

# Zur Untersuchung von pathogenen Organismen.<sup>1)</sup>

Von

Dr. R. Koch,  
Regierungsrat.

Mit Tafel VI—XIX.

**Einleitung.** Von den Fortschritten in der Kenntnis der pathogenen Organismen hat die Hygiene bis jetzt verhältnismäßig noch wenig Nutzen ziehen können. Diese Erscheinung hat ihren Grund darin, daß die große Mehrzahl der Fragen, welche für die Hygiene bezüglich der pathogenen Mikroorganismen in Betracht kommen, sich nur an der Hand von sicheren Methoden zur Trennung der verschiedenen Arten dieser Organismen lösen lassen, denn es ist der Hygiene beispielsweise durchaus nicht allein darum zu tun, zu erfahren, ob in diesem oder jenem Boden oder Trinkwasser überhaupt Pilze, Bakterien und andere niedere Organismen vorhanden, sondern ob speziell unter denselben solche, welche Krankheiten bewirken können, enthalten sind. Und wenn es gelungen ist, das Vorhandensein eines notorisch schädlichen oder nur verdächtigen Organismus nachzuweisen, dann handelt es sich ferner darum, denselben getrennt von anderen, welche störend und verwirrend auf die Beobachtung einwirken müssen, in allen seinen Verhältnissen zu studieren, seine Lebensbedingungen, seine Entwicklungsgeschichte, alles, was ihm förderlich oder hinderlich ist, zu erforschen. Diese Kenntnisse sind aber nur mit Hilfe von fortlaufenden Kulturen der einzelnen Arten, von sogenannten Reinkulturen, zu gewinnen, für welche es bis jetzt keine, nach jeder Richtung hin anwendbaren und zuverlässigen Methoden gibt. Diese Lücke auszufüllen, habe ich mich vielfach bemüht und bin schließlich zu Resultaten gekommen, die gewiß noch vielfacher Verbesserung fähig und bedürftig sind, aber auch schon in ihrer jetzigen Gestalt sich bei den im Gesundheitsamte ausgeführten Untersuchungen über Infektionskrankheiten und Desinfektion durchaus bewährt haben. Teils um diese einer sehr vielseitigen Verwendung und Ausnutzung fähigen Verfahren weiteren Kreisen zugänglich zu machen, teils zum leichteren Verständnis der in diesen Blättern zu veröffentlichten, unter Anwendung dieser Methoden gemachten Arbeiten sollen dieselben im Nachstehenden beschrieben werden.

**Bezeichnung der Aufgabe.** Im allgemeinen wird die Erforschung der niederen Organismen für Zwecke der Gesundheitspflege folgende Punkte zu berücksichtigen haben. Vor allem ist festzustellen, ob die in Frage kommenden Organismen überhaupt pathogen sind, d. h. imstande sind, Krankheit zu bewirken. Darauf folgt der Nachweis ihrer Ansteckungsfähigkeit, d. h. Übertragbarkeit auf andere, bis dahin gesunde Individuen, und zwar entweder solche, die denselben Art angehören, wie das zuerst spontan von der Krankheit befallene resp. künstlich infizierte Individuum, oder auf solche, die anderen

<sup>1)</sup> Aus Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. I, 1881, Berlin.

Arten angehören. Ferner ist die Art und Weise, in welcher die pathogenen Organismen in den tierischen Körper gelangen, ihr Verhalten außerhalb desselben in der Luft, im Wasser, im Boden zu verfolgen und schließlich der Einfluß zu bestimmen, den entwicklungshemmende und zerstörende Stoffe auf dieselben ausüben. Ihr Aufenthalt im Körper interessiert die Hygiene nur soweit, als daraus Aufklärung über die Art der Infektion zu erlangen ist, z. B. Lokalisation der pathogenen Organismen im Darm, Übergang ins Blut, Bildung von Dauerzuständen innerhalb des Körpers. Häufig wird man in der Lage sein, solange nämlich die einer bestimmten Infektionskrankheit eigentümlichen Krankheitserreger, wie z. B. bei Cholera, Pest usw., noch nicht bekannt sind, oder wenn es sich im allgemeinen um das Erkennen der gesundheitsschädlichen Beschaffenheit von Luft, Wasser, Boden und um Beurteilung des Desinfektionswertes gewisser Substanzen handelt, überhaupt das Vorkommen und Verhalten der den pathogenen Organismen erfahrungsgemäß am nächsten stehenden Bakterien und Pilze ins Auge zu fassen und daraus mit mehr oder weniger Wahrscheinlichkeit auf das Verhalten der präsumierten, aber noch nicht bekannten Krankheitserreger zu schließen.

**Bestimmung der pathogenen Eigenschaften.** Wenden wir uns nun zu den einzelnen dieser Aufgaben, und zwar zunächst zur Feststellung der pathogenen Eigenschaften und der Ansteckungsfähigkeit der Mikroorganismen.

Von einigen Forschern wird immer noch behauptet, daß im Blute und in den Geweben des gesunden Körpers Bakterien vorkommen; doch stützt sich diese Behauptung nicht auf den direkten Nachweis durch das Mikroskop, sondern teilweise auf theoretische Voraussetzungen und teilweise auf Experimente über die Fäulnisfähigkeit von unter antiseptischen Kautelen isolierten gesunden Organteilen, gegen welche Experimente sich indessen sehr gewichtige Einwände, deren Besprechung hier zu weit führen würde, erheben lassen. Soviel steht fest, daß es mittels des Mikroskopes und mit Hilfe von Untersuchungsverfahren, die noch vereinzelte Bakterien mit Sicherheit in tierischen Organen erkennen lassen, bis jetzt nicht gelungen ist, dieselben im Blute und Geweben gesunder Individuen so nachzuweisen, daß kein Zweifel über ihr Vorhandensein daselbst auch während des Lebens Platz greifen kann.

Sobald also Bakterien, und dasselbe gilt ganz ebenso von anderen Mikroorganismen, im Innern der Organe, sei es in den Blut- oder Lymphgefäßen oder im Gewebe selbst, in Lageverhältnissen gefunden werden, die nur im lebenden Körper zustande kommen können, oder wenn gar der unverkennbare Einfluß der Mikroorganismen auf das von ihrer Invasion betroffene Gewebe, z. B. Nekrose der in einem gewissen Bereich gelegenen Zellen, Anhäufung von Rundzellen in der Nachbarschaft, Eindringen der fremden Organismen in die Zellen usw. zu konstatieren ist, dann müssen solche Mikroorganismen als pathogen angesehen werden, mindestens müssen sie verdächtig erscheinen und zur weiteren Untersuchung und Aufklärung des Befundes auffordern.

Schwieriger ist die Entscheidung über die pathogene Eigenschaft der an der Oberfläche des Körpers und auf seinen Schleimhäuten gefundenen Mikroorganismen. Hier können nur das massenhafte Auftreten und die Formunterschiede zwischen den vermutlich pathogenen und den als unschädlich bekannten, gewöhnlich im oder am Körper schmarotzenden Organismen maßgebend sein. Bis jetzt ist leider diesen harmlosen Schmarotzern zu wenig Aufmerksamkeit gewidmet; ein Mangel, der sich ganz besonders bezüglich der Darmaffektionen fühlbar macht und gegenüber allen Angaben über pathogene Bakterien im Darm solange eine gewisse Vorsicht gebietet, bis nicht jeder Zweifel ausgeschlossen ist, daß eine Verwechslung mit habituellen Bewohnern des Darms, die

unter außergewöhnlichen, aber für sie günstigen Verhältnissen sich vermehren und durch große Zahl bemerklich machen, vorliegt.

Gewiß ist aber auch die Zeit nicht fern, wo die im gesunden Körper schmarotzenden unschädlichen Mikroorganismen so bekannt sein werden, daß sie sofort als solche, wenn es auf die Unterscheidung von pathogenen Wesen ankommt, bestimmt und aus ihrer Zahl die neuauftretenden pathogenen Organismen mit Sicherheit ausgeschieden werden können.

**Nachweis der pathogenen Mikroorganismen.** Wenn es sich nun darum handelt, die im erkrankten Körper vermuteten pathogenen Organismen, zunächst Bakterien, aufzusuchen, so begegnet man bei der gewöhnlichen, ohne besondere Vorbereitungen und Kunstgriffe ausgeführten mikroskopischen Untersuchung den erheblichsten, stellenweise geradezu unübersteiglichen Hindernissen. Denn wenn auch manche pathogene Bakterien durch Größe, charakteristische Form, Beweglichkeit sich so auszeichnen, daß sie nicht leicht zu übersehen sind, so besitzen dagegen andere eine so einfache Form und sind so klein, daß sie, mit den ähnlich gestalteten Zerfallsprodukten der Gewebszellen vermengt, unmöglich von diesen unterschieden werden können. Glücklicherweise haben jedoch die Bakterien eine Eigenschaft, die es ermöglicht, alle diese Schwierigkeiten zu überwinden. Es ist das ihre in hohem Grade bestehende Fähigkeit, gewisse Farbstoffe, ganz besonders die Anilinfarben, aufzunehmen. Da aber die Flüssigkeiten, in denen sich die Bakterien befinden, also das Blut, Schleim, Gewebssäfte usw., wenn sie unmittelbar mit den Anilinfarben versetzt werden, Niederschläge geben, die ebenfalls gefärbt sind und entweder durch körnchen- oder fadenartige Gestaltung Bakterien vortäuschen oder durch ihre voluminösen Massen die vorhandenen Bakterien verdecken können, so bedarf es noch weiterer Vorbereitungen, um die Bakterien mittels der Farbstofflösungen gut sichtbar zu machen. Auch ist bei der Untersuchung der gefärbten Objekte mit dem Mikroskop eine ganz besondere Vorrichtung zur Beleuchtung des Präparates erforderlich, wenn der Vorteil der Färbungsmethode zur vollen Geltung gelangen soll.

Vor einigen Jahren habe ich die geeignetsten Methoden zum Nachweis der Bakterien, wenn sie in Flüssigkeiten oder in tierischen Geweben sich befinden, eingehend beschrieben und teils in einer in F. Cohns Beiträgen zur Biologie der Pflanzen, Band 2, Heft 3<sup>1)</sup>, erschienenen Arbeit, teils in einer Schrift über Wundinfektionskrankheiten<sup>2)</sup> veröffentlicht. Bezüglich der Einzelheiten dieser Methoden muß ich, um nicht zu ausführlich zu werden, auf die genannten Schriften verweisen; hier sollen nur die Punkte zur Sprache kommen, welche seit jener Zeit eine Verbesserung erfahren haben oder welche Mißverständnissen ausgesetzt gewesen sind und deswegen einer Richtigstellung bedürfen.

**Mikroorganismen in Flüssigkeiten.** Das Verfahren, die Bakterien in Flüssigkeiten, z. B. in Blut, Eiter, Gewebssaft durch Farbstoffe kenntlich zu machen, besteht darin, daß die betreffende Flüssigkeit in möglichst dünner Schicht auf dem Deckglas ausgebrettet, getrocknet und dann der Einwirkung der Farbstofflösungen ausgesetzt wird. Wenn die bakterienhaltigen Flüssigkeiten nicht oder nur sehr wenig eiweißhaltig sind, dann gelingt die Färbung fast immer in vortrefflicher Weise. Sobald sie aber mehr oder weniger eiweißhaltig sind, dann haftet noch ziemlich lange Zeit nach dem Eintrocknen die Schicht nicht so fest, daß sie nicht größtenteils von der Farbstofflösung aufgeweicht, zerrissen und selbst teilweise vom Deckglas heruntergespült wird. Auch das Eiweiß ist durch das Eintrocknen nicht unlöslich geworden, es geht größtenteils in die Farbstofflösung über und bildet mit dem Farbstoff Niederschläge, die sich am Deckglase fest anhängen, alles verdecken und unkenntlich machen. Dieser Übelstand läßt sich fast ganz vermeiden,

<sup>1)</sup> Diese Werke, p. 27.

<sup>2)</sup> Diese Werke, p. 61. D. Herausgeber.

wenn statt der bei der Färbung fast ausschließlich zur Anwendung kommenden wäßrigen Lösungen von Fuchsin, Methylviolett usw. das in Glyzerin gelöste Anilinbraun genommen wird. In der erwähnten Arbeit über Bakterienuntersuchung ist S. 407 das Glyzerinbraun angelegerlichst empfohlen und von den jenem Aufsatz beigegebenen Photogrammen sind alle, welche Bakterien im Blut oder Gewebsflüssigkeiten abbilden, nach Präparaten angefertigt, die im Glyzerinbraun liegen. Trotzdem ist von manchen immer wieder versucht, Blutpräparate in wäßrigen Lösungen zu färben, und unbegreiflicherweise hat man die unausbleiblichen Mißerfolge der Methode selbst zur Last gelegt. Noch in letzter Zeit ist von M. Wolff<sup>1)</sup> die Behauptung aufgestellt, daß mit dem von mir angegebenen Verfahren eine sichere Diagnose auf Bakterien nicht zu machen sei. Er mühte sich vergeblich ab, die „Körnchen und Kugeln“ in seinen mit wäßrigen Lösungen gefärbten Blutpräparaten loszuwerden<sup>2)</sup>. Daß übrigens auch mit der bisherigen Methode in geschickten Händen etwas geleistet werden kann, beweist außer manchen anderen nach derselben ausgeführten erfolgreichen Untersuchungen die Arbeit von O g s t o n; der in sehr zahlreichen Fällen in den aus menschlichen Körpern entnommenen Flüssigkeiten verschiedene Arten von Bakterien nachgewiesen hat und den seine dabei gewonnenen Erfahrungen zu folgendem Aussprache veranlassen: *It is impossible to confound them (microorganisms) with any such granular bodies as those alluded to by Wolff (The British Medical Journal 1881. March 12).*

Immerhin war es wünschenswert, die Bakterienfärbung in eiweißhaltigen Flüssigkeiten so zu verbessern, daß sie auch dem Ungeübten sichere Resultate gibt: Am einfachsten mußte dies Ziel dadurch erreicht werden, daß das in der am Deckglas haftenden Schicht vorhandene Eiweiß in eine unlösliche Form übergeführt wurde. Schon beim Aufbewahren der präparierten Deckgläser kann man bemerken, daß nach einigen Tagen, bisweilen erst nach Wochen die Schicht fester geworden ist, besser am Deckglas haftet und weniger Niederschlag beim Zusatz der Farbflüssigkeit gibt. Bessere Resultate und schnelleres Unlöslichwerden der angetrockneten Schicht lassen sich erzielen, wenn die Deckgläser in Lösungen gelegt werden, die koagulierend auf Albumin wirken, wie Lösungen von Chromsäure, chromsauren Salzen, Alaun, Tannin. Der günstige Einfluß, den der Alkohol auf die bakterienhaltigen Gewebe beim Erhärten bezüglich der in ihnen enthaltenen Eiweißkörper äußert, brachte mich schließlich darauf, die am Deckglas befindliche Eiweißschicht ebenfalls durch Alkohol zu härten, was denn auch den erwünschten Erfolg hatte. Wenn die Präparate einige Zeit in absolutem Alkohol gelegen hatten, war die Schicht ganz unlöslich geworden und färbte sich gleichmäßig und in ausgezeichneter Weise. Keine Körnchen und andere störende Niederschläge beeinträchtigten die Diagnose der im Blute, Eiter usw. vorhandenen Mikrokokken oder anderer Bakterienarten. Eins nur ist bei dieser Härtung durch Alkohol unsicher, das ist die Be-

<sup>1)</sup> Virchows Archiv für pathologische Anatomie, Bd. LXXXI, Heft 2 u. 3.

<sup>2)</sup> Bei der Beurteilung meiner Untersuchungsmethode begeht Wolff noch den Irrtum, daß er aus der Schrift über Wundinfektionskrankheiten einige Sätze anführt, die sich auf in Alkohol gehärtete Gewebe und die in Schnitten von solchen Alkoholpräparaten aufzusuchenden Bakterien beziehen, während Wolff selbst nur immer mit der Eintrocknungsmethode, und zwar mit der für seine Zwecke am wenigsten geeigneten Art derselben gearbeitet hat. Wenn Wolff beide von mir ausführlich beschriebene Verfahren sich angeeignet hätte, dann hätte er sehr bald erkennen müssen, daß die Färbung der am Deckglas eingetrockneten Blutschicht einen ganz wesentlich anderen Effekt hat, als die nach der Weigertschen Kernfärbungsmethode ausgeführte Färbung von Gewebschnitten und daß schon deswegen aus einem Mißerfolg bei Anwendung des einen Verfahrens nicht auf Untauglichkeit des anderen geschlossen werden kann. Es bedarf hiernach wohl kaum der Erklärung, daß ich die von Wolff angegriffenen Sätze über die Möglichkeit einer sicheren Diagnose von Bakterien in Gewebschnitten in ihrem vollen Umfange aufrecht erhalte.

stimmung der Zeit, während welcher die Präparate im Alkohol verbleiben müssen. Bisweilen sind einige Tage genügend, manchmal ist aber auch erst nach mehreren Wochen der erforderliche Grad von Unlöslichkeit der Eiweißschicht erreicht. Es ist deswegen geraten, eine hinreichende Zahl von Deckgläsern zu präparieren und von Zeit zu Zeit eins aus dem Alkohol herauszunehmen und die Färbung zu versuchen.

