keine Infektion hervorruft, sondern immunisiert. Ferran gebührt also das Verdienst gezeigt zu haben, daß frisches Virus fixe, in großen Mengen appliziert, wie ein Vaccin wirkt. Weitere Versuche haben dann später auch die Tatsache erwiesen, daß Virus fixe bei intravenöser und intraperitonealer Einspritzung für die meisten Versuchstiere relativ ungefährlich ist.

Nachdem mit der intraabdominalen Einverleibung des frischen Virus ein Weg erfolgreicher Immunisierung gegen eine später erfolgende Straßenerkrankung gefunden worden war, ist sie von einzelnen Experimentatoren als eine sichere Methode der Schutzimpfung bei Kaninchen, Hunden und den größeren Haustieren empfohlen worden.

Über umfangreiche Versuche, Versuchstiere auf intraperitonealem Wege zu immunisieren, hat Marx im Jahre 1899 berichtet. Im ganzen erstreckten sich seine Versuche auf 41 Kaninchen, 4 Meerschweinchen, 9 Hunde und 1 Ziege, die sämtlich den Prozeß der Immunisierung glatt überstanden. Ohne jede Vorsichtsmaßregel spritzte er eine Emulsion des Großhirns von Passagekaninchen den Versuchstieren in die Bauchhöhle. Als die immunisierende Dosis gegen die subdurale Infektion mit Virus fixe gibt er die Menge von 5^{ccm} der Gehirnemulsion an, eine Menge, die ungefähr dem dritten Teil des Großhirns eines 1500 bis 1600^{grm} schweren Kaninchens entspricht. Injektionen von kleineren Mengen 0.2 bis 3^{ccm} Gehirnemulsion waren wertlos; denn die also behandelten Tiere erlagen ausnahmslos einer nachfolgenden Infektion. Die Immunität bestand nicht nur gegen Virus fixe, sondern auch gegen Straßenerkrankung. Die Versuche an Hunden hatten dasselbe Resultat, und eine einmalige Injektion von 5^{ccm}

Gehirnemulsion genügte zur Erzielung einer Immunität. Ob die Prüfung hier durch subdurale oder durch intramuskuläre Infektion von Virus fixe oder Straßenvut erfolgte, geht nicht klar aus der Mitteilung von Marx hervor.

In jüngster Zeit wurden im Auftrage des preußischen Landwirtschaftsministeriums von Miessner, Kliem und Kapfberger Immunisierungsversuche unternommen, die später von Pfeiler und seinen Mitarbeitern fortgesetzt worden sind. Gleichzeitig mit den Arbeiten Miessners habe ich meine Versuche angestellt. Seine Ergebnisse hat Miessner auf der VI. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin im Jahre 1912 vorgetragen, während meine Resultate in der Diskussion zu dem Vortrage Miessners von Jos. Koch kurz mitgeteilt worden sind. Ausführlich haben Miessner und seine Mitarbeiter die Resultate ihrer Versuche später im Jahre 1913 publiziert. Sie haben die Immunisierung auch auf intraperitonealem Wege versucht, im ganzen behandelten sie 4 Hunde, 4 Schafe und 4 Kälber, davon 2 Hunde, 1 Schaf und 1 Kalb intraperitoneal; die Hunde überstanden die später erfolgende intraokuläre Infektion mit Straßenvirus, während die Kontrolltiere zugrunde gingen. Der Versuch mit dem einen Schaf scheidet für die Beurteilung des Endresultates aus, da auch das Kontrollschaf am Leben blieb. Ein intraabdominal injiziertes Kalb erlag der Tollwut, ebenso ein intravenös geimpftes Tier. Zwei andere mit intravenöser Einspritzung behandelte Kälber waren auch nach der Kontrollimpfung mit Straßenvirus am Leben geblieben.

Sichere Schlüsse lassen sich aus diesen an Zahl geringen Versuchen Miessners und seiner Mitarbeiter wohl nicht ziehen.

Andere Ergebnisse haben Pfeiler und Kapfberger nach ihren in diesem Jahre publizierten Arbeiten erzielt. Pfeiler und Kapfberger teilen mit, daß sie 36 Hunde besitzen, die gegen Tollwut immun geworden sind. Es ist ihnen gelungen, mittelst intraperitonealer Einspritzung von 4 bis 8 ^{grm} frischer Hirnsubstanz von Kaninchen, die einer Virus fixe-Infektion erlegen waren, ihre Hunde gegen die 14 Tage später erfolgende Infektion mit Straßenvirus oder Virus fixe zu schützen. Nach Pfeiler währt die Immunität lange Zeit; viele Monate nach der Schutzimpfung wurde ein Teil der Tiere subdural infiziert, ein anderer Teil der natürlichen Infektion durch den Biß tollwutkranker Tiere ausgesetzt; sie blieben alle am Leben. Die Details der Versuche Pfeilers liegen jedoch noch nicht vor. Aus seinen bisherigen Mitteilungen läßt sich nicht ersehen, wieviel seiner Hunde subdural, wie viele intraokulär, wie viele durch den Biß wutkranker Tiere der Kontrolle auf Immunität gegen eine nachfolgende Straßenvutinfektion unterworfen worden sind; genaue Angaben sind jedoch für die Bewertung der Resultate unerläßlich, wie weiter unten noch gezeigt werden soll.

Meine Versuche wurden auf Anregung von Prof. Jos. Koch an- gestellt. Ich wollte feststellen, ob es möglich ist, mittelst des ursprüng- lichen Pasteurschen Verfahrens und zweitens durch intraperitoneale Einspritzung von frischer Gehirns substanz der Passagekaninchen, Versuchs- tiere, hauptsächlich aber Hunde, aktiv sicher zu immunisieren. Die Wiederholung der Versuche nach der alten Pasteurschen Methode schien mir nicht zwecklos zu sein und zwar aus folgendem Grunde: Bekanntlich hat Pasteur seine ersten Immunisierungsversuche an Hunden mit posi- tiven Ergebnissen ausgeführt, bevor er sein Verfahren auch auf den Menschen übertrug. Das damals von ihm benutzte Virus fixe hatte jedoch eine weit kleinere Anzahl von Kaninchenpassagen — kaum 200 — durch- gemacht, als das Virus fixe, dessen wir uns zurzeit im Institut Robert Koch bedienen und das durch Hekatomben von Kaninchen durchgeführt ist. Es lag daher die Möglichkeit vor, daß infolge dieser ungeheuren Anzahl von Passagen die ursprünglichen Eigenschaften des Virus fixe sich ver- ändert hatten und daß es nunmehr wirksamere immunisierende Eigen- schaften als das ursprüngliche Virus besaß. Die Annahme einer Änderung des Virus fixe lag um so näher, als wir durch die Arbeiten Fermis wissen, daß das Virus fixe der verschiedenen antirabischen Institute hinsichtlich der Virulenz und der sonstigen Eigenschaften außerordentliche Unterschiede aufweist. Fermi z. B. verfügt über ein sehr virulentes Virus fixe, das, Versuchstieren subkutan appliziert, in 100 Prozent der Fälle tötet, während das im Institut Robert Koch gebrauchte Passagevirus bei subkutaner Einspritzung in etwa 40 bis 50 Prozent der Fälle den Tod herbeiführt.

Es lohnte sich daher, die Immunisierung von Kaninchen und Hunden nach dem ursprünglichen bei der Schutzimpfung des Menschen ange- wandten Pasteurschen Verfahren zu wiederholen. Unter genauer Beob- achtung der Pasteurschen Technik wurden jedem Versuchstier 2^{ccm} der von Passagekaninchen herrührenden Markemulsion subkutan eingespritzt und zwar Marke, die verschieden lange von 3 bis zu 14 Tagen über Ätz- kali getrocknet waren.

Das Schema der Impfungen war folgendes:

Tabelle I.
Ursprüngliches Pasteursches Schema.

		Dauer der Immunisierung																											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Wieviel letztes Mark wurde injiziert	}	14	13	12	11	10	9	8	7	6	6	5	5	4	3	4	3	5	5	4	4	3	3	5	4	3	5	4	3

Nach diesem Schema wurden 5 Kaninchen und 5 erwachsene Hunde behandelt. Von den 5 Kaninchen haben nur 2 die Immunisierung überstanden, die übrigen gingen zugrunde. Negrische Körperchen konnte ich im Gehirn der Tiere nicht finden, obgleich sie unter den Erscheinungen der Abmagerung und Lähmung zugrunde gegangen waren. Die Hunde haben jedoch den Immunisierungsprozeß ohne jegliche Krankheitserscheinungen überstanden.

Die Kontrolle auf eine etwa erworbene Immunität wurde in dieser Versuchsserie durch die subdurale Infektion mit Straßenwutvirus, das von einem der natürlichen Erkrankung erlegenen Hunde herrührte, ausgeführt. Zu diesem Zweck wurde in diesem wie in allen folgenden Versuchen stets das Gehirn eines Hundes benutzt, dessen Tollwut auf Grund der klinischen Erscheinungen und durch den Nachweis der Negrischen Körperchen sichergestellt war. Nur wenn diese gefunden wurden, wurde das Gehirn zur Kontrolle auf Immunität den vorbehandelten Tieren eingespritzt. Es wurden dichte Emulsionen von Gehirnschubstanz des Ammonshorns in einer Konzentration von 1:10 Kochsalzlösung den Hunden und Kaninchen in einer Menge von 0.1 ^{ccm} subdural appliziert. Bei intramuskulären Infektionen war die Dosis viel höher und betrug 1 bis 2 ^{ccm}.

Bevor wir auf den Infektionsmodus selbst näher eingehen, den wir bei der Prüfung der durch die Vorbehandlung erzielten Immunität unserer Versuchstiere anwandten, ist es notwendig, einige Worte über die Methoden der Wutübertragung und ihre Zuverlässigkeit voranzuschicken.

Wie Pasteur gezeigt hat, wirkt die direkte Inokulation des Virus vermittelt der subduralen Injektion am sichersten. Sie gibt 100 Prozent positive Resultate. Fast gleichwertig diesem Infektionsmodus ist nach Marx und Jos. Koch die intramuskuläre Infektion zu beiden Seiten der Wirbelsäule mit etwa 95 Prozent Erfolgen. Keine konstanten Resultate gibt die intraokuläre Impfung, sehr unzuverlässig ist die subkutane Injektion des Virus. Es wirkt auf diesem Wege nur mehr in der Hälfte der Fälle.

Was speziell die intraokuläre Impfung anbetrifft, die einzelne Experimentatoren bei der Kontrolle der Immunität bevorzugten, so ist zu bemerken, daß sie nach den Erfahrungen verschiedener Untersucher (Nocard, Marx, Jos. Koch) einen zuverlässigen Infektionsmodus nicht darstellt. Von 29 Kaninchen, die z. B. John intraokulär mit Straßenwutvirus infizierte, blieben in 6 Fällen beide Impftiere am Leben, in 15 Fällen gingen beide zugrunde, in 8 Fällen erkrankte nur eines von den zwei geimpften Tieren; bei der Impfung mit Virus fixe blieben die Tiere häufig am Leben.

Marx¹ urteilt über die Zuverlässigkeit der intraokulären Impfung mit Lyssamaterial folgendermaßen:

„Von der vielfach geübten und gelobten Methode der intraokulären Impfung wurde sehr bald völlig abgesehen. Von 7 Tieren, die so mit sicherem Straßenvirus gleichzeitig mit subdural infizierten Tieren geimpft waren, erkrankten nur 3 an Wut, während 4 am Leben blieben. Zwei mit Virus fixe intraokulär geimpfte Kaninchen blieben auch am Leben, weit sicherer, ja fast absolut sicher erscheint die intramuskuläre Impfung.“

Wie unzuverlässig die subkutane Applikation des Wutvirus bei Hunden wirkt, darüber einige Angaben:

Remlinger infizierte ohne besondere Vorsichtsmaßregeln unter Vermeidung der Muskeln 14 Hunde subkutan, davon starb einer, der 5^{ccm} Gehirnemulsion erhalten hatte. Auch die Tiere, denen noch größere Mengen eingespritzt worden waren, hatten die Infektion glatt vertragen, im ganzen betrug die Mortalität nur 7.15 Prozent. **Högyes** sah von 8 mit je 1^{ccm} Straßenvirusemulsion subkutan infizierten Hunden nur einen erkranken, **Marie** berechnet für die subkutane Infektion bei Hunden einen Prozentsatz von etwa 40 Prozent Erfolgen. Von 6 Hunden z. B., die er subkutan unter die Muskeln des Bauches infizierte mit Dosen bis 22^{ccm}, gingen drei nach einer Inkubationszeit von etwa 4 Wochen zugrunde.

Auch die natürliche Infektion durch den Biß eines wutkranken Hundes gibt sehr unsichere Resultate.

Die Art der nachfolgenden Infektion bei der Kontrolle der Immunität der vorbehandelten Tiere muß also bei der Bewertung der Resultate, die die verschiedenen Forscher bei ihren Immunisierungsversuchen erhalten haben, wohl berücksichtigt werden, ein wichtiges Moment, auf das **Jos. Koch** nachdrücklich hingewiesen hat. Es können daher nur solche Resultate miteinander verglichen werden und auf Zuverlässigkeit Anspruch machen, die mit zuverlässigen Methoden erhalten wurden. Wenn z. B. ein vorbehandeltes Tier der subkutanen oder der natürlichen Infektion durch den Biß eines wutkranken Tieres widersteht, so kann das als Beweis einer erzielten Immunität nicht gelten, da das Virus bei subkutaner oder kutaner Applikation in der Hälfte der Fälle überhaupt keine Infektion zustande bringt. Eine Beweiskraft besitzen also diejenigen Immunisierungsversuche, bei denen ein derartig unzuverlässiger Infektionsmodus zur Prüfung der aktiven Immunität angewandt wurde, nur in sehr bescheidenem Maße.

¹ **Marx**, Bericht über die Tätigkeit der Abteilung zur Heilung und Erforschung der Tollwut im Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin im Jahre 1898. *Klin. Jahrbuch*. 1899. Bd. VII. Jena.

Wir haben in unseren Versuchen außer der subduralen die intramuskuläre Applikation des Virus stets zu beiden Seiten der Wirbelsäule (auch bei Hunden) ausgeführt, demnach einen Infektionsmodus gewählt, der an Sicherheit des Erfolges mit der subduralen Infektion konkurrieren kann. Selbst bei der intramuskulären Infektion ist es nicht gleichgültig, in welchen Körperteil die Infektion erfolgt. So ist die intramuskuläre Einspritzung von Virus fixe in die Extremitätenmuskulatur des Kaninchens nach den Erfahrungen Jos. Kochs in einer Reihe von Fällen ohne jeden Erfolg, während die gleiche Dosis in die dicke Lendenmuskulatur zu beiden Seiten der Wirbelsäule eingespritzt, fast ausnahmslos tödlich wirkt.

Bei der Bewertung der Resultate auf Immunität ist aber noch ein weiterer wichtiger Punkt nach Jos. Koch zu berücksichtigen, das ist die verschiedene Virulenz des Straßenvirus. Sie schwankt in den verschiedenen Fällen in weiten Grenzen. Wir haben die Erfahrung gemacht, daß ein vorbehandeltes Tier die spätere Infektion mit einer Gehirnemulsion eines an natürlicher Straßenvut verendeten Hundes vertrug, während eine zweite Infektion mit einem anderen Straßenvirus das Tier an typischer Lyssa verenden ließ. Ferner ist es nicht gleichgültig, ob die Kontrolle auf Immunität mittelst Straßenvirus oder Virus fixe erfolgt. Im allgemeinen ist der Hund für eine Virus-fixe-Infektion in geringerem Grade empfänglich, als für eine Infektion mit Straßenvirus (Jos. Koch).

Noch ein anderer Punkt muß hier hervorgehoben werden. Zur Erzielung einwandfreier Resultate ist es notwendig, daß die Infektion stets mit möglichst frischem Straßenvirus ausgeführt wird. Gehirne, die nicht mehr ganz frisch sind, befinden sich in einem Zustande geringerer Infektionsfähigkeit; denn die Virulenz des Erregers nimmt, wenn auch allmählich, außerhalb des Tierkörpers ab.

Aus den vorhergehenden Ausführungen geht hervor, wieviele Momente bei der Beurteilung der Resultate auf Immunität der verschiedenen Untersucher in Betracht gezogen werden müssen. Jene Fälle, in denen die Untersucher einen unzuverlässigen Infektionsmodus, wie z. B. die subkutane oder intraokuläre Infektion bei der Kontrolle auf Immunität anwandten, kommen für eine ernsthafte Kritik überhaupt nicht in Betracht.

Die von uns bevorzugte intramuskuläre Infektion nähert sich mehr den Bedingungen der natürlichen Erkrankungsweise und hat deshalb auch praktische Bedeutung. Allerdings kann man nur dann von einer idealen Immunität reden, bei der die Tiere auch gegen die subdurale Infektion sich refraktär erweisen. Für die Praxis würde allerdings schon die Immunität genügen, bei der die Versuchstiere eine auf intramuskulärem Wege erfolgende Straßenvutinfektion überstehen oder die natürliche öftere Infektion durch den Biß tollwutkranker Hunde. Die letzte Methode der

Prüfung auf Immunität, bereits häufig von Pasteur angewandt, hat auch unlängst Pfeiler wieder benutzt; dabei muß man sich jedoch stets bewußt sein, daß sichere Schlüsse bei dieser Art der Prüfung auf Immunität der Versuchstiere nicht zu ziehen sind und zwar aus dem bereits oben erwähnten Grunde, weil ein Teil der von einem wutkranken Hund verletzten Versuchstiere überhaupt nicht erkrankt.

Die Prüfung der Immunität erfolgte in meinen Versuchen nicht früher als 3 Wochen nach der letzten Einspritzung des Impfstoffes, manchmal auch später, je nachdem ich das Gehirn eines an natürlicher Straßenvut zugrunde gegangenen Hundes zur Verfügung hatte. Die aus der ersten Versuchsserie (s. Tabelle I) am Leben gebliebenen 2 Kaninchen wurden nach 3 Wochen subdural mit Straßenvirus infiziert, beide gingen nach 14 Tagen zugrunde und zwar an typischer Wut; denn im Ammons-horn konnten die Negrischen Körperchen festgestellt werden.

Von den 5 Hunden wurden 3 Wochen nach abgeschlossener Immunisierung 2 subdural und 3 intramuskulär mit Straßenvirus infiziert. Alle erkrankten mit typischen Erscheinungen der Straßenvut und verendeten. Von den subdural infizierten Tieren erkrankte ein Hund am 14. Tage und ging am 15. ein, der andere wurde am 15. Tage krank, einen Tag später erfolgte der Exitus letalis. Die intramuskulär infizierten Hunde zeigten Krankheitssymptome: der erste am 16., der zweite am 17., der dritte am 18. Tage. Der Tod trat gewöhnlich 2 Tage nach dem Auftreten der klassischen Wutsymptome auf, in jedem Fall waren dem Lähmungsstadium kurze, aber ziemlich heftige Erregungserscheinungen vorausgegangen. Die Diagnose der Wut wurde durch den Nachweis der Negrischen Körperchen in jedem Falle erbracht.

In genau derselben Weise wurden noch weitere 5 Hunde immunisiert. Auch sie vertrugen die Einspritzung ohne irgendwelche Krankheitserscheinungen. Nach 4 Wochen folgte die Kontrolle auf Immunität und zwar bei 2 Hunden mittels subduraler, bei 3 Hunden mittels intramuskulärer Infektion.

Auch diese Tiere gingen sämtlich zugrunde, ebenfalls an typischer Wut, wie durch den Nachweis der Negrischen Körperchen festgestellt werden konnte. Die subdural infizierten Tiere verendeten eines am 15., das andere am 16. Tage. Das erste war 3 Tage, das zweite 2 Tage krank. Nach einer ungleich längeren Inkubationszeit gingen die intramuskulär infizierten Tiere ein, und zwar das erste nach 42, das zweite nach 36 und das dritte nach 45 Tagen.

Zur Kontrolle und gleichzeitigen Virulenzprüfung des zur Infektion benutzten Straßenvirus wurden gleichzeitig mit den behandelten Tieren zwei nicht behandelte Hunde intramuskulär infiziert. Diese gingen

im ersten Versuch nach 17 und im zweiten nach 28 Tagen ein; die Ganglienzellen des Ammonshorns enthielten Negrische Körperchen.

Weitere Immunisierungsversuche nach der verstärkten Pasteurschen Methode, so wie sie zurzeit auf der Wutschutzabteilung des Instituts „Robert Koch“ zu Immunisierungszwecken beim Menschen üblich ist, wurden bei 5 Kaninchen vorgenommen, denen der Impfstoff subkutan in einer Menge von 2^{ccm} nach folgendem Schema beigebracht wurde.

Tabelle II.

	Die Dauer der Immunisierung																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Wieviel tägliches Mark injiziert wurde	3	2	1	1	3	2	1	1	3	2	1	1	3	2	1	1	3	2	1	1	1

Von diesen Tieren starb eines am 19. Tage unter typischen Lähmungserscheinungen; jedoch fanden sich im Gehirn des Tieres keine Negrischen Körperchen. Die übrigen 4 Tiere überstanden zwar den Prozeß der Immunisierung, obgleich sich an den Impfstellen ziemlich große Infiltrate gebildet hatten.

Bei dieser Serie erfolgte die Prüfung der Immunität gegen Straßenvirus 5 Wochen nach der letzten Einspritzung, und zwar bei 2 Kaninchen durch subdurale, bei den zwei anderen durch intramuskuläre Infektion. Ein nicht behandeltes Tier diente zur Kontrolle. Es erkrankte am 18. und verendete am 21. Tage. Die subdural infizierten Versuchstiere zeigten Wutsymptome am 12. und starben am 13. Tage, während die intramuskulär infizierten Kaninchen am 18. erkrankten und am 21. Tage zugrunde gingen. Die Diagnose wurde bei sämtlichen Tieren durch die mikroskopische Untersuchung auf Negrische Körperchen erhärtet.

Es haben also unsere sämtlichen Versuche zur Erzeugung einer aktiven Immunität bei Hunden und Kaninchen sowohl nach dem alten als auch nach dem verstärkten Pasteurschen Verfahren stets ein negatives Ergebnis gehabt. Daraus kann man schließen, daß das Virus fixe, das Tausende von Passagen durch Kaninchen durchgemacht hat, nachdem es durch Trocknung über Ätzkali abgeschwächt worden ist, bei Kaninchen und Hunden in den angewandten Dosen keine immunisierenden Fähigkeiten gegen das Straßenvirus besitzt. Denn es war nicht imstande, die Tiere gegen eine spätere subdurale und intramuskuläre Infektion zu schützen.

Im Gegensatz hierzu haben unsere weiteren Versuche den sicheren Beweis geliefert, daß das frische Virus fixe Hunden und Kaninchen gegenüber immunisierende Eigenschaften entfaltet und zwar dann, wenn

es den Versuchstieren auf intraperitonealem Wege zugeführt wird. Dann erweist es sich unter noch näher zu erörternden Bedingungen als ein wirkliches Vaccin und verleiht dem Tier eine wirkliche aktive Immunität. Die Versuchstechnik war folgende.

Das ganze Gehirn eines an Passagewut erlegenen Kaninchens wurde mit 25^{ccm} physiologischer Kochsalzlösung zu einer dicken Emulsion verrieben. Das Großhirn eines 1500 bis 1800^{g^{rm}} schweren Kaninchens wiegt im allgemeinen etwa 6^{g^{rm}}. Die mit Kochsalzlösung bereitete Emulsion hatte daher ungefähr stets die gleiche Konzentration. Von dieser dicken Emulsion wurden den Versuchstieren, Hunden und Kaninchen, 3 mal je 5^{ccm} in einem 8tägigen Zwischenraum intraperitoneal appliziert. Im ganzen erhielt also jedes Versuchstier 15^{ccm} Emulsion oder $\frac{3}{5}$ der Gehirnsubstanz eines Passagekaninchens.

Bei der Einspritzung in die Bauchhöhle habe ich gewisse Vorsichtsmaßregeln angewandt, um eine subkutane oder intramuskuläre Infektion des Tieres zu verhüten. Zu diesem Zweck habe ich in die Bauchhöhle zunächst eine sterile Kanüle eingeführt und dann mit einer Spritze die Gehirnemulsion eingespritzt. Die Kanüle wurde erst aus der Bauchhöhle herausgezogen, nachdem Kochsalzlösung nachgespritzt worden war, um die letzten Gehirnpartikelchen aus der Kanüle zu entfernen. Wenn das Innere der Kanüle auf diese Weise gereinigt war, wurde sie entfernt. Nach meinen Erfahrungen glaube ich, daß sich so eine gleichzeitig subkutane und intramuskuläre Infektion der Versuchstiere vermeiden läßt.

Nach Abschluß dieser Behandlung blieben die Tiere sich zunächst 4 Wochen selbst überlassen, dann wurde durch subdurale oder intramuskuläre Infektion mit Straßenvirus festgestellt, ob eine aktive Immunität infolge der Vorbehandlung mit frischem Virus fixe erzielt worden war.

Die erste auf intraperitonealem Wege vorbehandelte Serie bestand aus 5 Hunden und 5 Kaninchen, die die Vorbehandlung glatt vertrugen. Einen Monat später wurden 2 Hunde und 2 Kaninchen mit Straßenvirus subdural, 3 Hunde und 3 Kaninchen nebst einem nicht vorbehandelten Hund und einem Kaninchen als Kontrolle infiziert. Der Versuch hatte folgendes Ergebnis:

Beide subdural infizierten Kaninchen gingen am 17. Tage an typischer Wut ein. Ein subdural infizierter Hund erkrankte am 21. und verendete am 23. Tage. Bei sämtlichen Tieren hatte die Untersuchung auf Negrische Körperchen ein positives Resultat. Der Kontrollhund und das Kontrollkaninchen starben am 15. bzw. am 21. Tage an typischer Straßenvut, ebenfalls mit positivem Nachweis der Negrischen Körperchen.

Dagegen blieben die drei intramuskulär infizierten Hunde, sowie ein subdural, ferner drei intramuskulär infizierte Kaninchen am Leben. Diese

Tiere waren also durch die intraperitoneale **Immunisierung** mit frischem **Virus fixe immun** geworden.

Mit einer zweiten Serie bestehend aus 5 Hunden und 5 Kaninchen wurde der Versuch wiederholt. Ihre Behandlung geschah in genau derselben Weise wie bei der ersten intraperitoneal immunisierten Serie.

Bei dieser Serie wurde die Kontrolle auf eine vorhandene **Immunität** 34 Tage nach der letzten intraperitonealen **Einspritzung** ausgeführt. 2 Hunde und 2 Kaninchen wurden subdural, die übrigen 3 Hunde und 3 Kaninchen intramuskulär infiziert. Von den Tieren erkrankte ein subdural infizierter Hund am 10. und ging am 11. Tage zugrunde, der zweite am 19. bzw. am 22. Tage, positiver Befund von **Negrischen Körperchen**. Ebenso starben die subdural infizierten Kaninchen am 14. Tage. Der mikroskopische Befund an **Negrischen Körperchen** bestätigte die klinische Diagnose.

Im übrigen stimmt das Resultat dieser Versuchsserie mit der ersten überein. Denn sämtliche Hunde und Kaninchen, die intramuskulär infiziert worden waren, haben die Infektion mit **Straßenvirus** überstanden und sind am Leben geblieben, während ein nicht behandeltes Kontrollkaninchen am 11. Tage und ein intramuskulär infizierter Kontrollhund am 21. Tage an typischer **Wut** verendeten.

Dieses günstige Ergebnis der intraperitonealen **Immunisierung** mittels großen Dosen frischen **Virus fixe** hat uns veranlaßt, noch einen dritten großen Versuch nach derselben Methode zu machen. Es wurden 10 Hunde je dreimal mit 5^{ccm} der Gehirnemulsion von frischem **Virus fixe** behandelt, 8 Wochen nach der letzten Einspritzung davon 5 Hunde subdural und 5 Tiere intramuskulär mit **Straßenvirus** infiziert. Von den subdural geimpften Hunden blieben zwei am Leben. Einer von ihnen erkrankte zwar schon am 6. Tage mit Erregungszuständen, erholte sich aber dann wieder. Von den drei übrigen subdural infizierten Hunden erkrankte je einer am 10. und am 13. Tage nach der Infektion, der dritte am 9. Tage. Der Kontrollhund zeigte am 10. **Wutsymptome**, 2 Tage später verendete er. Bei allen zugrunde gegangenen Tieren haben wir **Negrische Körperchen** nachweisen können.

Wiederum dagegen sind die 5 intraperitoneal immunisierten und 8 Wochen später mit **Straßenvirus** intramuskulär infizierten Hunde am Leben geblieben. Auch sie haben also durch die Vorbehandlung eine wirkliche aktive **Immunität** erworben.

Sämtliche eben beschriebenen Versuche über die **Immunisierung** von 20 Hunden und 10 Kaninchen mittels intraperitonealer **Einspritzung** von großen Mengen frischen **Virus fixe** sind in folgenden Tabellen III und IV übersichtlich zusammengestellt worden.

Tabelle III.
 Resultate der Behandlung der Versuchskaninchen mit großen Dosen frischen Virus fixe
 auf intraperitonealem Wege.

Nummer der Tiere nach Serien	Die Menge der Impfemulsion			An welchem Tage die Kontrolle der Immunität ge- macht wurde	Der Infektions- modus	Ob Tier am Leben blieb oder starb	Ergebnisse:	
	I. Ein- spritzung in cem	II. Ein- spritzung in cem	III. Ein- spritzung in cem				An welchem Tage das Tier er- krankte	An welchem Tage das Tier an Tollwut verendete
1	5	5	5	am 30. Tage	subdurale Infektion	tot	am 16. Tage	am 17. Tage
2	5	5	5	" 30. "	desgl.	"	" 16. "	" 17. "
3	5	5	5	" 30. "	intramuskuläre Infektion	lebt	—	—
4	5	5	5	" 30. "	desgl.	"	—	—
5	5	5	5	" 30. "	"	"	—	—
6	—	—	—	gleichzeitig mit den immunisierten Tieren	"	tot	am 14. Tage	am 15. Tage
7	5	5	5	am 34. Tage	subdurale Infektion	"	" 13. "	" 14. "
8	5	5	5	" 34. "	desgl.	"	" 13. "	" 14. "
9	5	5	5	" 34. "	intramuskuläre Infektion	lebt	—	—
10	5	5	5	" 34. "	desgl.	"	—	—
11	5	5	5	" 34. "	"	"	—	—
12	—	—	—	gleichzeitig mit den immunisierten Tieren	"	tot	am 10. Tage	am 11. Tage

Tabelle IV.
Resultate der Behandlung der Versuchshunde mit großen Dosen frischen Virus fixe auf intraperitonealem Wege.