Sehr oft ist es nun aber bei Untersuchungen von Infektionskrankheiten erwünscht, sofort über das Vorhandensein von Bakterien in den Organen des tierischen Körpers orientiert zu sein, um beispielsweise gleich bei der Sektion den Erfolg einer Impfung und die etwa vorzunehmende Weiterimpfung oder ähnliche Verhältnisse beurteilen zu können. In solchen Fällen würde man natürlich nicht auf das Gelingen der Alkoholhärtung warten können. Es war notwendig, wenn die Methode in jeder Beziehung leistungsfähig sein sollte, auch hierfür Rat zu schaffen.

Als die Untersuchungen von E h r l i c h<sup>1)</sup> bekannt wurden, mußten die ausgezeichneten Resultate, welche er an erhitzten Blutpräparaten zur Unterscheidung der verschiedenen granulierten Blutzellen erhalten hatte, dazu auffordern, auch den Einfluß der Hitze auf Bakterienpräparate zu studieren. E h r l i c h setzt die mit der angetrockneten Blutschicht versehenen Deckgläser ein bis mehrere Stunden lang hohen Temperaturen (120°—130°) aus. Durch eine so intensive Einwirkung von Hitze wird die Blutschicht vollkommen fest und unlöslich, aber die Bakterien verlieren, wie die angestellten Versuche ergaben, dadurch ihr Vermögen, Farbstoff aufzunehmen. Für unseren Zweck war es jedoch schon ausreichend, die Hitze nur solange wirken zu lassen, daß die Eiweißkörper unlöslich werden, und das läßt sich in weit kürzerer Zeit erreichen. Wenn die Deckgläser nämlich nur wenige Minuten lang einer Temperatur von 120°—130° ausgesetzt werden, dann ist die Schicht schon so fest, daß sie mit den Farblösungen keine Niederschläge mehr gibt und sich sehr gut färben läßt. Ganz genau läßt sich die Dauer der erforderlichen Hitzewirkung nicht angeben. Bisweilen ist das Präparat schon nach 2 Minuten, bisweilen auch erst nach 5—10 Minuten genügend erhitzt. Wohl zu beachten ist noch, daß manche Bakterien, z. B. die Milzbrandbazillen, wenn sie zuerst erhitzt und dann gefärbt werden, etwas verändert erscheinen; sie sehen dünner und zierlicher aus, als wenn sie mit Glyzerinbraun gefärbt sind, auch zeigen sie die den Milzbrandbazillen ganz eigentümliche Gliederung nicht so deutlich. Ich will bei dieser Gelegenheit nicht unterlassen, überhaupt darauf aufmerksam zu machen, daß geringe Unterschiede, ähnlich den eben besprochenen, also hauptsächlich im Breitendurchmesser der Bakterien zu bemerken sind, wenn die Präparate in verschiedener Weise hergestellt oder mit verschiedenen Farbstoffen gefärbt sind. Zu Vergleichen untereinander können deswegen nur nach einem vollständig gleichartigen Verfahren hergestellte Präparate benutzt werden. Wenn man beispielsweise die charakteristische Gliederung der Milzbrandbazillen, die eine untrügliche Diagnose derselben gewährt, am deutlichsten zur Anschauung bringen will, dann ist es, wie schon vorher erwähnt wurde, am zweckmäßigsten, die Färbung mit Glyzerinbraun vorzunehmen. Mehr oder weniger tritt diese besondere Form der Milzbrandbazillen auch bei anderen Färbungen hervor, aber doch nicht sicher genug, um daraufhin eine Diagnose derselben stellen zu können, und wenn dann bei einer anderen Präparationsmethode jenes Kennzeichen der Milzbrandbazillen nicht deutlich genug in die Augen fällt, dann ist man gewiß noch nicht berechtigt, zu behaupten, wie Z ü r n<sup>2)</sup> es getan hat, daß von einem Gegliedertsein der Bazillen keine Rede sein könne.

<sup>1)</sup> Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin, 1878/79, Nr. 20. — Zeitschrift für klinische Medizin, Bd. I, Heft 3.

<sup>2)</sup> Separatabdruck aus dem I. Bericht des neuen landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig 1881. — Z ü r n bezieht sich zum Beweise seiner Behauptung auf einige Photogramme von

Trotz der erwähnten Mängel ist das Erhitzungsverfahren eine wesentliche Bereicherung der Untersuchungsmethoden auf Bakterien. Bei den Arbeiten über Infektionskrankheiten im Gesundheitsamte kommt es unausgesetzt zur Anwendung und ist geradezu unentbehrlich geworden. Bei jeder Sektion eines Tieres, das einer Infektionskrankheit erlegen ist, wird sofort Blut, Gewebssaft von der Impfstelle, aus der Lunge, Milz und, wenn erforderlich, auch aus anderen Organen in der geschilderten Weise untersucht und je nach dem Befunde, welcher natürlich nur einen vorläufigen Charakter hat und durch sorgfältige nachträgliche Untersuchung der in Alkohol gehärteten Organe ergänzt wird, richtet sich der weitere Gang des Experimentes.

Was nun die Wahl der Farbstoffe betrifft, so verdanken wir auch hier E h r l i c h<sup>1)</sup> die Einführung einer neuen, sehr zu empfehlenden Anilinfarbe, des Methylenblaus, welches sich ganz besonders zur Färbung von erhitzten Präparaten eignet. In schwierigen und in zweifelhaften Fällen ist es allerdings ratsam, auch andere Anilinfarben zu versuchen, da manche Bakterien sich in bezug auf ihr Färbungsvermögen ganz eigentümlich verhalten, worauf ich noch später zurückzukommen habe. Wo es irgend angeht, sollte man einige Präparate mit braunen Farbstoffen färben, um die so dringend notwendige photographische Abbildung der Bakterien zu ermöglichen. Dem Auge gefallen freilich die außerordentlich kräftigen und gesättigten Töne der roten und blauen Anilinfarben weit mehr als die meistens etwas matt ausfallenden braunen Färbungen. Aber es ist bis jetzt nicht gelungen, von blau oder rot gefärbten, in Kanadabalsam eingelegten Bakterien gute Photographeien zu erhalten<sup>2)</sup>), während die braun oder gelb gefärbten der photographischen Aufnahme nicht die geringsten Schwierigkeiten bereiten.

Präparate, deren Schicht durch Alkoholbehandlung oder Hitze in der angegebenen Weise unlöslich gemacht und mit passend gewählter Farbstofflösung gefärbt wurde, müssen frei von körnigen Niederschlägen, Farbstoffpartikelchen und dergleichen sein; sie enthalten nur noch die in der Flüssigkeit, welche auf dem Deckglas ausgebreitet wurde, ursprünglich vorhandenen geformten Elemente, und wenn die Färbung nicht zu schwach oder zu stark ausgefallen ist, dürfen nur diese letzteren gefärbt erscheinen, während der Trockenrückstand der Flüssigkeit oder das eingetrocknete Plasma kaum durch einen geringen Farbenschimmer angedeutet ist. Zu Verwechslungen mit Mikroorganismen können demnach allein noch die Zellen und deren Produkte, seien es auf natürlichem oder künstlichem Wege entstandene, Veranlassung geben.

Was die eben erwähnten Kunstprodukte betrifft, so wird jeder, der einige Untersuchungen von Blut, Eiter, Gewebssaft usw. gemacht hat, sich bald überzeugen, daß je dünnflüssiger die untersuchte Flüssigkeit ist, um so weniger die Form der in ihr enthaltenen Zellen beim Ausbreiten auf dem Deckglase verändert wird. Im Blut beispielsweise behalten die weißen Blutkörperchen mit wenigen Ausnahmen ihre runde Form

---

Milzbrandbazillen, die er seiner Abhandlung beigegeben hat. Aber diese Photogramme genügen auch nicht den allerbescheidensten Ansprüchen, die an mikrophotographische Leistungen zu stellen sind, und wenn die Präparate, nach denen sie angefertigt wurden, nicht besser sein sollten, dann ist es allerdings erklärlich, wie Z ü r n zu seiner abweichenden Meinung gekommen ist.

<sup>1)</sup> Zeitschrift für klinische Medizin, Bd. 2, p. 710.

<sup>2)</sup> Wenn rot oder blau gefärbte Präparate, die in einer Lösung von essigsaurem Kali oder einer anderen, nicht stark lichtbrechenden Lösung sich befinden, photographiert werden, dann kommt das auf dem Negativ entstehende Bild nicht durch die Wirkung der blauen oder roten Anilinfarbe, für welche bei durchfallendem Lichte die Kollodiumschicht gar nicht empfindlich ist, zustande, sondern das Bild wird durch den Unterschied im Brechungsvermögen der Bakteriensubstanz und der Einschlußflüssigkeit bedingt. Das so erhaltene Bild ist also kein reines Farbenbild, wie wir es an in Kanadabalsam befindlichen Bakterien zu sehen gewöhnt sind, und kann auch mit diesen letzteren Bildern nicht unmittelbar verglichen werden.

bei und erscheinen also nach dem Trocknen als Kreise, in denen der vielgestaltige, oft bandartige Kern liegt. Wenn aber die Flüssigkeit dick und zähe ist, was ganz besonders von dem Gewebssaft der Organe, z. B. der Milz oder Lunge gilt, dann gelingt es meistens nicht, dieselbe zu einer dünnen Schicht auszubreiten, ohne daß die zelligen Elemente mehr oder weniger verzerrt, selbst ganz zerrissen und zersprengt werden. Es entstehen dann kometenartige Figuren, an denen der Rest des Zellenkerns den Kopf und die ausgestrichene, oft lang hingezogene übrige Kernsubstanz den Schwanz bildet. Die Deutung dieser oft ganz phantastisch geformten Gebilde ergibt sich ganz von selbst. Wenige nebeneinanderliegende Gesichtsfelder zeigen alle Übergangsformen von den fadenartigen Figuren, die an den Rändern der ausgestrichenen Masse liegen, wo sie am dünnsten war und die aussprechende Nadel die Zellen am stärksten quetschte und zerdrückte, bis zu den unveränderten, d. h. unbeschädigten Zellkernen an den dickeren Stellen des Präparates. Man sollte also meinen, daß diese verzerrten Zellkerne, die auf den ersten Blick sich als solche zu erkennen geben, mit Mikroorganismen nicht verwechselt werden könnten, und doch ist dies der Fall gewesen.

F o k k e r<sup>1)</sup> glaubte nämlich bei seinen Untersuchungen über Milzbrand gefunden zu haben, daß es zwei Arten dieser Krankheit gibt. Bei der einen finden sich die bekannten Bazillen, bei der anderen fehlen sie gänzlich oder sind doch nur vereinzelt vorhanden. Dagegen fand er lange Fäden, die, wie er sagt, mit Lymphzellen verbunden waren und Ähnlichkeit mit Spermatozoen hatten, indem die Lymphzelle den Kopf, der Faden den Schwanz bildete. F o k k e r hält diese Gebilde, die er als Pilzfäden (Pilzdränen) bezeichnet, für richtige durch die Impfung übertragene Pilze, die von den Lymphzellen aufgenommen, innerhalb derselben auswachsen, diese Zellen in die Länge ziehen und an einem Ende durchbohren. Schließlich fand F o k k e r dieselben Gebilde in der normalen Milz. Aber auch das belehrte ihn noch nicht über die wahre Natur seiner vermeintlichen Pilzfäden, sondern er tröstet sich damit, daß Pilze zu den gewöhnlichen Körperbestandteilen gehören. Eine Abbildung, die er einer seiner Publikationen beigegeben hat, läßt es außer allem Zweifel, daß F o k k e r s Pilzfäden ausgestrichene Zellkerne sind.

Eher zu entschuldigen würde noch die Verwechslung von Mikrokokken mit den Körnchen der granulierten Zellen, insbesondere der von E h r l i c h so genannten Mastzellen, sein. Die Körnchen von manchen dieser Zellen scheinen in einem sehr losen Zusammenhange zu stehen; die Zellen zerfallen beim Ausstreichen auf dem Deckglas leicht, ihre Körnchen werden zerstreut und können dem Weniggeübten das Bild von einzelnen und in Gruppen geordneten Mikrokokken vortäuschen. Ganz besonders große und regelmäßig entwickelte derartige Zellen kommen im Blut und namentlich in der Milz und Lunge von weißen Ratten, weniger häufig bei weißen Mäusen vor und ich erinnere mich, Präparate aus diesen Organen gesehen zu haben, in denen die intensiv gefärbten Körnchen der zerdrückten Zellen in solcher Menge über weite Strecken ausgestreut waren, daß dieser Anblick einem enragierten Mikrokokkensucher unzweifelhaft einen Freudenruf entlockt haben würde. Aber die Präparate stammten von gesunden Tieren, und bei genauerem Durchmustern derselben fanden sich noch manche unzerstörte Zellen, in denen die Körnchen einen schwach gefärbten Kern umlagerten und sich dadurch als Bestandteile von granulierten Zellen zu erkennen gaben. Fast immer sind diese Körnchen überdies durch ihre ungleiche Größe, oft auch durch den eigentümlichen Farbenton, den sie annehmen, von Mikrokokken zu unterscheiden. Aber auf jeden Fall ist derartigen Befunden gegenüber Vorsicht geboten und, wenn Zweifel bleiben, der Vergleich mit den ent-

<sup>1)</sup> Zentralblatt für die medizinischen Wissenschaften, 1880, Nr. 44, 1881, Nr. 2. — Weekblad van het Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde, 1881, Nr. 4.

sprechenden, von normalen Tieren entnommenen Objekten, sowie mit Schnitten von gehärteten Teilen, welche die verdächtigen Körnchenhaufen im Zusammenhange und an ihrer natürlichen Lagerstätte zeigen, anzustellen. Mir ist es bislang noch nicht vorgekommen, daß es nicht möglich gewesen wäre, eine sichere Entscheidung zwischen Mikrokokken einerseits und den Bestandteilen der granulierten Zellen andererseits zu treffen.

Um sich aber die erforderliche Erfahrung auf diesem Gebiete zu verschaffen, ist jedem, der sich mit experimentellen Untersuchungen über Infektionskrankheiten beschäftigt, dringend zu raten, sich mit den Resultaten der E h r l i c h schen Arbeiten über die granulierten Zellen bekannt zu machen.