Nummer der Tiere nach Serien	Die Menge der Impfung			An welchem Tage die Kontrolle der Immunität gemacht wurde	Der Infektionsmodus	Ob Tier am Leben blieb oder starb	Ergebnisse:	
	I. Einzelspritzung in cem	II. Einzelspritzung in cem	III. Einzelspritzung in cem				An welchem Tage das Tier erkrankte	An welchem Tage das Tier an Tollwut verendete
1	5	5	5	am 80. Tage	subdurale Infektion	lebt	am 21. Tage	am 23. Tage
2	5	5	5	" 80. "	" intramuskuläre Infektion	tot	—	—
3	5	5	5	" 80. "	desgl.	lebt	—	—
4	5	5	5	" 80. "	"	"	—	—
5	5	5	5	" 80. "	"	"	—	—
6	—	—	—	gleichzeitig mit den immunisierten Tieren	"	tot	am 19. Tage	am 21. Tage
7	5	5	5	am 84. Tage	subdurale Infektion	"	10. "	11. "
8	5	5	5	" 84. "	" intramuskuläre Infektion	lebt	19. "	22. "
9	5	5	5	" 84. "	desgl.	"	—	—
10	5	5	5	" 84. "	"	"	—	—
11	5	5	5	" 84. "	"	tot	am 19. Tage	am 21. Tage
12	—	—	—	gleichzeitig mit den immunisierten Tieren	"	"	—	—
13	5	5	5	am 56. Tage	subdurale Infektion	lebt	—	—
14	5	5	5	" 56. "	"	tot	am 10. Tage	am 13. Tage
15	5	5	5	" 56. "	"	"	10. "	13. "
16	5	5	5	" 56. "	"	"	9. "	11. "
17	5	5	5	" 56. "	" intramuskuläre Infektion	lebt	—	—
18	5	5	5	" 56. "	desgl.	"	—	—
19	5	5	5	" 56. "	"	"	—	—
20	5	5	5	" 56. "	"	"	—	—
21	5	5	5	" 56. "	"	"	—	—
22	5	5	5	" 56. "	"	tot	am 10. Tage	am 12. Tage
23	5	5	5	gleichzeitig mit den immunisierten Tieren	"	"	—	—

Aus unseren Versuchen ergeben sich folgende Schlußfolgerungen:

1. Die ursprüngliche und die verstärkte Pasteursche Methode der Schutzimpfung gegen Tollwut ist nicht hinreichend, um Hunde und Kaninchen gegen die subdurale und intramuskuläre Infektion mit Straßenvirus zu schützen.

2. Bei der Prüfung der Versuchstiere auf Immunität nach vorausgegangener Vorbehandlung ist ein sicherer Infektionsmodus anzuwenden. Als solche kommen in Betracht die subdurale und die intramuskuläre Infektion mit Straßenvirus, wenig zuverlässig ist die intraokuläre Einspritzung des Virus. Sehr unsichere Resultate gibt die subkutane Applikation des Virus oder die natürliche Infektion durch den Biß eines wutkranken Hundes.

3. Außer dem Infektionsmodus muß bei der Bewertung des Prüfungsergebnisses auf Immunität die Virulenz des Straßenvirus und der Umstand berücksichtigt werden, ob die Prüfung mit Straßenvirus oder Virus fixe erfolgte.

4. Nach unseren Erfahrungen verleiht die Methode der intraperitonealen Immunisierung mit großen Dosen frischen Virus fixe Hunden und Kaninchen eine sichere aktive Immunität gegen die intramuskuläre Infektion mit Straßenvirus.

5. Gegen eine subdurale Infektion, den schärfsten Infektionsmodus, schützt die intraperitoneale Immunisierung mit originalem Virus fixe Hunde und Kaninchen in etwa der Hälfte der Fälle.

6. Die Methode der intraperitonealen Schutzimpfung erscheint auch für die Praxis aussichtsvoll, um z. B. wertvolle Hunde in verseuchten Gegenden gegen eine drohende Infektion durch den Biß eines wutkranken Hundes zu schützen. Sie bildet ferner eine feste Basis für weitere Immunisierungsversuche an den großen Haustieren, Rindern und Pferden.

Literatur-Verzeichnis.

1. Calabrese, Untersuchungen über die Immunisation gegen Rabies. *VIII. Congresso di mediz. intern. Neapoli 1897.* Ref. *Centralblatt f. allgem. Pathologie.* 1898. Bd. IX. S. 314.
2. Di-Vestea u. Zagari, Neue Untersuchungen über die Wutkrankheit. *Fortschritte der Medizin.* 1889. S. 241.
3. Ferran, Sur la vaccination antirabique de l'homme. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1888.
4. v. Frisch, A., Pasteurs Untersuchungen über das Wutgift und seine Prophylaxe der Wutkrankheit. *Mitt. d. Kaiserl. Akademie der Wissenschaft.* 1886. Bd. XXVII.
5. Galtier, Nouvelles expériences sur l'inoculation antirabique en vue de préserver les animaux herbivores de la rage. *Compt. rend. de l'Acad. des sciences de Paris.* 1888. T. CVI.
6. Högyes, Vaccinations contre la rage avant et après infection. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1889.
7. Johne, Diagnostische Tollwutimpfungen. *Bericht über das Veterinärwesen im Königreich Sachsen 1901.*
8. Jos. Koch, Bericht über die VI. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin. 1912. Ref. *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. LIV. Beiheft. S. 76.
9. Derselbe, Lyssa. *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen* von Kolle-Wassermann. II. Aufl.
10. Marx, Beiträge zur Lyssaimmunität. *Deutsche med. Wochenschr.* 1899. Nr. 41.
11. Marie, *La rage.* Paris 1901.
12. Miessner, Über Tollwutschutzimpfungen bei Tieren. Ref. *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. LIV. S. 76.
13. Miessner, Kliem u. Kapfberger, Immunisierungsversuche gegen Tollwut. *Arch. wissensch. u. prakt. Tierheilkunde.* 1913. Bd. LIX.
14. Nocard et Roux, Expériences sur la vaccination des ruminants contre la rage, par injections intraveineuses de virus rabique. *Annal. de l'Institut Pasteur.* 1888.
15. Pasteur, Lettre sur la rage. *Ebenda.* 1887.
16. Derselbe, Lettre à M. Duclaux. *Ebenda.* 1887.
17. Pfeiler, W., Neue Immunisierungsversuche bei Tollwut. *Berliner tierärztliche Wochenschrift.* 1913. Nr. 14—15.
18. Pfeiler u. Kapfberger, Versuche zur Immunisierung von Hunden gegen Tollwut. *Zeitschrift f. Infektionskrankheiten der Haustiere.* 1913. Bd. XIII.
19. Protopopow, Zur Immunität für Tollwutgift bei Hunden. *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1888. Bd. IV.
20. Derselbe, Über die Vaccination der Hunde gegen Tollwut. *Ebenda.* 1888. Bd. IV.
21. Remlinger, Contribution à l'étude du virus rabique fixe. Son innocuité relative pour le chien. *Compt. rend. de la Soc. de Biologie.* 1906. T. LVI.
22. Sommer, Résumé des recherches de M. C. Helman sur la rage. *Archives des sciences biologiques publiées par l'Institut impérial de médecine expérimental à St. Petersburg.* 1893. T. II.
23. Högyes, Contribution expérimentale à l'étude de quelques questions pendantes au sujet de la rage. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1889. T. I.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kaiserl. Universität Jurjew-Dorpat.]
(Direktor: Prof. Dr. E. Schepilewsky.)

Zur Frage der Veränderlichkeit der Choleravibrionen in Wasser.

Von

Magister **Johannes Stamm.**

(Hiersu Taf. XI u. XII.)

Einleitung.

Die Frage nach der Entstehung und Verbreitung der Cholera-epidemien nimmt immer noch die angestrengtesten Bemühungen vieler Forscher in Anspruch. Namentlich sind es die Beziehungen der Choleravibrionen zum Wasser, die noch nicht hinreichend geklärt erscheinen und weiterer experimenteller Untersuchungen bedürfen. Die Untersuchungen während der letzten Choleraepidemie in Rußland haben gezeigt, daß die Choleravibrionen in offenen Gewässern sich erst dann nachweisen ließen, wenn die Epidemie ihren Höhepunkt erreicht hatte, ja hauptsächlich erst im abnehmenden Stadium derselben. Jene Untersuchungen ergaben ferner, daß im Flußwasser wie auch in den Gedärmen von Cholerakranken, Rekonvaleszenten und Gesunden in der warmen Jahreszeit choleraähnliche, inagglutinable Vibrionen stark verbreitet sind. Solchen Befunden gegenüber lag die Annahme der Veränderlichkeit der Art des Choleravibrio nahe, und zwar in dem Sinne, daß der Choleravibrio sich in eine saprophytische Abart verwandeln könne, was — wenn es tatsächlich der Fall wäre — die Grundlage unserer heutigen Choleradiagnose erschüttern müßte.

Eine solche Annahme hatte Sanarelli¹ schon im Jahre 1893 in Form seiner Theorie der Ubiquität des Cholera-vibrio ausgesprochen, und sie ist von einigen Petersburger Forschern (Zlatogoroff², Horowitz³) wieder erneut worden.

Zlatogoroff hat im Jahre 1909 in seiner Arbeit: „Zur Frage der Diagnostik der Cholera-vibrien“ behauptet, experimentell nachgewiesen zu haben, daß der Cholera-vibrio die Eigenschaft besitzt, im Wasser sein Agglutinationsvermögen einzubüßen und zwar desto eher, je länger er der Einwirkung des Wassers ausgesetzt bleibt. Dieses Resultat hauptsächlich veranlaßte ihn, die oben genannte Hypothese einer leichten Veränderlichkeit der Art des Cholera-vibrio auszusprechen. Die uns interessierende experimentelle Grundlage dieser Hypothese bilden zwei Versuche mit Wasserpässagen der Cholera-vibrien durch rohes Newawasser. In beiden Versuchen erzielte Zlatogoroff eine bedeutende Herabsetzung der Agglutination. Im ersten Versuch wurde schon nach einer 3, 5 und 7-tägigen Passage eine Herabsetzung der Agglutination auf 1:5000 erzielt (die ursprüngliche Kultur agglutinierte bei 1:10 000). Nach der zweiten 7-tägigen Passage war die Agglutination 1:1000. Nach der fünften Übertragung in Newawasser war der Titer 1:400. Eine weitere Herabsetzung der Agglutination erwies sich als unmöglich. Durch Überimpfungen dieser Kultur auf Agar wurde schon nach der vierten Generation eine Agglutination von 1:2000 erzielt. Bei weiteren Übertragungen trat Agglutination bei einer Verdünnung von 1:5000 ein. Beim zweiten Versuch wurde nach der ersten 12-tägigen Newawasserpassage eine Herabsetzung der Agglutination des Cholera-vibrio von 1:10 000 auf 1:5000 konstatiert. Nach der zweiten 12-tägigen Passage agglutinierte der Vibrio bei 1:1000. Nach der dritten 10-tägigen Passage wurde ein Vibrio gezüchtet, der von Serum bei einer Verdünnung von 1:200 agglutiniert wurde. Dieser Vibrio wurde alle 8 Tage auf Agar überpflanzt und agglutinierte nach 2 Monaten bei einer Serumverdünnung von 1:5000.

¹ Sanarelli, G., Les vibrions des eaux et l'étiologie du choléra. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1893. T. VII. p. 693. — Le varietà dei vibrioni e la diagnosi batteriologica del colera. *Rivista d'Igiene e di Sanità pubblica*. 1894. Nr. 1, 2, 3. u. Baumgartens *Jahresbericht*. 1894. S. 409. — I vibrioni intestinali e la patogenesi del colera. *Policlinico*, gennaio 1 e febbraio 15; u. Baumgartens *Jahresbericht*. 1895. S. 400. — Les vibrions intestinaux et la pathogénie du céra. *Annales de l'Institut Pasteur*. Nr. 3. p. 123, u. Baumgartens *Jahresbericht*. 1895. S. 401.

² Zlatogoroff, S. I., Zur Frage der Diagnostik der Cholera-vibrien. Experimenteller Beitrag zur Epidemiologie der Cholera. *Centralblatt f. Bakteriologie*. I. Abt. Orig. Bd. XLVIII. S. 684. — *Ebenda*. 1911. Bd. LVIII. S. 14.

³ Horowitz, L., Zur Frage über die Diagnose der Cholera-vibrien. *Ebenda*. 1911. I. Abt. Orig. Bd. LVIII. S. 79.

Im ersten Versuch wurden die Passagen bei einer Temperatur von 10 bis 12° C gehalten, im zweiten Versuch bei einer Temperatur von 12 bis 14° C.

Nach Zlatogoroff hat auch Barrenscheen¹ Choleravibrionen durch destilliertes sowie durch Flußwasser passieren lassen, wobei auch er eine Herabsetzung der Agglutinierbarkeit der Choleravibrionen festgestellt hat.

Köhlisch² hat die Arbeit Zlatogoroffs einer Nachprüfung unterzogen und ist zur Überzeugung gelangt, daß die Behauptung Zlatogoroffs, wonach die Choleravibrionen im Wasser ihre Agglutinabilität einbüßen können, nicht einwandfrei erwiesen sei. Die von ihm angestellten Versuche mit Fluß-, Leitungs- und destilliertem Wasser sprachen entschieden dagegen.

Haendel und Woithe³ haben auch einige Versuche mit Passagen der Choleravibrionen durch destilliertes Wasser angestellt, doch haben sie trotz fünf Passagen, die im ganzen 71 Tage dauerten, keine Herabsetzung der Agglutination beobachten können.

Wie aus den angeführten Arbeiten zu ersehen ist, gehen die Ansichten der Autoren auseinander. Da aber die Zuverlässigkeit der Methodik der Choleradiagnose durch die Mitteilung Zlatogoroffs in Frage gestellt war, übernahm ich es im Jahre 1910, auf Vorschlag meines hochverehrten Lehrers, des Hrn. Prof. E. Schepilewsky, die dauernde Einwirkung rohen Quell- und Flußwassers auf Choleravibrionen sowie den Charakter der eventuell auftretenden Veränderungen derselben einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen. Die Resultate der bis jetzt fast 3 Jahre dauernden Untersuchung lassen sich kurz, wie folgt, zusammenfassen: „Von 13 echten Cholerakulturen, mit denen Wasserpässagen ausgeführt wurden, haben 7 tiefgreifende Veränderungen erfahren, und zwar nachdem 14 bis 19 Passagen ausgeführt worden waren, während die übrigen 6 Kulturen selbst nach 21 Passagen noch keine Veränderungen aufwiesen. Die so entstandenen Abarten der Choleravibrionen habe ich „Variationen“ genannt. Im allgemeinen besitzen dieselben biologisch retrogressive Eigenschaften, da sie fast alle den Choleraerreger charakterisierenden Merkmale

¹ Barrenscheen, H., Über die Agglutination der Choleravibrionen. *Centralblatt f. Bakteriologie*. I. Abt. Orig. Bd. L. S. 261.

² Köhlisch, Über die angebliche Änderung der Agglutinabilität durch Aufenthalt im Wasser. *Ebenda*. 1910. Orig. Bd. LV. S. 156.

³ Haendel u. Woithe, Vergleichende Untersuchungen frisch isolierter Cholera-Stämme mit älteren Cholera- und El-Tor-Kulturen. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. 1910. Bd. XXXIV. S. 17.

eingebüßt haben. So z. B. agglutinieren die Variationen nicht mit Cholera-serum; Gelatine wird nur langsam oder auch garnicht verflüssigt; Indol wird nicht produziert; ihre Virulenz ist verloren. Dagegen ist die Fähigkeit, Agglutinine zu bilden, erhalten geblieben und ist als neuerworbene Eigenschaft Pigmentproduktion zu erwähnen. Morphologisch teilen sie sich in drei Gruppen: 1. In zwei Fällen kleine zugespitzte Vibrionen, die bisweilen die Fähigkeit besitzen, in hypertrophische Formen überzugehen und gelegentlich Verzweigungen zu bilden. 2. In 3 Fällen Variationen, die bei 37° C in hypertrophischen Formen und bei 15° C in normaler oder annähernd normaler Vibrionenform wachsen. 3. Variationen, die Staphylokokken und einfache Kokkenformen aufweisen. Das Bemerkenswerteste dieser Varianten ist nun der Umstand, daß alle Eigenschaften, seien es solche retrogressiver oder neuerworbener Natur, hochgradig erblich konstant sind. Die Varianten haben sich bis jetzt nach Verlauf von 30 Monaten nicht verändert, trotzdem sie in dieser Zeit bis über 540 Überimpfungen bestanden haben, ein Umstand, der es gestattet, dieselben als Variationen im Sinne neuer Arten anzuerkennen. Entstanden sind die Variationen durch Mutation im Sinne de Vries'.

Vorläufige Untersuchung der Kulturen und deren Provenienz.

Zu unserer Verfügung standen verschiedene Cholerasträmme sowie Vibrionen, deren eventuelle Beziehungen zum Cholera vibrio noch festzustellen waren, da dieselben von Cholera-kranken, Trägern und aus Wasser während der Choleraepidemie stammten. Außerdem habe ich selbst aus dem Flusse Embach Vibrionen gezüchtet, die gleichfalls zu unserem Material hinzugefügt wurden. Die Bezeichnungen der Kulturen und deren Herkunft sind folgende:

1. „Vibr. Chol. W.“ — Kultur unseres Hygienischen Instituts vom Jahre 1908.
 2. „Vibr. Chol. a. K.“ Alte Kultur unseres Hygienischen Instituts vom Jahre 1901.
 3. „Vibr. Chol. I. E. M.“ — erhalten vom Institut für experimentelle Medizin zu Petersburg im Jahre 1908.
 4. „Vibr. Chol. kurz.“
 5. „Vibr. Chol. lang.“
- } Beide Stämme sind von Prof. Schepilewsky aus einer Kultur gezüchtet, die wir im Jahre 1910 vom Institut für experimentelle Medizin zu Petersburg erhielten (vgl. S. 474).
6. „Newa K.“
 7. „Newa Gr.“
- } Beide Stämme sind im November 1910 aus der Newa isoliert und uns von der bakteriol. Abt. des Petersburger städtischen Laboratoriums übersandt.

8. „Ch.“
 9. „K.“
 10. „Tr.“
 11. „M.“
 12. „Ph.“
 13. „Mk.“
- } Bazillenträger vom Jahre 1909. Von demselben Laboratorium
 im Jahre 1910.
14. „Z 1“ — vom Kranken isoliert, aus der bakt. Abt. des Petersburger städtischen Laboratoriums 1910.
15. „Z 50“ — vom Bazillenträger isoliert, aus der bakt. Abt. des Petersburger städtischen Laboratoriums 1909.
16. „6175.“ } Erhalten von Kranken mit verdächtigen Störungen des Darmtraktes im Mai 1910 außerhalb der Choleraerkrankungen, aus demselben Laboratorium.
 17. „6185.“ }
18. „8280“ — vom Kranken, isoliert von Tatjana P. am 24. Aug. 1910 am 30. Krankheitstage. Geformte Exkreme.
19. „8231“ — vom Kranken, isoliert von Tatjana P. am 21. Aug. 1910 am 27. Krankheitstage. Geformte Exkreme.
20. „3258“ — vom Bazillenträger, isoliert von Marie N. (2 Jahre alt), gesunde Trägerin. Geformte Exkreme. Die Mutter war cholerakrank.
21. „3259“ — vom Bazillenträger, isoliert von Anfisa N. (6 Jahre alt), gesunde Trägerin. Geformte Exkreme. Die Mutter war cholerakrank.
22. „2421“ — vom Bazillenträger, isoliert von Iwan T. (27 Jahre alt) am 21. August 1910. Breiige Exkreme. In der Wohnung war ein Cholerakranker.
23. „2422“ — vom Bazillenträger, isoliert von Jakob B. (14 Jahre alt) am 21. August 1910. — Breiige Exkreme; aus derselben Wohnung.
24. „Nowo s. Sd.“ Aus unfiltriertem Newawasser.
 25. „Filter 11.“ Aus filtriertem Newawasser.
 26. „Res. B.“ Aus dem Reservoir B.
- } Aus Wasser der Hauptstation der St. Petersburger Wasserleitung.
27. „L. H.“ Aus Newawasser.
28. „Vibr. b.“ Von mir isoliert im September 1910 aus dem Flusse Embach.
29. „Vibr. b — 120.“ Derselbe Vibrio nach 120 Überimpfungen auf Agar, die je dreimal in 24 Stunden ausgeführt wurden.
30. „Vibr. f.“ Von mir isoliert im September 1910 aus dem Flusse Embach.
31. „Vibr. f — Tierpassage.“ Derselbe Vibrio nach dreimaliger Passage durch den Meerschwein Körper.

32. „Vibr. X. anindol.“ Von mir isoliert aus Embachwasser, bildet kein Indol.
33. „Vibr. Q.“ Ähnlich dem „Vibr. b“, jedoch isoliert aus Embachwasser 30 Tage nach der Isolierung des „b“.

Die Kulturen von 16 bis 27 inkl. erhielten wir gleichfalls von der bakt. Abt. des St. Petersburger städtischen Laboratoriums.

Meinen Untersuchungen lasse ich eine Übersicht der Eigenschaften des mir zur Verfügung gestandenen Vibrionenmaterials vorausgehen, einerseits, um zu zeigen, daß die zu den Versuchen gelangten Vibrionen echte Choleravibrionen waren, und andererseits, um die Beziehungen der Choleravibrionen zu den choleraähnlichen in morphologischer wie biologischer Hinsicht festzustellen. Morphologisch erwiesen sich alle 33 Kulturen, die zu den Untersuchungen gewählt wurden, als typische Vibrionen, und gehörten geringe Abweichungen zum Formenkreise der normalen Entwicklung. So z. B. unterschied sich die Kultur „Vibr. Chol. kurz“ vom „Vibr. Chol. lang“ nur dadurch, daß erstere aus plumpen kurzen Vibrionen und letztere aus langen dünnen Formen bestand. Wie schon in dem vorhergegangenen Verzeichnis erwähnt, stammen beide Kulturen von ein und derselben Kultur, die Hr. Prof. Schepilewsky in zwei Stämme teilte, da auch die Kolonien sich von einander durch Größe und Durchsichtigkeit unterschieden. Wie es sich später zeigte, behielten diese Kulturen ihre morphologischen Unterschiede nicht lange bei, sondern es ging die eine Form beständig in die andere über. Biologisch waren beide Kulturen gleich. Der Vibrio „Filter 11“ hatte die Eigenschaft, oft in lange Fäden auszuwachsen, eine solche Form behielt er jedoch nicht lange bei und wuchs dann in normaler Vibrionenform. Ich muß hier bemerken, daß dieser Formenwechsel sich sehr oft wiederholte. Von den biologischen Eigenschaften interessierten uns die Fähigkeit zu agglutinieren, Indol zu produzieren, Gelatine zu verflüssigen, sowie die Virulenz, was aus Tabelle I ersichtlich ist. Die Anzahl der Geißeln wurde auch festgestellt. Die letzte Rubrik der Tabelle I enthält die Diagnose der Vibrionen. Ich muß darauf hinweisen, daß diese Tabelle von mir im Spätherbst 1910 aufgestellt worden ist, und alle Resultate mehrmals kontrolliert wurden. Am 1. März 1912 veröffentlichte Wankel¹ eine Arbeit, in welcher er unter anderen auch einige der von mir beschriebenen Kulturen untersucht hat. Beim

¹ Wankel, Beiträge zur Frage nach der Artbeständigkeit der Vibrionen, im besonderen des Choleravibrio. *Diese Zeitschrift*. 1912. Hft. 1.

Vergleich seiner Tabelle (S. 173) mit meiner, zeigt es sich, daß unsere Resultate der Agglutinabilität mit Cholerapferdeserum sich nicht decken. Den Angaben Wankels nach ist die Agglutination der Stämme „Ch“, „M“, „6175“ und „6185“ bei einer Verdünnung von 1:100 negativ. Meiner Tabelle nach agglutinierten „Ch“ und „M“ noch bei 1:300, weiter „6175“ bei 1:100 und „6185“ bei 1:200.

Diese Differenz ist eine recht beträchtliche und könnte mit allmählich vor sich gehendem Verlust der Agglutinabilität erklärt werden. Ferner ist der Befund Wankels, daß der Stamm „K“ mit normalem Pferdeserum noch bei 1:500 und der Stamm „Z 1“ mit demselben Serum bei 1:800 agglutiniert, sehr interessant, um so mehr als sich diese beiden Stämme bei mir mit normalem Pferdeserum überhaupt nicht agglutinierten. Leider sagt Dr. Wankel nichts von einer Prüfung auf Spontanagglutination. Bei meinen Versuchen ist es oft vorgekommen, daß gerade diese Stämme spontan agglutinierten! Nach üblicher Beseitigung der Spontanagglutination gaben sie aber mit normalem Pferdeserum keine Reaktion. Mit Cholerapferdeserum agglutinierte „K“ bei mir bei 1:300 und „Z 1“ bei 1:50. Im übrigen stimmten unsere Resultate überein.

Die von mir aus Embachwasser isolierten Vibrionen besaßen eine verhältnismäßig bedeutende Agglutinabilität, und es ist bemerkenswert, daß diese Kulturen aus Embachwasser isoliert wurden zu einer Zeit, wo in unserer Stadt weder Cholera noch choleraverdächtige Erkrankungen vorgekommen sind. Schon dieser Umstand sprach gegen ihre Choleranatur. Der Embachvibrio „b“ agglutinierte nach 120 Überimpfungen nur noch bei 1:50. Beim „Vibr. f“, der pathogen war, stieg der Agglutinationstiter nach dreimaliger Meerschweinchenpassage von 1:50 auf 1:200. Die Virulenz war bei vielen echten Cholerastämmen verloren gegangen. Die Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, sowie die Indolproduktion unterschied die echten Choleravibrionen von meinen Embachvibrionen nicht, da letztere diese Fähigkeiten auch besaßen. Viele Geißeln kamen jedoch nur bei choleraähnlichen Vibrionen vor. Die Kultur „Filter 11“, die mehrere Geißeln besaß, konnte ich nicht diagnostizieren, da die Untersuchung widersprechende Resultate ergab. Weiter unten komme ich hierauf noch zurück.

Die Agglutinationsreaktionen wurden mit Cholerapferdeserum vom Institut für experimentelle Medizin in St. Petersburg, welches einen Titer von 1:15 000 bis 1:30 000 besaß, ausgeführt. In den folgenden Tabellen I, sowie II bis XXI finden wir die Resultate der vorläufigen Untersuchungen unserer Kulturen auf ihre Agglutinationsverhältnisse mit Cholerapferdeserum wie Kaninchenserum. Im allgemeinen wurden alle 33 Vibrionenstämme von Cholerapferdeserum agglutiniert, jedoch in sehr verschiedenen Ver-

dünnungen desselben. Die Cholera Stämme wurden noch bei 1:20 000 agglutiniert, die choleraähnlichen jedoch bei 1:50 bis 1:500. Die aus St. Petersburg erhaltenen Stämme, die zur Zeit der Epidemie isoliert worden waren, besaßen einen etwas höheren Agglutinationstiter als diejenigen aus Embachwasser (s. Tabelle I).

In Anbetracht der Angaben von Köhler¹, Kolle², Bordet³, Hetsch und Lentz⁴, daß das normale Pferdeserum auch eine, wenn auch geringe Fähigkeit besitzt, Vibrionen zu agglutinieren, wurden alle zur Untersuchung herangezogenen Vibrionen auf die Einwirkung dieses Serums geprüft. Um eventuellen technischen Fehlern aus dem Wege zu gehen, wurde das frische Pferdeserum in eben so viel Verdünnungen geprüft, wie das bei den übrigen 19 Tabellen der Fall ist. Das Resultat war vollkommen negativ, was aus der Tabelle XIX zu ersehen ist. Die Agglutinationsversuche wurden immer erst dann ausgeführt, nachdem eine Prüfung ergeben hatte, daß die Kulturen in physiologischer Kochsalzlösung keine Agglutination gaben. In Fällen, wo spontane Agglutination eintrat, wurde diesselbe durch öfteres Überimpfen der Kulturen beseitigt und dann erst zur Prüfung derselben geschritten. In der Absicht, unser Vibrionematerial genauer kennen zu lernen, habe ich kreuzweise Agglutinationsversuche mit allen Vibrionen und Kaninchenseris, die sowohl mit den Cholera Stämmen als auch mit choleraähnlichen Vibrionen hergestellt wurden, angestellt. Da nach Goldberg⁵, Löwit und Schwarz⁶, Posselt und v. Sagasser⁷ normales Kaninchenserum auch auf Vibrionen agglutinierend wirken kann, so wurde auch dieses Serum (s. Tabelle XX) geprüft. Das Resultat war auch hier negativ. Aus den schon erwähnten Tabellen der kreuzweisen Agglutinationsversuche ersehen wir, daß dieselben noch von fünf Variationen, die in den Wasserpassagen entstanden sind, begleitet werden.

¹ Köhler, F., Das Agglutinationsphänomen. *Klin. Jahrbuch.* 1901. Bd. VIII. Abdruck, S. 102.

² Kolle, Über den jetzigen Stand der Cholera diagnose. *Ebenda.* 1903. Bd. XI.

³ Bordet, Mécanisme de l'Agglutination. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1898 u. 1896. Nr. 4.

⁴ Hetsch u. Lentz, Beitrag zur Frage nach der Spezifität der im Serum des normalen und choleraimmunisierten Pferdes enthaltenen Agglutinine. *Festschrift zu Ehren Kochs.* 1904. S. 17.

⁵ Goldberg, Die Agglutinationsreaktion bei Infektion verschiedenen Grades. *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1901. Bd. XXX. S. 605.

⁶ Löwit u. Schwarz, Über Bakterizidie und Agglutination im Normalblute. *Zeitschrift f. Heilkunde.* 1903. Bd. XXIV. Hft. 8.

⁷ Posselt u. v. Sagasser, Über Beeinflussung der Agglutinine durch spezif. Absorptionen usw. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1903. Nr. 24.

Tabelle I.
Untersuchung der Cholera- und choleraähnlichen Vibrionen.

Nummer	Benennung der Vibrionen	Agglutinationstiter	Indol	Verflüssig. d. Gelatine	Anzahl der Geißeln	Virulenz	Diagnose
1	Vibr. Chol. W.	1:20 000	+	+	1	-	Cholera
2	„ „ a. K.	1:20 000	+	+	1	+	„
3	„ „ I. E. M.	1:20 000	+	+	1	-	„
4	„ „ kurz	1:20 000	+	+	1	-	„
5	„ „ lang	1:20 000	+	+	1	-	„
6	Newa K.	1:200	-	-	mehrere	-	nicht Cholera
7	„ Gr.	1:200	-	-	„	-	„ „
8	Ch.	1:300	-	-	„	-	„ „
9	K.	1:300	-	-	„	-	„ „
10	Tr.	1:300	-	-	„	-	„ „
11	M.	1:300	-	-	„	-	„ „
12	Ph.	1:300	-	-	„	-	„ „
13	Mk.	1:500	-	-	„	-	„ „
14	Z 1 - vom Kranken . .	1:50	-	-	„	-	„ „
15	Z 50 - Träger	1:50	-	-	„	-	„ „
16	6175	1:100	-	-	„	-	„ „
17	6185	1:200	-	-	„	-	„ „
	} verdächtige Störungen d. Darmkanals außerhalb d. Epidemie						
18	8280 - vom Kranken . .	1:20 000	+	+	1	+	Cholera
19	8231 - „ „	1:20 000	+	+	1	+	„
20	3258 - Träger	1:300	-	-	mehrere	-	nicht Cholera
21	3259 - „	1:20 000	+	+	1	+	Cholera
22	2421 - „	1:20 000	+	+	1	+	„
23	2422 - „	1:20 000	+	+	1	-	„
24	Nowo s. Sd.	1:20 000	+	+	1	-	„
25	Filter 11	1:15 000	+	+	mehrere	-	?
26	Reserv. B.	1:20 000	+	+	1	-	Cholera
27	L. H.	1:100	-	-	mehrere	-	nicht Cholera
28	Vibr. „b.“	1:200	+	+	1	-	„ „
29	„ „b.-120“	1:50	+	+	1	-	„ „
30	„ „f.“	1:50	+	+	1	+	„ „
31	„ „f. T. P.“	1:200	+	+	1	+	„ „
32	„ X-anindol.	1:50	-	+	1	-	„ „
33	„ Q.	1:200	+	+	1	-	„ „
	} aus Embachwasser						

Die Agglutinationsversuche mit den Kaninchenimmunseris bestätigten im allgemeinen die Resultate der Untersuchung mit Choleraferdeserum. Beim Vergleich der Tabelle XXI für Choleraferdeserum vom Institut für experimentelle Medizin mit allen 13 Tabellen für Cholera-kaninchenimmunseris (s. Tabellen II bis VI und VIII bis XV) ist dieses klar zu ersehen. Dennoch finden wir hier einige Unterschiede betreffend diejenigen Vibrionen, die mit Choleraferdeserum nur in geringer Verdünnung agglutinierten, und die wir für choleraähnliche anzusehen geneigt sind. Kaninchenimmunsera, die von unzweifelhaften Cholerastämmen erhalten wurden, agglutinierten entweder dieselben überhaupt nicht, oder, mit wenigen Ausnahmen, doch bedeutend schwächer als das Choleraferdeserum und gewöhnlich nicht mehr als bei einer Verdünnung von 1:50. Die höchste Agglutinabilität im Verhältnis zu einigen Seris besaß der Vibrio „K“ (s. Tabellen VII und XIV), indem er zuweilen noch bis 1:300 agglutinierte, und „M“ bei 1:200 (s. Tabellen III und IV). Ein ganz unverständliches Resultat gab der Vibrio „6175“, welcher mit dem Serum des Choleraferdeserum „8280“ noch bei 1:1000 (s. Tabelle VIII) agglutinierte, jedoch mit den anderen Seris entweder gar nicht oder nur schwach (1:200).

Die von mir aus Embachwasser isolierten Vibrionen agglutinierten sich gut mit dem Serum, welches von einem derselben und zwar vom Vibrio „f“ erhalten wurde, was auf vollständige Identität dieser Vibrionen schließen läßt (s. Tabelle XVI). Alle diese Vibrionen agglutinierten unbedeutend (1:300) mit dem Serum des Vibrio „3259 — Träger“ (s. Tabelle X). Es ist schwer zu sagen, womit solche Ausnahmen zu erklären wären. Einen Fehler in der Technik der Agglutinationsversuche kann ich am allerwenigsten zugeben, da dieselben immer unter den möglichst gleichen Bedingungen ausgeführt wurden. Die Beobachtung der Resultate in den Agglutinationsröhrchen wurde stets, um individuelles Empfinden auszuschließen, zuerst von einer Person, die den Versuch nicht kannte, gemacht, und das Resultat aufgeschrieben. Hierauf prüfte ich die Röhrchen selbst und diktierte die Resultate, ohne diejenigen meines Assistenten zu kennen. Sobald eine Meinungsverschiedenheit zwischen beiden Beobachtern entstand, wurde der Versuch wiederholt, und dann erst das übereinstimmende Resultat notiert. Die Beobachtungen der Röhrchen wurden nach $\frac{1}{2}$ -, 1-, 2-, 6- und 12 stündigem Aufenthalt derselben bei 37°C an- gestellt.¹ Spontanagglutination wurde stets aufs peinlichste überwacht.

¹ Vgl. die Arbeiten von Konrich, Über den Einfluß von Wärme und Zeit auf den Ablauf der Agglutination. *Centralblatt f. Bakteriologie*. Orig. Bd. XLVIII, S. 92. und Fromme, Über einen atypischen Typhusstamm. *Zeitschr. f. Bakt. u. Parasitenk.* 1911. Orig. Bd. LVIII. S. 448.

Jedenfalls zeigten uns die kreuzweisen Agglutinationsversuche in unzweifelhafter Weise, welche von den 33 Vibrionenkulturen als Cholera-stämme, und welche als choleraähnliche anzusprechen waren. Der Unterschied im Agglutinationstiter ist jedenfalls sehr groß.

Eine unaufgeklärte Ausnahme, auf die schon oben hingewiesen wurde, bildet der Vibrio „Filter 11“. Dieser Vibrio wurde vom Cholera-pferde-serum noch bei einer Verdünnung von 1:15 000 (s. Tabellen I und XXI) agglutiniert, weshalb er zuerst für einen Cholera-stamm gehalten wurde. Als ich ihn jedoch mit den Cholera-kaninchenseris agglutinierte, zeigte es sich, daß er mit keinem dieser 11 Seris reagierte. Dieser Umstand widersprach der ersten Diagnose. Morphologisch unterschied sich dieser Vibrio vom Cholera-vibrio dadurch, daß er nicht eine, sondern mehrere Geißeln besaß. Da mir jedoch dies noch von keiner ausschlaggebenden Bedeutung für die Diagnose sein konnte, so immunisierte ich mit dieser Kultur ein Kaninchen. Das erhaltene Serum überraschte uns von neuem, indem es alle echten Cholera-stämme agglutinierte (s. Tabelle XIV).

Auf diese Weise blieb es unaufgeklärt, ob wir es in diesem Falle mit einem Cholera-vibrio oder nur mit einem choleraähnlichen zu tun haben. Unseren Resultaten entsprechend wählte ich nun für die Versuche mit Wasserpässagen folgende Cholera-vibrionen:

1. „Vibr. Chol. W.“
2. „Vibr. Chol. a. K.“
3. „Vibr. Chol. I. E. M.“
4. „Vibr. Chol. kurz.“
5. „Vibr. Chol. lang.“
6. „8280“ — vom Kranken.
7. „8231“ — „ „
8. „3259“ — vom Träger.
9. „2421“ — „ „
10. „2422“ — „ „
11. „Nowo s. Sd.“
12. „Reservoir B.“
13. Schließlich habe ich den Vibrio „Filter 11“ auch den Versuchen angereicht, wengleich es unaufgeklärt blieb, ob derselbe zu den Cholera-vibrionen gehört oder nicht (s. Tabellen II bis XXI).

Tabelle V.

Kaninchencholeraserum des „Vibrio Cholerae — kurz“.

Nummer	Namen der Vibrionen												Diagnose		
		50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000	15000		20000	
1	Vibr. Chol. W. . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
2	„ „ a. K. . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
3	„ „ I. E. M. . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
4	„ „ kurz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
5	„ „ lang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
6	Newa K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
7	„ Gr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
8	Ch.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
9	K.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
10	Tr. } Träger vom	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
11	M. } Jahre 1909	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
12	Ph. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
13	Mk. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
14	Z 1 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
15	Z 50 — Träger . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
	verdächtige Störungen des Darmkanals, außerhalb der Epidemie														
16	6175	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
17	6185	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
18	8280 — vom Kranken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	Cholera
19	8231 — „Träger“ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	nicht Cholera
20	3258 — „Träger“ . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cholera
21	3259 — „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	„
22	2421 — „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	„
23	2422 — „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	„
24	Nowo s. Sd. } aus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	nicht Cholera
25	Filter 11 } Newa-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cholera
26	Reserv. B. } wasser	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	nicht Cholera
27	L. H.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
28	Vibr. „b“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
29	„ „b.-120“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
30	„ „f.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
31	„ „f. T. P.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
32	„ „X-anindol.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
33	„ Q.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
34	Variation I. E. M. . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
35	„ a. K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
36	Kokkenvariat. — lang	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	Cholera
37	Variation W.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
38	{ Kokkenvariation } 8231 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „

Tabelle VI.

Kaninchencholeraserum des „Vibrio Cholerae — lang“.

Nummer	Namen der Vibrionen												Diagnose	
		50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000	15000		20000
1	Vibr. Chol. W. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
2	„ „ a. K. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
3	„ „ I. E. M. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
4	„ „ kurz . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
5	„ „ lang . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
6	Newa K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
7	Newa Gr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
8	Ch.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
9	K.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
10	Tr. } Träger vom	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
11	M. } Jahre 1909	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
12	Ph. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
13	Mk. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
14	Z 1 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
15	Z 50 — Träger	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
	verdächtige													
	Störungen													
	des													
16	6175 } Darmkanals	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
17	6185 } außerhalb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
	der													
	Epidemie													
18	8280 — v. Kranken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
19	8281 — „ „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
20	3258 — Träger . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
21	8259 — „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
22	2421 — „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
23	2422 — „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
24	Nowo s. Sd. } aus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
25	Filter 11 } Newa-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
26	Reserv. B. } wasser	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
27	L. H.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
28	Vibr. „b.“ . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
29	„ „b-120“ . . .	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
30	„ „f.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
31	„ „f. T. P.“ . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
32	„ „X-anindol. } aus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
33	„ „Q.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
34	Variation I. E. M. . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
35	„ „ a. K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
36	Kokkenvariat.— lang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
37	Variation W.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
38	{ Kokkenvariation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
	{ 8281 — vom Kranken }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „

Tabelle VII.

Kaninchenimmunserum des Vibrio „K.“.

Nummer	Namen der Vibrionen												Diagnose			
		50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000	15000		20000		
1	Vibr. Chol. W. . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	" " a. K. . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	" " I. E. M. . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	" " kurz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	" " lang	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Newa K.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	" Gr.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Ch.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	Tr. } Träger vom	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	M. } Jahre 1909	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Ph. }	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Mk. }	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Z 1 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Z 50 — Träger	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	verdächtige	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Störungen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	des	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	6175 } Darmkanals	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	6185 } außerhalb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	der	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Epidemie	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	8280 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	8291 — " "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	8258 — Träger . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	8259 — " . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	2421 — " . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	2422 — " . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	Nowo s. Sd. aus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	Filter 11 } Newa-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	Reserv. B. } wasser	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	L. H.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Vibr. „b.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	" „b.-120“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	" „f.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	" „f. T. P.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	" X-anindol. } aus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	" Q. } Embachwasser	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	Variation I. E. M. . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	" a. K. . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	Kokkenvariat. — lang	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	Variation W. . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	{ Kokkenvariation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	{ 8291 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Generated on 2019-08-03 11:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3788958
 Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle X.

Kaninchenimmenserum des Vibrio „3259 — Träger“.

Nummer	Namen der Vibrionen												Diagnose		
		50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000	15000		20000	
1	Vibr. Chol. W. . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
2	„ „ a. K. . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
3	„ „ I. E. M. . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
4	„ „ kurz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
5	„ „ lang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
6	Newa k.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
7	„ Gr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
8	Chr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
9	K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
10	Tr. } Träger vom	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
11	M. } Jahre 1909	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
12	Ph. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
13	Mk. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
14	Z 1 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
15	Z 50 — Träger	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
	verdächtige														
	Störungen														
	des														
16	6175 } Darmkanals	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
17	6185 } außerhalb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
	der														
	Epidemie														
18	8280 — v. Kranken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
19	8231 — „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
20	3258 — Träger . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
21	3259 — „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
22	2421 — „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
23	2422 — „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
24	Nowo s. Sd. } aus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
25	Filter 11 } Newa-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
26	Reserv. B. } wasser	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
27	L. H.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
28	Vibr. „b.“	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
29	„ „b-120“	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
30	„ „f.“	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
31	„ „f. T. P.“	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
32	„ „X-anindol.“	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
33	„ „Q.“	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
34	Variation I. E. M. . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
35	„ a. K.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
36	Kokkenvariat.—lang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
37	Variation W.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
38	{ Kokkenvariation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
	{ 8231 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„

Tabelle XIV.
Kaninchenimmenserum des Vibrio „Filter 11“.

Nummer	Namen der Vibrionen												Diagnose	
		50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000	15000		20000
1	Vibr. Chol. W. . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
2	„ „ a. K. . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
3	„ „ I. E. M. . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
4	„ „ kurz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
5	„ „ lang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
6	Newa K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
7	„ Gr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
8	Ch.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
9	K.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	„
10	Tr. } Träger vom	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
11	M. } Jahre 1909	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
12	Ph. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
13	Mk. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
14	Z 1 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
15	Z 50 — Träger . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
16	6175 } verdächtige	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
17	6185 } Störungen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
														des
														Darmkanals,
														außerhalb
														der
														Epidemie
18	8280 — vom Kranken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
19	8281 — „Träger“ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
20	3258 — „Träger“ . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
21	3259 — „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
22	2421 — „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
23	2422 — „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
24	Novo s. Sd. } aus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
25	Filter 11 } Newa-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
26	Reserv. B. } wasser	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
27	L H.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
28	Vibr. „b.“	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
29	„ „b.-120“	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
30	„ „f.“	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
31	„ „f. T. P.“	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
32	„ „X-anindol.“ . . .	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
33	„ „Q.“	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
34	Variation I. E. M. . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
35	„ a. K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
36	Kokkenvariat.—lang	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	Cholera
37	Variation W.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
38	{ Kokkenvariation	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„
	{ 8281 — vom Kranken }													„

Tabelle XV.

Kaninchenimmunserum des Vibrio „Reservoir B“.

Nummer	Namen der Vibrionen												Diagnose	
		50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000	15000		20000
1	Vibr. Chol. W. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
2	„ „ a. K. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
3	„ „ I. E. M. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
4	„ „ kurz . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
5	„ „ lang . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
6	Newa K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
7	„ Gr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
8	Ch.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
9	K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
10	Tr. } Träger vom	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
11	M. } Jahre 1909	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
12	Ph. }	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
13	Mk. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
14	Z 1 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
15	Z 50 — Träger . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
	verdächtige													
	Störungen													
	des													
16	6175 } Darmkanals,	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
17	6185 } außerhalb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
	der													
	Epidemie													
18	8280 — vom Kranken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
19	8291 — „ „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„ „
20	3258 — Träger . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
21	3259 — „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
22	2421 — „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
23	2422 — „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
24	Novo s. Sd. } aus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„ „
25	Filter 11 } Newa-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nicht Cholera
26	Reserv. B. } wasser	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
27	L. H.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
28	Vibr. „b.“	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
29	„ „b.-120“	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
30	„ „f.“	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
31	„ „f. T. P.“	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
32	„ „X-anindol.“	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
33	„ „Q.“	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
34	Variation I. E. M. . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
35	„ „ a. K. . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
36	Kokkenvariat. — lang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
37	Variation W. . . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
38	{ Kokkenvariation }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
	{ 9231 — vom Kranken }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „

Generated on 2019-08-03 11:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3788958
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XVI.

Kaninchenimmenserum des Vibrio „f.“.

Nummer	Namen der Vibrionen											Diagnose					
		50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000		15000	20000			
1	Vibr. Chol. W. . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	„ „ a. K. . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	„ „ I. E. M. . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	„ „ kurz . . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	„ „ lang . . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Newa K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	„ Gr.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Ch.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	K.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Tr. } Träger vom	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	M. } Jahre 1909	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Ph. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Mk. }	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Z 1 — vom Kranken	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Z 50 — Träger . . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	verdächtige																
	Störungen																
	des																
16	6175 } Darmkanals,	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	6185 } außerhalb	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	der																
	Epidemie																
18	8280 — vom Kranken	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	8231 — „	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	3258 — Träger . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	3359 — „	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	2421 — „	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	2422 — „	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	Nowo s. Sd. } aus	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	Filter 11 } Newa-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	Reserv. B. } wasser	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	L. H.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Vibr. „b.“	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	„ „b.-120“	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	„ „f.“	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31	„ „f. T. P.“	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32	„ „X-anindol.“ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
33	„ „Q.“	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34	Variation I. E. M. . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	„ a. K.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	Kokkenvariät.— lang	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	Variation W.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	{ Kokkenvariation }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	{ 8231 — vom Kranken }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle XVII.

Kaninchenimmunserum der Variation „I. E. M.“.

Nummer	Namen der Vibrionen	50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000	15000	20000	Diagnose
1	Vibr. Chol. W. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
2	„ „ a. K. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
3	„ „ I. E. M. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
4	„ „ kurz . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
5	„ „ lang . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	„
6	Newa K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
7	„ Gr.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
8	Ch.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
9	K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
10	Tr. } Träger vom	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
11	M. } Jahre 1909	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
12	Ph. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
13	Mk. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
14	Z 1 - vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
15	Z 50 - Träger . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
	verdächtige													„ „
	Störungen													„ „
	des													„ „
16	6175 } Darmkanals,	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
17	6185 } außerhalb	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
	der													„ „
	Epidemie													„ „
18	8280 - vom Kranken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Cholera
19	8231 - „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	„
20	3258 - Träger . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
21	3259 - „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Cholera
22	2421 - „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	„
23	2422 - „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	„
24	Nowo s. Sd. } aus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	„
25	Filter 11 } Newa-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
26	Reserv. B. } wasser	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Cholera
27	L. H.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
28	Vibr. „b.“ . . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
29	„ „b.-120“ . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
30	„ „f.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
31	„ „f. T. P.“ . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
32	„ „X-anindol. } aus	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
33	„ „Q.“	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „
34	Variation I E. M. .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	Cholera
35	„ „ a. K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	„
36	Kokkenvariat. - lang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	„
37	Variation W. . . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
38	{ Kokkenvariation }													„ „
39	{ 8231 - vom Kranken }	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	„ „

Generated on 2019-08-03 11:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3788958
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XVIII.

Kaninchenimmenserum der Variation „a. K.“.

Nummer	Namen der Vibrionen												Diagnose				
		50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000	15000		20000			
1	Vibr. Chol. W. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
2	" " a. K. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
3	" " I. E. M. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
4	" " kurz . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
5	" " lang . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
6	Newa K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
7	" Gr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
8	Ch.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
9	K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
10	Tr. } Träger vom	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
11	M. } Jahre 1909	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
12	Ph. } " "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
13	Mk. } " "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
14	Z 1 } vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
15	Z 50 } Träger	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
	verdächtige																
	Störungen																
	des																
16	6175 } Darmkanals,	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
17	6185 } außerhalb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
	der																
	Epidemie																
18	8280 } vom Kranken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
19	8231 } " " " "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nicht Cholera
20	3258 } Träger . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cholera
21	3259 } " . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
22	2421 } " . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
23	2422 } " . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
24	Novo s. Sd. } aus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nicht Cholera
25	Filter 11 } Newa-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cholera
26	Reserv. B. } wasser	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nicht Cholera
27	L. H.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
28	Vibr. „b.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
29	" „b.-120“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
30	" „f.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
31	" „f. T. P.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
32	" X-anindol. } aus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
33	" Q. } Embachwasser	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
34	Variation I. E. M. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
35	" a. K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
36	Kokkenvariät.—lang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nicht Cholera
37	Variation W.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	"
38	{ Kokkenvariation	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
	{ 8231 — vom Kranken																

Tabelle XIX.

Normales Pferdeserum.

Nummer	Namen der Vibrionen												Diagnose			
		50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000	15000		20000		
1	Vibr. Chol. W. . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	" " a. K. . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	" " I. E. M. . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	" " kurz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	" " lang	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Newa K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	" Gr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Ch. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	K. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Tr. } Träger vom	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	M. } Jahre 1909	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Ph. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Mk. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Z 1 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Z 50 — Träger . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	verdächtige	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Störungen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	des	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	6175 } Darmkanals,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	6185 } außerhalb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	der	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Epidemie	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	8280 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	8231 — " " . . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	3258 — Träger " . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	3259 — "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	2421 — "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	2422 — "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	Novo s. Sd. } aus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	Filter 11 } Newa-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	Reserv. B. } wasser	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	L. H.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Vibr. „b.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	" „b.-120“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	" „f.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	" „f. T. P.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	" X-anindol. } aus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	" Q } Embchwasser	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	Variation I. E. M. . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	" a. K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	Kokkenvariät. — lang	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	Variation W.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	{ Kokkenvariation }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	{ 8231 — vom Kranken }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle XX.

Normales Kaninchenserum.

Nummer	Namen der Vibrionen	50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000	15000	20000	Diagnose
1	Vibr. Chol. W. . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	" " a. K. . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	" " I. E. M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	" " kurz. . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5	" " lang. . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	Newa K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	" Gr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
8	Ch. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	K. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10	Tr. } Träger vom	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11	M. } Jahre 1909	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
12	Ph. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	Mk. }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	Z 1 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
15	Z 50 — Träger	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	verdächtige													
	Störungen													
	des													
16	6175 } Darmkanals,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
17	6185 } außerhalb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	der													
	Epidemie													
18	8280 — vom Kranken	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
19	8231 — " "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
20	3258 — Träger " . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
21	3259 — "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
22	2421 — "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
23	2422 — "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
24	Novo s. Sd. } aus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
25	Filter 11 } Newa-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
26	Reserv. B. } wasser	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
27	L. H.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
28	Vibr. „b.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
29	" „b.-120“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
30	" „f.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
31	" „f. T. P.“	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
32	" X-anindol. } aus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
33	" Q. } Embachwasser	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
34	Variation I. E. M. . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
35	" a. K.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
36	Kokkenvariat.— lang	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
37	Variation W.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
38	{ Kokkenvariation }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	{ 8231 — vom Kranken }	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Tabelle XXI.

Pferde-Choleraserum vom Institut für experimentelle Medizin.

Nummer	Namen der Vibrionen												Diagnose		
		50	100	200	300	500	1000	5000	8000	10000	12000	15000		20000	
1	Vibr. Chol. W. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
2	" " a. K. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
3	" " I. E. M. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
4	" " kurz . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
5	" " lang . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
6	Newa K.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
7	" Gr.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
8	Ch. }	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
9	K. }	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
10	Tr. } Träger vom	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
11	M. } Jahre 1909	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
12	Ph. }	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
13	Mk. }	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
14	Z 1 — vom Kranken	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
15	Z 50 — Träger	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
	verdächtige														
	Störungen														
	des														
16	6175 } Darmkanals,	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
17	6185 } außerhalb	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
	der														
	Epidemie														
18	8280 — vom Kranken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
19	8231 — " " "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
20	3258 — Träger "	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
21	3259 — " "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
22	2421 — " "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
23	2422 — " "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
24	Novo s. Sd. } aus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
25	Filter 11 } Newa-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
26	Reserv. B. } wasser	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
27	L. H.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
28	Vibr. „b.“	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
29	" „b.-120“	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
30	" „f.“	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
31	" „f. T. P.“	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
32	" „X-anindol.“	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
33	" „Q.“	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
34	Variation I. E. M. . .	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
35	" a. K.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
36	Kokkenvariät. — lang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Cholera
37	Variation W.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nicht Cholera
38	{ Kokkenvariation	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	" "
	{ 8231 — vom Kranken }														

Generated on 2019-08-03 11:34 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3788958
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Wasserpassagen.

Bei der Untersuchung der Einwirkung des Wassers auf Cholera-vibrionen bin ich von dem Gesichtspunkt ausgegangen, die Bedingungen des Experiments möglichst den natürlichen Verhältnissen anzupassen, und darum benutzte ich für diesen Zweck nur rohes Wasser. Welch eine wichtige Rolle in diesem Falle das rohe Wasser spielen kann, ersieht man aus folgenden Erwägungen: Wie bekannt, enthält das rohe Wasser Protozoen, die bei der Suche nach Nahrung alles aufnehmen, was ihnen hierzu brauchbar erscheint. Die ins rohe Wasser eingeführten Bakterien reichen hiermit den Protozoen zur willkommenen Beute. Einer Vernichtung auf diese Weise unterliegen vor allem die abgestorbenen oder abgeschwächten Individuen, deren Lebensfähigkeit im Wasser auf ein Minimum reduziert ist. Am längsten entgehen der Vernichtung diejenigen, welche sich den neuen Existenzbedingungen besser angepaßt haben und imstande sind, ihre Lebens- und Widerstandsfähigkeit auf der gleichen Höhe mit den Wasserbakterien zu erhalten, die überhaupt nur in bedeutend geringerem Maße dieser Phagozytose zum Opfer fallen.

Wenn wir aus Wasser, das mit Cholera-vibrionen beschickt ist, dieselben zur Zeit des Höhepunktes der Entwicklung der Protozoen isolieren (bevor die Vibrionen der vollständigen Vernichtung verfallen sind), so können wir damit rechnen, Individuen zu treffen, welche bereits diese oder jene Anlage zur Akkommodation besitzen, ohne daß solches einstweilen bemerkbar wäre. Überträgt man nun solche Individuen von neuem auf Wasser, so kann die Anlage zur Akkommodation fortschreiten, um schließlich mit dem Auftreten einer neuen Eigenschaft zu endigen.

Sterilisiertes oder gar destilliertes Wasser, welches von einigen Autoren benutzt wurde, um die Einwirkung des Wassers auf Cholera-vibrionen und andere Bakterien zu studieren, stellt etwas anderes dar. Infolge der Abwesenheit der Protozoen findet keine natürliche Selektion statt, wenigstens nicht in der von uns gemeinten Richtung. Ein Teil der Bakterien vermehrt sich hier, der andere stirbt ab. Die neuen Generationen wachsen in Gegenwart ihrer eigenen Stoffwechselprodukte und der Produkte der Autolyse. Diese Faktoren können vorübergehende Veränderungen der Bakterien hervorrufen, und ist dieses in der Literatur bekannt. Außerdem unterscheidet sich sterilisiertes Wasser vom rohen nicht nur biologisch, sondern auch chemisch, was selbstverständlich den natürlichen Bedingungen nicht entspricht.

In Anbetracht dieser Erwägungen habe ich sterilisiertes Wasser nur bei Kontrollversuchen und dabei nur in äußersten Fällen angewandt, wo es physisch nicht möglich war, die zeitraubende Arbeit der Passagen durch

rohes Wasser durchzuführen. Für die Wasserpassagen der Vibrionen habe ich Wasser von zweierlei Herkunft benutzt. Wasser der Universitätswasserleitung, welches Quellwasser ist, und Wasser des Flusses Embach. Die Methodik der Wasserpassagen bestand in folgendem: In einen sterilen Kolben von 300^{ccm} Inhalt wurden 200^{ccm} rohen Wassers gegossen und zwar für die eine Versuchsreihe Quellwasser, für die andere Flußwasser. In solche Kolben wurde nun je eine Öse einer 24stündigen Agarkultur eingeführt und dieselben, mit sterilen Wattepfropfen versehen, bei einer Temperatur von + 10° C stehen gelassen. Nach je 4, 5, 6, falls noch möglich auch nach 7 oder 8 Tagen, wurde eine Öse Wasser auf Agarplatten ausgestrichen und dieselben auf 12 bis 24 Stunden in den Thermostat gestellt. Nachdem die Kolonien aufgegangen waren, wurde eine derselben auf ein Schrägagarröhrchen verpflanzt und nach Bestimmung des morphologischen Habitus, des Agglutinationstiters, sowie der übrigen biologischen Eigenschaften von neuem auf einen frischen Kolben desselben Wassers übertragen.

Zu gleicher Zeit mit jeder Wasserpassage wurden Kontrollwasserkolben unter denselben Bedingungen aufgestellt. Auch aus diesen Kolben wurden Ausstriche auf Agarschälchen gemacht, um die Möglichkeit zu haben, die Flora des Wassers der Kontrollkolben mit derjenigen der Versuche zu vergleichen. Solch ein Zyklus von Operationen bildete eine Wasserpassage.

Bei der Untersuchung der zu den Versuchen ausgewählten Kulturen, sowie allen weiteren Untersuchungen der aus den Wasserpassagen isolierten Vibrionen, habe ich es mir nicht zur Aufgabe gestellt, die Kulturen mit allen bekannten Methoden zu diagnostizieren, sondern ich begnügte mich mit der Anwendung der gebräuchlichsten, als: den Agglutinationstiter, die Fähigkeit Gelatine zu verflüssigen und Indol zu produzieren, sowie den morphologischen Habitus festzustellen. Die Virulenz wurde nur vor den Wasserpassagen, sowie nach denselben bestimmt.

Den Pfeifferschen Versuch anzustellen, die Hämolyseproduktion sowie die Komplementbindung u. a. nach jeder Passage festzustellen, wäre technisch unmöglich gewesen durchzuführen, wenn man in Betracht zieht, daß außerdem fast alle 5 Tage 13 Kulturen aus den Passagen mit Quellwasser und 13 aus den Passagen mit Flußwasser isoliert, auf Morphologie, Agglutination, Indolproduktion und Peptonisierungsvermögen untersucht und von neuem in Wasser gebracht werden mußten.

Die Anordnung der Versuche, sowie die hauptsächlichsten Resultate habe ich der Übersichtlichkeit wegen in nachstehenden Tabellen XXII und XXIII untergebracht, entsprechend den Versuchsprotokollen.

Tabelle XXII.
 Passagen der Vibrionen durch rohes Quellwasser der Universitätswasserleitung.

Nummer der Kulturen	I			II			III			IV			V			VI		
	Dauer der I. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der II. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der III. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der IV. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der V. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der VI. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage
1	9	20t	normal	6	20t	normal	6	20t	normal	7	20t	normal	6	16t	normal	6	18t	normal
2	6	20t	"	6	20t	"	6	18t	"	7	16t	"	6	18t	"	6	18t	"
3	9	20t	"	6	18t	"	6	18t	"	8	20t	"	7	20t	"	8	20t	"
4	5	20t	kurz	5	20t	kurz	5	16t	kurz	6	16t	kurz	5	18t	kurz	5	16t	kurz
5	9	20t	lang	6	18t	lang	7	18t	lang	8	20t	lang	6	16t	lang	6	16t	lang
6	5	20t	normal	5	20t	normal	5	18t	normal	5	18t	normal	5	20t	normal	5	20t	normal
7	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	16t	"	5	18t	"	5	18t	"
8	5	20t	"	5	20t	"	5	18t	"	5	18t	"	5	18t	"	5	20t	"
9	5	20t	"	5	18t	"	5	20t	"	5	16t	"	5	16t	"	5	18t	"
10	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	18t	"	5	20t	"	5	20t	"
11	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	18t	"	5	20t	"
12	5	15t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	16t	"	5	18t	"	5	20t	"
13	5	20t	"	5	15t	"	5	18t	"	6	20t	"	6	15t	"	5	17t	"

Tabelle XXII. (Fortsetzung.)