Auch noch aus einem anderen, die Infektionskrankheiten angehenden Grunde möchte ich das E h r l i c h sche Untersuchungsverfahren für wichtig halten. E h r l i c h hat den Beweis geliefert, daß unter den zelligen Elementen des Blutes, die man im großen und ganzen für gleichwertig hält, mit Hilfe von Farbstoffen, was ebensoviel sagen will als mit Hilfe chemischer Reaktionen, Unterschiede festzustellen sind, die zu der Vermutung führen müssen, daß diese Unterschiede mit der Abstammung und der physiologischen Bedeutung der Zellen in Beziehung stehen. Was soll nun aber die differenzierende Färbung der Blutzellen mit den Infektionskrankheiten zu tun haben? Einfach das, daß bei einer oder mehreren Gruppen von Infektionskrankheiten die Krankheitserreger möglicherweise in einer den weißen Blutkörperchen ähnlichen, z. B. amöbenartigen Form vorkommen könnten und daß es in diesem Falle von größtem Wert sein würde, sichere Unterscheidungsmerkmale zu besitzen, wie sie das E h r l i c h sche Färbungsverfahren unzweifelhaft darbietet. Es ist gewiß eine einseitige, wenn auch augenblicklich allgemein adoptierte Meinung, daß alle noch unbekannten Infektionsstoffe Bakterien sein müssen. Warum sollen nicht ebensogut auch andere Mikroorganismen ein parasitisches Leben im tierischen Körper zu führen imstande sein? Daß dies gerade nur amöbenartige Wesen wären, will ich nicht behaupten. Es sind auch andere dem Reiche der Protisten Angehörige verdächtig<sup>1)</sup>. Der Gedanke, daß amöbenartige Gebilde eine Rolle als Parasiten spielen könnten, wird nur deswegen so nahe gelegt, weil

---

<sup>1)</sup> Ihre Bestätigung hat diese Vermutung schneller gefunden, als ich erwarten konnte. v. W i t t i c h (Zentralblatt für die medizinischen Wissenschaften, 1881, Nr. 4) berichtete vor kurzem, daß er im Blute von Hamstern Spirillen gefunden habe. Dies veranlaßte mich, gleichfalls das Blut von Hamstern daraufhin zu untersuchen. Von den Tieren, die zu diesem Zwecke angeschafft waren, starb eins spontan am zweiten Tage der Gefangenschaft; es hatte aber auch an diesen beiden Tagen die Symptome eines schweren Erkranktseins gezeigt und war nicht, wie die von W i t t i c h untersuchten Tiere, bis unmittelbar vor dem Tode anscheinend gesund. Bei der Sektion fanden sich in den inneren Organen keine Veränderungen, die als Todesursache hätten gedeutet werden können. Dagegen fanden sich im Blute sehr zahlreiche Gebilde, welche in ihren Bewegungen durchaus nicht den Spirillen oder Spirochaeten glichen, sondern mit schlangenartigen Windungen sich zwischen den Blutkörperchen lebhaft und schnell bewegten. In einem im hohlen Objektträger gehaltenen Bluttropfen lagerten sich einige dieser Parasiten an den Rand und blieben daselbst längere Zeit in vollkommener Ruhe, so daß ihre Gestalt mit Sicherheit erkannt werden konnte. Sie besitzen einen spindelförmigen Leib mit feinkörnigem Inhalt. Im vorderen Teil dieser spindelförmigen Verdickung liegen meistens ein bis zwei dunklere Körnchen, nach hinten zu geht die Spindel allmählich in einen langen Faden über, der, wie mir schien, bei manchen Exemplaren in einer Doppelgeißel endet. Mit Spirillen und Spirochaeten haben diese Parasiten offenbar gar nichts gemein; nach meiner Ansicht gehören dieselben in die Klasse der Geißelmonaden und sind höchstwahrscheinlich identisch mit den von L e w i s (Quart. Journ. of microsc. Sc. XIX, 1879) beschriebenen *flagellated organisms* im Rattenblut. Die Färbung mit Bismarckbraun gelingt ziemlich gut und es finden sich, um sich eine Vorstellung von der Form und Größe dieser monadenartigen Gebilde zu verschaffen, unter den dieser Arbeit beigegebenen Photogrammen zwei nach solchen Präparaten angefertigte Bilder. (Tab. XIX, Fig. 79, 80). Später sind noch vier Hamster spontan erkrankt und gestorben. Auch im Blute dieser Tiere befanden sich jedesmal zahlreiche Geißelmonaden.

ein ganz frappantes Beispiel aus der Pflanzenwelt vorliegt. Es betrifft dasselbe eine eigentümliche Krankheit der Kohlpflanze, welche lange Zeit den Botanikern ein Rätsel blieb, bis W o r o n i n<sup>1)</sup> die Lösung fand. Er wies nach, daß ein wahrscheinlich zu den einfachsten Formen der Myxomyzeten gehöriger Organismus in Gestalt eines farblosen, feinkörnigen Plasmatröpfchens in die Wurzel der Kohlpflanze eindringt. In einer Parenchymzelle der Wurzel angelangt, vermischt sich der von W o r o n i n als *Plasmodiophora brassicae* bezeichnete Parasit mit dem Plasma der Zelle und ist anfangs von dem Zelleninhalt gar nicht zu unterscheiden. Erst später macht sich seine Gegenwart durch charakteristische Veränderungen der Zelle bemerklich. (Vgl. Taf. XIX, Fig. 83, 84.) Der weitere höchst interessante Entwicklungsgang der Plasmodiophora interessiert uns hier weiter nicht, um so mehr aber die erste Zeit seines Aufenthaltes in der infizierten Wurzel. Denn, gesetzt den Fall, daß sich in ähnlicher Weise farblose, äußerst kleine Plasmaklümmpchen in die Säftemasse des tierischen Körpers einen Weg bahnten und sich daselbst vermehrten, würde es da wohl viel anders gehen, als in der Wurzel der Kohlpflanze, wo es nicht möglich ist, den Parasiten vom Plasma der Zelle zu differenzieren? Gewiß würde man im Blute solche Plasmaklümmpchen für Bruchstücke oder Zerfallsprodukte weißer Blutkörperchen halten, wenn es nicht gelingen würde, mit feineren Färbungsmethoden eine Unterscheidung zu bewerkstelligen. In W o r o n i n rief das Studium der Plasmodiophora schon ähnliche Betrachtungen hervor. Er vermutet, „daß die Erscheinung und Entwicklung vieler pathologischer Auswüchse und Anschwellungen, die auf dem tierischen Körper vorkommen, durch kleine Myxamöben, die in den lebendigen Organismus eindringen, sich zu Plasmodien entwickeln, eine bedeutende Reizung bedingen usw., zustande kommt“.

Auch E i d a m<sup>2)</sup>, welcher die Angaben W o r o n i n s bestätigt, spricht sich gleichfalls in diesem Sinne aus und hält es für möglich, daß bei manchen ihrer Ätiologie nach noch unaufgeklärten Infektionskrankheiten, bei denen man nach Bakterien vergeblich gesucht hat, Parasiten auftreten könnten, die zunächst sich von den Gewebelementen des Körpers nicht unterscheiden ließen und demgemäß der Plasmodiophora ähnlich verhalten würden.

Das Beispiel der Plasmodiophora wurde etwas ausführlicher besprochen, weil es recht dringend mahnt, beim Aufsuchen von belebten Krankheitserregern nicht allein, wie es jetzt durchgängig geschieht, Jagd auf Bakterien zu machen, sondern die Aufmerksamkeit auch auf andere geformte Elemente des Blutes oder des infizierten Organs zu richten.

**Mikroorganismen in tierischen Geweben.** An die im Vorhergehenden geschilderte Untersuchung von Flüssigkeiten schließt sich unmittelbar diejenige der tierischen Organe selbst an, welche über die Lagerung und Verteilung der pathogenen Organismen in den Geweben, ihre Beziehungen zu den benachbarten Zellen usw. Auskunft geben soll.

Es handelt sich hierbei meistens um Objekte von den geringsten Dimensionen, die nur in sehr dünnen Schnitten des zu untersuchenden Gewebes zu erkennen sind, und man wird sich deswegen mit dem größten Vorteil zur Herstellung der Schnitte des Mikrotoms bedienen. In betreff der weiteren Behandlung der Schnitte mit den Farbstofflösungen, das Entwässern, Aufhellen und Einlegen derselben in Kanadabalsam, sowie des Nutzens und Gebrauches des A b b é schen Beleuchtungsapparates muß ich auf

<sup>1)</sup> Pringsheims Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, 11. Bd., 1878.

<sup>2)</sup> Der Landwirt. Allgemeine landwirtschaftliche Zeitung, 1880, Nr. 97.

die ausführliche Darstellung verweisen, die ich in meiner Schrift über Wundinfektionskrankheiten gegeben habe<sup>1)</sup>). Derselben habe ich nur wenig hinzuzufügen.

Zunächst möchte ich auch hier wieder daran erinnern, daß die Untersuchung sich nicht ausschließlich auf Bakterien zu richten hat, sondern auch andere möglicherweise vorkommende Mikroorganismen im Auge haben soll. Es ist das schon bei der Vorbereitung, insbesondere bei der Härtung der Gewebsstücke, zu berücksichtigen. Bis jetzt hat sich die Alkoholhärtung durchweg als das geeignete Härtungsverfahren für Bakterienpräparate erwiesen; ob sie das aber auch für alle Mikroparasiten ist, das scheint doch mindestens zweifelhaft, und es ist gewiß ratsam, in manchen Fällen auch andere Mittel zur Härtung, z. B. Chromsäure, Osmiumsäure, in Anwendung zu ziehen.

Dann scheint mir noch eine Erfahrung erwähnenswert zu sein, die sich mir bei den Versuchen, die pathogenen Bakterien mit verschiedenen, namentlich mit den so gleich zu besprechenden braunen Farbstoffen zu tingieren, ergeben hat. Es ist das nämlich das oft ganz verschiedene Verhalten der einzelnen Bakterienarten gegen gewisse Farbstoffe. Es schien anfangs so, als ob alle Bakterienarten in diesem Punkte sich gleich verhielten, aber das ist nicht der Fall; so wie sich die Bakterienarten durch viele andere besondere Eigenschaften voneinander unterscheiden, so auch durch das ihnen zukommende Färbungsvermögen. Um gleich eins der auffallendsten Beispiele dieser Art anzuführen, so färben sich die Rekurrensspirochaeten in der am Deckglas angetrockneten Blutschicht intensiv mit Fuchsin, Methylviolett, Gentiana usw., während es nicht möglich ist, sie mit denselben Farbstoffen in Schnitten unter Anwendung der Kernfärbung zu tingieren. Nach meinen Versuchen gelingt es dagegen mit braunen Anilinfarben, leider auch nicht sehr kräftig, so daß das Aufsuchen der Spirochaeten in Schnittpräparaten nicht zu den leichtesten Aufgaben gehört. Da es von den meisten überhaupt für unmöglich gehalten wurde, die Spirochaeten in gehärteten Objekten nachzuweisen, so füge ich zum Beweise für ihre Färbbarkeit zwei Photogramme hier bei, die Schnitte aus dem Gehirne eines mit Rekurrens geimpften und auf der Höhe der Krankheit getöteten Affen abbilden (Taf. IX, Fig. 23, 24).

Fast in entgegengesetzter Weise verhalten sich die Leprabazillen. Dieselben sind am Deckglas nur ganz frisch zu färben; schon kurze Zeit nach dem Eintrocknen nehmen sie den Farbstoff nicht mehr an. In Alkohol gehärtet lassen sie sich dagegen durch lange Zeit, mindestens einige Jahre, ausgezeichnet mit Fuchsin, Gentianaviolett usw., sehr schlecht aber mit Anilinbraun färben.

Die Mikrokokken färben sich fast sämtlich gleichmäßig intensiv mit blauen, roten und braunen Anilinfarben. Aber bei den Bazillen machen sich wieder Unterschiede geltend. Manche nehmen sämtliche Anilinfarben kräftig an, andere, z. B. die von Eberth zuerst beschriebenen kurzen Typhusbazillen in geringerem Maße, wenn auch nicht so schwach, als es nach Eberths Schilderung scheinen könnte. (Vgl. Taf. XIV, Fig. 49—53.)

<sup>1)</sup> Nachdem diese Zeilen schon längere Zeit niedergeschrieben waren, kam mir der Aufsatz von Weigert „Zur Technik der mikroskopischen Bakterienuntersuchungen“ (Virchows Archiv, Bd. 84, Heft 2) zur Kenntnis. Weigert nimmt für sich, und zwar mit Recht, das Verdienst in Anspruch, zuerst die Kernfärbungen auf Bakterienuntersuchungen angewendet zu haben. Ich habe es bei meiner ersten Veröffentlichung bestimmt ausgesprochen und wiederhole es hier, daß ich die Kenntnis von der Anwendung der Kernfärbung zum Nachweis von Bakterien in gehärteten Gewebsschnitten Weigert verdanke, und daß nur die zum sicheren Erkennen der gefärbten Bakterien im Gewebe erforderliche Verwendung des Abbé'schen Beleuchtungsapparates von mir eingeführt ist. Im übrigen freut es mich, konstatieren zu können, daß Weigert auf Grund seiner reichen Erfahrungen in bezug auf das Vorkommen von Bakterien, die mit unseren jetzigen Färbemitteln möglicherweise nicht sichtbar zu machen sind, zu ähnlichen Anschauungen gekommen ist, wie ich sie weiter unten entwickelt habe.

Diese Unterschiede im Färbungsvermögen der Bakterien verdienen insofern Beachtung, als sie teils Beweismaterial für die Verschiedenheit der Bakterienarten in chemischer Beziehung liefern, teils aber auch zur vorsichtigen Beurteilung negativer Befunde auffordern, da es nach den vorliegenden Erfahrungen nicht unmöglich scheint, daß die eine oder die andere Bakterienart die jetzt gewöhnlich zur Anwendung kommenden Farbstoffe nicht annimmt.

Ein kleiner Kunstgriff beim Färben mag bei dieser Gelegenheit noch erwähnt werden, da er unter Umständen recht hilfreich sein kann. Es läßt sich nämlich durch ein mäßiges Erwärmen der Farbstofflösung die Zeit, innerhalb welcher die Färbung zu stande kommt, erheblich abkürzen und zugleich eine stärkere Färbung erzielen. Es scheint sogar, als ob einzelne pathogene Bakterien nur auf diesem Wege hinreichend kräftig zu färben sind. Höher als ungefähr 40—50° C darf man indessen beim Erwärmen nicht gehen, weil sonst bindegewebsreiche Schnitte einzuschrumpfen anfangen.

**Photographische Abbildungen von Mikroorganismen.** Von der höchsten Bedeutung für die Erforschung der Mikroorganismen ist die photographische Abbildung derselben. Wenn irgendwo eine rein objektive, von jedem Voreingenommensein freie Auffassung notwendig ist, so ist es auf diesem Gebiete. Aber gerade das Gegenteil hat bisher stattgefunden und es gibt wohl nirgendswo zahlreichere subjektiv gefärbte Anschauungen und infolgedessen mehr Meinungsverschiedenheiten, als in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen. Niemand wird bestreiten, daß die Verschiedenheit in der Auffassung der Verhältnisse eines und desselben Gegenstandes fast immer darin beruht, daß dieser Gegenstand dem ersten Forscher unter einem anderen Bilde erschien als dem zweiten. Man erinnere sich nur, daß durchweg mikroskopische Gegenstände in Frage stehen und daß beim Mikroskopieren nicht zwei Beobachter zu gleicher Zeit dasselbe Objekt ins Auge fassen und sich darüber verständigen können, sondern daß der eine nach dem anderen den fraglichen Gegenstand zu Gesicht bekommt und, wie jeder Mikroskopiker weiß, schon die geringste Verschiebung der Mikrometerschraube zur Folge hat, daß so kleine Objekte, wie Bakterien, entweder ganz aus dem Gesichtsfelde verschwinden oder mit ganz anderen Umrissen und Schatten erscheinen. Immerhin ist die Verständigung über den gesehenen Gegenstand noch eher ermöglicht, wenn die Beobachtung desselben mit einem und demselben Instrument, also mit der gleichen Beleuchtung, mit demselben Linsensystem und bei derselben Vergrößerung stattfindet. Wenn nun aber die vielen Bedingungen, unter welchen das mikroskopische Bild zustande kommt, verschieden sind, wenn z. B. der eine Beobachter mit einer engen, der andere mit einer weiten Beleuchtungsblende, der eine mit schwachem, der andere mit starkem Okular usw. seine Untersuchung vornimmt, oder wenn gar schon die Präparation und Färbung des Objektes ungleich sind, wenn dasselbe ferner in Flüssigkeiten von verschiedenem Brechungsvermögen eingelegt ist, wie kann es da wundernehmen, wenn der eine Mikroskopiker behauptet, einen Gegenstand ganz anders, vielleicht dicker oder dünner, mehr oder weniger glänzend, gesehen zu haben, oder wenn er ihn möglicherweise überhaupt nicht findet und deswegen sein Vorhandensein bestreitet? Und wie soll in solchen Fällen der Beobachtungsfehler, mag er nun auf der einen oder auf der anderen Seite liegen, unter den vielen vorher angedeuteten Möglichkeiten nachgewiesen werden? Lag es an der Präparation oder an der Handhabung des Mikroskops, daß die Beobachter über dasselbe Objekt zu verschiedenen Resultaten kamen? Das zu entscheiden wird ohne anderweitige Hilfsmittel fast nie gelingen; ein jeder der Streitenden bleibt natürlich bei seiner Meinung, und die medizinische Wissenschaft weiß nicht, wem sie Glauben schenken soll. Für diese Mißstände, die sich in der Mikroskopie zum größten Schaden der Wissenschaft schon un-

endlich oft geltend gemacht haben, gibt es nur ein Hilfsmittel, das ist die Photographie, die hier vermittelnd, ausgleichend und belehrend zugleich einzutreten hat. Das photographische Bild eines mikroskopischen Gegenstandes ist unter Umständen wichtiger als dieser selbst. Denn wenn ich jemandem ein mikroskopisches Präparat in die Hand gebe in der Absicht, daß ganz bestimmte Teile desselben, z. B. bakterienführende Lymphgefäß in Augenschein genommen werden sollen, so habe ich nicht die Sicherheit, daß nun auch wirklich die richtige Stelle gefunden und, wenn dies der Fall sein sollte, die richtige Einstellung, Beleuchtung usw. gewählt wird. Die Photographie dagegen gibt ein für allemal und ohne daß auch nur die geringste Täuschung möglich wäre, das mikroskopische Bild genau in der Einstellung, Vergrößerung und Beleuchtung wieder, in der es bei der Aufnahme sich befand. Nichts ist einfacher, als sich über das, was ein Photogramm darstellt, zu verstündigen, denn beliebig viele Beobachter können zu gleicher Zeit das bisher nur einem einzelnen zugängliche Bild in Augenschein nehmen, man kann das Objekt, auf welches es ankommt, mit dem Finger bezeichnen, mit dem Zirkel messen, mit anderen danebengelegten Photogrammen desselben oder anderer Objekte unmittelbar vergleichen, kurz alles vornehmen, was zur Verständigung über den streitigen Gegenstand dienen kann.