Nummer der Kulturen	Passagen		VII			VIII			IX			X			XI			XII		
	Morphologie vor der Passage	Agglut.-Titer vor der Passage	Dauer der VII. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der VIII. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der IX. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der X. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XI. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XII. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage
1	normal	20t	7	18t normal	normal	6	20t normal	normal	6	20t normal	normal	9	20t normal	normal	5	18t normal	normal	5	18t normal	normal
2	"	20t	7	20t	"	7	20t	"	6	20t	"	5	20t	"	5	16t	"	5	18t	"
3	"	20t	5	20t	"	6	16t	"	7	18t	"	5	18t	"	5	20t	"	5	18t	"
4	kurz	20t	5	18t kurz	kurz	5	20t kurz	kurz	5	20t kurz	kurz	5	20t kurz	kurz	5	20t kurz	kurz	5	20t kurz	kurz
5	lang	20t	5	20t lang	lang	5	18t lang	lang	5	20t lang	lang	5	20t lang	lang	5	16t lang	lang	5	18t lang	lang
6	normal	20t	5	20t normal	normal	5	20t normal	normal	5	20t normal	normal	5	16t normal	normal	5	18t normal	normal	5	18t normal	normal
7	"	20t	5	20t	"	5	18t	"	5	16t	"	5	16t	"	5	18t	"	5	20t	"
8	"	20t	5	18t	"	5	16t	"	5	16t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	18t	"
9	"	20t	5	16t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	18t	"
10	"	20t	5	18t	"	5	18t	"	5	18t	"	5	16t	"	5	18t	"	5	20t	"
11	"	20t	5	20t	"	5	18t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	18t	"	5	18t	"
12	"	15t	5	15t	"	5	15t	"	5	15t	"	5	13t	"	5	15t	"	5	18t	"
13	"	20t	5	16t	"	5	16t	"	5	18t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"

Generated on 2019-08-03 11:35 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3788958
 Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XXII. (Fortsetzung.)

Nummer der Kulturen	Passagen		XIII		XIV		XV		XVI		XVII	
	Benennung der Kulturen	Morphologie vor der Passage	Agglut.-Titer vor der Passage	Dauer der XIII. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XIV. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XVI. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage
1	Vibr. Chol. W. . .	normal	20t	5	20t	normal	5	20t	normal	6	18t	normal
2	" " a. K. . .	"	20t	5	20t	"	5	20t	"	5	18t	"
3	" " I. E. M. . .	"	20t	5	20t	"	5	0	Variation	5	20t	"
4	" " I. E. M. kurz	kurz	20t	5	18t	kurz und lang	5	18t	lang	5	18t	lang
5	" " I. E. M. lang	lang	20t	5	20t	lang und kurz	5	20t	"	5	20t	lang und kurz
6	8280 — vom Kranken	normal	20t	5	20t	normal	5	18t	normal	5	18t	normal
7	8281 — " "	"	20t	5	20t	"	5	20t	"	5	18t	"
8	3259 — Träger . .	"	20t	5	18t	"	5	18t	"	5	20t	"
9	2421 — " . . .	"	20t	5	20t	"	5	20t	"	5	18t	"
10	2422 — " . . .	"	20t	5	20t	"	5	16t	"	5	18t	"
11	Nowo s. Sd. } aus	"	20t	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"
12	Filter 11 } Newa-	"	15t	5	17t	"	5	15t	"	5	15t	"
13	Renerv. B. } wasser	"	20t	5	20t	"	5	20t	"	5	16t	"

Tabelle XXII. (Fortsetzung.)

Passagen		XVIII		XIX		XX		XXI		Resultate
Benennung der Kulturen	Morphologie vor der Passage	Agglut.-Titer vor der Passage	Dauer d. XVIII. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XX. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Summe der Tage des Aufenthaltes im Wasser	
1	Vibr. Chol. W. . .	normal	5	0	Variation	5	0	5	103	Variation
2	" " a. K. . .	"	5	20t	normal	5	20t	5	107	"
3	" " I. E. M. . .	"	5	20t	kurz und lang	5	18t	5	84	"
4	" " I. E. M. kurz	kurz	5	20t	kurz und lang	5	20t	5	107	—
5	" " I. E. M. lang	lang	5	20t	lang und kurz	5	20t	5	104	—
6	8280 — vom Kranken	normal	20t	20t					75	—
7	8231 — " "	"	20t	20t					75	Variation
8	3259 — Träger . .	"	20t	20t					75	—
9	2421 — " . .	"	20t	20t					75	—
10	2422 — " . .	"	20t	20t					75	Variation
11	Nowo s. Sd. } aus	"	20t	20t					75	—
12	Filter 11 } Newa-	"	15t	15t					75	—
13	Reserv. B. } wasser	"	20t	20t					75	Variation

Diese Kulturen wurden hierauf der Binwirkung sterilisierten Wassers ausgesetzt.

Tabelle XXIII.
Passagen der Vibrionen durch rohes Embachwasser.

Nummer der Kulturen	Passagen		I			II			III			IV			V			VI			
	Benennung der Kulturen	Morphologie vor der Passage	Agglut.-Titer vor der Passage	Dauer der I. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der II. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der III. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der IV. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der V. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der VI. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage
1	Vibr. Chol. W. . .	normal	20t	9	20t normal	normal	5	20t normal	5	18t normal	normal	5	16t normal	5	18t normal	5	18t normal	5	5	18t normal	normal
2	" " a. K. . .	"	20t	5	18t	"	5	18t	5	20t	"	5	18t	5	16t	5	18t	5	5	20t	"
3	" " I. E. M. . .	"	20t	5	20t	"	5	20t	5	20t	"	5	20t	5	18t	5	18t	5	5	18t	"
4	" " I. E. M. kurz . .	kurz	20t	5	18t kurz	kurz	5	18t kurz	5	20t kurz	kurz	5	20t kurz	5	18t kurz	5	18t kurz	5	5	18t kurz	kurz
5	" " I. E. M. lang . .	lang	20t	9	20t lang	lang	5	20t lang	5	20t lang	lang	5	18t lang	5	16t lang	5	18t lang	5	5	18t lang	lang
6	8280 — vom Kranken	normal	20t	9	18t normal	normal	5	18t normal	5	20t normal	normal	5	18t normal	5	18t normal	5	18t normal	5	5	20t normal	normal
7	8231 — " "	"	20t	5	20t	"	5	20t	5	18t	"	5	18t	5	20t	5	20t	5	5	20t	"
8	3259 — Träger . .	"	20t	5	18t	"	5	20t	5	18t	"	5	20t	5	20t	5	20t	5	5	18t	"
9	2421 — " . .	"	20t	5	20t	"	5	20t	5	20t	"	5	18t	5	18t	5	18t	5	5	18t	"
10	2422 — " . .	"	20t	5	20t	"	5	18t	5	18t	"	5	16t	5	18t	5	18t	5	5	18t	"
11	Nowo s. Sd. } aus	"	20t	5	18t	"	5	18t	5	18t	"	5	16t	5	16t	5	16t	5	5	18t	"
12	Filter 11 } Newa-	"	16t	5	18t	"	5	13t	5	15t	"	5	15t	5	17t	5	17t	5	5	15t	"
13	Reserv. B. } wasser	"	20t	5	20t	"	5	20t	5	18t	"	5	18t	5	20t	5	20t	5	5	18t	"

Tabelle XXIII. (Fortsetzung.)

Nummer der Kulturen	Passagen		VII			VIII			IX			X			XI			XII		
	Morphologie vor der Passage	Agglut.-Titer vor der Passage	Dauer der VII. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der VIII. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der IX. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der X. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XI. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XII. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage
1	Vibr. Chol. W. . .	normal	20t	20t	normal	5	18t	normal	5	18t	normal	5	16t	normal	5	18t	normal	5	20t	normal
2	" " a. K. . .	"	20t	20t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	18t	"
3	" " I. E. M. . .	"	20t	20t	"	5	18t	"	5	18t	"	5	16t	"	5	16t	"	5	16t	"
4	" " I. E. M. kurz . .	kurz	20t	20t	kurz	5	20t	kurz	5	20t	kurz	5	18t	kurz	5	20t	kurz	5	20t	kurz
5	" " I. E. M. lang . .	lang	20t	20t	lang	5	20t	lang	5	18t	lang	5	16t	lang	5	18t	lang	5	20t	lang
6	8280 — vom Kranken	normal	20t	20t	normal	5	16t	normal	5	16t	normal	5	18t	normal	5	20t	normal	5	20t	normal
7	8231 — " "	"	20t	18t	"	5	18t	"	5	18t	"	5	16t	"	5	20t	"	5	20t	"
8	3259 — Träger . .	"	20t	16t	"	5	16t	"	5	16t	"	5	16t	"	5	18t	"	5	20t	"
9	2421 — " . .	"	20t	18t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	18t	"	5	20t	"	5	20t	"
10	2422 — " . .	"	20t	20t	"	5	20t	"	5	18t	"	5	18t	"	5	20t	"	5	16t	"
11	Nowo s. Sd. } aus	"	20t	20t	"	5	18t	"	5	18t	"	5	16t	"	5	16t	"	5	16t	"
12	Filter 11 } Newa-	"	15t	18t	"	5	15t	"	5	15t	"	5	15t	"	5	17t	"	5	15t	"
13	Reserv. B. } wasser	"	20t	16t	"	5	16t	"	5	16t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"

Tabelle XXIII. (Fortsetzung.)

Nummer der Kulturen	Passagen		XIII		XIV		XV		XVI		XVII			
	Benennung der Kulturen	Morphologie vor der Passage	Dauer der XIII. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XIV. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XV. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XVII. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage
1	Vibr. Chol. W. . .	normal	20t	20t	normal	5	20t	normal	5	18t	normal	5	20t	normal
2	" " a. K. . .	"	20t	18t	"	5	16t	"	5	18t	"	5	20t	"
3	" " I. E. M. . .	"	20t	18t	"	5	18t	"	5	20t	"	5	18t	"
4	" " I. E. M. kurz . .	kurz	20t	20t	kurz	5	20t	kurz	5	18t	kurz und lang	5	16t	kurz
5	" " I. E. M. lang . .	lang	20t	20t	lang und kurz	5	18t	lang und kurz	5	20t	lang und kurz	5	18t	lang und kurz
6	8280 — vom Kranken	normal	20t	18t	normal	5	20t	normal	5	18t	normal	5	20t	normal
7	8231 — " "	"	20t	18t	"	5	18t	"	5	18t	"	5	20t	"
8	9259 — Träger . . .	"	20t	20t	"	5	18t	"	5	16t	"	5	20t	"
9	2421 — " . . .	"	20t	18t	"	5	20t	"	5	18t	"	5	20t	"
10	2422 — " . . .	"	20t	16t	"	5	18t	"	5	20t	"	5	20t	"
11	Nowo s. Sd. } aus	"	20t	18t	"	5	20t	"	5	20t	"	5	20t	"
12	Filter 11 } Newa-	"	15t	15t	"	5	15t	"	5	13t	"	5	13t	"
13	Reserv. B. } wasser	"	20t	18t	"	5	18t	"	5	18t	"	5	18t	"

Tabelle XXIII. (Fortsetzung.)

Nummer der Kulturen	Passagen		XVIII		XIX		XX		XXI		Summe der Tage des Aufenthaltes im Wasser	Resultate		
	Benennung der Kulturen	Morphologie vor der Passage	Agglut.-Titer vor der Passage	Dauer d. XVIII. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XIX. Passage in Tagen	Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage	Dauer der XXI. Passage in Tagen			Agglut.-Titer nach der Passage	Morphologie nach der Passage
1	Vibr. Chol. W. . .	normal	20t	5	20t	normal	5	20t	normal	5	20t	normal	105	—
2	" " a. K. . .	"	20t	5	18t	"	5	16t	"	5	18t	"	105	—
3	" " I. E. M. . .	"	20t	5	20t	"	5	18t	"	5	20t	"	105	—
4	" " I. E. M. kurz . .	kurz	20t	5	20t	kurz und lang	5	20t	kurz und lang	5	20t	kurz und lang	105	—
5	" " I. E. M. lang . .	lang	20t	5	0	Variation	5	0	Variation	5	0	Variation	90	Variation
6	8280 — vom Kranken	normal	20t										75	
7	8231 — "	"	20t										75	
8	3259 — Träger . .	"	20t										75	
9	2421 — "	"	20t										75	
10	2422 — "	"	20t										75	
11	Nowo s. Sd. } aus	"	20t										75	
12	Filter 11 } Newa-	"	15t										75	
13	Reserv. B. } wasser	"	20t										75	

In diesen Tabellen finden wir außer den Benennungen der Kulturen, ihrem morphologischen Habitus und dem Agglutinationstiter vor der Passage in römischen Zahlen die Passagen der Reihe nach angegeben. In der Rubrik einer jeden Passage, die Dauer des Aufenthaltes der Kulturen im Wasser, den Agglutinationstiter und den morphologischen Habitus. Am Schluß der Tabelle ist die Gesamtzahl der Tage, während welcher die Kulturen der Einwirkung des Wassers ausgesetzt waren, sowie das Resultat, wenn es sich um das Auftreten einer Variation handelte, angegeben.

Die Kulturen 1, 2 und 3 der Tabelle XXII (Passagen durch rohes Quellwasser) gaben Variationen nach der 18., 19. und 14. Passage. Die Kulturen 4 und 5 zeigten keinerlei biologische Veränderungen. Morphologisch ging jedoch der kurze Typus (4) in den langen (5) über und umgekehrt. Die übrigen 8 Kulturen ergaben bis zur 15. Passage inklusive keinerlei Veränderungen. Die Passagen wurden hierauf eingestellt.

Jedoch voraussetzend, daß auch diese Kulturen in gewissem Grade zur Variationsbildung vorbereitet sind, habe ich sie weiter in sterilisiertes Wasser gebracht und auf diese Weise die Versuchsbedingungen geändert. Von diesen Kulturen haben 3 Variationen ergeben, die sich jedoch von den oben erwähnten unterschieden.

Aus der Tabelle XXIII (Passagen durch rohes Flußwasser) ersehen wir, daß nur die Kultur 5 eine Variation ergeben hat und zwar nach der 18. Passage.

Die Kulturen 1, 2, 3 und 4 zeigten keine Veränderungen, trotzdem sie 21 Passagen bestanden hatten. Mit den Kulturen 6 bis 13 wurden 15 Passagen ausgeführt, ohne daß dieselben Veränderungen aufwiesen, worauf die Versuche eingestellt wurden. Die Kulturen 4 und 5 gingen auch hier morphologisch ineinander über. Wie wir aus diesen Tabellen ersehen, veränderten sich während der ganzen Periode der Wasserpassagen weder die morphologischen noch biologischen Eigenschaften der Kulturen. Geringe, vorübergehende Schwankungen des Agglutinationstiters kommen hier wohl nicht in Betracht. Da, wo Variationen auftraten, geschah solches nicht unter allmählichem Agglutinationsverlust und allmählicher Änderung der biologischen Eigenschaften, sondern die Variation trat für den Beobachter plötzlich, sprungweise auf, um dann alle neuen Eigenschaften erblich konstant beizubehalten.

Variationen, die entstanden sind nach Einwirkung rohen Quellwassers auf Choleravibrionen (I. Kategorie).**1. Variation des „Vibr. Chol. W.“**

Der „Vibr. Chol. W.“ bestand 17 Passagen durch rohes Quellwasser, ohne Veränderungen der morphologischen Form, wie biologischen Eigenschaften zu erleiden (s. Tabelle XXII). Die Aussaat auf Agar bei 37° C. nach der 18. Passage ergab gleichfalls Vibrionenkolonien, welche keinerlei Anzeichen von Veränderung aufwiesen. Als jedoch diese Platten 3 Tage bei Zimmertemperatur gestanden hatten, erschienen neben den unveränderten Kolonien eine große Menge sehr kleiner, heller Kolonien. Auf der Kontrollplatte waren solche nicht vorhanden. Die mikroskopische Untersuchung dieser Kolonien ergab, daß sie aus sehr kleinen Vibrionen bestanden, die sich scharf von den normalen unterschieden (s. Taf. XI, Fig. 10). Die Mehrzahl derselben besteht aus kleinen gebogenen Stäbchen mit zugespitzten Enden. Es kommen auch kokkenartige Formen wie auch Diplobazillenformen vor. Die Agglutinationsfähigkeit ist vollständig verloren, was aus den Agglutinationstabellen ersichtlich ist (s. diese Tabellen II bis XXI, Nr. 37). Selbst das Serum der Ausgangskultur Tabelle II agglutiniert die Variation nicht. Kaninchenimmenserum dieser Variation agglutinierte die Kultur der Variation selbst, wie auch die unveränderte Ausgangskultur und andere Cholerastämme bis zu einem Titer von 1:2000. Indol wird nicht mehr produziert. Die Ausgangskultur gab die Indolreaktion. Gelatine wird nur sehr langsam verflüssigt. Geißeln fehlen. Beweglichkeit fehlt. Wachstum bei 37° C. sehr unbedeutend. Nach 3 Tagen geht die Kultur bei dieser Temperatur ein. Bei 15° C. gutes Wachstum, die Lebensfähigkeit bleibt unbegrenzt erhalten.

Im Verlaufe von 25 Monaten wurde die „Variation Vibr. Chol. W.“ 174 mal auf Agar übergeimpft. In dieser ganzen Zeit behielt diese Variation alle erworbenen Eigenschaften bei, ohne jegliche Veränderung zu erfahren, was durch mehrmalige Untersuchung festgestellt wurde. Morphologisch zeigte diese Variation einige Eigenheiten, die wohl auf Verschiebung des Kardinalpunktes der Temperatur zurückzuführen sein dürften. Diese Eigenschaften bestehen in folgendem: nach Verlauf von 10 Monaten, gerechnet von der Entstehung der Variation, fing sie an, von neuem bei 37° C. gut zu wachsen, jedoch wuchs von dem ausgesäten Material nur ein Teil, während der größte Teil einging. Die auf Agar bei 37° C. gewachsenen Kolonien zeigten jetzt Vibrionen von äußerst veränderter und mannigfaltigster Form, die bis zur völligen Unkenntlichkeit variierte (s. Taf. XI, Fig. 11). Hier finden wir hypertrophische Formen, die kokkenartige, ovoide, kugelige und andere Gebilde darstellen. Wir bemerken

Kugeln mit Auswüchsen, gigantische Spirillen, längere Fäden, welche an einem Ende bisweilen aufgetrieben sind und auf diese Weise Spermatozoenform haben. Weiter finden wir dicke, aufgetriebene Vibrionenformen. In einer 8 tägigen Kultur gelang es mir, doppelseitige Verzweigungen zu finden, wie Textfigur 1 zeigt. Die Färbbarkeit aller dieser Gebilde ist ungleichmäßig. Es finden sich dunkel, wie blaß gefärbte Formen, wobei hauptsächlich die Vibrionenformen oder wenigstens die ihnen näher stehenden, dunkler gefärbt sind als die ovoiden. Die Formen erinnern an diejenigen degenerativen oder Involutionsformen, welche von Gamaleia,



Fig. 1.

Verzweigung der Variation des „Vibr. Chol. W.“
8 tägige Agarkultur. Vergr. 1:1000.

(Bei der Durchleuchtung des Präparates kann man leicht erkennen, daß es sich hier nicht um ein zufälliges Anliegen der Seitenzweige handelt.)

Maassen und anderen auf Lithiumnährböden erhalten wurden. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind sie auch als solche zu betrachten. Als das unsere Variation der „kleinen Vibrionen“ degenerierende Moment muß die Temperatur von 37° C. angesehen werden, die jetzt nicht mehr das Optimum darstellt.

Meine Versuche, die Variation der „kleinen Vibrionen“ wieder an die Temperatur von 37° C. zu gewöhnen, blieben einstweilen erfolglos, wenngleich ich bemerken muß, daß es bisweilen gelingt, die hypertrophische Form ein wenig zu verändern. Häufiges Überimpfen bei 37° C. bewirkt einen allmählichen Übergang dieser hypertrophischen Formen in große Vibrionenform, welche wir auf Taf. XI, Fig. 12 sehen. Hierauf treten aber bald wieder die früheren hypertrophischen Formen auf. Irgendwelche Veränderungen im Sinne eines Rückschlages zum normalen Typus konnte auch in biologischen Eigenschaften nicht beobachtet werden.

Resumé: Die entstandene „Variation des Vibr. Chol. W.“ besaß folgende Eigenschaften: Die Form kleinster Vibrionen, ohne Geißeln. Fehlen der Indolreaktion, Fehlen der Agglutination mit Choleraserum, stark verringerte Fähigkeit Gelatine zu verflüssigen. Verlust der Fähigkeit bei 37° C. gut zu gedeihen. Diese Temperatur führt leicht zur Degeneration. Gutes Wachstum und vollkommene Lebensfähigkeit bei 15° C. Die agglutinogene Eigenschaft ist erhalten geblieben.

2. Variationen des „Vibr. Chol. I. E. M.“

Beim Studium der Einwirkung des Wassers auf den „Vibr. Chol. I. E. M.“ erhielt ich zweierlei Variationen, wobei außerdem Kontrollversuche ausgeführt wurden, die gleichfalls eine der beiden Variationen ergaben. Um den Gang der Untersuchung deutlicher wiederzugeben, füge ich ein Schema (s. Tabelle XXIV) aller aufeinander folgenden Wasserpassagen bei. Aus demselben ersehen wir, daß die Variation I von der 14. Passage erhalten wurde, nachdem die Kultur 84 Tage der Einwirkung des Quellwassers ausgesetzt war. Der Veränderung unterlagen nicht alle Vibrionen, da ein Teil derselben wieder unveränderte Kolonien hervorbrachte. Nachdem die entstandene Variation abgeimpft war, wurde eine der unverändert gebliebenen Kolonien weiteren Wasserpassagen unterzogen.

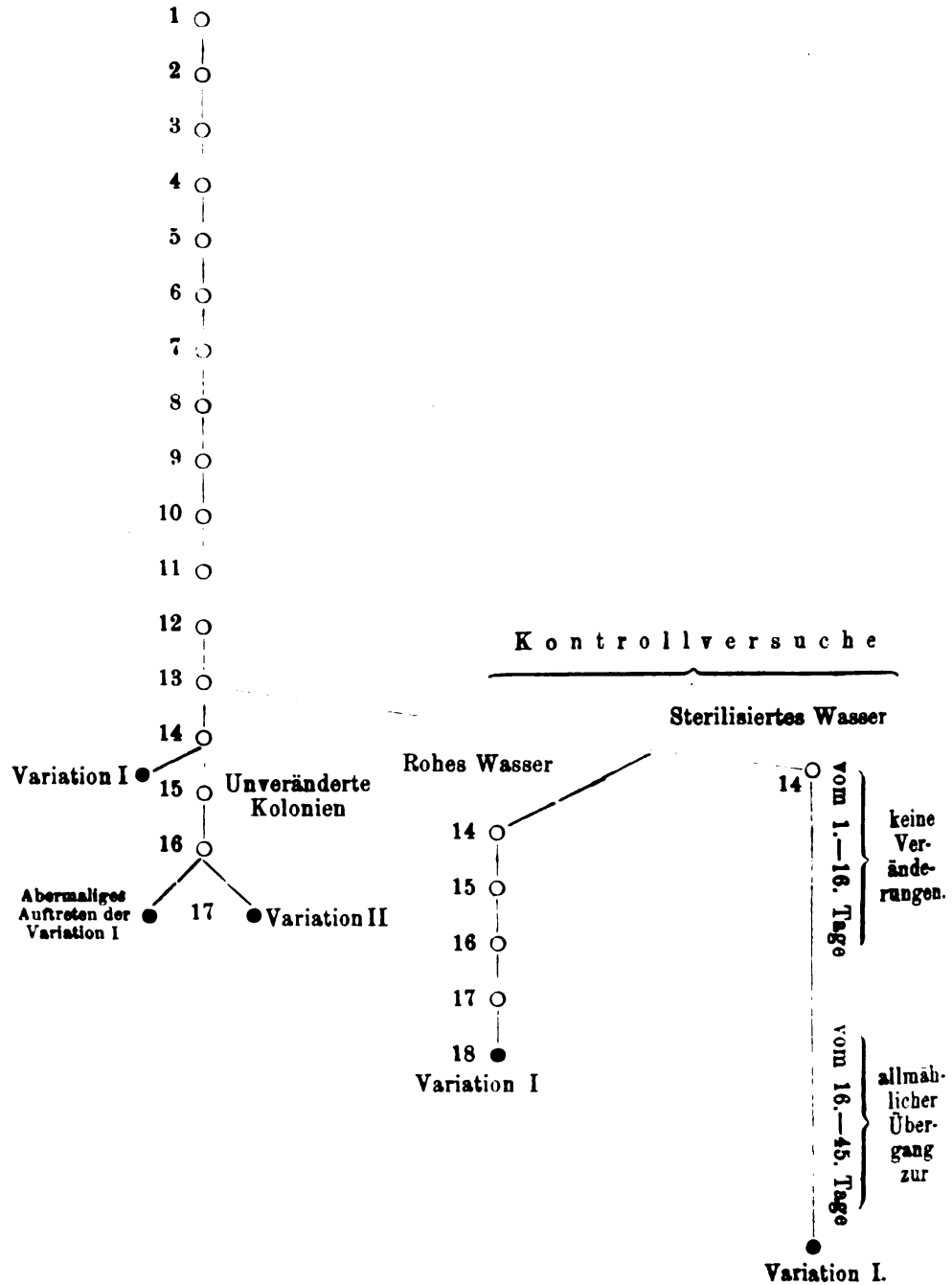
Nach der 16. Passage (vom Anfange an gerechnet) erhielten wir auch veränderte Vibrionen, jedoch nicht nur in Form einer Variation, sondern in Form zweier zu gleicher Zeit. Eine derselben erwies sich als dieselbe, die wir nach der 14. Passage erhalten hatten, und die wir mit einer römischen I bezeichnen. Die andere unterschied sich von der ersten und wird von uns weiter unten unter dem Namen „Variation II des Vibr. Chol. I. E. M.“ beschrieben werden. In diesem Schema sind auch die Kontrollversuche dargestellt, zu welchen unveränderte Vibrionen von der 13. Passage genommen wurden. Im Resultat ergaben diese gleichfalls die Variation I. Diese Versuche sind weiter besonders beschrieben. Die Variation I, welche nach der 14. Passage des „Vibr. Chol. I. E. M.“ plötzlich aufgetreten war, besaß die Fähigkeit, sowohl bei 37° C wie auch bei 15° C zu wachsen. Jedoch im einem wie im anderen Falle war das morphologische Bild verschieden, und will ich diese beiden Typen getrennt voneinander beschreiben.

Variation I des „Vibr. Chol. I. E. M.“ bei 37° C.

Die Präparate einer 24 stündigen Agarkultur dieser Variation zeigten ein Gemisch der verschiedensten Formen, angefangen vom normalen Vibrio und endigend mit aufgetriebenen, kugelförmigen, hefeähnlichen Zellen. Diese Gebilde färben sich nicht gleichmäßig, und bei stärkerer Vergröße-

Tabelle XXIV.

Schema der Wasserpassagen und der Kontrollversuche, die in der Folge die Variationen I und II des „Vibr. Chol. I. E. M.“ ergaben.



Erklärungen:

- bezeichnet eine Wasserpassage.
- „ „ Variation.

rung unterscheidet man eine gewisse Struktur; im Inneren der großen kugeligen Gebilde befinden sich ungefärbte Stellen, welche man mit Vakuolen vergleichen könnte; einige dieser Kugeln färben sich überhaupt nicht, andere nur teilweise. Der Inhalt dieser Kugeln kann auch körnige Struktur haben. Es finden sich auch Kugeln, die sich gut färben. Häufig beobachteten wir ungefärbte Kapseln. Alle diese Formen sind schwer zu beschreiben, und daher verweise ich auf die mikrophotographischen Aufnahmen der Präparate aus diesen Kulturen. Im Laufe von 2¹/₂ Jahren sind viele hundert Präparate gefärbt worden und erhielten wir immer dieselben Bilder. Auf Taf. XI der Mikrophotogramme sehen wir auf Fig. 1 normale Choleravibrionen, die zum Vergleich mit den anderen Bildern dienen sollen. Die Figg. 4, 6, 7 und 8 dieser Tafel zeigen uns die verschiedensten Formen, wobei Fig. 6 spermatozoide Formen darstellt, deren Entstehung man sich durch Auswachsen der ovalen Formen denken kann. Überhaupt muß bemerkt werden, daß ein solches Auswachsen oder Knospen sehr oft beobachtet wird. Fig. 9 zeigt uns die Kugeln bei einer Vergrößerung von 1:1500, während die anderen Bilder bei 1:1000 aufgenommen sind. Das bei den Wasserpassagen vorkommende Auswachsen der Vibrionen in lange Fäden kam recht oft vor, stellte jedoch keine konstante Eigenschaft dar, denn diese Formen verloren sich schnell. Einen Haufen solcher Fäden sehen wir auf Taf. XI, Fig. 5. Neben diesem Bilde (Fig. 4) sehen wir inmitten der hypertrophischen Formen unserer Variation gleichfalls lange Fäden. Geißeln konnten bei keinem dieser Gebilde nachgewiesen werden. Sie sind alle unbeweglich. Beim längeren Kultivieren bei 37° C verändern sich bisweilen diese Formen und es treten gut gekrümmte, oft zu Fäden auswachsende Vibrionenformen auf, jedoch verschwinden dieselben bald wieder, um den hypertrophischen Formen zu weichen.

Diesen Wechsel zwischen hypertrophischen und Vibrionenformen beobachte ich nun schon 30 Monate. In dieser Zeit ist die Kultur 540mal übergeimpft worden (s. Tabelle XXV auf S. 529).

Variation I des „Vibr. Chol. I. E. M.“ bei 15° C.