Ein anderer vielleicht noch höher zu veranschlagender Nutzen der Photographie liegt in der strengen Kontrolle, zu welcher sie den Mikroskopiker seinen eigenen Beobachtungen gegenüber zwingt. Zeichnungen mikroskopischer Gegenstände sind fast niemals naturgetreu, sie sind immer schöner als das Original, mit schärferen Linien, kräftigeren Schatten als dieses versehen, und was macht nicht manchmal gerade eine schärfere Linie oder ein dunklerer Schatten an geeigneter Stelle aus, um dem Bilde eine ganz andere Bedeutung zu geben. Auf die Auswahl des Präparates kommt es ebenfalls bei der Zeichnung nicht an; denn auch von einem schlechten und selbst von einem nicht beweiskräftigen Präparaten läßt sich eine korrekte und scheinbar beweisende Zeichnung herstellen. Das ist nun selbstverständlich bei der photographischen Abbildung nicht möglich. Hier wird ja der Schatten des Präparates selbst als Bild festgehalten und der mikroskopische Gegenstand zeichnet sich selbst; dabei ist es auch nicht im geringsten möglich, einen verbessernden Einfluß auf die einzelnen Teile des Bildes auszuüben. Es bleibt also nichts übrig, als solche Präparate herzustellen, die nicht allein den eigenen Ansprüchen genügen, sondern auch allseitiger Kritik in bezug auf ihre Beweiskraft Stand zu halten vermögen. Wer Zeichnungen von seinen mikroskopischen Untersuchungsobjekten veröffentlicht, der hat mit der Kritik kaum zu rechnen, denn die Zeichnung wird unwillkürlich schon im Sinne der subjektiven Anschauung des Autors angefertigt. Wer aber ein Photogramm veröffentlicht, der begibt sich damit jedes subjektiven Einflusses auf die Abbildung seines Präparates, er legt gewissermaßen das Untersuchungsobjekt selbst seinem Publikum vor und läßt letzteres unmittelbar an seiner Beobachtung teilnehmen. Dieses Bewußtsein, das Untersuchungsobjekt im photographischen Bild vervielfältigt der wissenschaftlichen Welt zur Kritik offen preisgeben zu müssen, zwingt den Mikroskopiker, sich über die Richtigkeit seiner Beobachtung wiederholt Rechenschaft zu geben und das Resultat seiner Untersuchung nicht eher an die Öffentlichkeit zu bringen, als bis er seiner Sache ganz gewiß ist. Eine allgemeine Anwendung der Photographie bei mikroskopischen Arbeiten würde eine große Zahl unreifer Publikationen gewiß verhütet haben.

Von welchem Werte die Photographie gerade für Untersuchungen auf dem Gebiete der Infektionskrankheiten ist, mögen einige wenige Beispiele erläutern.

Lewis<sup>1)</sup> hat sich sehr eingehend mit dem Studium der Bakterien beschäftigt

---

<sup>1)</sup> *The microscopic organisms found in the blood of man and animals.* Kalkutta 1879.

und unter anderem auch die Rekurrensspirochaeten gelegentlich der in Indien herrschenden Rekurrensepidemie untersucht. Er kam dabei zu dem Resultat, daß die in Indien gefundenen Rekurrensspirochaeten dicker seien als die europäischen, die er nach meinen Photogrammen in Cohns Beiträgen beurteilte. Lewis ist als ein gewissenhafter Beobachter bekannt und seine Angaben verdienen volle Berücksichtigung. Die Wissenschaft hätte sich also in Zukunft mit diesen beiden verschiedenen Rekurrensspirochaeten, den indischen und den europäischen, zu schleppen gehabt und würde auch mit der Möglichkeit zu rechnen gehabt haben, die von Lewis angedeutet wird, daß nämlich wegen dieser Verschiedenheit der Spirochaeten die durch sie bedingte Krankheit auch eine verschiedene sei. Glücklicherweise hat nun aber Lewis gleichzeitig Photogramme seiner indischen Spirochaeten veröffentlicht und da klärt sich die angebliche Differenz sofort auf. Man sieht auf den Photographien von Lewis die Blutkörperchen sowohl als die Spirochaeten von den Linien der Interferenzsäume umgeben, ein untrügliches Kennzeichen, daß eine im Verhältnis zur Stärke des Lichtes zu kleine Beleuchtungsöffnung bei der Untersuchung und vermutlich auch bei der maßgebenden Beobachtung gebraucht ist. Ein jeder Mikroskopiker weiß, daß je enger die Beleuchtungsblende ist, um so dunkler und breiter die Konturen der Gegenstände erscheinen, und daß, wenn das Licht zu gleicher Zeit sehr intensiv ist, z. B. wie es wahrscheinlich bei Lewis der Fall gewesen ist, Sonnenlicht gebraucht wird, sofort die dunklen und breiten Ränder des Gegenstandes von den durch Interferenz entstehenden Farbensäumen umgeben werden. Weiter ist aber auch jedem mit den neueren Untersuchungsmethoden vertrauten Mikroskopiker bekannt, daß man gefärbte Bakterien nicht mit engen Blenden, sondern im Gegenteil mit möglichst weiten beleuchtet, unter Umständen die Blende ganz wegläßt und diffuses Licht anwendet, um die Farbenwirkung vollständig auszunutzen und ganz scharfe, reine Umrisse zu sehen. So sind auch meine Photogramme unter Anwendung diffuser Beleuchtung gemacht und man wird nicht die geringste Spur von Interferenzlinien auf denselben bemerken. Lewis hat also auf meinen Photogrammen den wahren Durchmesser der Spirochaeten, auf seinen zugleich noch den breiten Interferenzsaum mitgemessen. Hätte er nur eine Zeichnung veröffentlicht, auf der bekanntlich Interferenzlinien nicht wiedergegeben werden, dann wäre der Irrtum vielleicht niemals aufgeklärt<sup>1)</sup>.

Auch in einem anderen Punkte ist mir erst durch die Photographie Klarheit entstanden. Wenn ich in den Publikationen von Letzreich Beschreibungen von Plasmazellen, Plasmakugeln, ausschwärmenden Mikrokokken usw. fand, so konnte ich mir beim besten Willen keine Vorstellung davon machen, was Letzreich eigentlich damit gemeint und was er gesehen hatte, bis die photographischen Abbildungen zu seiner Arbeit über morphologische Unterschiede von Schistomyzeten erschienen<sup>2)</sup>. Ein Blick auf diese Photographien lehrt sofort, daß die Plasmazellen und Kugeln ganz gewöhnliche heranwachsende Mikrokokkenkolonien sind, die sich in Hausenblasengallerte befinden, also längere Zeit in einer geschlossenen Masse bleiben, als wenn sie in einer Flüssigkeit wären. Schließlich verflüssigt sich die Gallerte und der Mikrokokkenhaufen fällt auseinander (schwärmt).

Über die Zürnschen Photographien<sup>3)</sup> hatte ich schon früher Gelegenheit mich zu äußern. Sie leiden fast an allen Fehlern, welche bei Mikrophotographien vorkommen

<sup>1)</sup> Zum Überfluß will ich noch bemerken, daß ich Gelegenheit hatte, auch echte indische Rekurrensspirochaeten, die ich von Dr. Carter aus Bombay erhalten habe, nach meiner Weise zu photographieren (Taf. IX, Fig. 21), und da zeigen sie sich in der Tat als völlig identisch mit den europäischen. (Vgl. auch diese Werke, p. 108. Dort ist der Autorname fälschlich von F. Cohn „Lewes“ geschrieben. D. Herausgeber.)

<sup>2)</sup> Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 12, Heft 5.

<sup>3)</sup> I. c.

können, denn sie entbehren jeder Schärfe, sind größtenteils gar nicht einmal richtig eingestellt, haben sehr ausgeprägte Interferenzlinien und, was am meisten zu rügen ist, sie sind zum Teil retouchiert. Dennoch sind mir diese unvollkommenen Photographien immer noch unendlich mehr wert, als die schönste Zeichnung. Zürns Photographien lehren auf den ersten Blick, was von seinen Angaben über Milzbrand, milzbrandartige Krankheiten und die dabei vorkommenden Bazillen zu halten ist. Trotzdem Zürn behauptet, daß die Milzbrandbazillen keine charakteristische Form hätten, so sind selbst an den verschwommenen Bildern der Milzbrandbazillen auf Zürns Photographien sofort und ganz unverkennbar die wirklichen Milzbrandbazillen von anderen Bazillen zu unterscheiden. Wer sich der Mühe unterziehen will, meine Photogramme (siehe Taf. III, Fig. 21 u. 22 dieses Bandes) mit den Zürnschen zu vergleichen, der wird sofort in der Zürnschen Fig. 4 auf Taf. II die Milzbrandbazillen und in Zürns Fig. 2 und 4 der Taf. I, welche angeblich gleichfalls Milzbrandbazillen sein sollen, die auf meinen Photogrammen Nr. 22 abgebildeten Fäulnisbazillen erkennen. Bei der Beschreibung dieses letzteren Photogramms habe ich schon damals auf die Gefahr einer Verwechslung dieser einander ähnlichen, aber doch, wie man hier wieder sieht, mit Sicherheit voneinander zu unterscheidenden Bazillen aufmerksam gemacht. Daß jene Warnung gerechtfertigt war, beweist der Zürnsche Fall; ich kann sie deshalb nur wiederholen und außerdem bezüglich weiterer Details über diesen Gegenstand auf die nachfolgenden Arbeiten über Milzbrand und Septicämie\*) verweisen.

Wie notwendig die Photographie zur Illustration von Publikationen über Infektionskrankheiten ist, sei noch an einem Beispiel erläutert.

Semmer<sup>1)</sup> hat die Wissenschaft durch zahlreiche Mitteilungen über pathogene Bakterien, die er bei Hundswut, Staupe, Septicämie, Rinderpest, Rotz, Typhus gefunden haben will, bereichert. Was soll nun aber von Semmers Angaben halten, wenn man die Abbildungen seiner pathogenen Bakterien, die zu der zitierten Abhandlung gehören, betrachtet. Ich will durchaus nicht behaupten, daß Semmer überhaupt keine Bakterien vor sich gehabt hat, obgleich seine Figuren ebensogut alles andere als Bakterien vorstellen können, aber was das für Bakterien gewesen und ob dieselben wirklich als pathogene zu beanspruchen sind, das scheint mir doch mindestens zweifelhaft, namentlich wenn man die Bakterien der Hundswut mit denen der Wut beim Rinde, und die Milzbrandbakterien, welche fast wie Zahnspirochaeten aussehen, mit den Staupe- und Typhusbakterien vergleicht.

Nach dem Gesagten und im Hinblick auf das, was ich über die Untersuchungen von Fokker und die Abbildungen Semmers mitteilte, denen ich noch manch ähnliches befügen könnte, wird es mir gewiß niemand verargen, wenn ich mich gegen jede Bakterienzeichnung, die ich nicht am Präparat auf ihre Richtigkeit prüfen kann, im höchsten Grade skeptisch verhalte, und ich kann nicht dringend genug an alle, die auf diesem Gebiete arbeiten, die Aufforderung richten, ihre Entdeckungen mit photographischen Abbildungen als Beweisstücken zu belegen. Damit soll nicht gesagt sein, daß die Photographie jede Zeichnung verdrängen solle, das kann und wird sie niemals, und die Zeichnung wird in vielen Fällen unersetztlich sein. Aber wo die Photographie anwendbar ist, und das ist sie, wie die Erfahrung gelehrt hat, für Mikroorganismen fast ausnahmslos, da muß sie im Interesse der Sache zur vollen Geltung gebracht werden.

Wer sich auf das allerdings schon etwas schwierigere Photographieren von Schnittpräparaten nicht einlassen will oder kann, der möge einfache Deckglaspräparate von den

<sup>1)</sup> Virchows Archiv, Bd. 70, p. 371.

\*) R. Koch, Zur Ätiologie des Milzbrandes, diese Werke, p. 174. — Gaffky, Experimentell erzeugte Septicämie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und akkommodative Züchtung. Mitteil. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Berlin 1881, Bd. I. — Loeffler, Zur Immunitätsfrage, ebendaselbst.

ihm beschäftigenden Mikroorganismen herstellen, wie sie aus dem Blute ebensogut wie aus dem Gewebssafte eines jeden beliebigen Organs leicht zu gewinnen sind, und selbst photographieren oder photographieren lassen. Dabei ist jedoch nie aus dem Auge zu lassen, daß die Photographie den Gegenstand so wiedergeben soll, wie er bei der gewöhnlichen Art und Weise des Mikroskopierens erscheint. Es muß also die Beleuchtung genau derjenigen entsprechen, die auch sonst für die vorteilhafteste zum Beobachten des fraglichen Objektes erkannt ist. Wenn die Zeichnung auf Diatomazeenschalen im direkten Sonnenlicht und bei schiefer Beleuchtung am besten zu sehen ist, dann wird sie auch unter denselben Beleuchtungsverhältnissen am besten zu photographieren sein. Gefärbte Bakterien untersucht aber niemand in direktem Sonnenlichte, also soll man sie auch nicht in solchem photographieren.

Um von gefärbten Objekten gute Photographien zu erhalten, müssen vor allem drei Bedingungen erfüllt werden. Das Präparat muß in den Teilen, welche auf dem Bilde besonders hervortreten sollen, z. B. Bakterien, Zellenkernen, möglichst intensiv mit einer solchen Farbe imprägniert sein, die das blaue Licht nicht durchläßt und auf die lichtempfindliche Schicht also ebenso wie eine alles Licht absorbierende schwarze Farbe wirkt, und das sind vorwiegend gelbe und braune Farben. Die richtige Auswahl der Farben läßt sich sofort beurteilen, wenn das gefärbte Präparat in monochromatischem blauen Lichte, z. B. in solchem Lichte, welches eine Lösung von Kupferammoniak passierte, betrachtet wird, dann müssen die Zellenkerne, Bakterien usw. mehr oder weniger kräftig schwarz auf blauem Grunde erscheinen.

Starke Vergrößerungen können nur mit Hilfe von Sonnenlicht erzielt werden, doch ist aus den mehrfach auseinandergesetzten Gründen das unmittelbar auf das zu photographierende Objekt projizierte Sonnenlicht für unsere Zwecke nicht vorteilhaft und es muß deswegen durch eine oder mehrere matte Scheiben zerstreut werden.

Das dritte Erfordernis ist eine derartige Konstruktion des Kondensors oder Beleuchtungsapparates, daß das zerstreute Sonnenlicht in einem möglichst breiten Lichtkegel das Objekt von allen Richtungen her hell beleuchtet und das Strukturbild nicht zur Geltung kommen läßt. Im Grunde genommen sind dies dieselben Bedingungen, welche zur Erzielung des optisch am besten erscheinenden Bildes angewendet werden, und nur wer für die Photographie nicht das geringste Verständnis hat, kann darin etwa besondere Kunstgriffe argwöhnen, mit Hilfe deren sich mehr photographieren ließe, als in Wirklichkeit vorhanden ist. Aber auch bei der weiteren Behandlung der Negative und der Herstellung der Abdrücke vergesse man nie, daß das photographische Bild nicht allein eine Illustration, sondern in erster Linie ein Beweisstück, gewissermaßen ein Dokument sein soll, an dessen Glaubwürdigkeit auch nicht der geringste Zweifel haften darf. Also würde jede und sei es auch die unbedeutendste Retouche des Negativs oder des Abdruckes demselben seinen ganzen Wert rauben. Es ist das eigentlich so selbstverständlich, daß man kaum ein Wort darüber verlieren sollte. Aber weil dennoch retouchierte Mikrophotographien veröffentlicht wurden, so war es notwendig, diesen Punkt zur Sprache zu bringen und ein für allemal gegen die Verwertung retouchierter Negative auf das energischste zu protestieren.

Die hohe Bedeutung, welche die Mikrophotographie in meinen Augen hat, veranlaßte mich, dieselbe möglichst für meine Untersuchungen nutzbar zu machen, und nachdem es gelungen war, die am Deckglas angetrockneten Bakterien zu photographieren, auch die noch in den Geweben lagernden Bakterien, also in Schnittpräparaten, ebenso abzubilden. Da es nicht ganz leicht ist, eine gute braune Kern- und Bakterienfärbung zu erzielen, so ging mein Bestreben anfangs dahin, mittels Trockenplatten und eingeschalteter entsprechend farbiger Gläser blau und rot gefärbte Präparate zu photo-

graphieren. Doch mußte dieses Vorhaben nach vielen vergeblichen Versuchen aufgegeben und das andere an den Deckglaspräparaten schon bewährte Verfahren, die Objekte braun zu färben, aufgenommen werden. In manchen Fällen gibt dasselbe ausgezeichnete Resultate, in anderen wieder läßt es der Blau- oder Rotfärbung gegenüber noch viel zu wünschen übrig und bedarf noch der Verbesserung. Um aber eine Anschauung von dem zu geben, was sich auf diesem Gebiete vorläufig leisten läßt, werde ich im Anschlusse an diese Arbeit aus meiner Sammlung von Negativen eine Anzahl von Beispielen veröffentlichen, die nicht allein als Photogramme, sondern zugleich auch durch den Gegenstand, den sie darstellen, das Interesse zu beanspruchen geeignet sein dürften.