Die mikroskopische Untersuchung der Kultur der Variation, die bei 15° C gewachsen war, zeigte, daß dieselbe aus Vibrionen bestand. Beständigkeit besaß diese Form jedoch nicht. Die weitere Züchtung bei 15° C ergab bald Formen des echten Choleravibrio, bald verdickte oder verlängerte Typen; die Vibrionen verloren oft ihre allgemeine Krümmung, wodurch sie sich von der Ausgangskultur etwas unterschieden. Starkgefärbte Polkörner konnten bei ihnen oft nachgewiesen werden wie bei

33*

„Vibr. Reservoir B“ (s. Taf. XII, Fig. 17). Im allgemeinen zeigte diese Variation Bilder, wie sie die Fig. 3 auf Taf. XI zeigt. Die Vibrionen waren beweglich, und konnte eine Geißel nachgewiesen werden. Beim Züchten dieser Variation bei 37° C erhielten wir unabänderlich dieselben oben beschriebenen, hypertrophischen Formen. Wir haben die Beschreibung der morphologischen Eigenschaften der erhaltenen Variation mit Absicht in derselben Ordnung folgen lassen, in welcher sie entstanden sind und wir sie studiert haben. Wir haben es in diesem Falle natürlich nur mit ein und derselben Variation zu tun, die bloß bei einer Temperatur von 37° C anders wächst wie bei 15° C. Hierauf deutet auch schon das eben erwähnte Faktum des Wachstums bei 37° C in hypertrophischen Formen derjenigen Kulturen, welche von Anfang an bei 15° C aufgezüchtet waren und umgekehrt, die Fähigkeit der Kultur, welche unter dem Namen Variation I bei 37° C beschrieben ist, im Falle sie nach Aufzüchtung bei 37° C einige Tage bei Zimmertemperatur belassen wird, gemischte Formen zu geben. In diesem Falle erscheinen inmitten der kugeligen und anderer Formen Vibrionen, wie sie uns Fig. 2 auf Taf. XI zeigt.

Auf Gleichheit der beiden Formen weist ferner die vollkommene Analogie ihrer biologischen Eigenschaft hin, und zwar: Indol wird nicht produziert, Gelatine wird erst am 5. Tage verflüssigt; die Agglutination ist vollständig verloren. Ein mit dieser Variation erhaltenes Kaninchenimmenserum agglutinierte sowohl diese Variation selbst, wie auch alle übrigen Cholerastämme (s. Agglutinationstabelle XVII). Wachstum auf Agar bei 15° C gut; bei 37° C nur strichweise — dann aber üppig. Virulenz eingebüßt. Eine ganze Agarkultur ruft weder beim Meerschweinchen noch bei jungen Kaninchen nach der intraperitonealen Einführung Reaktion hervor, wogegen zwei Ösen der Ausgangskultur beim Meerschweinchen schwere Krankheitserscheinungen hervorriefen. Alle diese biologischen Eigenschaften der Variation „Vibr. Chol. I. E. M.“ erhalten sich unverändert während der bis jetzt 30 Monate dauernden Beobachtung der Kultur bei 37° C und 20 Monate der Beobachtung bei 15° C. In dieser Zeit ist die Kultur bei 37° C (soweit sie bei dieser Temperatur wuchs; oft mußte sie zwecks „Erholung“ auch einige Tage bei 15° C gezüchtet werden) 540 mal übergeimpft worden. Dieselbe Kultur bei 15° C (wo sie immer wächst) 280 mal. Diese Variation unterscheidet sich im allgemeinen wenig von der Variation des „Vibr. Chol. W.“ Als übereinstimmende Eigenschaften sind zu nennen: der Verlust der Agglutinationsfähigkeit, die Fähigkeit Indol zu produzieren, die langsame Verflüssigung von Gelatine und die Veränderung des Optimums der Temperatur des Wachstums. Der Unterschied liegt darin, daß die Kultur beim Wachstum bei Zimmer-

temperatur andere Formen gibt, als die Variation des „Vibr. Chol. W.“. Als besonders charakteristisch sowohl für die eine wie für die andere Variation ist die Eigenschaft anzusehen, bei 37° C hypertrophische Involutionsformen zu bilden.

Kontrollversuche der Entstehung der Variation I des „Vibr. Chol. I. E. M.“.

Bei der Beobachtung des plötzlichen Auftretens der Variation hegte ich den Wunsch, zu verfolgen, auf welche Weise der Übergang der Vibrionenform in die Form der Variation vor sich geht. Um dieses zu erreichen, nahm ich eine Kultur, die aus der vorletzten, d. h. der 13. Passage (s. das Schema auf S. 514) noch unverändert hervorgegangen war, und setzte sie von neuem auf einen Kolben mit rohem Quellwasser und außerdem auf einen anderen mit demselben, jedoch sterilisiertem Wasser. Aus dem Kolben mit unsterilisiertem Wasser wurde täglich eine Öse auf Agarplatten ausgestrichen und die aufgekommenen Kolonien auf ihre morphologische Beschaffenheit geprüft. Nach Verlauf von 5 Tagen konnte noch keine Abweichung vom normalen Typus beobachtet werden. Darauf wurde die Kultur auf einen frischen Kolben mit Wasser übertragen und wiederum täglich Untersuchungen ausgeführt; doch konnte auch hier die Entstehung der Variation noch nicht beobachtet werden. Die dritte Passage war ebenso ohne Erfolg. Nach der vierten trat die Variation in allen Kolonien der Schale auf. Das bei diesem Kontrollversuche langsamere Erscheinen der Variation erkläre ich mir dadurch, daß die aus der 13. Passage isolierte Kultur schon 7 Tage auf Agar gewachsen war, bevor sie zum zweiten Male auf Wasser gesetzt worden war; in dieser Zeit konnte die Kultur, nachdem sie erst nach Verlauf dieser Zeit wieder auf Wasser gesetzt war, nicht gleich die Variation hervorbringen, sondern erst nach weiteren vier Passagen. Der mit sterilisiertem Wasser angestellte Kontrollversuch war modifiziert worden, weil die Vibrionen in sterilem Wasser lange leben, was wohl seinen Grund in der Abwesenheit von Protozoen haben dürfte. Die Modifikation des Versuches bestand darin, daß wir hier das Wasser nicht mehr wechselten, sondern täglich Ausstriche auf Agarplatten machten. Bis zum 16. Tage ergab die tägliche Untersuchung der Kolonien keinerlei morphologische Veränderungen der Vibrionen, jedoch vom 16. bis zum 45. Tage konnte täglich die sich steigernde Vermehrung der hypertrophischen Formen inmitten der normalen Vibrionenform beobachtet werden. Am 45. Tage bestand die Kultur fast ausschließlich aus den Formen der Varianten. Die Untersuchung auf die biologischen Eigenschaften bestätigte den analogen Typus dieser Va-

riation mit der oben beschriebenen Variation I des „Vibr. Chol. I. E. M.“. Aus dem Kontrollversuch mit sterilisiertem Wasser ersehen wir, daß dasselbe bedeutend langsamer imstande war das Erscheinen einer Variation hervorzurufen. Folglich müssen wir, um eine Variation zu erhalten, rohes Wasser anwenden. Außerdem beweist dieser Versuch, daß wir es in keinem Falle mit einer Verunreinigung der Kultur zu tun haben, wogegen übrigens schon die Fähigkeit der Variation spricht, Kaninchenimmenserum zu erzeugen, welches echte Choleravibrionen agglutiniert (s. Agglutinationstabelle XVII). Schließlich dürfte der Umstand, daß alle Wasserpässagen von Kontrollwasserkolben begleitet waren, aus denen sich nie ähnliche Kulturen, wie unsere Variationen züchten ließen, gegen die eventuelle Annahme einer Verunreinigung sprechen.

Variation II des „Vibr. Chol. I. E. M.“.

Die Variation des „Vibr. Chol. I. E. M.“ teilte sich in zwei Richtungen. Die eine dieser Richtungen haben wir soeben beschrieben. Die andere ergab die Variation II des „Vibr. Chol. I. E. M.“. Wie aus der Beschreibung der Variation I hervorgeht, trat dieselbe nach der 14. Passage auf, jedoch nicht in allen Kolonien der Schale. Eine dieser unveränderten Kolonien wurde nach der Züchtung auf Agarröhrchen von neuem auf einen Kolben mit rohem Quellwasser gesetzt, um zu beobachten, ob sich bei weiterer Einwirkung des Wassers auf eine solche Kolonie der Vorgang der Entstehung einer Variation wiederholt. Nach einer 5 tågigen Passage bestätigte sich unsere Voraussetzung, denn alle Kolonien der Platte waren in die Form der Variation übergegangen (s. das Schema auf S. 514). Die Untersuchung der biologischen Eigenschaften dieser Variation bestätigte wieder die Identität derselben mit der Variation I des „Vibr. Chol. I. E. M.“. Die Schale mit den Kolonien der soeben aufgetretenen Variation blieb bei Zimmertemperatur stehen. Nach 3 Tagen waren neben den Kolonien der „Variation I“ eine große Menge kleiner, heller Kolonien gewachsen, welche äußerst kleine Vibrionen enthielten. Die ausführliche Untersuchung dieser Kolonien ergab, daß wir es mit demselben Typus der Variation des „Vibr. Chol. W.“ zu tun haben, den wir schon unter diesem Namen beschrieben. Denn alle morphologischen wie biologischen Eigenschaften dieser Variation stimmten mit denjenigen der Variation des „Vibr. Chol. W.“ überein. Diese Variation ist bald eingegangen, weil sie bei 37°C gezüchtet wurde und wir leider den Züchtungsversuch bei Zimmertemperatur, (15°C) außer Acht gelassen hatten. Augenscheinlich hatten wir es auch hier mit einer Verschiebung des Kardinalpunktes des Temperaturoptimums zu tun, und die Temperatur von 37°C erwies sich als ungünstig für die Lebensfähigkeit.

3. Variation des „Vibr. Chol. a. K.“.

Dieser *Vibrio* hatte 18 Quellwasserpassagen bestanden, wobei er 107 Tage der Einwirkung des Wassers ausgesetzt gewesen war, ohne irgend welche Veränderungen in morphologischer wie biologischer Beziehung erlitten zu haben. Nach der 19. Passage (107 Tage auf dem Wasser) trat plötzlich eine Veränderung aller Kolonien der Schale auf. Die morphologischen Formen sowie die biologischen Eigenschaften dieser Variation sowohl beim Wachstum bei 37°C wie auch bei 15°C waren vollständig identisch mit der Variation I des „Vibr. Chol. I. E. M.“. Die Varietät des „Vibr. Chol. a. K.“ agglutinierte sich nicht mit Choleraserum, gab jedoch Kaninchenimmenserum, welches alle echten Cholerastämme agglutinierte und zwar bis zum Titer 1:10000 bis 1:12000 (s. Agglutinationstabelle XVIII). Es ist zudem interessant, daß diese Varietät außerdem vom Serum der Varietät des „Vibr. Chol. I. E. M.“ (Tabelle XVII) agglutiniert wurde und andererseits die Varietät des „Vibr. Chol. J. E. M.“ vom Serum der Varietät des „Vibr. Chol. a. K.“ (Tabelle XVIII) auch agglutiniert wurde. Hierdurch wird nicht nur die Identität des Variations-typus, sondern auch die Identität der Art der Einwirkung des Wassers auf Choleravibrionen festgestellt. Um die Entstehung dieser Varietät zu kontrollieren, wie wir es bei der Varietät des „Vibr. Chol. I. E. M.“ anstellten, wurde die Kultur von der 18. Passage einer nochmaligen Passage unterzogen. Nach drei weiteren Passagen (15 Tagen) erhielten wir genau dieselben Formen mit genau denselben biologischen Eigenschaften.

Variationen, die entstanden sind durch Einwirkung sterilisierten Quellwassers auf Vibrionen, die schon vorher Passagen durch dasselbe rohe Wasser unterzogen waren (II. Kategorie).

Die Wasserpassagen wurden mit den zu den Versuchen ausgewählten 13 Vibrionenstämmen so lange ausgeführt, bis drei von denselben die oben beschriebenen Variationen ergeben hatten. Unverändert blieben folgende 10 Vibrionenstämme: „Vibr. Chol. — kurz“, „Vibr. Chol. — lang“, „8280 vom Kranken“, „8231 vom Kranken“, „3259 vom Träger“, „2421 vom Träger“, „2422 vom Träger“, „Nowo S. Sd.“, „Filter 11“, „Reservoir B.“. Ungeachtet dessen, daß alle diese Vibrionenstämme die bisherigen Wasserpassagen, ohne Veränderungen zu erfahren, passiert hatten, glaubten wir doch annehmen zu können, daß dieselben dennoch für die Veränderung in gewissem Sinne vorbereitet sind infolge des längeren Aufenthaltes im Wasser. Da es nun aber unmöglich war, die Wasserpassagen in der bisher gehandhabten Weise fortzusetzen, beschloß ich, die

Versuche Zeitmangels wegen zu vereinfachen und zwar dadurch, daß diese Stämme nun nicht mehr auf rohes Wasser, sondern auf sterilisiertes Quellwasser gesetzt wurden. Zu diesem Zweck wurden zwei Reihen Kolben sterilisierten Wassers genommen, von welchen je zwei Kolben mit einer Öse ein und derselben Kultur beimpft wurden. Die solcher Art beimpften Kolben wurden bei einer Temperatur von 10° C belassen. Die erste Reihe dieser Kolben wurde nicht geöffnet, um jeglicher Verunreinigungsmöglichkeit vorzubeugen. Aus den Kolben der zweiten Reihe wurden von Zeit zu Zeit Ausstriche auf Platten angelegt, um die morphologischen wie die biologischen Verhältnisse der Kultur zu beobachten. Von den zehn Vibrionen erlitten drei Stämme tiefgreifende Veränderungen, und zwar die Kultur „2422 vom Träger“ nach 3 monatigem Aufenthalt in sterilem Wasser, „8231 vom Kranken“, sowie „Filter 11“ nach 8 monatigem Aufenthalt. Die Beschreibung dieser Variationen lassen wir somit folgen.

1. Variation des Vibrio „2422 — Träger“.

Wie schon oben erwähnt, passierte dieser Vibrio 15 Passagen (war demnach 75 Tage auf Wasser), ohne morphologische oder biologische Veränderungen zu erleiden. Nach 3 monatigem Aufenthalt in sterilisiertem Quellwasser waren noch keine Veränderungen wahrzunehmen. In dieser Zeit war der Vibrio 6 mal isoliert und untersucht worden. Bei der 7. Aussaat auf Agar wuchsen auf der Schale Kolonien, welche nach 2 Tagen (Aufzucht 24 Stunden bei 37° C — darauf bei Zimmertemperatur) weißes Pigment produzierten, sowohl bei 37° C wie auch bei Zimmertemperatur. Die Untersuchung dieser Kultur zeigte, daß sie sich weder morphologisch noch biologisch verändert hatte, denn sie agglutinierte sich noch bei einer Verdünnung von 1:18000, gab Indolreaktion, verflüssigte Gelatine und besaß eine Geißel. Diese Kultur hat bis jetzt 28 Monate die Fähigkeit, weißes Pigment zu bilden, beibehalten; wobei sie in dieser Zeit 99 mal übergeimpft wurde. Geringe Abschwächungen des weißen Farbtones treten bisweilen vorübergehend auf. Das Pigment ist in solchem Falle grauweiß. Der zweite Kolben, welcher zur Kontrolle aufgestellt war und bis dahin nicht geöffnet wurde um Verunreinigungen vorzubeugen, wurde erst nach 9 Monaten geöffnet, und aus demselben konnten Kolonien isoliert werden, die dasselbe weiße Pigment produzierten. Schon dieses Faktum allein spricht unzweideutig dafür, daß wir es hier mit keiner Verunreinigung zu tun haben, zudem hatte die Kultur weder ihre morphologischen noch biologischen Choleracharaktere eingebüßt.

2. Variation des Vibrio „Filter 11“.

Der Vibrio „Filter 11“ absolvierte 15 Passagen (75 Tage auf Wasser), indem er während derselben abwechselnd mehrereremal seinen morphologischen Habitus änderte: bald konnte er aus dem Kolben als typischer Cholera Vibrio (s. Taf. XII, Fig. 13), bald als in längere oder kürzere Fäden ausgewachsen, isoliert werden. Solche Fäden erreichten oft eine recht beträchtliche Länge (s. Taf. XII, Fig. 14). Die Abweichungen der morphologischen Form des Vibrio „Filter 11“ vom normalen Typus äußerten sich in der beträchtlichen Verlängerung sowie Zunahme der Dicke. Diese Formen färbten sich ungleichmäßig und oft treten Polkörner auf, die sich intensiv färben (s. Taf. XII, Fig. 17). Die Geißelfärbung ergab, daß die kurzen Individuen eine, zwei und mehr Geißeln besaßen, wobei die Anordnung sowohl unipolar wie auch bipolar war. Die langen Fäden waren z. T. ohne Geißeln, z. T. besaßen sie an einigen Stellen drei oder vier Geißeln. Die Ausgangsform dieses Vibrio besaß gleichfalls mehrere Geißeln. Ungeachtet der genannten Inkonstanz der morphologischen Form, behielt die Kultur während der Wasserpassagen ihre biologischen Eigenschaften unverändert bei, wenn man die geringen Schwankungen des Agglutinationstiters nicht in Betracht zieht (s. Tabelle XXII). Nach der 15. Passage durch rohes Quellwasser, wurde wie schon erwähnt, dieser Vibrio in sterilisiertes Quellwasser gebracht. Im Laufe von 7 Monaten und 20 Tagen, in welcher Zeit die Kultur 18 mal aus dem Kolben zwecks Untersuchung auf Morphologie und Biologie isoliert wurde, blieb der Vibrio unverändert. Nach dem Ausstrich des Wassers auf Agar zum 19. Mal blieb die Schale trotz 24 stündigen Aufenthaltes im Thermostat steril und wurde daher bei Zimmertemperatur belassen. Nach 6 Tagen erschienen auf dieser Platte äußerst kleine, helle Kolonien, die aus dem oben erwähnten Gemisch von fadenförmigen Vibrionen bestanden (s. Taf. XII, Fig. 14). Die weitere Untersuchung dieser Kultur zeigte, daß sie sich in ihren biologischen Eigenschaften scharf verändert hatte: die Agglutinabilität war vollständig eingebüßt, Indolreaktion negativ, Gelatine wurde nicht verflüssigt. Diese Kultur gewöhnte sich bald an das Wachstum im Thermostat und ging nach 13 Überimpfungen in die typische Vibrionenform über, doch konnte diese Form nicht konstant erhalten werden. Zur Klärung der Frage über die Widerstandsfähigkeit dieser Variation kultivierten wir parallel zwei Kulturen: die eine bei 15° C, die andere bei 37° C, jedoch ging die eine oder die andere immer entweder in die „Fadenmischung“ oder in die „Vibrionenform“ über, ohne jedoch die eingebüßten biologischen Eigenschaften wie z. B.: Agglutination mit eigenem oder Pferdeimmenserum, Indolproduktion, Gelatineverflüssigung, wiederzugewinnen. Aus dem parallelen Kontrollkolben, welcher während der Zeit von 8 Monaten nicht ge-

öffnet war, wurde von uns eine Kultur gewonnen, die auch bei 14° C in Form kleiner, heller Kolonien wuchs. Mikroskopisch hatte diese Kultur typische Vibrionenform, während die Kultur, welche aus dem anderen Kolben isoliert wurde, in „Fadenform“ wuchs, worauf schon oben hingewiesen worden ist. Die Kultur wurde einerseits bei 15° C, andererseits bei 37° C gezüchtet. Es erwies sich, daß sie bei 15° C nach mehrmaliger Überimpfung in Vibrionenform wuchs, aber bei 37° C schon nach einmaligem Überimpfen in „Fadenform“ auftrat. Auch diese parallele Variation der Kultur des Vibrio „Filter 11“ wurde weder durch eignes noch durch Pferde-Choleraserum agglutiniert, gab keine Indolreaktion und verflüssigte Gelatine nicht.

3. Variation des Vibr. „8231 — vom Kranken“.

Nach 15 maliger Passage durch Quellwasser und nach 3 Monate langem Aufenthalt in sterilisiertem Wasser derselben Herkunft produzierte die Kultur „8231 vom Kranken“ beim Überimpfen auf Agar bei Zimmertemperatur nach 2 bis 3 Tagen weißes Pigment. Die mikroskopische Untersuchung dieser Kolonien ergab, daß sie aus Kokken bestanden, wie dieses auf der Tafel XII, Fig. 15 zu ersehen ist. Ihrer Gruppierung nach in Häufchen unterscheiden sie sich nicht von den gewöhnlichen Staphylokokken. Einzeln liegende Exemplare finden sich selten, und dann auch nur in Form von Diplokokken. Es gelingt in älteren Kulturen Vibrionenformen inmitten der Staphylokokken zu beobachten. Hier findet offenbar ein Rückschlag zum Urtypus statt, und zwar nur ein zeitweiliger, vorübergehender, da bei erneuter Abimpfung auf Agar die Vibrionenformen sofort verschwinden und nur Staphylokokken zu sehen sind. Die biologischen Eigenschaften dieser Kultur waren folgende: die Kultur wurde von keinem der vorhandenen Sera (unter welchen sich auch, wie die Tabelle IX zeigt, das Serum der Ausgangskultur befand) agglutiniert, gab keine Indolreaktion, verflüssigte Gelatine überhaupt nicht und war nicht virulent; es gelang, Kaninchenimmenserum zu erhalten, welches die echten Cholera-vibrionen agglutinierte. Diese Variation wurde, ohne Veränderung zu erleiden, im Verlauf von 7 Monaten 65 mal übergeimpft. Nach Verlauf dieser Zeit veränderte sie plötzlich ihren morphologischen Habitus und nach ihrer Züchtung bei 37° C nahm die Kokkenkultur hypertrophische Formen an, wie es auf Taf. XII, Fig. 16 gezeigt ist; als vorherrschende Formen erschienen hier Kugeln, welche zuweilen in Vibrionenformen von beträchtlicher Größe auswachsen. Es finden sich unter ihnen auch Kokken von normaler Größe. Die Kultur läßt sich schwer auf Deckgläschen streichen und daher kann man keine gleichmäßige Verteilung der Individuen erreichen — sie sind wie in Haufen zusammengeklebt. Die Züchtung

dieser Kultur bei Zimmertemperatur auf Agar gab uns mikroskopisch eine Mischung der verschiedensten Formen; hier sah man Bazillen, Kokken und Vibrionen. Die weitere Überimpfung dieser Kultur bei 15° C führte zur Bildung kleiner zugespitzter Bazillen, deren Form an die Variation „Vibr. Chol. W.“ oder an die zweite Variation „Vibr. Chol. I. E. M.“ erinnert. Eine solche Veränderung der Kokkenform ist nur bisweilen aufgetreten und erscheint gewöhnlich nur dann, wenn die Kokkenkultur schon längere Zeit bei 37° C gezüchtet worden ist. Wir erkennen hier deutlich einen „Überdruß“, bei dieser für die Variation hypermaximal gewordenen Temperatur zu wachsen. Ist dieser „Überdruß“ durch Züchtung bei Zimmertemperatur beseitigt, so tritt wieder Wachstum in Kokkenform auch bei 37° C auf. Die biologischen Eigenschaften behielt diese Variation während der ganzen Dauer der Beobachtung unverändert bei. Die Variation ist bis jetzt in 22 Monaten 185 mal auf Agar übergeimpft worden.

Wie man aus der in diesem Kapitel beschriebenen nachträglichen Wirkung des sterilisierten Quellwassers auf die durch Passage durch rohes Wasser vorbereiteten Vibrionen sehen kann, gaben die letzteren ein recht mannigfaches Bild von Variationen. Als besondere Eigenheit im Vergleich mit den vorherigen Variationen erscheint die sich bei zwei Variationen äußernde Fähigkeit, weißes Pigment zu produzieren. In zwei Fällen wurde Verlust des Agglutinationsvermögens bemerkt, die Unfähigkeit Gelatine zu verflüssigen und Indol zu bilden. Der morphologische Habitus des Vibrio veränderte sich bisweilen bis zur Unkenntlichkeit. Eine Verschiebung des Kardinalpunktes der optimalen Temperatur, die für die drei Variationen, welche bei „reinen“ Wasserpassagen entstanden waren, charakteristisch war, konnte bei den Variationen dieser Gruppe nicht beobachtet werden.

Variation, welche durch Einwirkung des rohen Embachwassers auf Choleravibrionen erhalten worden ist.

(III. Kategorie.)

Unter allen 13 Vibrionen, welche Passagen durch rohes Embachwasser unterzogen wurden, veränderte sich nur der „Vibr. Chol. I. E. M. lang“. Die anderen 12 Vibrionen jedoch blieben ohne Veränderung, wenn man nicht die Schwankungen der Agglutinationstiter zwischen 20000 und 16000 rechnen will. Die Vibrionen „Vibr. Chol. W.“, „Vibr. Chol. a. K.“, „Vibr. Chol. I. E. M.“, „Vibr. Chol. I. E. M. kurz“ verweilten im Wasser je 105 Tage, d. h. sie wurden 21 Passagen unterworfen, alle übrigen aber je 75 Tage (s. Tabelle XXIII der Passagen durch rohes Embachwasser).

Dieses Resultat ist recht bemerkenswert; denn bekanntlich stammen sowohl der „Vibr. Chol. I. E. M. lang“ wie der „Vibr. Chol. I. E. M. kurz“ von ein und derselben Kultur, und sind beständig Übergänge der einen Form in die andere zu beobachten gewesen (vgl. Tabelle XXIII). Wir sehen hieraus, daß ein jeder einzelne Stamm eine Einheit darstellt, die sich z. B. zu Wasserpassagen durchaus nicht gleich verhält. Der eine Stamm gibt eine Variation nach einer bestimmten Anzahl von Passagen, der andere bleibt nach dieser Einwirkung noch unverändert.



Fig. 2.

Kokkenvariation des „Vibr. Chol. I. E. M. lang“ mit verzweigten Fäden.
Agarkultur, 24^h bei 37° C. Vergr. 1:1000.

1. Variation des „Vibr. Chol. I. E. M. lang“.

Dieser Vibrio wurde, ohne Veränderungen erfahren zu haben, 17 mal im Verlauf von 85 Tagen durch Flußwasser geleitet; nach der 18. Passage (d. h. nach 90 Tagen) gaben alle Kolonien in der Schale kokkenartige Formen, wie es aus der Taf. XII, Fig. 19, sowie aus Textfigur 2 ersichtlich ist. Im allgemeinen sind diese Kokkenformen erblich konstant, d. h. sie übertragen sich bei Überimpfung auf die Nachkommenschaft. Ungeachtet dessen konnte ich beobachten, daß bei täglichem Überimpfen sich in dieser Kultur Individuen befanden, welche die Neigung zeigten, die Vibrionenform wieder anzunehmen. Bei der Färbung der Geißeln zeigte es sich, daß die kokkenartigen Formen, wie auch die erwähnten seltenen Vibrionen, je eine Geißel besaßen. Außerdem gab diese Variation viele sich verzweigende Formen, deren ausführliche Beschreibung weiter unten folgt. Eine andere Beobachtung erwies, daß, wenn die Kolonien der Kokkenvariation bei Zimmertemperatur altern,

aus ihnen kleine knospenförmige Tochterkolonien auswachsen können, welche aus typischen Vibrionen bestehen. Als ich aber eine solche Tochterkolonie auf Agar überimpfte und sie bei 37° C kultivierte, erhielt ich wieder Kokkenformen. Ließ man aber dieselbe Kultur nachher bei 15° C wachsen, so konnte man nach einigen Tagen in ihr eine Mischung der Vibrionenformen mit kokkenähnlichen finden.

Jener Umstand, daß die Tochterkolonien nur bei 15° C erscheinen und bei ihrer Züchtung bei 37° C wiederum Kokkenformen bilden, spricht dafür, daß hier eine Verschiebung des Optimums der Wachstumstemperatur stattfand. Die ursprüngliche Vibrionenform kann jetzt in dieser Gestalt nur bei 15° C wachsen, bei 37° C jedoch wächst sie in der Form von Kokken. Alles Gesagte kann aber nicht in bezug auf alle Individuen der Kultur verstanden werden, da doch die Mehrzahl der Individuen dennoch die Kokkenform bei 37° C wie auch bei 15° C konstant beibehält. Diese Konstanz erhielt sich während der Zeit von 29 Monaten und ist auch bis jetzt nicht geschwunden. In dieser Zeit ist die Variation 410 mal auf Agar übertragen worden.

Die Kokkenvariation wird durch verschiedene Choleraseren agglutiniert; die anderen biologischen Eigenschaften, wie: die Verflüssigung der Gelatine, die Indolreaktion usw., veränderten sich nicht. Dieser Umstand weist darauf hin, daß wir es hier mit der Veränderung nur einer Eigenschaft, nämlich des Optimums der Wachstumstemperatur zu tun haben. Wie schon erwähnt, blieb die Kokkenvariation im allgemeinen im Verlaufe von 29 Monaten konstant, in welcher Zeit sie 410 mal übergeimpft wurde, doch ereigneten sich auch hier Zwischenfälle, wie ich sie schon oben bei der Variation des Vibrio „8231 vom Kranken“ beschrieben habe. Nach Verlauf von 14 Monaten (von der Entstehung der Variation an gerechnet), und zwar nach der 180. Überimpfung, veränderte die Variation plötzlich ihren morphologischen Habitus. Die 181. Überimpfung, welche bei 37° C angezüchtet war, gab plötzlich kugelartige Gebilde, die eine sehr bedeutende Größe erreichten; zwischen diesen Kugeln gab es kleine dreieckige Gebilde mit fadenähnlichen Auswüchsen und ohne dieselben —, normale oder an einem Ende zugespitzte Vibrionen, Stäbchen und Kokken. Bei ausführlicher Untersuchung dieser Erscheinung zeigte sich, daß hier der Moment eingetreten war, wo die Kokkenvariation ihre Fähigkeit, bei 37° C in Kokkenform zu wachsen, verloren hatte. Die Temperatur von 37° C wurde für dieselbe ungünstig und rief so schroffe Veränderungen in ihrer morphologischen Form hervor; alle diese Formen sehen wir auf Taf. XII, Fig. 20. Diese Formen erhielten sich durch 30 malige Überimpfung auf frischen Agar; nach der 30. Umsaat jedoch verschwanden sie, und die Kultur begann in Vibrionen-

form zu wachsen; ich nahm an, daß ich vollständige Rückkehr zum normalen Typus erhalten hätte, d. h. daß die Kultur von neuem sich dem Wachstum in Vibrionenform bei der Temperatur von 37° C angepaßt habe, doch dieses war nicht der Fall, da sie bei weiterem Überimpfen dennoch wieder zur Kokkenform zurückkehrte. Derartige soeben beschriebene „Zwischenfälle“, d. h. das Erscheinen hypertrophischer Formen, ereigneten sich in der bis jetzt 29 Monate dauernden Beobachtungszeit öfters, und zwar offenbar immer dann, wenn die Kokkenform zeitweilig die Temperatur von 37° C ungünstig empfand. Nach kurzer, einige Tage dauernder Züchtung bei 15° C erholte sich die Kultur immer wieder und wuchs dann bei 37° C in Kokkenform. Das Erscheinen großer Kugeln welche bei 37° C bedeutende Größe erreichten, veranlaßte mich ihre Eigenschaften ausführlicher zu untersuchen. Auf dem mikroskopischen Präparat der Taf. XII, Fig. 20 bemerken wir außer dunkel gefärbten Kügelchen und Kugeln auch andere ziemlich große unregelmäßig tingierte, welche in sich ungefärbte Vakuolen enthalten. Diese Kugeln erreichen, wie wir es auf der Abbildung sehen, in ihrem Wachstum eine bedeutende Größe und zerfallen schließlich in eine strukturlose Masse. Fortgesetzte Beobachtung dieses Prozesses zeigte, daß die Kulturen, welche solche zerflossene Kügelchen enthielten, schleimig waren, wie es beim Abheben der Kultur von der Agaroberfläche mit der Nadel und beim Aufstreichen auf Deckgläser zu sehen war. Dieser Umstand veranlaßte mich, eine Erklärung für diese Erscheinung zu suchen. Ich kam schließlich zu folgender Anschauung: aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich um einen Degenerationsprozeß einzelner Individuen der Kultur, und die Bildung von Schleim muß für dieselben von großer Bedeutung sein. Man kann sich vorstellen, daß die zerflossenen Kügelchen Schleim produzieren, welcher zur Erhaltung der unter ihnen vorkommenden Vibrionenformen notwendig ist. Ich bin geneigt in dieser Tatsache eine gewisse Spezialisierung der Funktionen der Individuen, welche eine Kolonie bilden, zu erblicken. Die Schleimbildung erscheint hier als Faktor, welcher die Kultur vor dem Eintrocknen schützt. In vielen Fällen konnte ich nachweisen, daß die oberste Schicht der Kolonien schleimig war, während man die tieferen Schichten derselben auf Deckgläschen leicht austreichen konnte. Bei der mikroskopischen Untersuchung fand ich in der äußeren Schicht zahlreiche zerflossene Kugeln, während innen nur Vibronen waren.