**Übertragbarkeit der pathogenen Mikroorganismen.** Durch die bisher besprochenen Verfahren wird überhaupt das Vorhandensein der Mikroorganismen im tierischen Körper nachgewiesen, und wenn die Untersuchung ergeben hat, daß die Parasiten in großer Menge vorhanden sind oder daß sie Reizzustände, Nekrose usw. der betroffenen Gewebe veranlaßt haben, dann wird dadurch ihre pathogene Eigenschaft festgestellt. In zweiter Linie interessiert uns nun aber die Frage, ob die als pathogen erkannten Mikroorganismen auch infektiös, von einem Körper auf den anderen übertragbar sind. Die beiden Begriffe pathogen und infektiös dürfen nicht miteinander verwechselt werden. Man kann sich recht gut Organismen vorstellen, welche imstande sind, in den tierischen Körper einzuwandern und denselben krank zu machen, also pathogen sind, aber nicht die Fähigkeit besitzen, unmittelbar von einem Körper auf einen anderen überzugehen und diesen ebenfalls krank zu machen, zu infizieren. Vorausgesetzt, daß Intermittens eine Bakterienkrankheit ist, was allerdings noch weiterer Beweise bedarf, dann würde sie ein vortreffliches Beispiel für die Existenz eines pathogenen, aber nicht infektiösen Mikroorganismus abgeben. Die Eigenschaften pathogen und infektiös decken sich also nicht, und wenn ein Parasit als pathogen erkannt ist, dann muß außerdem noch experimentell bestimmt werden, ob er zugleich übertragbar ist oder nicht. Das hierzu dienende Verfahren wird sich, wenn es sich den Erfolg sichern will, möglichst an die in der Natur vorkommenden Verhältnisse anschließen müssen, eine Regel, die in den ersten Zeiten der experimentellen Bearbeitung der Infektionskrankheiten und vielfach auch noch heutzutage außer acht gelassen wurde. In der primitivsten Weise hat man versucht, Krankheiten, die bisher nur beim Menschen beobachtet sind, auf Hunde, Katzen, Kaninchen und Meerschweinchen zu übertragen und ähnliches. Allmählich hat indessen die Erfahrung gelehrt, daß es durchaus nicht gleichgültig ist, welche Tierspezies zu den Infektionsversuchen gewählt wird und daß überdies die Art und Weise der Übertragung vom größten Einfluß auf das Gelingen des Experimentes ist. Alle diese Verhältnisse eingehend zu behandeln, würde hier zuweit führen, und es können nur die wesentlichsten Gesichtspunkte kurz hervorgehoben werden, um die Grundsätze zu kennzeichnen, nach denen bei unseren Arbeiten verfahren wurde.

Was die Wahl der Versuchstiere betrifft, so ist es zweckmäßig, zunächst Tiere derselben Art zu nehmen, wie die, von denen das Infektionsmaterial herstammt. Nur wenn sich dies nicht ausführen läßt, sind verwandte Arten zu gebrauchen. Handelt es sich um menschliche Infektionskrankheiten, dann ist gleichfalls auf die dem Menschen nächststehenden Tiere, die Affen, zu greifen, wie das schlagende Beispiel von Rekurrens lehrt, der sich bislang auf keine andere Tierspezies als auf Affen, auf diese aber mit Leichtigkeit und Sicherheit, übertragen läßt. Bei der Übertragung des Infektionsstoffes auf Individuen der gleichen oder verwandten Arten darf das Experiment aber nicht stehen bleiben: es ist im weiteren die Reaktion möglichst vieler verschiedener Tierarten gegen den Infektionsstoff zu prüfen. Man wird dabei ganz eigentümlichen, für das Studium der

betreffenden Infektionskrankheit wichtigen Abweichungen in der Wirkungsweise der parasitären Organismen begegnen. Es gibt Tierarten, die in der promptesten Weise und ausnahmslos auf den ihnen beigebrachten Ansteckungsstoff reagieren; andere wieder verhalten sich mehr oder weniger immun dagegen. Auch in bezug auf die Verbreitung im Tierkörper finden sich Verschiedenheiten; denn dieselben Bakterien, die bei einer Tierspezies sofort eine tödliche Allgemeinkrankheit bewirken, können bei einer anderen eine lokal beschränkte, nicht tödliche Affektion hervorrufen. Höchst lehrreiche Beobachtungen lassen sich bei solchen Versuchen anstellen über die außerordentliche Empfindlichkeit der pathogenen Bakterien gegen den Nährboden, auf dem sie zu gedeihen vermögen, oder den sie verschmähen. Innerhalb derselben Tierklasse, z. B. bei den Nagetieren, gelingt die Infektion bei einigen, bei anderen wieder nicht. Bei einer früheren Gelegenheit konnte ich auf ein sehr auffallendes Beispiel dieser Art hinweisen, auf das leichte Gelingen der Infektion der Hausmäuse mit den kleinen Bazillen der Mäusesepticämie, während es nicht möglich war, eine Feldmaus durch denselben Parasiten zu töten<sup>1)</sup>. Das klingt ganz paradox, und dennoch ist diese Tatsache durch vielfache Experimente festgestellt und später durch zahlreiche ähnliche Beobachtungen auf andere Fälle ausgedehnt. Um nur einige herauszugreifen, so sind Mäuse so empfindlich für Milzbrandinfektion, daß sie als ein ganz sicheres Reagens auf die Wirksamkeit der Milzbrandbazillen gebraucht werden können. Ratten dagegen sind gegen Milzbrand mehr oder weniger immun. Die Septicämie der Kaninchen tötet Kaninchen und Mäuse mit absoluter Sicherheit, Meerschweinchen und Ratten läßt sie unberührt, läßt sich aber noch auf Sperlinge und Tauben sehr leicht übertragen. Sehr merkwürdig ist in dieser Beziehung auch das verschiedene Verhalten von Tieren derselben Gattung, aber von verschiedenem Alter, was ganz besonders bei den Milzbrandinfektionen schon mehrfach beobachtet und von verschiedenen Autoren erwähnt ist. Sehr junge Hunde sind anscheinend ziemlich leicht mit Milzbrand zu infizieren, alte fast gar nicht. Ähnlich verhalten sich die Ratten zum Milzbrand. Dasselbe kehrt bei der Mäusesepticämie wieder, welche, auf ganz junge Kaninchen verimpft, eine Allgemeininfektion bewirkt, ganz wie bei Mäusen, und die Tiere tötet, bei älteren Tieren nur eine Lokalaffektion hervorzubringen vermag. Eine eingehendere Besprechung dieser höchst interessanten Verhältnisse wird in den hierauf bezüglichen Arbeiten gegeben werden. An dieser Stelle wollte ich sie nur erwähnen, um zu zeigen, wie wichtig eine richtige Auswahl der Versuchstiere ist. Vornehmlich gilt das von den augenblicklich so sehr in den Vordergrund gedrängten Immunitätsversuchen, und es braucht nach dem Vorhergesagten wohl nur einer Andeutung, welche Irrtümer entstehen können, wenn bei solchen Versuchen junge und alte Tiere untereinander gemischt ohne weiteres Bedenken Infektionsversuchen unterworfen werden, gegen welche die älteren Tiere möglicherweise an sich schon immun waren.

Die besondere Vorliebe der pathogenen Bakterien für bestimmte Tierspezies erinnert an das ähnliche Verhalten der Parasiten überhaupt, die oft in der eigensinnigsten Weise sich auf eine einzige Art von Pflanzen oder Tieren als ihren Wirt beschränken. Für die höher organisierten Parasiten sind dies so bekannte Tatsachen, daß sie fast als selbstverständlich hingenommen werden. Deswegen wird auch niemandem einfallen, beispielsweise mit Bandwürmern in Wasser Züchtungsversuche anzustellen, weil Verwandte der Bandwürmer im Wasser leben. Ist es denn aber nicht fast dasselbe Unternehmen, wie Bandwurmzucht im Wasser, wenn, wie man noch tagtäglich zu hören und zu lesen bekommt, Züchtungsversuche mit den empfindlichsten Mikroparasiten ganz stereotyp in Cohnscher oder Pasteurscher Nährlösung gemacht werden? Nicht genug ist

<sup>1)</sup> Diese Werke, p. 86. D. Herausgeber.

allen, welche Kulturversuche mit pathogenen Organismen anstellen wollen, die Berücksichtigung dieser Verhältnisse anzuraten.

Eine nicht geringere Beachtung verdient die Art und Weise, in welcher die Übertragung des Infektionsstoffes ausgeführt wird.

Das am meisten geübte Verfahren ist die Impfung. Wir sind gewöhnt, unter Impfung eine sehr kleine, oberflächliche Verletzung der Oberhaut mit nachfolgender Applikation des Impfstoffes zu verstehen, und es ist dementsprechend schon keine eigentliche Impfung mehr, wenn die Verletzung die Oberhaut durchdringt und sich in das subkutane Gewebe erstreckt. In der Neuzeit scheint man aber den Begriff Impfung nicht mehr so eng zu begrenzen, man nennt jetzt alles mögliche Impfung, und besonders stark sind die französischen Experimentatoren darin, unter dem Ausdruck Vakzination die verschiedensten Arten der subkutanen, intravenösen und anderer Methoden der Übertragung zu subsummieren. Eine solche Begriffserweiterung würde nichts auf sich haben, wenn sie nicht zugleich eine Begriffsverwirrung wäre, wie in diesem Falle; denn diese verschiedenen Arten der Übertragung von Infektionsstoffen sind durchaus nicht in ihrem Effekt gleichartig. Eine Impfung kann unter Umständen, wie das in einer anderen Arbeit zur Sprache kommende Beispiel der Bazillen des malignen Ödems (der sogen. *Vibrios septiques*) lehrt, auch bei Verwendung desselben Materials eine ganz andere Wirkung haben als eine subkutane Injektion. Auch auf die Menge des einverleibten Infektionsstoffes wird meistens viel zu wenig Gewicht gelegt. Nur wenn ganz geringe Quantitäten zur Verwendung kommen, kann die störende Nebenwirkung gelöster, chemisch wirkender Stoffe, die eine Intoxikation anstatt der beabsichtigten Infektion hervorrufen könnten, vermieden werden. Allerdings gibt es auch pathogene Bakterien, die in größerer Menge appliziert werden müssen, um Wirkungen damit hervorzubringen. Um so mehr ist es geboten, bei Übertragungsversuchen nacheinander die allerverschiedensten Verfahren in Anwendung zu ziehen, aber auch bei der Beschreibung des Experimentes niemals die genaue Angabe des Infektionsmodus, ob einfache Impfung, ob subkutane Injektion, Transplantation usw., zu unterlassen.

Wenn in den nachfolgenden Arbeiten von Impfung die Rede ist, dann handelt es sich immer nur um eine wirkliche Impfung. Sobald irgendein anderes Verfahren angewendet wurde, ist dasselbe so bezeichnet, daß über die Art der Übertragung kein Zweifel bleiben kann. Über einige Infektionsverfahren habe ich noch ein paar kurze Bemerkungen zu machen.

An Mäusen ist eine wirkliche Impfung kaum ausführbar, höchstens gelingt am Ohr eine so minimale Verletzung, daß sie einer rein kutanen Verletzung gleichzusetzen ist. Jeder nur einigermaßen kräftige Einschnitt in die Haut dringt schon in das subkutane Gewebe und sollte eigentlich als subkutane Applikation bezeichnet werden. Auf keinen Fall ist es noch als einfache Impfung anzusehen, wenn man, wie es z. B. zur Untersuchung der Erde auf Infektionsstoffe unter Umständen erforderlich ist, eine taschenförmige Hautwunde anlegt und in diese das Infektionsmaterial bringt. In diese selbe Kategorie würde die Infektion durch subkutan beigebrachte Bandstückchen und ähnliche Verfahren gehören, auf die ich noch bei einer anderen Gelegenheit zurückkommen werde.

Selbstverständlich müssen alle bei dem Infektionsversuche gebrauchten Instrumente einer zuverlässigen Desinfektion unterworfen werden, die nach meinen Erfahrungen in diesem Falle nur durch längeres Erhitzen auf 150 ° C und darüber erreicht werden kann. Oft liest man, daß mit Alkohol, Karbolsäure und dergleichen desinfiziert wurde. Aber wie unzuverlässig diese Substanzen sind, geht aus den später zu beschreibenden Desinfektionsversuchen mit Milzbrandsporen hervor. Es bleibt also nichts übrig,

als durch hohe Hitzegrade zu desinfizieren. Für manche Instrumente, Messer, Nadeln usw. bietet das gar keine Schwierigkeiten, sie werden einfach ausgeglüht. Aber etwas umständlicher ist die Desinfektion der zur subkutanen Injektion gebrauchten Spritzen. Die gewöhnlichen, selbst aus Metall und Glas konstruierten Spritzen werden durch eine mehrstündige Temperatur von 150° C ganz unbrauchbar, und geringere Hitzegrade genügen zur sicheren Desinfektion durchaus nicht. Ich kann mich der Meinung nicht verschließen, daß an diesem Hindernis manches Experiment gescheitert und manches unerklärliche Resultat von subkutanen Injektionen auf eine ungenügende Desinfektion der Spritzen zurückzuführen ist. Zu unseren Infektionsversuchen wurden deswegen, um jedem solchen Einwande zu begegnen, besonders konstruierte Spritzen gebraucht. An denselben ist die Metallfassung mit dem Glaszyylinder durch ein in das Glas eingeschliffenes Schraubengewinde verbunden und diese Verbindung durch ein durchbohrtes Korkplättchen dicht gemacht, welches letztere, sobald es erforderlich ist, gewechselt wird. Der Stempel wird durch Faden und Watté so lange umwickelt, bis er vollkommen schließt. Vor jedem Gebrauch wird die Spritze in einem Trockenkasten ein oder mehrere Stunden auf 150° C erhitzt und dann der Stempel mit im Dampfkochtopf sterilisiertem destillierten Wasser angefeuchtet. Bei diesen Maßregeln ist eine Verschleppung des Infektionsstoffes von einem zum anderen Experimente durch die Spritze ganz unmöglich.

Für alle Fälle, in denen die lokale Wirkung des Infektionsstoffes beobachtet werden soll, sind Impfungen am Ohr, auf der Kornea und Transplantationen in die vordere Augenkammer besonders vorteilhaft. Eine spezielle Beschreibung der hierbei üblichen Verfahren scheint mir, da sie schon fast überall eingebürgert sind, nicht erforderlich.

Die künstliche Infektion durch Inhalation ist mehrfach versucht, aber leider bis jetzt noch kein einwurfsfreies Verfahren dafür gefunden. Bei Inhalation durch Trachealfisteln blieb die Infektion von der Trachealwunde, bei der Inhalation durch Mund oder Nase das gleichzeitige Verschlucken des Infektionsstoffes, und bei der von B u c h n e r ausgeübten Einstäubung des ganzen Tieres die Infektion von irgendeiner kleinen Verletzung am Körper nicht ausgeschlossen. Es wäre sehr erwünscht, wenn für diesen Infektionsweg recht bald ein zuverlässiges Verfahren entdeckt würde.

Bei allen Infektionsversuchen sollte es zu einer unerlässlichen Bedingung gemacht werden, daß man sich nicht auf einen einzigen Versuch beschränkt und es niemals an den erforderlichen Kontrollversuchen fehlen läßt. Wie oft begegnet man noch Angaben, daß irgendeine verdächtige Substanz oder Flüssigkeit einem Tiere eingeimpft oder subkutan eingespritzt wurde, daß das Tier erkrankte, möglicherweise auch starb, und es gilt dann als ganz selbstverständlich, daß der Tod infolge der Impfung und auch der fraglichen Infektionskrankheit eingetreten sei. Und doch liegt es auf der Hand, daß ein einziges solches Experiment so gut wie gar nichts beweist. Zunächst muß nachgewiesen werden, daß der einmalige Erfolg nicht ein scheinbarer oder zufälliger war, und daß die Impfung auch jedesmal oder doch in einer solchen Anzahl von Fällen Krankheit oder Tod der Versuchstiere bewirkt, daß jeder Zufall ausgeschlossen ist. Dann aber, und darauf muß ich ganz besonderen Wert legen, weil hiergegen schon sehr oft gefehlt ist, muß unter allen Umständen erst noch der Nachweis geliefert werden, daß es sich überhaupt um einen wirklichen Infektionsstoff handelt. Damit, daß irgendein Stoff, wenn er subkutan oder intravenös appliziert oder in die Bauchhöhle oder sonstwie dem Körper zugeführt wird, eine pathogene Wirkung äußert, ist seine infektiöse Eigenschaft noch nicht im mindesten erwiesen. Ähnliche Wirkungen können auch nicht organisierte, lösliche Substanzen äußern. Erst wenn die Übertragung von einem Individuum auf andere mittels solcher Quantitäten des Impfstoffes gelingt, daß damit seine Reproduktion, seine Vermehrung in dem erkrankten Körper nachgewiesen ist, erst dann kann

diese Substanz als infektiös angesehen werden. Es folgt also daraus, daß, wer beweisen will, daß er mit einem Infektionsstoff experimentierte, es unmöglich bei einem Versuche bewenden lassen kann, sondern eine mehr oder weniger lange Reihe von fortlaufenden Übertragungen, von einem Versuchstiere auf das zweite, von diesem auf das dritte usw. ausführen muß, wenn er sich nicht dem berechtigten Einwande aussetzen will, daß er es gar nicht mit einer Infektionskrankheit, sondern mit einer Intoxikationskrankheit zu tun gehabt habe.

**Reinkultur.** Nachdem das Vorhandensein der pathogenen Mikroorganismen im tierischen Körper, nachdem ferner ihre Reproduktionsfähigkeit im Körper und ihre Übertragbarkeit auf andere Individuen festgestellt, bleibt noch die wichtigste und die gerade die Hygiene am meisten interessierende Aufgabe, ihre Lebensbedingungen zu erforschen. Wie schon im Eingange dieser Arbeit hervorgehoben wurde, ist diese Aufgabe nur mit Hilfe der Reinkultur zu lösen, und deswegen ist es nicht zuviel gesagt, daß in der Reinkultur der Schwerpunkt aller Untersuchungen über Infektionskrankheiten liegt.

Weil man die Wichtigkeit der Reinkultur schon längst begriffen, so haben sich alle, welche auf dem Gebiete der Infektionskrankheiten forschen, die erdenklichste Mühe gegeben, die Methoden der Reinkultur zu vervollkommen. Die Resultate der neueren und neuesten Arbeiten beweisen aber auf das evidenteste, daß man über die ersten schwachen Versuche nicht weit hinausgekommen ist. Man hat höchstens gelernt, die allergrößten Irrtümer abzustreifen, und auch diese nicht einmal immer.

Das Wesentlichste der Reinkultur, wie sie derzeit gehandhabt wird, läßt sich ungefähr in folgender Weise zusammenfassen.

In ein desinfiziertes Gefäß, das mit desinfizierter Watte „pilzdicht“ verschlossen ist, wird eine sterilisierte passende Nährflüssigkeit gebracht und diese mit der Substanz, welche die rein zu kultivierenden Mikroorganismen enthält, „geimpft“. Aus dem ersten Gefäß kann, wenn eine Vermehrung derselben stattgefunden hat, die Weiterimpfung vermittels desinfizierter Instrumente auf ein zweites ebenso präpariertes Gefäß ausgeführt werden usw. Kurz, es ist fast der nämliche Vorgang wie bei Fortpflanzung einer Infektionskrankheit von einem Tiere auf ein anderes.

Es werden selbstverständlich dabei einige Voraussetzungen gemacht, und zwar erstens, daß das Kulturgefäß wirklich desinfiziert ist. Aber wie harmlos man sich dieses Desinfizieren mitunter vorgestellt hat, beweist der Streit P a s t e u r s und B a s t i a n s über die Urzeugung und die bekannte Frage des ersteren an letzteren: „*Flambez-vous vos vases avant de vous en servir?*“<sup>1)</sup>), welche von B a s t i a n verneint werden mußte.

Zweitens, daß die desinfizierte Watte auch in der Tat pilzdicht schließt, was nach den Untersuchungen von N a e g e l i<sup>2)</sup> nicht als für alle Fälle gültig anzunehmen ist.

Drittens, daß die Nährflüssigkeit zu gleicher Zeit passend und sterilisiert ist. Was unter einer passenden Nährflüssigkeit zu verstehen und daß dieselbe nicht immer so leicht zu beschaffen ist, darüber habe ich mich schon früher ausgesprochen. Hier soll von der Annahme ausgegangen werden, daß eine passende Nährösung gefunden und dieselbe nur noch zu sterilisieren sei. Mit welchen Schwierigkeiten und welchen Gefahren für das Gelingen des Experiments diese Arbeit verknüpft ist, kennt jeder, der mehrfach Gelegenheit gehabt hat, mit Heuinfus, Fleischedextrakt- oder Malzedextraktlösungen als Nährflüssigkeiten zu arbeiten. Kleine Quantitäten solcher und ähnlicher Nährösungen lassen sich in geeigneten Apparaten ziemlich sicher sterilisieren, aber wie schwierig es wird, größere Mengen derselben frei von entwicklungsfähigen Bakterienkeimen zu machen,

<sup>1)</sup> *Bulletin de l'Académie de méd.*, 1879, p. 1230.

<sup>2)</sup> Über die Bewegungen kleinster Körperchen, 1879.

das ist aus einigen Versuchsreihen zu ersehen, welche in der Arbeit über Desinfektion mit Wasserdämpfen beschrieben sind (vgl. diese Veröffentlichung<sup>1)</sup>).

Viertens, daß die Impfsubstanz keine anderen als die rein zu kultivierenden Mikroorganismen enthält. Wenn auch nur eine sehr geringe Verunreinigung der Impfsubstanz mit einer sich schneller vermehrenden Art von Organismen besteht, als diejenigen sind, welche rein kultiviert werden sollen, kann niemals, wie B u c h n e r treffend nachgewiesen hat, die beabsichtigte Reinkultur gelingen. Buchner hat sich deswegen, um ein reines Ausgangsmaterial für seine Versuche mit Milzbrandbazillen zu gewinnen, einer eigentümlichen Methode bedient. Er infizierte die Nährösungen mit so weit verdünnter Milzbrandsubstanz, daß nach ungefährer Berechnung nur ein Bazillus in das Kulturgefäß kam, und schloß dann aus dem charakteristischen makroskopischen Aussehen der sich entwickelnden Kultur, daß die Reinkultur gelungen sei. Nun werde ich aber später zu zeigen haben, daß es Bazillen gibt, die in Nährflüssigkeiten sich makroskopisch genau so entwickeln wie die Milzbrandbazillen, und wenn sie zufällig mit letzteren vermischt vorkämen, durch das B u c h n e r sche Verfahren nicht zu unterscheiden sein würden. Ganz unmöglich würde sich dies Verfahren auf solche Bakterien anwenden lassen, die in der Nährlösung keine charakteristischen Formen erkennen lassen, sondern vielleicht nur eine einfache Trübung, wie so viele andere Bakterien auch; bewirken. Die Schwierigkeit, ein vollständig reines Material zur Aussaat zu beschaffen, bleibt also für die große Mehrzahl der Fälle bestehen und wird für dieselben mit den jetzt üblichen Methoden der Reinkultur überhaupt nicht zu beseitigen sein.

Fünftens, daß bei der ersten Impfung und ebenso bei jeder folgenden Weiterimpfung keine Keime von fremden Organismen aus der Luft in die Kulturfüssigkeit geraten; eine Gefahr, gegen die der Experimentierende, auch wenn er den schützenden Wattepfpf nur ganz kurze Zeit lüftet, niemals mit Sicherheit seine Reinkulturen bewahren kann. Wenn die erste, zweite und dritte Umzüchtung auch noch gelungen sind, so wächst doch mit der Zahl der Weiterimpfungen die Wahrscheinlichkeit, daß einmal eine Verunreinigung der Kultur eintreten wird. Um dieser Eventualität so viel als möglich zu begegnen, setzt man gewöhnlich die Reinkultur gleichzeitig in mehreren Proben fort und impft nur von derjenigen weiter, die, wie der Augenschein oder eine mikroskopische Prüfung lehrt, rein geblieben ist. Leider kann man sich aber auch darauf nicht verlassen. Denn wie unsicher die makroskopische Unterscheidung von derartigen Kulturen ist, habe ich schon oben angegeben, und die mikroskopische kann immer nur Auskunft darüber geben, ob das Tröpfchen, welches als Probe entnommen und zwischen Objekträger und Deckglas gebracht wurde, von fremden Beimischungen frei ist, und auch selbst, wenn in diesem Tröpfchen schon vereinzelte andere Mikroorganismen vorhanden sind, wie soll man sie unter der Menge der Reingezüchteten mit Sicherheit herausfinden? Gerade die ersten Anfänge der Verunreinigung lassen sich also weder makroskopisch noch mikroskopisch unzweifelhaft erkennen, und wenn nun zufällig die Weiterimpfung von einer solchen vermeintlich reinen, aber in Wirklichkeit schon unreinen Kultur gemacht wird und die eingedrungenen Organismen den gezüchteten in der Entwicklungsfähigkeit überlegen sind, dann ist die weitere Reinkultur unrettbar verloren; schon in der nächsten Generation wird das Mikroskop kaum noch einen Zweifel über die Verunreinigung lassen, aber diese Einsicht kommt zu spät, weil es unmöglich ist, die nun schon massenhaft vorhandenen ungebetenen Gäste wieder loszuwerden.

Um einigermaßen Sicherheit bei der Durchführung einer längeren Reihe von Reinkulturen in Nährösungen zu gewinnen, gibt es nach meiner Erfahrung nur ein AuskunftsmitteL dessen ich mich auch bei meinen früheren Versuchen und namentlich bei

<sup>1)</sup> Diese Werke, p. 360 ff. D. Herausgeber.

den Untersuchungen über die Entwicklung der Milzbrandbazillen bedient habe. Es besteht dasselbe darin, die Menge der Kulturflüssigkeit auf ein so geringes Maß zu beschränken, daß sie in ihrem ganzen Umfange mit dem Mikroskop übersehen und auf die Reinheit kontrolliert werden kann. Die Ausführung geschieht in der Weise, daß eine Anzahl von Glaszellen, die aus einem hohlen Objekträger und Deckglas gebildet werden, mit einem Tröpfchen Nährlösung versehen werden, und zwar befindet sich die Flüssigkeit an der Unterseite des Deckglases und muß zu einer recht flachen Schicht ausgebreitet sein, damit sie mit dem Mikroskop auch bei einer Vergrößerung, wie sie zur Bakterienuntersuchung erforderlich ist, noch vollständig übersehen werden kann. An den Rand der Nährflüssigkeit wird dann die Aussaat gebracht und die Weiterentwicklung und das Reinkommen der Kultur von Zeit zu Zeit mit dem Mikroskop verfolgt. Wenn die Beschickung der Glaszellen und die Impfung mit einiger Geschicklichkeit und nicht zu langsam gemacht wird, dann kann man mit Bestimmtheit darauf rechnen, daß mindestens die Hälfte, meistens noch mehr von den angesetzten Kulturen rein geblieben und zur Weiterzüchtung geeignet sind. Leider läßt dieses Verfahren, das für Kulturen der leicht kenntlichen Milzbrandbazillen sich gut bewährt, ebenfalls im Stich, wenn sehr kleine und wenig charakteristisch geformte Mikroorganismen rein kultiviert werden sollen. Weitere Mängel dieses Verfahrens sind, daß den zu kultivierenden Organismen nur ein geringer Vorrat an Luft geboten werden kann und daß die gasförmigen Zersetzungspprodukte, die hemmend auf die Weiterentwicklung der Kultur wirken, sich in dem engen Raume anhäufen. Deswegen ist diese Methode auch nur in vereinzelten Fällen anwendbar.

Im Ganzen genommen sieht es also mit den Reinkulturen recht traurig aus und niemand, der in der bisher üblichen Weise Züchtungen von Mikroorganismen unternommen und nicht alle die von mir angedeuteten Fehlerquellen ganz sicher vermieden hat (was nach meiner Überzeugung überhaupt unmöglich ist), darf sich beklagen, wenn die Resultate seiner experimentellen Forschung unter den derzeitigen Verhältnissen nicht als auf exaktem Wege gewonnen und daher nicht als beweiskräftige von der Wissenschaft anerkannt werden. Am meisten dürfte das Gesagte wohl auf die allerdings mit einem anerkennenswerten, aber zugleich blinden Eifer ausgeführten Arbeiten Anwendung finden, die jetzt in Masse aus der Pasteurischen Schule hervorgehen und in Reinkulturen von Organismen der Hundswut, Schafpocken, Lungenseuche usw. Unglaubliches leisten.

Die Reinkultur ist, wie schon mehrfach betont wurde, für die weitere Ausbildung der Lehre von den pathogenen Organismen und allem, was damit zusammenhängt, ganz unentbehrlich, und in irgendeiner Weise muß Rat geschafft werden, um eine leicht zu handhabende und exakte Methode derselben zu erlangen. Auf dem jetzt eingeschlagenen Wege scheint mir keine Aussicht für eine ausreichende Verbesserung vorhanden zu sein. Man hat versucht, die Impfungen und Weiterimpfungen unter dem Schutze eines antiseptischen Spray zu machen. Es ist nicht unmöglich, daß dadurch einzelne in der Luft befindliche noch entwicklungsfähige Bakterien vernichtet werden; wie wenig aber die üblichen antiseptischen Mittel gegen Sporen ausrichten, ist aus meinen später zu erwähnenden Desinfektionsversuchen mit den Sporen von Milzbrandbazillen und anderen Bakterien zu ersehen. Soviel steht nach diesen Versuchen fest, daß ein Spray mit einer Lösung von Karbolsäure, Salizylsäure, übermangansaurem Kali usw. bei der kurz dauernden Berühring absolut keine Wirkung auf Bakteriensporen hat und daß also trotz des Spray eine ganze Kategorie von in der Luft suspendierten Keimen jederzeit die Kulturflüssigkeiten verunreinigen können. Von Klebs<sup>1)</sup> ist eine Verbesserung angegeben, die darin besteht, daß der das Kulturgefäß verschließende pilzdichte Ppropf

<sup>1)</sup> Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. XIII, p. 432.

im oberen Teile durch geglühten Asbest gebildet wird. Vor der Entnahme von Proben zur Untersuchung oder Weiterzüchtung wird die Asbestschicht von neuem erhitzt und alle etwa inzwischen darauf abgelegten Keime zerstört, dann der Ppropf mit einer geglühten Nadel durchbohrt und mittels ebenfalls geglühter Glasrörchen die Probe aus dem Kulturgefäß genommen. Ich kann hierin nur eine weitere Komplikation des schon an und für sich sehr umständlichen Verfahrens der Reinkultur erblicken, ohne daß es einen entsprechenden Schutz gegen Verunreinigungen beim Weiterimpfen verschafft, denn wenn auch nur eine sehr kleine Öffnung in den Ppropf gemacht wird, so wird die Gefahr des Eindringens von Keimen doch nur dadurch verringert, aber niemals ganz aufgehoben, und beim Übertragen der Probe von einem Gefäß zum anderen muß diese immer entweder unmittelbar oder das Glasrörchen, welches sie einschließt, die Luft passieren und kann unterwegs Verunreinigungen aufnehmen.

Es leuchtet wohl ein, daß alle Bestrebungen nach dieser Richtung hin vergeblich sind. Ich bin deswegen von dem bisher befolgten Prinzip der Reinkultur vollständig abgewichen und habe einen neuen Weg eingeschlagen. Eine einfache Beobachtung, die jeder leicht wiederholen kann, brachte mich auf denselben.

Wenn man eine gekochte Kartoffel halbiert und mit der Schnittfläche nach oben einige Stunden an der Luft liegen läßt und sie darauf in einen feuchten Raum bringt, z. B. unter eine feucht gehaltene Glasmöbel, um sie vor dem Eintrocknen zu bewahren, dann wird man je nach der Temperatur des Raumes, in dem sich die Kartoffel befindet, am folgenden, zweiten oder dritten Tage bemerken, daß mancherlei verschiedene, sehr kleine Tröpfchen auf der Kartoffel entstehen, die fast alle untereinander verschieden zu sein scheinen. Einige dieser Tröpfchen sind von weißlicher Farbe, porzellanartig, andere sind gelblich, braun, hellgrau, rötlich, einige sehen aus wie ein flach ausgebreitetes Wassertröpfchen, wieder andere sind halbkuglig, noch andere warzenartig. Aber alle vergrößern sich mehr oder weniger, dazwischen zeigen sich Myzelien von Schimmelpilzen, zuletzt fließen die einzelnen Tröpfchen zusammen und bald tritt ausgesprochene Fäulnis der Kartoffel ein. Werden nun diese Tröpfchen, solange sie noch isoliert bestehen, mikroskopisch untersucht, am besten nachdem sie auf dem Deckglas ausgestrichen, erhitzt und gefärbt sind, dann stellt sich heraus, daß jedes einzelne derselben aus einer bestimmten Art von Mikroorganismen besteht. In dem einen zeigen sich beispielsweise große Mikrokokken, in einem anderen sehr kleine, in einem dritten kettenförmig angeordnete Mikrokokken, andere Kolonien, besonders die flach ausgebreiteten, membranartig gestalteten werden von Bazillen der verschiedensten Größe und Anordnung gebildet. Manche bestehen aus Hefezellen und zwischendurch findet sich hin und wieder das aus einer Spore hervorsprossende Myzel eines Schimmelpilzes. Woher alle diese verschiedenen Organismen stammen, darüber wird man nicht lange in Zweifel sein, wenn eine andere Kartoffel, welche mit einem geglühten Messer geschält wurde, um die stets der Schale mit der Erde anhaftenden, durch das kurze Kochen noch nicht getöteten Bazillensporen zu beseitigen, der Luft nicht ausgesetzt und in einem desinfizierten Becherglas unter Watteverschluß aufbewahrt und beobachtet wird. Auf der so behandelten Kartoffel bilden sich keine Tröpfchen, keine Organismen siedeln sich auf ihr an und sie bleibt unverändert, bis sie nach Wochen allmählig vertrocknet. Es können sich also auf die erste Kartoffel die Keime, welche sich zu den kleinen tropfenartigen Kolonien entwickelten, nur aus der Luft niedergelassen haben, und man findet in der Tat oft in der Mitte der kleinen Kolonie noch ein deutlich erkennbares Staubpartikelchen oder Fäserchen, welches den Keimen, seien es nun angetrocknete, noch lebensfähige Bakterien, Hefezellen, oder seien es Sporen, zum Träger diente. Um indessen keinen Irrtum aufkommen zu lassen, muß ich noch hinzufügen, daß auf der un-

geschälten Kartoffel einzelne vom Rande her sich entwickelnde Kolonien aus Keimen entstehen, die an der Schale und zwar in der derselben anhaftenden Erde sich befinden.