Die Verzweigungen der Variation des „Vibr. Chol. I. E. M. lang“.

Außer den dargestellten morphologischen Eigenarten dieser Variation habe ich noch folgende interessante Tatsache beobachtet. Einzelne Exemplare der Kokkenvariation haben die Fähigkeit, bisweilen entweder in eine Kette

von Vibrionen auszuwachsen oder seitliche Auswüchse zu bilden, wie bei den anderen sich verzweigenden Bakterien. Solche Verzweigungen wurden schon früher in alten Cholerakulturen beobachtet, aber sie unterscheiden sich scharf von den eben genannten. Auf Taf. XII, Fig. 18 sehen wir ein aus 30 tägiger Kultur desselben unveränderten *Vibrio* angefertigtes Präparat. Hier sieht man in lange Spirillen ausgewachsene Vibrionen, auf zwei Stellen sieht man ein dreieckiges Gebilde, bei welchem ein jeder Winkel Ausläufer gibt, so daß man den Eindruck erhält, Verzweigungen vor sich zu haben. Solche Formen, die zuweilen in alten Cholerakulturen beobachtet werden können, muß man für Gebilde von degenerativem Charakter ansprechen, trotzdem sie nach Überimpfung auf frischen Nährböden sich in einigen Generationen wiederholen können, hiernach jedoch verschwinden. Die zwischen ihnen sichtbaren kugelförmigen Gebilde finden sich wie auch die genannten Spirillen ebenfalls immer in alten Cholerakulturen und sind unbedingt Merkmale der Degeneration. Solche dreieckige verzweigte Formen sind auch von Hammerl¹ beobachtet worden, welcher sie durch Einwirkung von Lithiumchlorid auf Cholerakulturen erhielt (vergleiche auch die Arbeiten von Gamaleja² und Maassen).³ Dowdeswell⁴ wie auch Shibayama⁵ haben gleichfalls Verzweigungen in alten Cholerakulturen beobachtet. Die in der Literatur sich findenden Angaben über die Verzweigungen der Bakterien sind von E. Wolff⁶ gesammelt worden und beziehen sich auf die Bakterien des Rotzes, der Diphtheritis und der Tuberkulose. Weiter finden wir in der Literatur folgende Angaben, welche sich auf Verzweigungen beziehen. So beobachtete Smith⁷ Verzweigungen der Tuberkelbazillen im Auswurf

¹ Hammerl, H., Studien über die Morphologie des *Vibr. cholerae asiaticae*. *Centralblatt f. Bakteriologie*. Orig. Bd. XLI. S. 611 u. 695.

² Gamaleja, *Heteromorphismus der Bakterien unter dem Einfluß der Salze des Lithiums*. Brosch. 1894, russ. „*Die Grundlagen der Bakteriologie*.“ 1900, russ.

³ Maassen, A., Die teratologischen Wuchsformen (Involutionenformen) der Bakterien und ihre Bedeutung als diagnostisches Hilfsmittel. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. Bd. XXI. S. 385.

⁴ Dowdeswell, G. F., Sur quelques phases du développement du microbe du choléra (*Annales de Micrographie*. 1890. Vol. II. p. 529. *Lancet*. 1890. Vol. I. p. 1419). Baumgartens *Jahresbericht*. 1890. Bd. VI. p. 380.

⁵ Shibayama, G., Über die Verästelung der Cholera-vibrionen und deren Bedeutung. *Mitt. d. mediz. Gesellschaft zu Tokio*. 1902. Bd. XVI. Nr. 75. — *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1904. Ref. Bd. XXXIV. S. 111.

⁶ Wolff, E., Über die Bedeutung der Verzweigung für die Systematik der Bakterien. *Dissertation*. Würzburg 1898.

⁷ Smith, W. H., Branching forms of the tubercle bacillus in the sputum. *Journ. of the Boston soc. of med. sciens*. Vol. IV. Nr. 6. p. 144. — Baumgartens *Jahresbericht*. 1900. p. 323.

und auch nach ihrer Passage durch Meerschweinchen. Von den Verästelungen der Spirillen berichtet Reichenbach¹, welcher bei *Spirillum rubrum* (Esmarch) nach 5 tägiger Kultivierung in Pferdefleischbouillon bei 37° C Formen gefunden hat, die an Verzweigungen erinnern. Kohlbrugge² fand Verzweigungen von Wasser- wie von Choleravibrionen bei ihrer Kultivierung auf Blutserum, welches Blutkörperchen enthielt; hierbei wuchsen die Vibrionen vor ihrer Verzweigung in lange Fäden aus. Schließlich beobachtete noch A. Meyer³ die Verzweigung der Bakterien. Zum Unterschiede von den genannten Verzweigungen, welche als Folge der Degeneration anzusehen sind, habe ich echte Verzweigungen der Choleravibrionenvariationen beobachtet. Bei sorgfältiger Untersuchung von Präparaten der Kokkenvariation, welche von 12- bis 24 stündigen Kulturen erhalten waren, fand ich immer kleine Vibrionen mit zuweilen ziemlich unbedeutenden Auswüchsen. Solche Gebilde stellen Anlagen zur Bildung der echten Verzweigungen dar; beim Wachstum eines solchen Vibrio in die Länge erhalten wir Fäden, welche ausgesprochene Verästelungen aufweisen. Auf Taf. XII, Fig. 19 ist die allmähliche Bildung der Verästelungen in einer kontinuierlichen Reihe von 12 Aufnahmen abgebildet. Inmitten der Photographie befindet sich ein Gebilde der Choleravibrionen, welches unten an der rechten Seite einen dunkelgefärbten Keim einer Verzweigung besitzt. In einem Felde der oberen Seite befindet sich auch ein langes Spirillum, welches die Fähigkeit der Kokkenvariation, in solche Form auszuwachsen, beweist. Am oberen Ende des Spirillums sieht man noch einen dunkel gefärbten Punkt, der eine der Kokkenformen darstellt, die später in ein Spirillum ausgewachsen ist. Ich muß betonen, daß alle Gebilde, die sich auf Taf. XII, Fig. 19 befinden, nur von einem Präparat welches aus 24 stündiger Kultur der Kokkenvariation gemacht wurde, erhalten sind. Hieraus ersieht man, daß die Bildung von Verzweigungen als Begleiterscheinung des Wachstums der Kokkenvariation auftritt.

Die Resultate der Untersuchungen und ihre Beurteilung.

Zwecks leichterem Übersichtlichkeit der von mir durch Einwirkung des Wassers auf Choleravibrionen erhaltenen Resultate führe ich sie in Form einer Tabelle an (Tabelle XXV). Bei flüchtigem Betrachten dieser Tabelle fällt die Mannigfaltigkeit der erhaltenen Variationen ins Auge. Ihr morphologischer Habitus ist den bedeutendsten Schwankungen unterworfen. Die physiologischen Eigenschaften (Agglutination, das Vermögen

¹ Reichenbach, H., Über Verzweigung bei Spirillen. *Centralblatt f. Bakteriologie*. Bd. XXIX. S. 553.

² Kohlbrugge, T. H. F., Vibrionenstudien. *Ebenda*. Bd. XXX. Nr. 18.

³ Meyer, A., Über die Verzweigung der Bakterien. *Ebenda*. Bd. XXX. S. 49.

Tabelle XXV. Allgemeine Eigenschaften der Variationen des Cholera-Vibrio.

Nummer	Benennungen der Variationen	Morphologie	Agglutination	Agglutininbildung	Indol	Verh. d. Gelatine	Wachstum bei 15° C	Wachstum bei 37° C	Virulenz	Pigmentbildung	Zahl d. Überimpfungen	in Monaten
1	I. Kategorie: Von Passagen durch rohes Quellwasser: Variation des „Vibrio Chol. W.“	kleine, zugespitzte Vibri- onen u. hypertroph. Formen. Geißeln fehlen. Verzwei- gungen in älteren Kulturen. bei 37° hypertr. Formen. Geißeln fehlen. Bei 15° Vibrienform. 1 Geißel.	ver- loren	bildet	ver- loren	abge- schwächt	normal	geht nach 3 Tagen ein	nicht virulent	bildet	174	25
2	I. Variation des „Vibrio Chol. I. E. M.“	bei 37° hypertr. Formen. Geißeln fehlen. Bei 15° Vibrienform. 1 Geißel.	desgl.	„	desgl.	desgl.	„	strichweise üppig	desgl.	desgl.	540	30
3	II. Variation des „Vibrio Chol. I. E. M.“	kleine, zugespitzte Vibrio- nen. Geißeln fehlen.	„	—	„	„	„	geht nach 5 Tagen ein	„	„	40	3
4	Variation des „Vibrio Chol. a. K.“	bei 37° hypertr. Formen. Geißeln fehlen. Bei 15° Vibrienform. 1 Geißel.	„	bildet	„	„	„	strichweise üppig	ver- loren	„	547	29 1/2
5	II. Kategorie: Von Passagen durch rohes Quell- + ergänz. Einwirkg. desselben sterilis. Wassers: Variation des „2422 — Träger“.	normale unveränderte Vi- briolen. 1 Geißel.	beibe- halten	„	beibe- halten	beibe- halten	„	üppig	nicht virulent	weißes	99	28
6	Variation des „Filter 11“.	normale unveränderte Vi- briolen oder Fadenformen. Mehrere Geißeln.	ver- loren	„	ver- loren	ver- loren	„	schwach	desgl.	bildet nicht	145	27 1/2
7	Variation des „8231 — Kranker“	Kokken. Geißeln fehlen.	desgl.	„	desgl.	„	„	üppig	ver- loren	weißes	185	22
8	III. Kategorie: Von Passagen durch rohes Wasser d. Flusses Embach: Variation des „Vibrio Chol. I. E. M. lang“	Kokken. 1 Geißel. Ver- zweigungen.	beibe- halten	„	beibe- halten	beibe- halten	„	„	nicht virulent	bildet nicht	410	29

34

Indol zu produzieren usw.) werden bald eingebüßt, bald bleiben sie erhalten; einige Eigenheiten aber, wie z. B. das Optimum der Wachstumstemperatur, die Bildung von Pigment, sind von neuem entstanden. Trotz aller Mannigfaltigkeit der Eigenschaften kann man dennoch eine gewisse Ordnung der Entstehung der Variationen in unseren Experimenten bemerken. Diese Ordnung ist vor allem, wie auch zu erwarten war, durch den Charakter des einwirkenden Faktors bedingt. Das Quellwasser der Universitätswasserleitung gab drei Variationen, welche in vielen Beziehungen einander ähnlich waren. Das Wasser des Embachs gab nur in einem Falle eine Variation. Ihrem Wesen nach unterscheidet sie sich stark von den Variationen, welche durch Einwirkung des Quellwassers entstanden waren. Schließlich erhielt ich in Versuchen über die Einwirkung von rohem und darauf sterilisiertem Quellwasser Variationen, die ein recht gemischtes Bild von erblich konstanten Eigenschaften besaßen. Es läßt sich hier nicht sagen, inwieweit bei der Entstehung der Variationen andere Faktoren, wie die Herkunft der Kulturen und deren Vergangenheit mitspielen. In meinen Untersuchungen aber finden sich keine ernstesten Argumente, welche für diese Faktoren sprächen; dennoch kann man ihren Einfluß kaum ganz verneinen. Wenn man in dieser Weise die erhaltenen Variationen einteilt, sieht man, daß die erste Kategorie, welche durch Einwirkung des Quellwassers auf Choleravibrionen entstanden ist, morphologisch beim Wachstumsoptimum der Kultur durch Bildung von kleinen, zugespitzten Vibrionenformen oder durch Vibrionenformen, die sich vom normalen Typus durch Quellung und etwas größere Dimension auszeichnen. Bei der Temperatur von 37° C geben alle diese Variationen hypertrophische Formen, welche den Involutionsformen, die beim Wachsen der Choleravibrionen auf Lithiumnährböden entstehen, ähnlich sind. In biologischer Hinsicht bemerkt man den Verlust des Agglutinationsvermögens mit Cholerasera, den Verlust der Fähigkeit Indol zu bilden, den Verlust oder die Abschwächung der Fähigkeit bei 37° C zu wachsen und die Abschwächung der Fähigkeit Gelatine zu verflüssigen. Die agglutinogene Eigenschaft bleibt bei den Variationen, die hierauf geprüft wurden, erhalten. Diese Variationen erwerben die Fähigkeit bei einer Temperatur von 15° C gut zu wachsen.

Die zweite Kategorie der Variationen zeigte weniger allgemeine Eigenschaften. Der morphologische Habitus veränderte sich in einem Falle wesentlich: aus den Vibrionen bildeten sich Kokken; in zwei anderen Fällen unterschied er sich wenig oder überhaupt nicht von der Ausgangskultur. Bald erhielten sich die biologischen Eigenschaften (in einem Falle), bald verloren sie sich (in zwei Fällen). Von positiven Eigenschaften des Varianten wurde in zwei Fällen die Bildung weißen Pigments beobachtet.

Die dritte Kategorie, zu welcher nur eine einzige Variation gehört, die bei Einwirkung des Embachwassers auf Choleravibrionen entstanden war, wird durch Bildung von Kokken charakterisiert, unter denen auch Vibrionenformen zu finden sind, die eine ausgesprochene Neigung, Verzweigungen zu bilden, besitzen. Bei einer Temperatur von 37° C gibt diese Variation bisweilen hypertrophische Formen, was auf eine Verschiebung des Temperaturoptimums hinweist. Alle übrigen charakteristischen Eigenschaften des Choleravibrio blieben auch in der Variation erhalten.

Aus Gesagtem geht hervor, daß bei andauernder Einwirkung ein und desselben Faktors auf Choleravibrionen die Veränderungen der Eigenschaften der Art die Neigung zeigen, eine Richtung anzunehmen: die sich bildenden Varianten besitzen eine Reihe allgemeiner Eigenschaften. Bei Veränderung des einwirkenden Faktors ist diese Richtung in quantitativer wie in qualitativer Hinsicht verschieden. So gab die Einwirkung des Embachwassers nicht mehr jene Varianten, welche bei Einwirkung des Quellwassers auf Choleravibrionen erhalten wurden. Die Veränderung ihrer Lebensbedingungen, wie das beim gemischten Experiment, welches die Varianten der zweiten Kategorie gab, der Fall ist, äußerte sich auch im Charakter der erhaltenen Variationen. Hieraus geht außerdem hervor, daß bei der Einwirkung des Wassers auf Choleravibrionen unter keinen Umständen sich solche Abarten bilden, welche in irgend einer Weise an die von mir gleichzeitig mit den echten Choleravibrionen untersuchten Wasservibrionen hätten erinnern können. Im Gegenteil, bei allen zuweilen sehr schroffen Veränderungen, welche die Choleravibrionen durchmachten, blieb ihnen ein Kennzeichen unverändert, das die choleraähnlichen Vibrionen nicht besitzen und welches auf die Abstammung des Varianten hinweist. Dies ist die agglutinogene Eigenschaft. Die von mir erhaltenen Variationen werden vor allem durch eine Reihe negativer Eigenschaften charakterisiert, nämlich durch den Verlust derjenigen Eigenschaften, welche bei den Choleravibrionen mehr oder weniger beständig sind.

Besonders fällt ins Auge der Verlust (bzw. die starke Verminderung) der Fähigkeit, bei der Temperatur von 37° C zu wachsen und zu agglutinieren. Deshalb drängt sich bei Beurteilung und Charakterisierung der erhaltenen Resultate vor allem der Gedanke auf, ob man eigentlich die durch Einwirkung des Wassers hervorgerufenen Veränderungen der Form Variationen oder überhaupt Produkte der Evolution nennen kann; stellen sie nicht im Gegenteil Produkte der Entartung von Choleravibrionen dar, d. h. vererbte Mißgestalten, welche sich auf Grund dieses oder jenes krankhaften Prozesses entwickelten. Für diese Annahme könnte auch der Umstand sprechen, daß ich im Grunde genommen nicht

einen bestimmten Typus der Veränderungen erhielt, sondern nur mehr oder weniger einander ähnliche Typen. Gegen diese Annahme sprechen aber folgende Argumente. Pringsheim¹ sagt, daß der Verlust irgend welcher Eigenschaften beim Organismus nicht immer als Degeneration betrachtet werden dürfe und nicht immer von krankhaften Einwirkungen auf den Organismus abhängen; eine weiße Rasse von Farbstoff bildenden Bakterien kann sich z. B. genau ebensogut vermehren und ihre physiologische Leistungskraft entfalten, wie die farbstoffproduzierende Urform. In solchen Fällen kann man den Verlust der Fähigkeiten, eiweißverflüssigende Fermente zu produzieren und bei hoher Temperatur zu wachsen, als Einbuße der für die neue Form unnötigen Eigenschaften, als eine partielle oder totale Atrophie dieser Eigenschaften betrachten. Der Verlust dieser Eigenschaften äußert sich nicht auf die Lebensfähigkeit des Varianten; meine Versuche zeigten, daß die von mir gefundenen neuen Formen sich vollkommen befriedigend entwickeln, auf künstlichem Nährboden wachsen, die Nährstoffe assimilieren usw. Außerdem bemerken wir auch die Erwerbung einiger positiver Eigenschaften, welche ihnen eine normale Existenz sichern. Unter ihnen finden wir die Fähigkeit, gut bei niedriger Temperatur zu wachsen. Vielleicht hat auch die andere positive Eigenschaft — Pigmente zu bilden — eben solche Bedeutung für die Lebensfähigkeit der Varianten. Wenn wir dieses berücksichtigen, so können wir auf die erhaltenen Formen nicht wie auf mißgestaltete oder degenerierte blicken. Eine andere Frage ist es, ob sie Formen darstellen, welche sich durch die allmähliche Evolution und Zuchtwahl entwickelt haben, oder aber als Produkte erscheinen, welche plötzlich durch Einwirkung innerer Ursachen entstehen, durch die für höhere Organismen allgemein anerkannte Mutation von de Vries, welche ein gewaltiger Faktor bei der Bildung einer neuen Art ist. Wenden wir uns zur Lösung dieser Frage an die Literaturhinweise auf den Charakter der Bakterienveränderungen im allgemeinen, so wird es nicht schwer sein, zu sehen, daß die Eigenschaften der Bakterienarten sich durch beständige und andauernde Einwirkung von äußeren Bedingungen verändern können. Die Grenzen ihres Anpassungsvermögens sind sehr weit und können auf künstliche Weise so weit auseinander gerückt werden, daß die entstehenden Variationen auch später die so erworbenen Eigenschaften beibehalten. Im Hinblick hierauf nimmt Pringsheim (a. a. O.) an, daß die Abarten der Bakterien nur durch Anpassung entstehen können und nennt sie „Akkommodationen“. Die Mutation im Reiche der Bakterien zu verneinen ist jedoch kaum möglich. Weiter unten führe ich aus der reichen

¹ Pringsheim, Hans, *Die Variabilität niederer Organismen*. Eine deszendenztheoretische Studie. Berlin 1910.

Literatur über die Veränderlichkeit der Bakterien Beispiele an, welche auf dieses und jenes hinweisen (s. Pringsheim, a. a. O.). In der Anfangsperiode der Entwicklung der Bakteriologie, als ihre Untersuchungsmethoden noch unvollkommen waren, wurde die Lehre vom Pleomorphismus der Bakterien durch die Arbeiten von Nägeli, Zopf, Buchner und Billroth aufgestellt.¹ Unter dieser Benennung verstand man die Fähigkeit der niederen Organismen aus einer Art in die andere überzugehen, wobei man also annahm, daß die Bakterien keine scharf differenzierten Arten mit beständigen und spezifischen Eigenschaften bilden. Mit der Entwicklung der bakteriologischen Untersuchungsmethoden mußte eine solche Anschauung fallen gelassen werden, da doch viele Schlußfolgerungen durch die Unvollkommenheit der Technik bedingt waren. Jedoch vor nicht allzu langer Zeit (1907) trat zur Verteidigung dieser Lehre der Hamburger Hygieniker Dunbar² auf, welcher in seiner Monographie die Anschauung aufstellt und auch experimentell bewiesen zu haben glaubt, daß die Bakterien, Hefe- und Schimmelpilze aus Zellen der grünen Algen entstehen, die er aus Wasser isolierte. Diese Arbeit des bekannten Gelehrten erwarb sich kein Zutrauen und wurde einfach ignoriert als eine vollständig unverständliche und durch nichts erklärliche Auffassung. In einer späteren Periode verstand man schon unter Pleomorphismus die Veränderlichkeit der Form (aber auch der physiologischen Eigenschaften) in den Grenzen der Entwicklung ein und derselben Art, d. h. die Bildung von Fäden, von Sporen, von mehr oder weniger langen Stäbchen oder auch ovalen Formen usw. aus Bakterien. Solch ein Pleomorphismus oder richtiger Polymorphismus (Heteromorphismus) ist tatsächlich den Bakterien eigen und stellt eine sehr gewöhnliche Erscheinung dar, welche jedoch durchaus nicht mit irgend welchen tiefgreifenden Veränderungen der Bakterien in Zusammenhang steht. Die Involutionsformen gehören unter anderem auch zu dieser Kategorie von Erscheinungen bei Bakterien. Die bedeutende Veränderlichkeit dieser oder jener Arteigenschaften, welche sich durch Vererbung überliefern, existiert dennoch und wurde zuweilen auch auf künstliche Weise hervorgerufen.³ Sie kann durch Einwirkung äußerer Ursachen hervorgerufen werden, und in diesem Falle trägt die Erscheinung den Charakter der Anpassung im Sinne Pringsheims.

¹ Anlehnend an Pringsheim, a. a. O., S. 25.

² Dunbar, *Zur Frage der Stellung der Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen im System*. München u. Berlin 1907.

³ Gamaleja bemerkt, daß sein Vogelvibrio, der im Jahre 1888 entdeckt war und aus einer Kultur in alle Laboratorien verbreitet wurde, schließlich äußerst verändert und degeneriert erschien. „Man muß hinzufügen“, sagt er weiter, „daß es mir nicht gelang, aus ihm die ursprüngliche Rasse wiederzugewinnen.“ *Die Cholera und der Kampf mit ihr*. 1905.

Als mehr in die Augen fallende Tatsache auf diesem Gebiet erscheint, z. B. die Gewinnung von asporogenen Rassen bei Hefepilzen (Hansen¹), bei Milzbrandbazillen unter der Einwirkung von häufigen Überimpfungen (Lehmann²) oder Kultivierung bei hoher Temperatur und Anwendung verschiedener Antiseptika (Pasteur, Chamberland, Roux³) oder durch verschiedene Azidität und Alkaleszenz der Nährböden (Behring⁴). Eine asporogene Rasse erhielt auch Migula⁵, indem er *Bact. ramosum* auf karbolhaltigen Nährböden züchtete. In einigen Fällen gelang es künstlich die Anpassung der Bakterien an höhere oder niedrigere Temperaturen hervorzurufen. Galeotti⁶ gewöhnte z. B. allmählich *Bac. fluorescens* mit Pigmentbildung bei 4.5° C zu wachsen und *Bac. prodigiosus* bei einer Temperatur von 37.5° C Pigment zu bilden. Dieudonné⁷ gelang es, den *Vibr. Deneke*, dessen Wachstumsoptimum bei einer niedrigen Temperatur liegt, zum Wachstum bei 37° C zu gewöhnen. Noch leichter gelang es einer ganzen Reihe von Forschern, das Optimum der Wachstumstemperatur der Bakterien niederzudrücken. Deneke⁸ weist darauf hin, daß bei langer Kultivierung des Käsespirillums auf Gelatine seine Fähigkeit bei hoher Temperatur zu wachsen verloren geht. Die Anpassungsfähigkeit der Bakterien, bei niedriger Temperatur zu wachsen, ist auch bemerkt worden bei Pneumokokken (Kruse, Pansini⁹) und bei Milzbrand (Dieudonné [a. a. O.]). Celli und Santori¹⁰ begegneten solchen Abarten des *Vibrio cholerae*, die überhaupt nicht bei 37° C wuchsen, und nur allmählich gelang es, sie wieder zum Wachstum bei dieser Temperatur zu gewöhnen. Die Tuberkelbazillen ändern nach Passagen durch Kaltblütler das Optimum der Wachstumstemperatur von 37° C auf 20° C und wachsen nicht mehr bei Körpertemperatur (Bataillon und Terre¹¹, Lubarsch¹²).

¹ Zitiert nach Pringsheim, S. 158—160.

² Lehmann, *Münchener med. Wochenschrift*. 1887. Nr. 26.

³ Pasteur, Chamberland u. Roux, *Compt. rend. de l'Academie*. 1881. T. XCII. p. 429.

⁴ Behring, *Diese Zeitschrift*. 1889. Bd. VI. S. 127, u. 1890. Bd. VII. S. 173.

⁵ Migula nach Pfeffers *Pflanzenphysiologie*. 1901. Bd. II. S. 242.

⁶ Galeotti, *Lo Sperimentale*. 1892. Zitiert nach Pringsheim.

⁷ Dieudonné, *Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte*. 1894. Bd. IX. S. 492. — *Biol. Centralblatt*. 1895. Bd. XV.

⁸ Deneke, zitiert nach Pringsheim (a. a. O.) S. 148.

⁹ Kruse u. Pansini, *Diese Zeitschrift*. 1892. Bd. XI. S. 315.

¹⁰ Celli, A. u. Santori, S., Über eine transitorische Varietät vom Cholera-vibrio. *Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenkunde*. 1894. Bd. XV. S. 789.

¹¹ Bataillon u. Terre, *Compt. rend. de l'Acad.* 1897. T. CXXIV. p. 1399, u. 1898. T. CXXVI. p. 538.

¹² Lubarsch, *Diese Zeitschrift*. 1899. Bd. XXXI. S. 191.

Ferner gelang es Chudjakoff¹ und anderen Forschern anaerobe Bakterien (*Bac. tetani*, *oedematis maligni* und einige Buttersäurebakterien) zum Wachstum bei Gegenwart einer gewissen Menge von Sauerstoff zu gewöhnen. In der Literatur gibt es viele Beobachtungen über die Veränderlichkeit der Fermentbildung bei Bakterien und über den Verlust der Eigenschaft, einige von ihnen zu produzieren. Man findet auch Beispiele von Erwerbung der Fähigkeit neue früher nicht vorhandene Fermente zu produzieren. Der Verlust der Virulenz wie auch ihre Wiederherstellung gehören zu so häufigen Erscheinungen, daß man nicht weiter über sie zu sprechen braucht. Der Verlust der Fähigkeit, Pigment zu bilden, liegt oft in den Grenzen der normalen Fluktuation der Bakterien. Dennoch ist auch die erbliche Überlieferung der Eigenschaften einiger Bakterien, ohne Pigmentbildung zu wachsen, beschrieben worden. Schottelius² und Scheurlen³ erhielten z. B. farblose Rassen von *Bac. prodigiosus*. Neumann⁴ erhielt mittelst Züchtung von Plattenkulturen aus dem orangefarbenen *Staph. pyogenes aureus* drei Modifikationen: mit zitrongelbem, weißem und fleischfarbenem Pigment; aus dem farblosen *Mikrococcus aurantiacus* — eine weiße und orangefarbene Rasse; aus *Sarcina nobilis* — eine strohgelbe und eine weiße Rasse usw.⁵

Die selbständige Bildung von farbigen Abarten wurde von einer ganzen Reihe anderer Forscher beobachtet (Nelson, Davis, Hefferan, Katayama⁶). Die eben zitierten Beobachtungen über die Fähigkeit der Bakterien bezüglich der Produktion von Pigmentstoffen zu variieren, sind dadurch wertvoll, daß wir es hier schon mit Bildung von Abarten zu tun haben, die selbständig ohne sichtbare Veränderungen der äußeren Bedingungen entstehen können (auf ein und derselben Platte). Hier gab es keine allmähliche Anpassung an äußere Umstände (welche ja dieselben blieben), wie im größeren Teil der eben angeführten Beispiele; hier verdankt die Erscheinung der Abart ihre Entstehung inneren Ursachen und kann durch Mutation erklärt werden.

Zu den ebenso entstandenen Abarten gehören auch die folgenden Fälle, welche in verhältnismäßig neuester Zeit veröffentlicht worden sind.

Massini⁷ beobachtete die Bildung einer Abart des *Bac. coli*, welche er „*Bac. coli mutabile*“ nennt; für diese Abart ist das charakteristisch,

¹ Chudjakoff, *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1898. II. Abt. Bd. IV. S. 389.

² Schottelius, *Festschrift für Alb. v. Kölliker*. Leipzig 1887. Zit. nach Pringsheim. S. 190.

³ Scheurlen, *Archiv f. Hygiene*. 1896. Bd. XXVI. S. 1.

⁴ Neumann, R., *Ebenda*. 1897. Bd. XXX. S. 1.

⁵ Pringsheim, a. a. O.

⁶ Zitiert nach Pringsheim, S. 95.