Was läßt sich denn nun dieser Beobachtung der auf der Kartoffel heranwachsen den Kolonien entnehmen? Am auffallendsten ist die Tatsache, daß mit wenigen Ausnahmen, in denen vermutlich zwei verschiedene Keime so dicht nebeneinander zu liegen kamen, daß die entstehenden Kolonien bald zusammenfließen mußten, oder wenn daselbe Stäubchen mit verschiedenen Keimen beladen war und diese zugleich zur Entwicklung kamen, daß also mit diesen wenigen Ausnahmen jedes Tröpfchen oder Kolonie eine Reinkultur ist und so lange bleibt, bis sie bei weiterem Wachstum mit dem Nachbar zusammenstößt und die Individuen der einen Kolonie sich mit denen der anderen vermengen. Wenn an Stelle der Kartoffel die gleich große Fläche einer Nährflüssigkeit dem Einfluß der Luft ausgesetzt worden wäre, dann hätten sich unzweifelhaft auch Keime aus der Luft auf die Oberfläche derselben gesenkt und zwar annähernd dieselbe Zahl und dieselben Arten, wie es bei der Kartoffel der Fall war, aber die Entwicklung dieser Keime würde in einer von der vorher beschriebenen ganz verschiedenen Weise vor sich gegangen sein. Die beweglichen Bakterien hätten sich schleunigst in der Flüssigkeit verteilt, würden sich unter die anfangs noch einigermaßen in kleinen schwimmenden Kolonien zusammengehaltenen unbeweglichen gemischt und diese ebenfalls durch ihre lebhaften Bewegungen durcheinander gewirbelt und überallhin verschleppt haben; einige Organismen würden sich am Grunde der Flüssigkeit, andere in den oberen Schichten umhertreiben; manche, die auf der Kartoffel ein Plätzchen fanden, auf dem sie sich ungestört vermehren konnten, würden in der Nährflüssigkeit von den anderen üppiger wachsenden Organismen schon beim Auskeimen ersticken werden und gar nicht zur Entwicklung kommen. Kurz, die ganze Flüssigkeit würde von Anfang an bei einer mikroskopischen Untersuchung das Bild eines wirren Gemisches von Formen und Gestalten geboten, aber niemals auch nur im entferntesten an eine Reinkultur erinnert haben. Worin liegt denn aber dieser durchgreifende Unterschied zwischen dem Nährboden, den die Kartoffel den Mikroorganismen bietet, und demjenigen, den ihnen die Nährflüssigkeit gewährt? Doch nur darin, daß der eine fest ist und verhindert, daß die verschiedenen Arten, auch wenn sie beweglich sind, durcheinander gemengt werden, während in dem anderen flüssigen Nährsubstrat von einem Getrenntbleiben der Arten überhaupt nicht die Rede sein kann.

Es lag nun nahe, die Vorteile, welche ein fester Nährboden für Reinkulturen bietet, weiter auszunutzen. Es wurden also einzelne der früher beschriebenen spontan auf gekochten Kartoffeln entstandenen Kolonien auf anderen eben durchschnittenen Kartoffeln möglichst ausgebreitet und in den feuchten Raum gelegt. Es entstand dann bald, schon am folgenden oder nächstfolgenden Tage eine reichliche Entwicklung der ausgesäten Mikroorganismen und zwar behielten sie genau dieselben charakteristischen Eigenschaften wie das ursprüngliche Tröpfchen. War dieses gelb und bestand aus kleinen Mikrokokken, dann erschien jetzt auf der damit infizierten Kartoffel eine ausgedehnte gelbe Schicht, die genau aus denselben kleinen Mikrokokken bestand. Ganz ebenso verhielten sich auch andere Mikrokokken, die verschiedenen Bazillenarten, Hefe, Pilze usw. Alle ließen sich ziemlich schnell aus anfänglich sehr kleinen Kolonien durch wenige Fortzüchtungen auf weitere Kartoffeln in reichlicher Menge und in vollkommen reinen Kulturen erhalten. Ein sehr ängstliches Abschließen der Luft von diesen Kulturen war gar nicht erforderlich, denn wenn auch hier und da Keime von anderen Organismen auf die Kartoffeln gerieten, so konnten sie sich doch nur örtlich entwickeln und langsam ausbreiten, vermochten aber niemals die gesamte Kultur zu gefährden; außerdem machten sie sich durch das charakteristische Aussehen, das ihre in geschlossener Masse befindlichen

Kolonien hatten, unter den gezüchteten Organismen sofort als Fremdlinge kenntlich, so daß alle diese zufälligen Verunreinigungen der Kultur beim Weiterimpfen leicht vermieden werden konnten. Nur bei zu langem Abwarten trat wohl eine derartige Vermehrung der fremden Organismen ein, daß die Kultur in Gefahr geriet. Aber die Erfahrung lehrte bald, den richtigen Zeitpunkt zur Weiterzüchtung einzuhalten, um stets ganz sichere Reinkulturen zu behalten.<sup>1</sup> Hiermit war also die Möglichkeit, in einer höchst einfachen Weise ganz tadellose Reinkulturen auszuführen, gegeben. Wenigstens mit allen den Organismen, für welche gekochte Kartoffeln ein geeigneter Nährboden sind, und die Zahl derselben ist nicht gering. Wie schon erwähnt, wachsen zahlreiche verschiedene Mikrokokken und Bazillen auf Kartoffeln in üppiger Weise und es lag nahe, auch andere bekannte und praktisches Interesse bietende Bakterien auf diesen Nährboden zu verpflanzen. Es wurden also Heubazillen auf gekochte Kartoffeln gebracht und sehr kräftige Kulturen erhalten, die einen weißlichen, rahmartigen Überzug der Kartoffelschnittfläche bildeten und auf den ersten Blick von anderen spontan auf der Kartoffel entstehenden Bazillenkolonien zu unterscheiden waren, namentlich von den am häufigsten in Form eines kleinen nassen Fleckes am Rande der Kartoffel entstehenden und bald in eine schleierartig gefaltete Membran übergehenden, einen zähen fadenziehenden Schleim produzierenden Bazillen. Nachdem dieser Versuch geglückt war, wurde ein anderer mit Milzbrandbazillen angestellt und auch dieser gelang in der ausgezeichneten Weise, wie ich an einer anderen Stelle ausführlicher zu besprechen haben werde. Aber mit anderen Bakterien, die sich bei Tierversuchen als pathogen erwiesen hatten, fielen alle Kulturversuche auf Kartoffeln negativ aus.

Doch das Prinzip war gefunden und es kam nur darauf an, der Sache eine für alle Fälle passende Gestalt zu geben. Es würde keinen Zweck haben, alle die Versuche zu schildern, welche gemacht wurden, um einen der gekochten Kartoffel ähnlichen festen, aber womöglich allen, auch den pathogenen Mikroorganismen passenden Nährboden zu finden, und ich will gleich das Endresultat dieser Versuche angeben, welches in seiner jetzigen Gestalt schon in der großen Mehrzahl der Fälle ein vollkommen ausreichendes Verfahren für Reinkulturen gewährt und mit der Zeit, noch weiter vervollkommenet, unzweifelhaft allen Ansprüchen genügen wird.

Nachdem ich eingesehen hatte, daß es wohl kaum möglich ist, eine für alle Mikroorganismen gleich gut geeignete, also eine Art Universalnährflüssigkeit zu konstruieren, beschränkte ich mich darauf, die schon bekannten und andere neue bewährte Nährlösungen aus der flüssigen in eine feste, starre Form überzuführen. Das geeignetste Mittel, um dies zu erreichen, ist ein Zusatz von Gelatine zur Nährflüssigkeit. Hausenblase und andere gelatinierende Substanzen sind bei weitem nicht so gut zu gebrauchen. Die Mischung von Nährflüssigkeit und Gelatine, die ich der Kürze halber Nährgelatine nennen will, wird in folgender Weise bereitet: Die Gelatine läßt man in destilliertem Wasser quellen und löst sie dann in der Wärme auf. Auch die Nährlösung wird für sich zubereitet und beiden Flüssigkeiten eine solche Konzentration gegeben, daß nach dem in einem bestimmten Verhältnisse stattgefundenen Vermischen derselben der beabsichtigte definitive Gehalt an Gelatine und Nährstoffen erreicht wird. Als den passendsten Gehalt der Nährgelatine an Gelatine habe ich in meinen Versuchen einen 2½- bis 3 prozentigen gefunden. Soll also die Gelatinelösung mit der Nährflüssigkeit zu gleichen Teilen vermischt werden, dann muß, um die Nährgelatine auf 2½ % Gelatinegehalt zu bringen, die Gelatinelösung mit 5 % Gelatine bereitet werden, und ebenso müßte der Nährlösung der doppelte Gehalt an Nährstoffen gegeben werden, beispielsweise für eine Nährgelatine mit 1 % Fleischextrakt eine 2 % wäßrige Fleischextraktlösung. Übrigens kann man auch die Gelatine sofort in der Nährflüssigkeit quellen lassen und auflösen.

Die Gelatine ist meistens von schwach saurer Reaktion, und es ist deswegen notwendig, wenigstens wenn die Nährgelatine zur Züchtung von Bakterien benutzt werden soll, sie entweder mit kohlensaurem Kali, kohlensaurem Natron oder basisch phosphorsaurem Natron zu neutralisieren. Die neutralisierte Nährgelatine wird dann noch einmal aufgekocht und, weil sich entweder hierbei oder schon vorher beim Mischen und Neutralisieren Niederschläge bilden und auch öfters die Gelatine verunreinigt ist, filtriert. Inzwischen ist ein mit Watte verschlossenes Gefäß längere Zeit durch Erhitzen auf 150° C desinfiziert, und in dieses wird die Nährgelatine gefüllt, durch den Wattepropf abgeschlossen und wiederum aufgekocht. Das Kochen braucht nur ganz kurze Zeit stattzufinden, denn es sollen dadurch nur die in der Nährgelatine vorhandenen, leicht zu tödenden Mikroorganismen unschädlich gemacht werden. Die darin befindlichen Sporen würden erst durch längeres Kochen vernichtet werden, das sich aber aus dem Grunde hier nicht anwenden läßt, weil dadurch die Gelatine in ihrer Fähigkeit zu gelatinieren herabgesetzt wird. Eben deswegen kann auch das Sterilisieren der Nährgelatine im Dampfkochtopfe bei höheren Hitzegraden nicht bewirkt werden. Durch die bisherigen Manipulationen ist die Nährgelatine also noch nicht mit Gewißheit sterilisiert; das stört aber nicht. Wenn die Nährlösung flüssig wäre, würden die noch darin vorhandenen keimfähigen Sporen zu Bakterien auswachsen, sich schnell vermehren, durch die ganze Flüssigkeit verbreiten, aber erst am zweiten oder dritten Tage durch Trübung derselben ihre Anwesenheit verraten. Dann wäre allerdings die Flüssigkeit auch nicht mehr zu retten, da sie in ihrer ursprünglichen Zusammensetzung schon verändert, möglicherweise schon wieder mit zahllosen neugebildeten Sporen beladen sein würde. In der Nährgelatine aber verhält sich die Sache ganz anders, hier zeigt sich schon der gewaltige Vorteil, den die feste Beschaffenheit des Nährsubstrates für die Beurteilung seines Gehaltes an Bakterien bietet. Am nächsten Tage oder etwas später wird man in der bis dahin ganz klaren erstarnten Gelatine ziemlich gleichmäßig verstreut einige wenige oder auch zahlreiche sehr kleine, undurchsichtige, bei auffallendem Lichte weißliche Pünktchen bemerken. Wollte man die Gelatine ihrem Schicksal überlassen, dann würden sich diese Pünktchen bald zu kleinen Kugeln vergrößern, die immer mehr an Umfang zunehmen, allmählig einen Raum umschließen, der, wie beim Bewegen des Gefäßes sich ergibt, mit verflüssigter Gelatine gefüllt ist, und zuletzt zusammenfließend die gesamte Nährgelatine in eine trübe Flüssigkeit verwandeln. Die kleinen, aus den weißen Pünktchen heranwachsenden Kolonien bestehen aus Bazillen, wovon man sich leicht durch die mikroskopische Untersuchung derselben überzeugen kann. Wenn man das aber weiß und die Gelatine für Kulturzwecke sterilisieren will, dann wartet man natürlich nicht so lange, bis dieselben eine ansehnliche Größe erlangt haben, sondern tötet sie durch Aufkochen der Gelatine, wenn sie eben schon mit bloßem Auge zu erkennen sind. Darin liegt gerade, wie schon gesagt, ein wesentlicher Vorteil der Nährgelatine, daß in ihr die allerersten Anfänge der Bakterienentwicklung nicht übersehen werden können. Denn die aus einem Keime hervorgehenden Bakterien müssen lange Zeit auf einen Punkt zusammengedrängt liegen bleiben und sich dadurch schon dann dem Auge bemerklich machen, wenn sie an Zahl noch verhältnismäßig gering sind, und so frühzeitig, daß sie noch nicht zur Sporenbildung gekommen sein und die Nährlösung als solche noch nicht wesentlich verändert haben können. Einen weiteren Vorzug der Nährgelatine vor Nährflüssigkeiten wird man darin erkennen, daß man an derselben die Menge der noch vorhanden gewesenen, als Verunreinigung anzuschenden Keime aus der Zahl der entstandenen Kolonien gewissermaßen ablesen kann, und nicht allein dies, sondern auch die Art und Weise, wie die Keime in das die Nährgelatine enthaltende Gefäß gelangten, ist mit dem ersten Blick zu erkennen; denn alle Keime, die nach dem Aufkochen der Gelatine noch entwicklungs-

fähig blieben, verteilen sich in der flüssigen Masse ziemlich gleichmäßig und erscheinen später als in das Innere der erstarrten Gelatinemasse eingesprengte Kolonien; dagegen muß sich alles, was nach dem Erstarren der Gelatine an entwicklungsfähigen Organismen mit der Nährgelatine in Berührung kommt, z. B. aus der etwa nicht vollständig desinfizierten Watte herabfallende mit Keimen beladene Fasern oder aus der Luft den mangelhaft schließenden Wattepfpf passierende Stäubchen oder im oberen Teile des Gefäßes, namentlich im Halse desselben haftende Keime, alle diese nachträglichen Verunreinigungen müssen sich auf der Oberfläche der Gelatine ablagern und können nur hier zu Kolonien heranwachsen. Man ist also stets in der Lage, den Zustand des Nährmaterials für die Reinkulturen zu kontrollieren und alle Fehler, die etwa bei der Zubereitung sich einschlichen, sofort zu erkennen und auch bald zu beseitigen. Von welchem Werte gerade dieser beständige Überblick über die etwa gemachten Fehler ist, wie dadurch in kurzer Zeit Übung und große Sicherheit in der Handhabung des Verfahrens herbeigeführt wird, das bedarf wohl keines weiteren Hinweises. Man erfährt sehr bald, ob die mit dieser oder jener Nährösung bereitete Nährgelatine leicht oder schwer zu sterilisieren ist. Bei manchen, z. B. alkalischem Urin, oder P a s t e u r s c h e r Nährösung in Form von Nährgelatine gelingt das Sterilisieren leicht, meist schon durch ein einmaliges Aufkochen, bei anderen, wie Fleischextrakt- oder Heuinfusgelatine ist es langwieriger; man kocht sie deswegen mehrere Tage hindurch täglich einmal auf. Denn man darf sich nicht vorstellen, daß alle Sporen zu gleicher Zeit auskeimen. Bisweilen können tagelang nach dem letzten Kochen noch vereinzelte Kolonien entstehen, die, wie ihre Lage im Innern der Gelatine beweist, von Anfang an in derselben waren und nicht etwa nachträglich hineingekommen sind. Aber, wie gesagt, wenn dies auch der Fall sein sollte, so würden sie bei der häufigen Musterung der Nährgelatine, die in der ersten Woche nicht zu versäumen ist, frühzeitig genug bemerkt und durch nochmaliges Kochen unschädlich gemacht werden.