⁷ Massini, *Archiv f. Hygiene*. 1907. Bd. LXI. S. 250.

daß sie auf Endoagar aus anfänglich hellen Kolonien nach Verlauf einiger Zeit zu Knötchen von roter Farbe auswächst, wie die Kolonien des *Bact. coli*. Wenn man die helle Kolonie weiter überimpft, bevor sie Knötchen bildet, so wachsen aus ihr nur helle Kolonien, die aber fähig sind, Knötchen zu bilden; impft man sie jedoch über nach Auftreten der Knötchen, so erhält man teils helle, teils rote Kolonien, die man nicht von gewöhnlichen Colikolonien unterscheiden kann. Je öfter man das Material der Knötchen übersät, in desto größerer Anzahl wachsen die roten Kolonien hervor. Die roten Kolonien erzeugen immer nur rote. Diese Abart erhält man ausschließlich in Gegenwart von Milchzucker, dessen Spaltung mit der Bildung von Milchsäure das Hauptkriterium der Abart bildet, während diese Eigenschaft auch so schon dem *Bact. coli* eigen ist. Die rote Farbe der Knötchen entsteht durch Zersetzung der farblosen Verbindung von schwefligsaurem Natrium und Fuchsin im Endoschen Nährboden. Im Jahre 1906 referierte M. Neisser¹ diese Arbeit auf dem I. Kongreß der Mikrobiologen in Berlin. Dieselbe Art von *Bact. coli* fand auch Sauerbeck.² Bald nachher wurden von Arnold Burk³ weitere Abarten von *Bact. coli* gefunden, welche auch den Milchzucker des Nährbodens spalten.

Ferner weise ich noch hin auf die Arbeit von Burri und Dügge⁴, welche die aus dem Grase isolierten Abarten des „*Bact. coli*“ untersuchten; diese Abarten hatten die Eigenschaft, Sacharose mit Säurebildung zu spalten. Jacobsen⁵ beschreibt eine Abart „*Bact. typhi mutabile*“. Das Wachstum dieser Abart wurde durch Stoffe gehemmt, welche sich im Nähragar bei seiner wiederholten Sterilisation im Autoklaven bildeten; hierbei beobachtete man eine Veränderung in der Bindung der Agglutinine. Die Kolonien dieser Abart waren anfangs von sehr geringer Größe, aber nach einigen Tagen wuchsen aus ihnen typhusähnliche Kolonien, welche mit Typhusserum bis zur Titergrenze agglutiniert wurden. Die Kolonien dieser Abart bilden auf Agar, welcher Rhamnose enthält, Knötchen, die jedoch spärlich und spät auftreten. Reiner-Müller⁶ erhielt „Mutationen“ von Typhusbakterien bei ihrer Kultivierung auf 1 Prozent

¹ Neisser, M., *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1906. I. Abt. Ref. Bd. XXXVIII. Beiheft. S. 98.

² Sauerbeck, E., *Ebenda*. 1909. Bd. L. S. 572.

³ Burk, *Archiv f. Hygiene*. 1908. Bd. LXV.

⁴ Burri, Rob., u. Dügge, M., *Centralblatt f. Bakteriologie*. Orig. Bd. XLIX. S. 145. — Burri, Rob., *Ebenda*. Bd. LIV. S. 210. — Burri, Rob., *Ebenda*. 1910. II. Abt. Bd. XXVIII. S. 321.

⁵ Jacobsen, *Ebenda*. 1910. Orig. Bd. LVI. S. 208.

⁶ Reiner-Müller, Mutationen bei Typhus und Ruhrbakterien. Mutation als spezifisches Kulturmerkmal. *Ebenda*. 1911. Bd. LVIII. S. 97.

Rhamnose enthaltenden Agar. Auf jeder einzeln stehenden Mutterkolonie fangen vom 3. Tage an Tochterkolonien hervorzuwachsen, welche das Aussehen von auf der Oberfläche der Mutterkolonien sitzenden Knöpfen haben. Auf dicht geimpften Stellen jedoch, wo das Wachstum unterbrochen ist, erscheinen uns diese Tochterkolonien wie einzelnstehende Kolonien einer anderen Bakterienart. Die Tochterkolonien haben eine dunklere Farbe mit bräunlichem Schimmer; sie erinnern durch ihre Form an die Tochterkolonien, welche von anderen Forschern beim Züchten des *Bact. coli* auf Laktoseagar erhalten und unter dem Namen „*Bact. coli mutabile*“ beschrieben worden sind. Bei Übertragung solcher Tochterkolonien auf frischen rhamnosehaltigen Agar erhält man Kolonien, aus denen keine Tochterkolonien mehr wachsen. In solchen durch Mutation veränderten Kolonien finden sich auch noch unveränderte; denn die Tochterkolonien entstehen nicht auf der Oberfläche der Mutterkolonie, sondern auch in ihr, da die Nadel beim Überimpfen beide Sorten erfaßt, wenn man auch annehmen sollte, daß auch die Tochterkolonie selbst aus durch Mutation veränderten Stäbchen besteht. Um die Möglichkeit einer Verunreinigung auszuschließen, gebrauchte Reiner-Müller auch die Methode der Kultivierung aus einer Zelle mit Hilfe von Tusche nach Burri; die Resultate blieben jedoch dieselben. Die biologische Eigenschaft der Kolonien der Typhusbakterien, welche durch die Mutation verändert wurden, besteht in der Unfähigkeit dieser Kultur, Rhamnose zu spalten. Die Rückkehr dieser Kultur zum ursprünglichen Typhus ist ihm nie gelungen zu beobachten.

Die Abarten, welche plötzlich und vollkommen unerwartet durch die Wirkung innerer Ursachen entstehen, werden von den meisten Forschern „Mutationen“ genannt, anlehnend an solch eine Definition, welche de Vries¹ für höhere Organismen gegeben hat. Die Ursachen der Mutation bleiben unbekannt, und wenn man sie „innere“ nennt, so erklärt das eigentlich noch gar nichts.

Ehrlich² sagt über die sich vererbende Serumfestigkeit der Trypanosomen: „Behandelt man Parasiten mit dem betreffenden Antikörper, so tritt die Umbildung plötzlich ein, so daß man diesen Vorgang geradezu als eine Mutation, eine sprungweise Änderung bezeichnen kann. Nun ist man allerdings geneigt, als Charakteristikum der Mutationsvorgänge, die ja in der modernen Zoologie eine so große Rolle spielen, das durchaus spontane Auftreten anzusehen. Aber in der Natur ist nichts spontan, alles hat seine Ursache, und wenn es sich um biologische Fragen handelt, meist eine chemische Ursache.“

¹ de Vries, Hugo, *Die Mutationstheorie*. Leipzig 1901 u. 1903.

² Ehrlich, P., „Über Chemotherapie.“ *Bericht über d. 5. Tagung d. freien Verein. f. Mikrobiologie in d. Intern. Hyg.-Ausstellung in Dresden 1911*. S. 94.

Die Wirkung einer äußeren Ursache in den Mutationen zeigt sich, meiner Meinung nach, auch in meinen Beobachtungen über die Cholera-vibrionen.

In meinen Untersuchungen waren keine allmählichen Übergänge zur entstandenen Abart bemerkbar. Sie erschienen plötzlich, ohne irgend welche vorhergehende Symptome.

Dennoch muß ich zugeben, daß bei ihrer Entstehung äußere Einflüsse (Wasser, Temperatur) teilnahmen, wie das aus den Bedingungen der Experimente und aus dem Charakter der Veränderungen hervorgeht. In Anbetracht dessen bin ich geneigt anzunehmen, daß unsere Abarten nicht ein Produkt einfacher Anpassung der Cholera-bakterien an die Existenzbedingungen darstellen, sondern wirkliche Mutationen im Sinne de Vries' sind, aber nur mit dem Unterschied, daß in ihrer Entstehung die andauernde Einwirkung einer äußeren Ursache sichtbar ist und daß der Charakter der Zufälligkeit fehlt.

Die Entstehung von Variationen des Cholera-vibrio im Wasser dürfte den Anschein erwecken, als ob dieses Faktum von großer Bedeutung für die Klärung der epidemiologischen Fragen der Cholera wäre; wird doch der Schein geweckt, als böten die Ergebnisse meiner Untersuchungen den hypothetischen Annahmen eines Überganges des Cholera-vibrio in eine saprophytische Abart (Sanarelli, Zlatogoroff u. a.) eine Grundlage. Ich habe jedoch keine Abarten erhalten, die mit Wasservibrionen identisch wären oder aus diesen solche, die mit Cholera-vibrionen Ähnlichkeit hätten. doch ist dieser Umstand noch von keiner prinzipiellen Bedeutung und könnte er wohl von einiger Unnatürlichkeit in der Ausführung der Experimente, und eben dadurch auch von andern Ursachen abhängen. Zur Unterstützung der Hypothese von den saprophytischen Abarten der Cholera wäre es vorläufig genügend, die Tatsache zu konstatieren, daß der Cholera-vibrio fähig ist in solche überzugehen. Wenngleich es nahe liegt, die von mir entdeckten Tatsachen zur Klärung der dunklen Seiten der Cholera-epidemiologie heranzuziehen, sprächen folgende Erwägungen doch gegen eine solche Möglichkeit. Die Entstehung von Variationen bei Cholera-vibrionen, wie sie wenigstens in meinen Experimenten vor sich ging, kann man in keinem Fall als einen leicht und schnell gelingenden Vorgang auffassen. In meinen 26 Experimenten erhielt ich nur in 7 Fällen Variationen. In allen andern Fällen war das Wasser im Zeitraum unserer Experimente nicht imstande, in irgend einer Weise die Cholera-vibrionen zu verändern. Das Flußwasser im speziellen, welches ja im Grunde genommen bei den epidemiologischen Erwägungen der Autoren in Betracht kommt, erwies die allergeringste Wirkung bezüglich der Entstehung der Variationen.

Die spezifischen Merkmale der Art des *Vibrio* sind ungewöhnlich widerstandsfähig, und nur dank der lange anhaltenden Einwirkung des Wassers und des durchaus künstlichen Schutzes der Vibrionen vor ihrer Vernichtung war es möglich, sie zu verändern. Andererseits behält die entstandene Abart konstant die erworbenen Eigenschaften nach Ausschaltung des einwirkenden Faktors im Laufe von mehreren Monaten bei, und ihre „saprophytische“ Eigenschaft wird nicht zur „pathogenen“. Unter solchen Umständen ist es sehr schwer anzunehmen, daß die Choleraepidemien infolge des Unschädlichwerdens der Vibrionen im Wasser aufhören und infolge ihrer Regeneration wieder auftreten. Noch schwerer ist es, sich vorzustellen, daß dieser und jener Vorgang in der verhältnismäßig kurzen Aufenthaltszeit des Cholera-vibrio im Darm des Menschen sich vollziehen könnte, wie das Horowitz u. a. annehmen.

Die Resultate meiner Beobachtungen sprechen gegen jene hoffnungslose Lage, in welcher sich die Methodik der Choleradiagnose infolge der von Zlatogoroff, Horowitz und anderen ausgesprochenen Vermutungen befinden würde. Tatsächlich kann man die Cholera-bakterien mit großer Zuverlässigkeit mit Hilfe der Agglutination (bzw. anderer biologischer Proben) von anderen unterscheiden, und die Stellungnahme von Kolle, Gotschlich, Prausnitz u. a. bezüglich solcher Diagnose bleiben auch heute in Kraft. Zweifelhafte Fälle sind bei der Diagnose natürlich möglich, aber sie kommen selten vor und können vorläufig nicht genügend erklärt werden. Wenn die von mir in mehreren Fällen konstatierte Tatsache der konstanten Erhaltung der agglutinogenen Eigenschaft der Cholera-vibrionen allgemeine Bedeutung hat, so könnte diese Eigenschaft mit Erfolg in allen zweifelhaften Fällen zur Diagnose herangezogen werden.

Ergebnisse.

1. Bei längerer Einwirkung des Wassers auf Cholera-vibrionen können plötzlich Variationen entstehen, welche sich von den Ausgangsarten durch morphologische wie auch besonders durch physiologische Eigenschaften unterscheiden.

2. Diese Variationen sind erblich konstant und behalten ihre Eigenschaften, ohne Veränderung zu erfahren, eine unbestimmt lange Zeit nach Ausschaltung des sie hervorrufenden Faktors bei.

3. Ihrem Charakter nach kann man sie zu den „Mutationen“ rechnen, jedoch mit der Bemerkung, daß sich bei ihnen die Einwirkung der äußeren Bedingungen deutlich abspiegelt.

4. Die Variationen, welche unter solchen Bedingungen entstehen, nehmen nicht immer einen streng begrenzten Typus an, was anscheinend von den Eigenschaften des einwirkenden Faktors, im gegebenen Falle des Wassers, abhängt.

5. Als unerläßliche Bedingung zur Entstehung der Variationen muß die sehr lange andauernde Einwirkung des Wassers gerechnet werden. Die kurze, zwei Monate oder auch länger dauernde Einwirkung des Wassers ist nicht imstande, in irgend einer Beziehung den Cholera vibrio zu verändern.

6. Von allen Eigenschaften des Cholera vibrio widersteht die agglutinogene Eigenschaft am standhaftesten der Einwirkung des Wassers.

7. Unsere Untersuchungen sprechen gegen die leichte Möglichkeit der Entstehung einer Variation unter natürlichen Bedingungen, wie auch gegen ihre leichte Regeneration.

8. Infolgedessen kann das Auftreten, das Aufhören und die Erneuerung der Cholera epidemien nicht durch die Hypothese der Umwandlung der Cholera vibrien in saprophytische Abarten, und umgekehrt, erklärt werden.

9. Die choleraähnlichen Vibrien unterscheiden sich scharf von den echten Cholera vibrien durch ihre schwache Eigenschaft mit Cholerasera zu agglutinieren. Dennoch agglutinieren viele von ihnen noch bei einer Verdünnung von 1:300 oder sogar von 1:500 und in seltenen Fällen in einer noch stärkeren Verdünnung.

10. Die Agglutinationsreaktion behält ihre anerkannte Stellung in der Differenzialdiagnose der Cholera vibrien bei.

11. In allen zweifelhaften Fällen muß die Untersuchung durch Prüfung der isolierten Vibrien auf die agglutinogene Fähigkeit ergänzt werden.

Meinem hochverehrten Lehrer Hrn. Prof. Schepilewsky danke ich für das große Interesse und alle Ratschläge, mit denen er meine Arbeit beständig unterstützt hat.

In Anbetracht der bei dieser Arbeit erzielten Resultate habe ich die gleichen Versuche auch mit Typhusbazillen im Laufe des Jahres 1912 ausgeführt und hier ähnliche Variationen des Typhusbacillus erhalten, wie es bei den Cholera vibrien der Fall war. In Rußland habe ich diese Arbeit schon veröffentlicht und hoffe auch noch an dieser Stelle darauf zurückzukommen.

Jurjew-Dorpat, im Juni 1913.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. XI u. XII.)

Die Präparate sind von 24 stündigen Agarkulturen erhalten.
Die Vergrößerung ist bei allen (außer Fig. 9) 1 : 1000.

Tafel XI.

Fig. 1. Normale Cholervibrionen.

Variation des „Vibr. Chol. I. E. M.“.

Fig. 2. Gemisch von Vibrionen mit hypertrophischen Formen. (Die Kultur ist bei 37° angezchtet worden und wuchs darauf bei 15° C.)

Fig. 3. Vibrionenform (bei 15° C.)

Fig. 4. Hypertrophische Formen mit langen Fäden

Fig. 5. Fadenformen

Fig. 6. Spermatozoide Formen

Fig. 7. Gemischte Formen

Fig. 8. Kugelformen

Fig. 9. „ bei 1 : 1500

} bei 37° C.

Variation des „Vibr. Chol. W.“.

Fig. 10. Kleine, zugespitzte Vibrionenformen (bei 15° C.)

Fig. 11. Hypertrophische Formen

Fig. 12. Große Vibrionenformen } bei 37° C.

Eine Verzweigung dieser Variation befindet sich auf S. 514.

Tafel XII.

Fig. 13. Vibrio „Filter 11“, normale Form.

Fig. 14. „ „ „ „Fadenmischung“.

Variation des Vibrio „9231 — vom Kranken“.

Fig. 15. Staphylokokkenformen } bei 37° C.

Fig. 16. Hypertrophische Formen }

Fig. 17. Vibrio „Reservoir B“ mit Polkörnern.

Fig. 18. 30 tägige Kultur des „Vibr. Chol. I. E. M. lang“.

Variation des „Vibr. Chol. I. E. M. lang“.

Fig. 19. Kokkenformen mit Verzweigungen (siehe auch S. 524) } bei 37° C.

Fig. 20. Hypertrophische Formen }

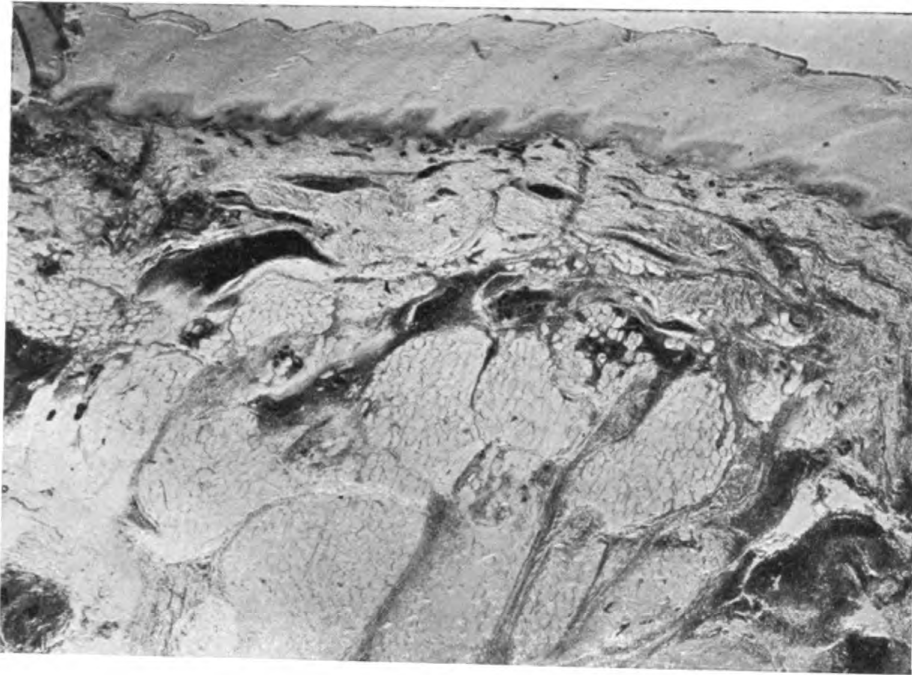


Fig. 1.

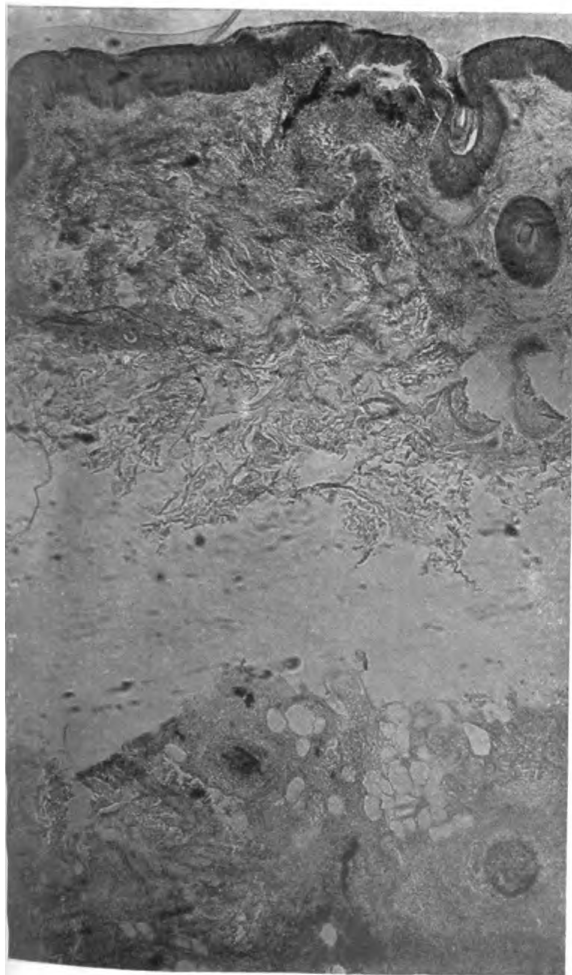


Fig. 2

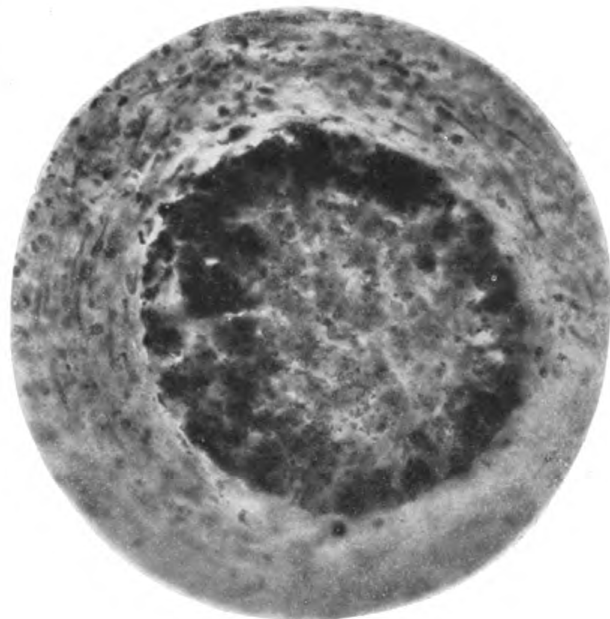


Fig. 3.



Fig. 4.

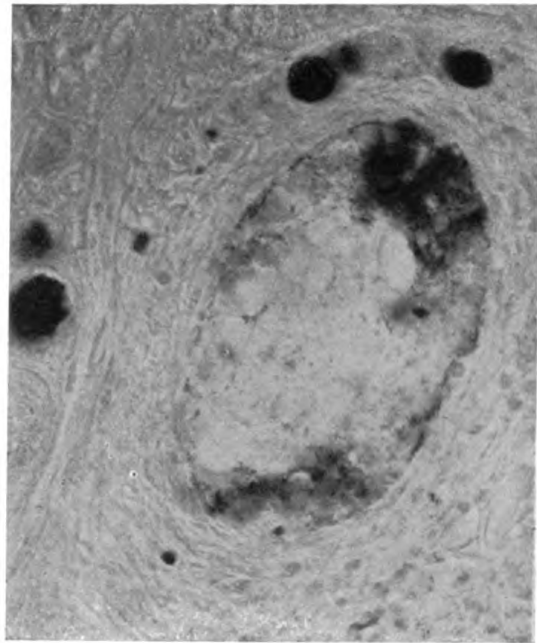


Fig. 5.

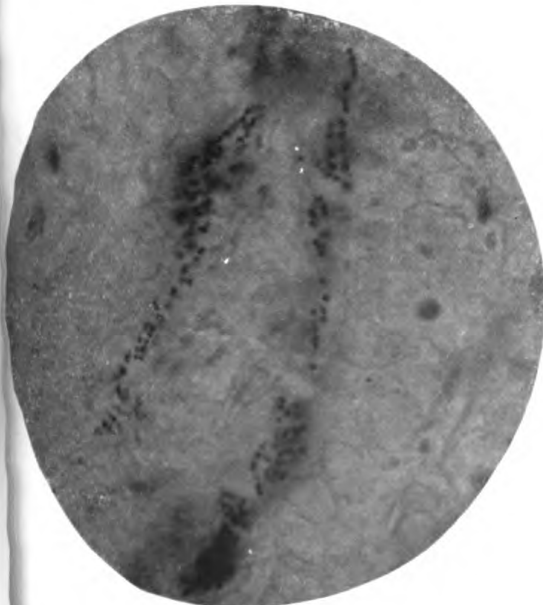


Fig. 6.

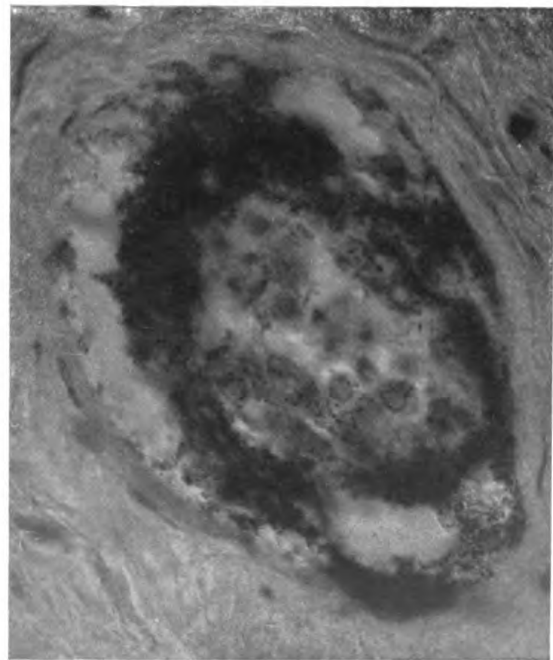


Fig. 7.

Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.

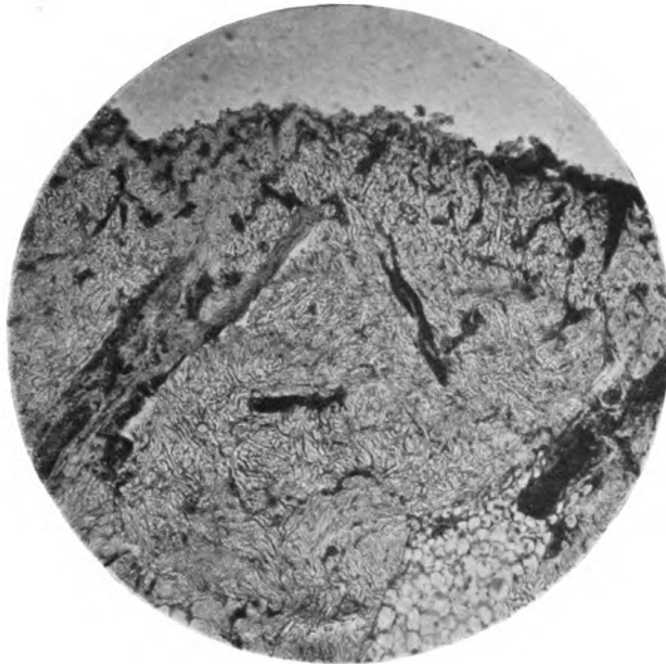


Fig. 8.

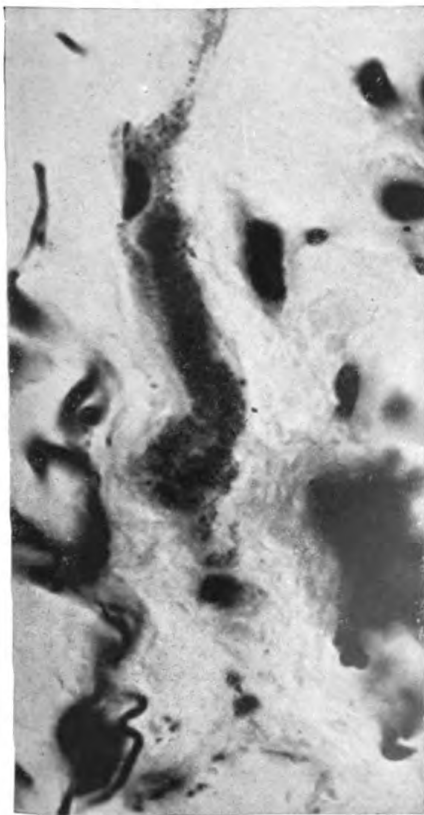


Fig. 9.

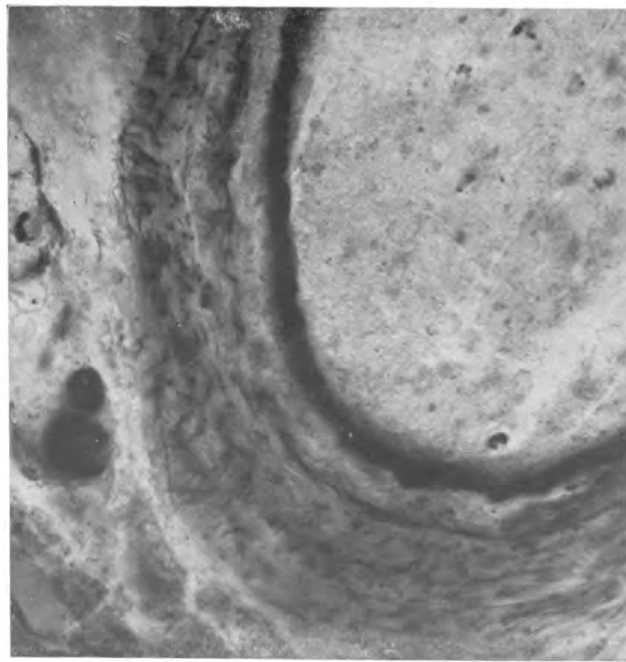


Fig. 10.

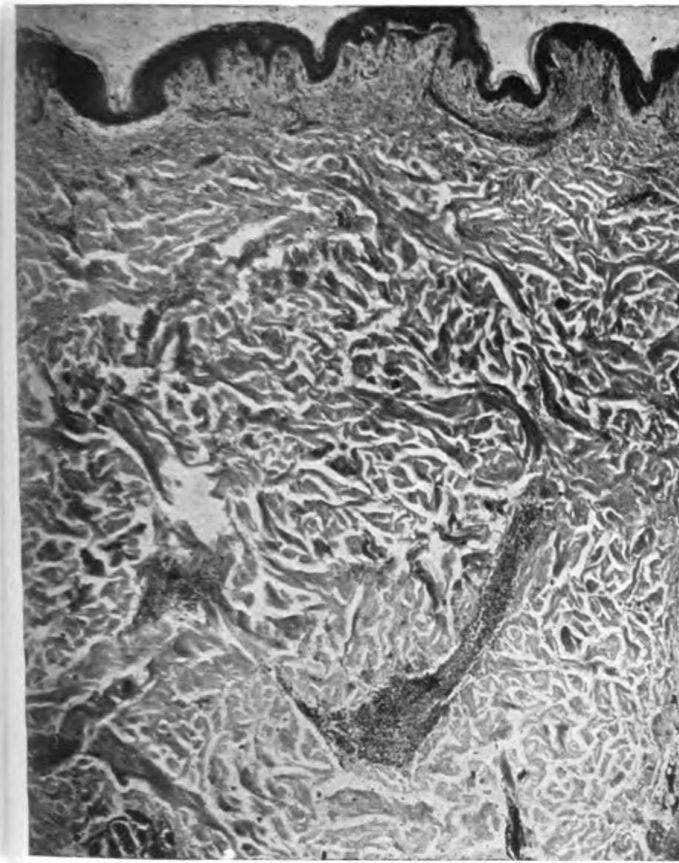


Fig. 11.

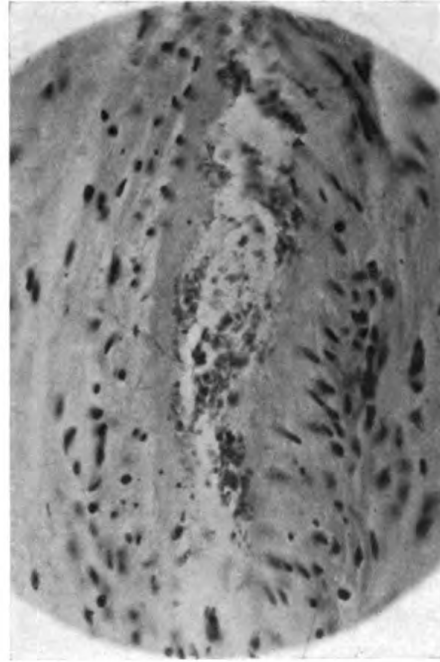


Fig. 12.

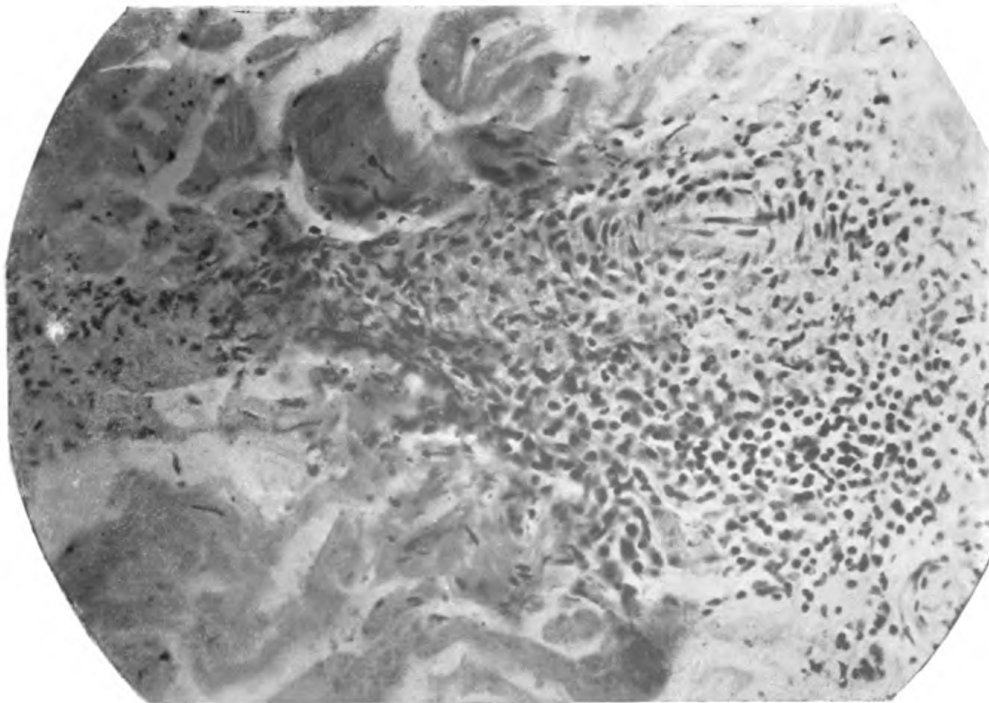


Fig. 13.

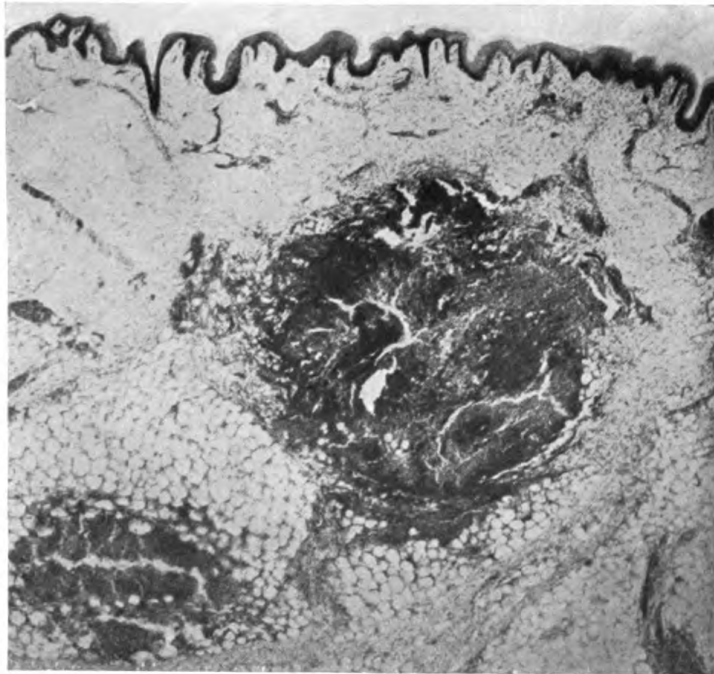


Fig. 14.

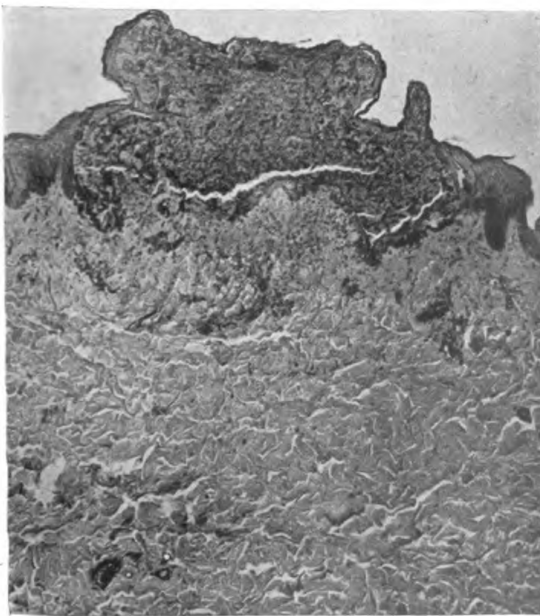


Fig. 15.

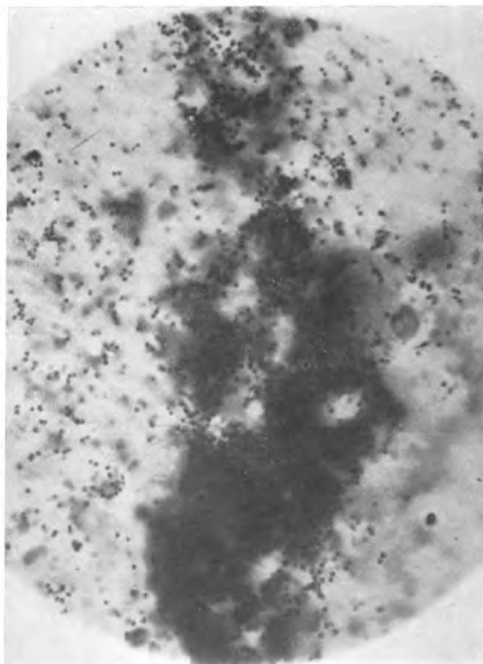


Fig. 16.

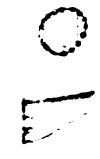
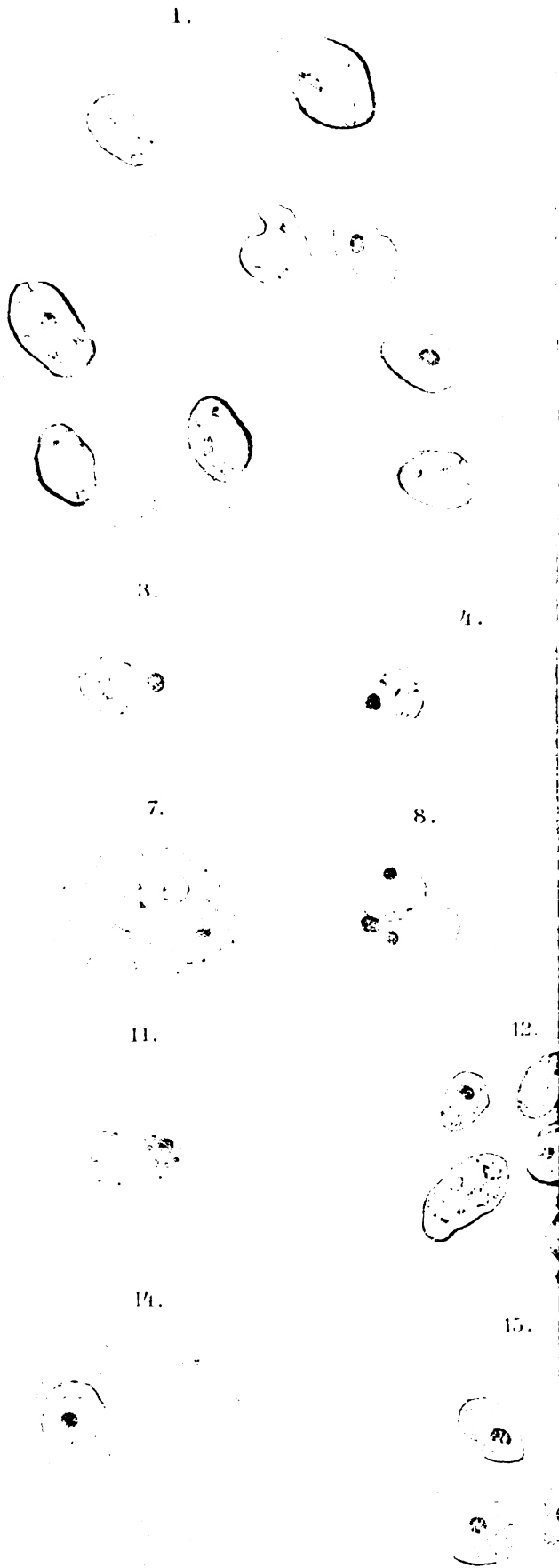
Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.



Fig. 17.

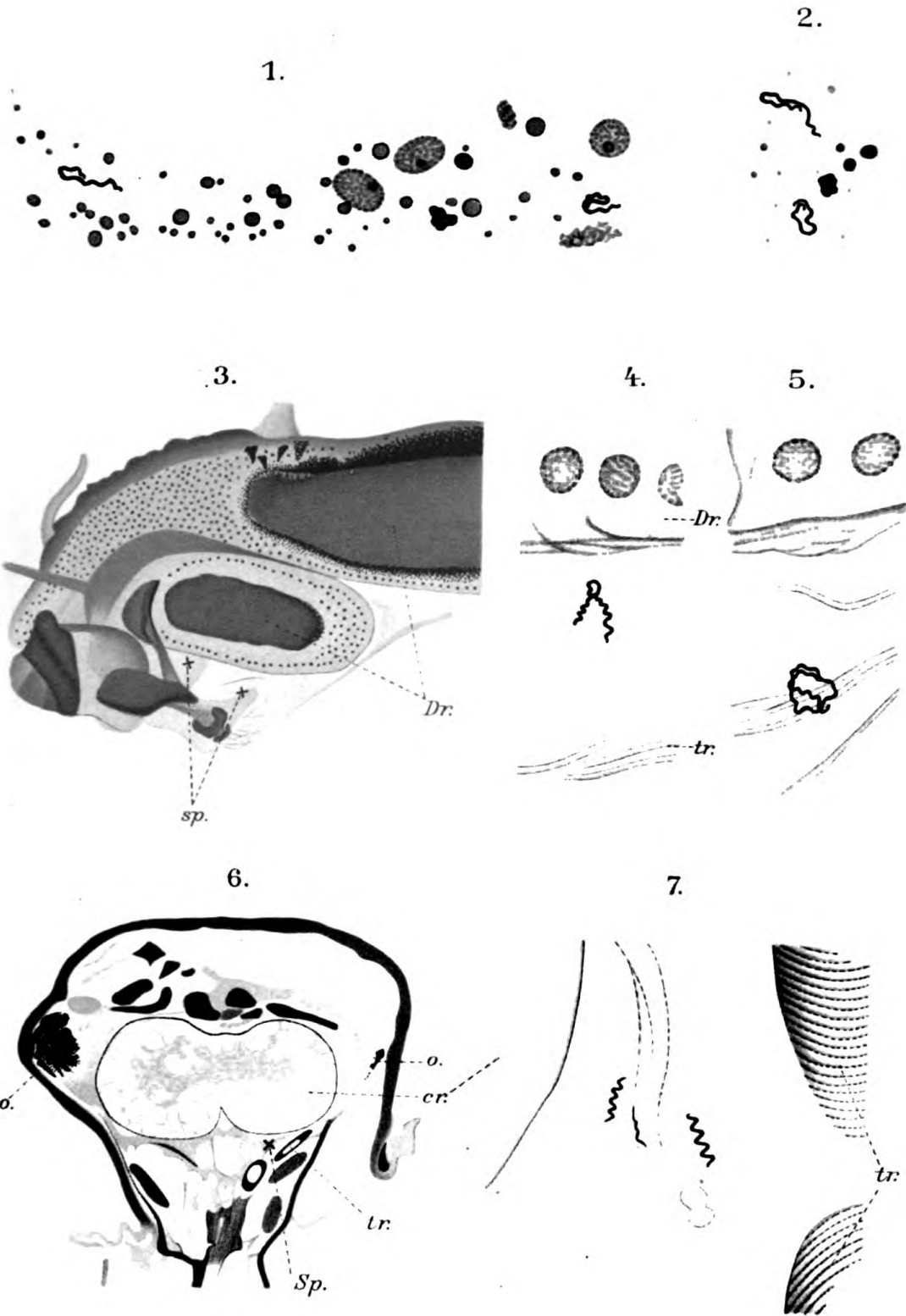


Fig. 18.



Verlag Leipzig

Generated on 2019-08-03 11:37 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3788958
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



H Sikora pinx.

Verlag Veit & Comp. Leipzig

Lith Anst. v. F. A. Funke, Leipzig



Fig. 1.

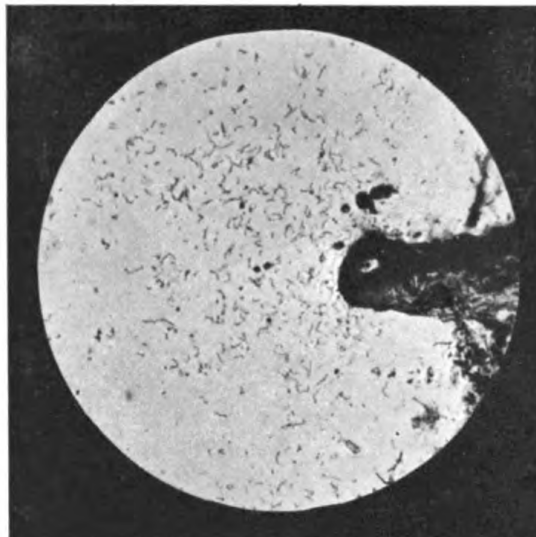


Fig. 2.

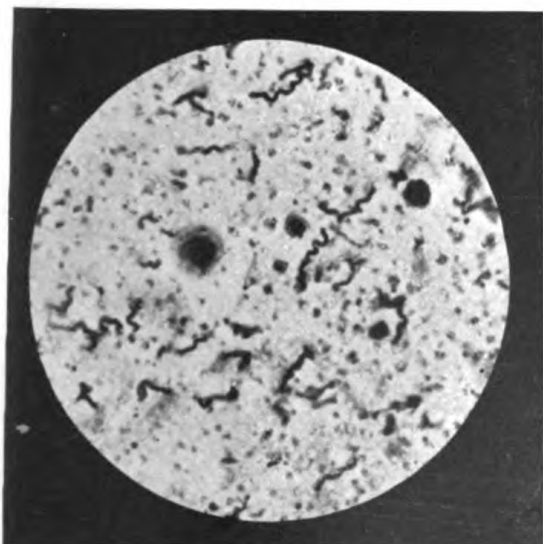


Fig. 3.

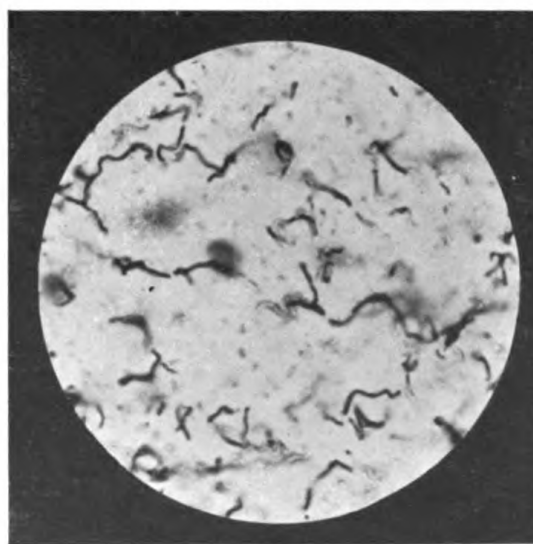


Fig. 4.

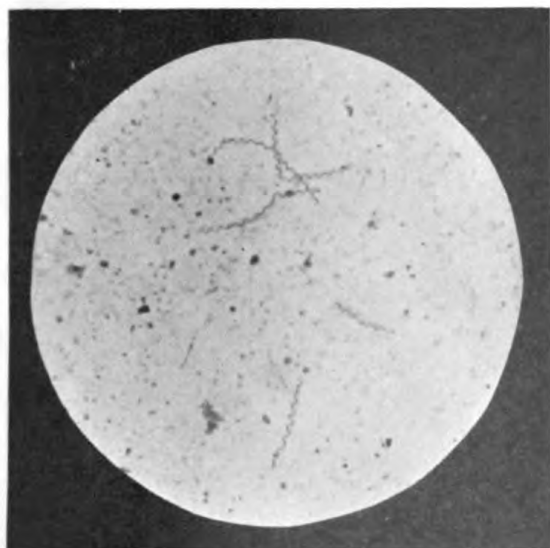


Fig. 5.

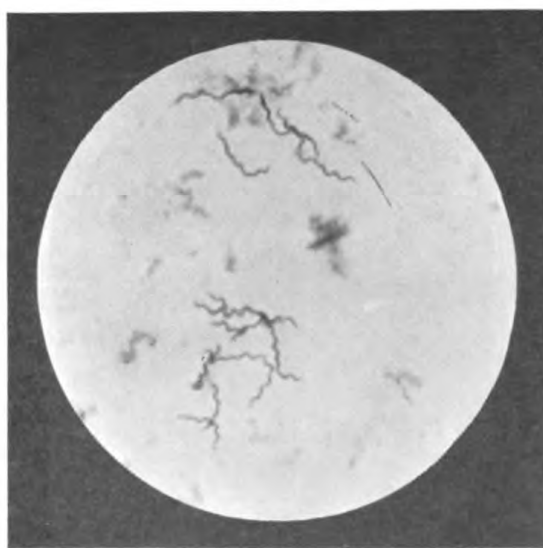


Fig. 6.

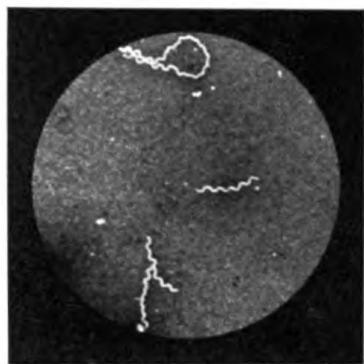


Fig. 7.

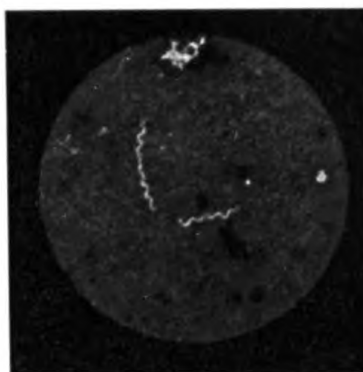


Fig. 9.



Fig. 8.

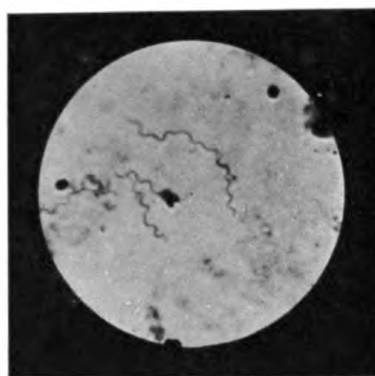


Fig. 10.



Fig. 12.

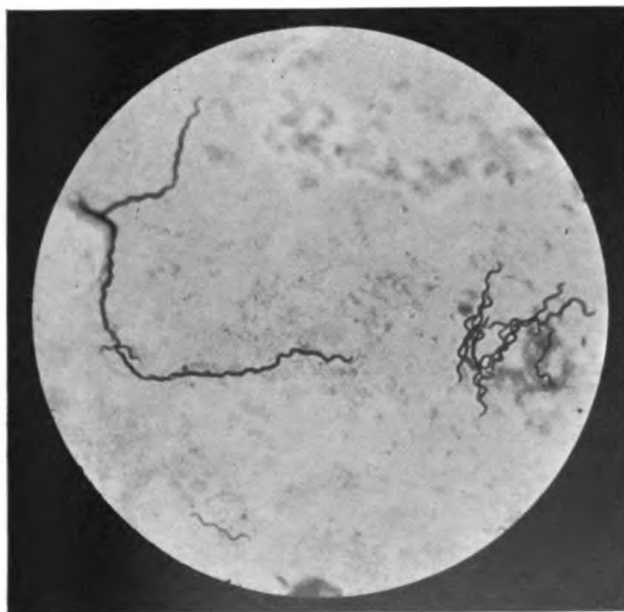


Fig. 11.

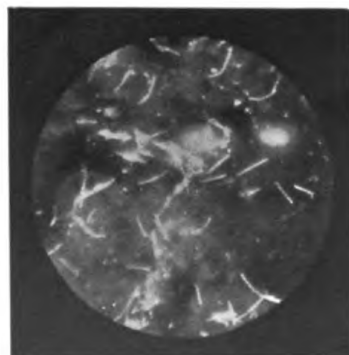
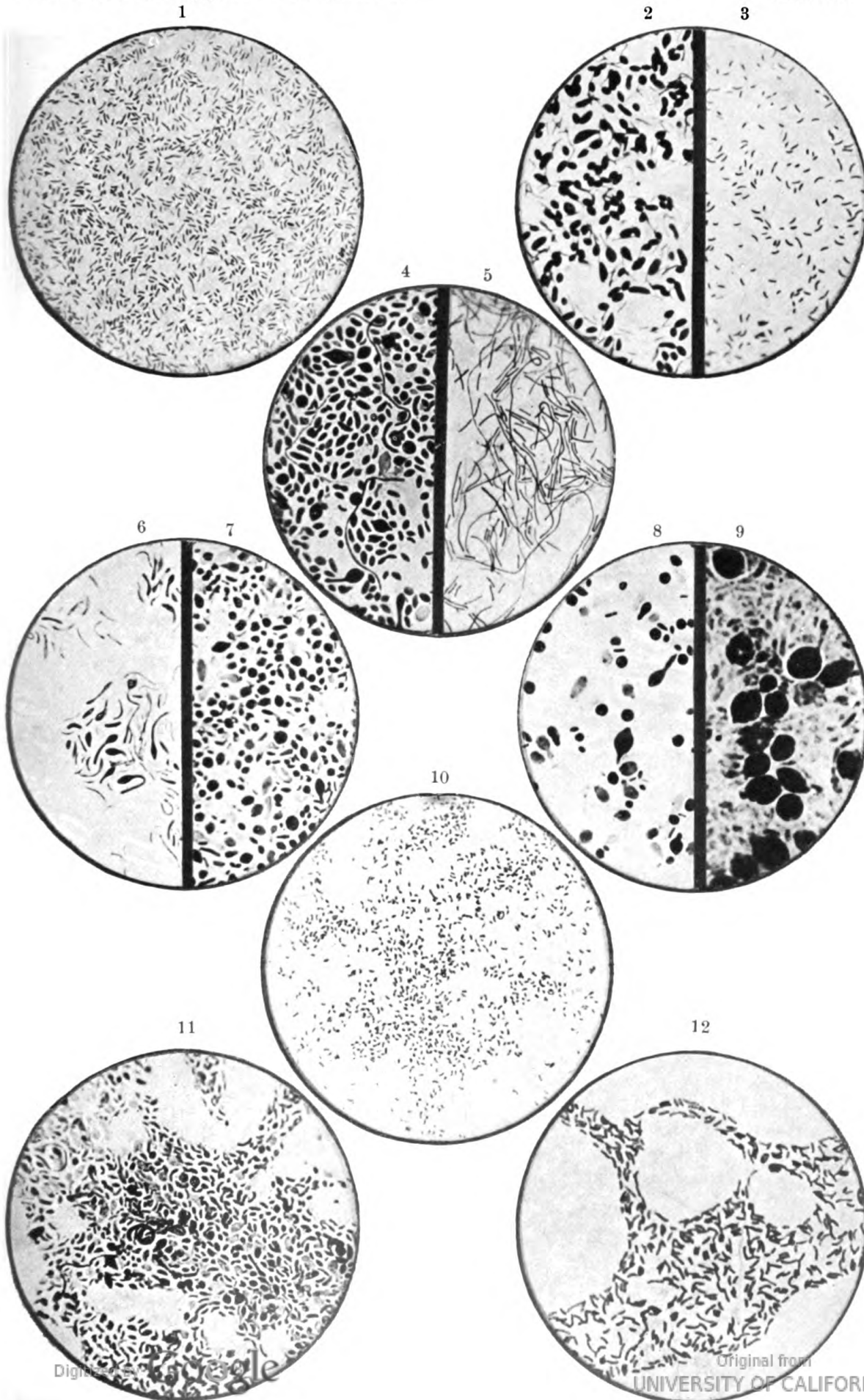
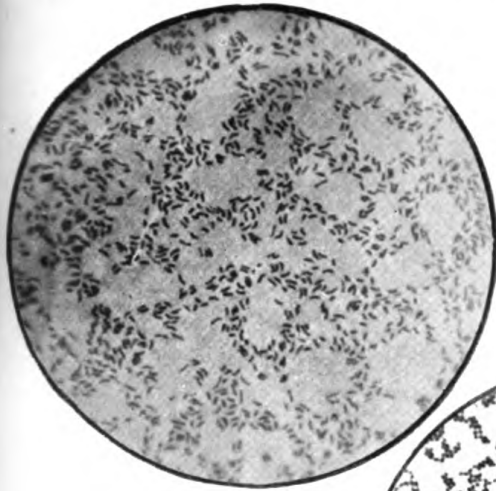


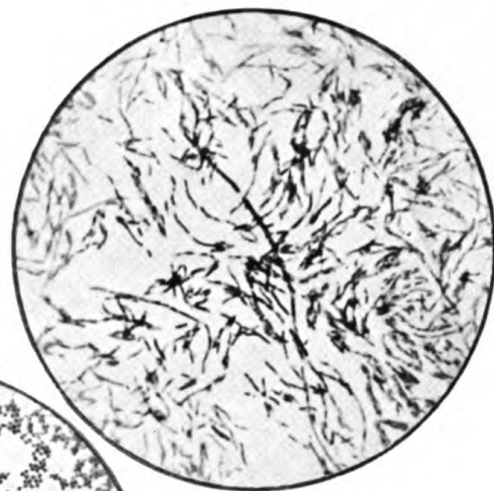
Fig. 13. original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA



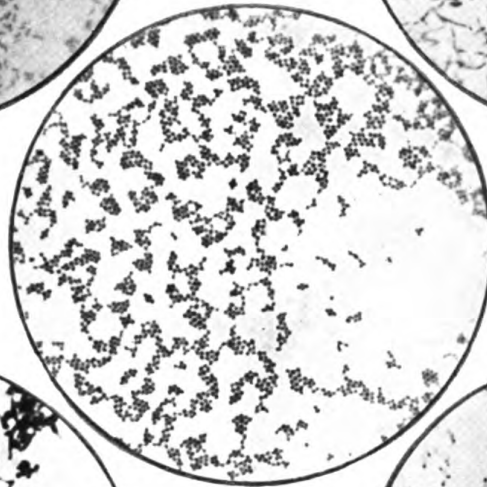
13



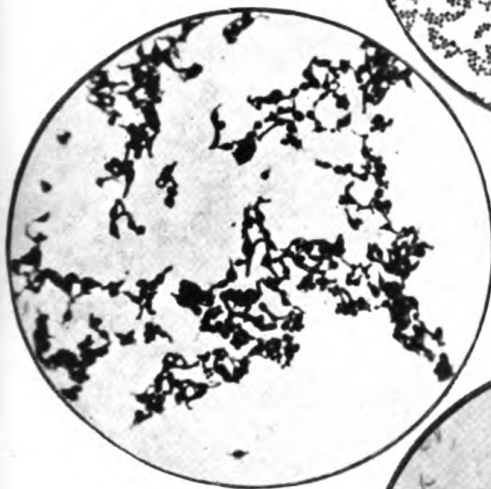
14



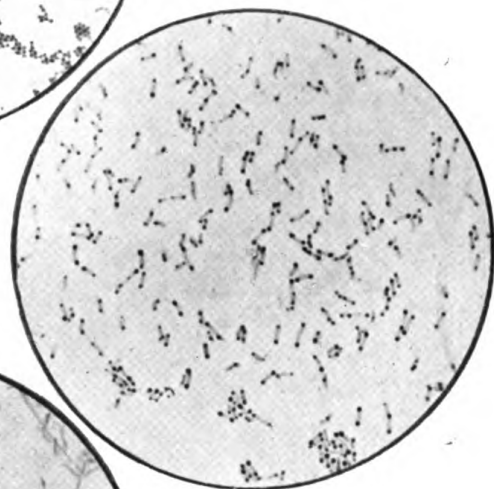
15



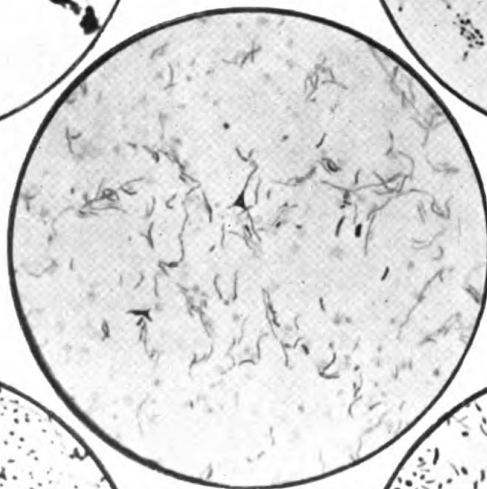
16



17



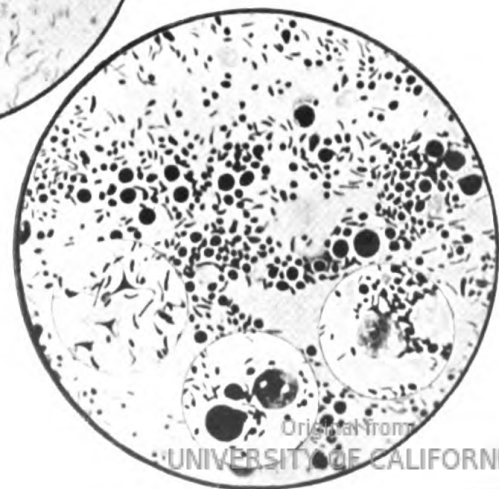
18



19



20



154891

Digitized by Google

ST



12074