Was nun die weitere Behandlung und die Anwendung der Nährgelatine zu Reinkulturen betrifft, so ist es vor allem zweckmäßig, die Nährgelatine in eine Anzahl von mit Watte verschlossenen und samt der Watte durch Hitze gut desinfizierten Reagensgläschen zu füllen, um jederzeit, ohne jedesmal die Gesamtmenge flüssig machen zu müssen und durch das Öffnen einer Verunreinigung auszusetzen, ein entsprechendes Quantum der Nährgelatine zur Hand zu haben. Da dieses Quantum, wie man gleich erfahren wird, nur ein geringes ist, ungefähr 10 bis 15 ccm, so wird auch in jedes einzelne Gläschen nicht mehr hineingefüllt.

Weil die Reinkulturen mit den Kartoffeln so bequem und sicher auszuführen waren, so habe ich es vorgezogen, der Nährgelatine eine annähernd ähnliche Form zu geben. Man kann sie in flache Uhrläser, kleine Glasschalen oder dergleichen ausgießen, aber am zweckmäßigsten für die Handhabung der Kulturen, besonders bei der mikroskopischen Untersuchung derselben, war es nach meiner Erfahrung, die Nährgelatine in Gestalt eines langen und breiten Tropfens auf Objektträgern, wie sie zum Mikroskopieren gebraucht werden, auszubreiten. Dies geschieht mit einer vorher desinfizierten Pipette, und ebenso werden auch die Objektträger selbst vor dem Gebrauche gut gereinigt und längere Zeit einer Temperatur von 150° C ausgesetzt. Dem Tropfen gibt man eine Dicke von etwa zwei Millimetern, die Gelatine erstarrt nach wenigen Minuten und es werden dann die Objektträger auf kleine Glasbänke gelegt, die so breit sind, daß sie zwei bis drei Objektträger nebeneinander tragen können, und schließlich mehrere solcher Glasbänke, etwa vier bis sechs, übereinander geschichtet und in einen beständig feucht gehaltenen Raum gestellt. Für letzteren Zweck verwende ich Glasschalen, die von flachen Glocken bedeckt und im Innern mit angefeuchtetem Fließpapier austapeziert sind. In solchem

Raume sind die Gelatinetropfen 2 bis 3 Wochen hindurch vor dem Austrocknen bewahrt. Die Aussaat der zu züchtenden Organismen geschieht nun in der Weise, daß mit einer geglühten Nadel oder einem geglühten Platindraht eine möglichst geringe Menge der dieselben enthaltenden Flüssigkeit oder Substanz aufgenommen und dann in mehreren, etwa drei bis sechs, Querlinien auf die Gelatine gebracht wird. Die Nadel wird ungefähr in derselben Weise gehandhabt, wie die Impflanzette beim Impfen mit Schnitten; auch ist es gut, die Schnitte ebenso flach zu halten wie beim Impfen. Der Ausdruck Impfen würde also für diese Manipulation recht wohl passen. In gleicher Weise wird die Impfung bei mehreren Objektträgern ausgeführt, so daß also ohne irgend welche Mühe oder erheblichen Zeitverlust zwölf bis fünfzehn Einzelkulturen in Gang gebracht sind; denn ein jeder Impfstich repräsentiert eine für sich bestehende und von den übrigen in ihrer Entwicklung ganz unabhängige Kultur. Eigentlich ist die Zahl noch größer, weil man die einzelnen Abschnitte eines Striches noch wieder für sich betrachten und für die Weiterzüchtung verwerten kann.

Einen weiteren Schutz als die nicht einmal vollständig abschließende Glasglocke braucht man den Kulturen gegen die überall drohenden Gefahren der Verunreinigung nicht zu geben. Es bleibt auch nicht aus, daß schon beim Impfen der Nährgelatine, beim Lüften der Glocke und während der mikroskopischen Untersuchung der Kulturen fremde Organismen in die Kulturen geraten; aber dieselben können nur immer an der Stelle der Gelatine, auf welche sie gefallen sind, zur Entwicklung kommen; nur hin und wieder wird einmal einer der Impfstriche selbst oder seine unmittelbare Nachbarschaft der Sitz von fremden Kolonien. Aber es ist kaum denkbar, daß sämtliche Kulturen binnen kurzer Zeit so von Keimen befallen würden, daß sie zur Weiterzüchtung unbrauchbar wären, und dies kommt auch in der Tat nicht vor, namentlich, wenn die Glocken nicht zu oft gelüftet werden. Binnen wenigen Tagen sind die Reinkulturen soweit herangewachsen, daß sie das Maximum ihrer Entwicklung erreicht haben und weiter verimpft werden können. Besonders wenn, wie es bei manchen Bakterien der Fall ist, bei schnellem Wachstum die Gelatine verflüssigt wird, ferner wenn schon Sporenbildung eingetreten ist, dann hat ein längeres Liegenlassen der Kultur keinen Zweck und dieselbe muß baldigst weiter übertragen werden. Sollen einzelne Kulturen durch längere Zeiträume vor Verunreinigungen geschützt werden, dann müssen sie selbstverständlich unter Watteverschluß gehalten werden, aber auch hierbei bewährt sich die Nährgelatine als ein zuverlässiges Substrat, weil an der Gestalt und anderen charakteristischen Merkmalen bei nur einiger Übung auch ohne die sonst unerlässliche mikroskopische Prüfung die Reinheit der aus der Aussaat hervorgegangenen Kolonien mit ziemlicher Sicherheit und etwa außerhalb der Impfstelle liegende Verunreinigungen sofort als solche erkannt werden können.

Bei niedrigen Temperaturen geht die Entwicklung der Kulturen sehr langsam vor sich, manche Organismen bedürfen überhaupt eines bestimmtem Wärmegrades, um gedeihen zu können. Am üppigsten wachsen die Gelatinekulturen bei 20 bis 25° C und bis jetzt ist mir noch kein Organismus begegnet, der bei dieser Temperatur, wenn er überhaupt für künstliche Züchtung zugänglich ist, nicht gewachsen wäre. Sollte es aber nötig sein, Temperaturen über 30° C, bei denen die Gelatine flüssig wird, zu gebrauchen, dann müßte man auf die Gelatine überhaupt verzichten, oder ihre Eigenschaften insofern noch ausnützen, daß in die starre durch Watteverschluß geschützte Gelatine geimpft wird, und erst wenn sich nach ungefähr 24 Stunden bei 25° C in ihr keine fremden Kolonien gezeigt haben und damit die größte Wahrscheinlichkeit für das Gelingen einer von Verunreinigungen freien Impfung gegeben ist, daß also dann erst die Kulturen auf Brütttemperatur gebracht werden.

Eine sehr wichtige Aufgabe bei der Ausführung der Reinkulturen, an deren Nichtlösbarkeit, wie ich früher auseinandergesetzt habe, die meisten bisherigen Reinkultursuche scheitern mußten, nämlich die Beschaffung eines ganz sicher reinen Materials zur ersten Aussaat, kann mit Hilfe der Nährgelatine sehr leicht erfüllt werden. Wenn beispielsweise Blut von einem septicämischen Tiere zu Kulturen verwendet und die darin befindlichen Septicämiebakterien rein gezüchtet werden sollen, dann bedarf es gar keiner außerordentlichen Vorbereitungen mit Spray, geglühten Kapillarröhrchen usw., die schließlich doch alle in Stich lassen, sondern es ist vollständig ausreichend, unter Vermeidung größerer Verunreinigungen, was gewiß keine Schwierigkeiten bereitet, also beispielsweise mit einer geglühten Nadel etwas Blut aus dem eben geöffneten Herzen oder aus einem beliebigen Blutgefäß zu nehmen und auf die Nährgelatine in einer nicht zu geringen Zahl von Strichen zu impfen. Es wachsen dann in einigen Strichen vereinzelte Pilzmyzelien, auch einige Mikrokokkenhaufen, deren Keime kaum vollständig bei einer Tiersektion auszuschließen sind, außerdem aber auch noch eine je nach dem Gehalte an Septicämiebakterien geringere oder größere Anzahl von ganz reinen, durch ihren eigentümlichen matten Glanz und äußerst feinkörnige Granulierung bei schwacher Vergrößerung sofort erkennbare Kolonien der Septicämiebakterien und darunter genug solche, von denen man bequem oder im Notfalle mit Hilfe des Präpariermikroskops die Weiterzüchtungen in Gang setzen kann (vgl. Taf. XVII, Fig. 70). In diesem Falle waren die fremden Beimischungen in der Minderzahl und deswegen von vornherein auf eine größere Menge von reinen Kolonien der für die Weiterzüchtung bestimmten Bakterien zu rechnen; aber wenn sich dieses Verhältnis auch umkehren sollte oder wenn überhaupt nur ganz vereinzelte der aufzusuchenden Bakterien sich in dem Gemisch befinden, dann gelingt das Experiment, wenn auch nicht ebenso leicht, aber ebenso sicher. Es wird dann nur erforderlich sein, das Bakteriengemisch recht verdünnt und in recht zahlreichen Impfstrichen zu impfen. Sehr vorteilhaft ist unter solchen Umständen auch das Impfen in die noch flüssige Gelatine, um die verschiedenen Keime auf eine größere Fläche zu verteilen, oder man kann auch die flüssig gemachte Nährgelatine mit einer möglichst geringen Menge der Substanz gut vermischen, dann erst auf Objektträgern ausgießen und unter den entstandenen Kolonien mit dem Mikroskop die betreffenden heraussuchen.

Es wurde schon früher von mir hervorgehoben, daß für die verschiedenen Mikroorganismen auch verschiedene Nährsubstrate zu beschaffen sind. Um nur an eins der größten Beispiele zu erinnern, so wird man Bakterien und Pilze nicht auf demselben Nährboden mit Vorteil kultivieren, denn im großen und ganzen gedeihen diese besser auf saurem, jene besser auf neutralem oder schwach alkalischem Substrat. Es ist deswegen auch notwendig, mit möglichst verschiedenen, den Anforderungen der verschiedenen Gruppen der Mikroorganismen und selbst der einzelnen Arten derselben entsprechenden Nährgelatinen zu arbeiten.

Bei unseren Untersuchungen kamen mancherlei Nährgelatinen zur Verwendung, von denen in dem einen Falle diese, in einem anderen jene größere Vorteile bot. Besondere Erwähnung verdienen: Heuinfus-Gelatine, die für manche Bazillenarten ein vorzügliches Nährmaterial abgibt; Weizeninfus-Gelatine, mit *Humor aqueus* bereitete Gelatine, Gelatine mit Fleischextrakt und Pepton; eine andere mit Fleischinfus und Pepton eignet sich besonders gut für manche pathogene Bakterien; unstreitig das beste Nährmaterial für pathogene Bakterien ist indessen eine aus Blutserum und Gelatine hergestellte Nährgelatine, über die ich wegen ihrer Unentbehrlichkeit noch einige Bemerkungen machen will. Bei dieser Nährgelatine kann das Sterilisieren nicht durch Kochen bewirkt werden, weil sonst die Eiweißkörper des Serums gerinnen würden; es muß deswegen schon

von vornherein darauf Bedacht genommen werden, das Blutserum möglichst von Verunreinigungen freizuhalten. Es wird also das frische Blut unmittelbar in einem reinen Gefäß aufgefangen und ruhig stehen gelassen, bis feste Gerinnung eingetreten ist, dann der Blutkuchen am oberen Rande vorsichtig abgelöst und verdeckt ein bis zwei Tage an einen kalten Ort gestellt, bis sich eine genügende Menge klaren und wenig gefärbten Serums abgeschieden hat. Dasselbe wird mit einer geglühten Pipette aufgenommen und mit flüssig gemachter vorher gut sterilisierter Gelatine von 5 pCt. zu gleichen Teilen in desinfizierte Probierröhrchen gefüllt und sofort mit desinfizierter Watte verschlossen. Um nun noch die Serumgelatine zu sterilisieren, werden die Probierröhrchen einige Male und zwar anfangs täglich einmal, später nach größeren Zwischenräumen eine halbe bis eine Stunde lang in ein Wasserbad, das eine Wärme von 52° C hat, gebracht. In dieser Weise ist es mir noch jedesmal gelungen, eine vollständig sicher sterilisierte Blutserum-Gelatine zu erhalten.

Zu Pilzkulturen wurden Nährgelatinen mit Pflaumen- oder Pferdemist-Dekokt gebraucht, die ebenfalls einen äußerst günstigen Nährboden für dieselben abgeben.

Außer den bis jetzt erörterten Vorzügen bieten die mit Nährgelatine angestellten Reinkulturen noch den ganz erheblichen Vorteil, daß sie jederzeit, ohne beschädigt oder in ihrer Weiterentwicklung irgendwie gestört zu werden, der Kontrolle durch das Mikroskop unterzogen werden können. Allerdings lassen sich nur schwache Vergrößerungen anwenden, aber diese genügen auch vollkommen, um die Kulturen zu überwachen und die zur Weiterzüchtung geeigneten Stellen auszusuchen. Man kann die mit der Nährgelatine versehenen Objekträger ohne weiteres unter das Mikroskop legen und beispielsweise mit Hartnack System 4 und Okular 3 oder Zeiß System A. A. nebst starkem Okular und enger Blende des Beleuchtungsapparates untersuchen. Sehr oft sind mit diesen Vergrößerungen schon die einzelnen Bakterien in den Kolonien, wenigstens am Rande, zu erkennen; größere Bazillen, Sarzine, Hefe sind sofort in den einzelnen Individuen deutlich als solche erkennbar. Sollen in zweifelhaften Fällen stärkere Vergrößerungen zur Verwendung kommen, dann muß der eine oder andere Impfstrich geopfert und mit einem Deckglas belegt werden; in dieser Weise lassen sich auch selbst Immersionssysteme noch zur unmittelbaren Untersuchung der Kolonien benutzen. Gewöhnlich ist das aber nicht erforderlich. Wenn man eine größere Zahl von spontan angesiedelten und von durch Impfung übertragenen Bakterien-, Pilz- usw.-Kolonien auf Nährgelatine mit dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung beobachtet, dann gewinnt man sehr bald die Überzeugung, daß jede einzelne Art in der Form, Gestalt, Farbe und im Wachstum ihrer Kolonien, die sie auf Nährgelatine bilden, ganz charakteristische und leicht wieder zu erkennende Eigenschaften besitzt. Diese Erscheinung hat nichts Auffälliges, wenn man sich erinnert, daß ähnliche Verhältnisse sich überall im weiten Gebiete der Naturbeobachtung wiederholen, nämlich überall da, wo eine Anhäufung von Individuen derselben Art stattfindet. Mag nun die Entfernung eine so große sein, daß das einzelne Individuum nicht mehr deutlich als solches zu erkennen ist, oder mag die Größe der Einzelindividuen überhaupt so gering sein, daß sie vom unbewaffneten Auge nicht mehr erfaßt werden, so wird man doch aus den Eigenschaften der Gesamtmenge, des Haufens, Schwarms, der Kolonie immer noch mit mehr oder weniger großer Sicherheit auf die bestimmte Art, welcher dieselbe angehört, schließen können; denn die meisten Eigenschaften des Schwarms sind schließlich doch nichts weiter als die Summe der Eigenschaften der Einzelindividuen. Nehmen wir nur beispielsweise die Farbe. Bei einem einzigen Tier oder einer einzelnen Pflanze kann dieselbe wegen der Entfernung oder der Kleinheit des Objekts möglicherweise nicht mehr sicher erkannt werden, sobald aber eine größere Anzahl von Individuen derselben Art dicht nebeneinander sich befinden,

dann summiert sich die Farbenwirkung aller und es entsteht ein Effekt, der sich dem beobachtenden Auge deutlich zu erkennen gibt. Ebenso ist es mit der Bewegung. Ein einzelnes, vom Auge kaum noch erkanntes oder für dasselbe überhaupt schon unsichtbares kleines Objekt, z. B. ein in der Ferne fliegender Vogel wird entweder gar nicht mehr oder doch so undeutlich wahrgenommen, daß es unmöglich ist, ein Urteil über die Beschaffenheit desselben zu gewinnen. Das Verhältnis wird sofort anders, wenn ein Schwarm von Vögeln in derselben Entfernung sich bewegt. Nicht allein fällt die größere Menge sofort ins Auge, sondern es erkennt auch ein geübter Blick an der Gestalt des Schwärms und an den Gesamtbewegungen desselben die Art, welcher die den Schwarm bildenden Einzelpersonen angehören. In derselben Weise ließen sich noch andere Eigenschaften der Gesamtmenge auf diejenigen der konstituierenden Teile zurückführen. Genau ebenso liegen nun aber auch die Verhältnisse in unserem Falle bei den von Mikroorganismen gebildeten Schwärmen und Kolonien, nur daß hier das unbewaffnete Auge in den meisten Fällen auch die Eigenschaften des Schwärms nicht mehr hinreichend zu erkennen vermag und sich dazu einer mäßigen Vergrößerung, des Mikroskops, bedienen muß. Mit Hilfe des Mikroskops lassen sich aber auch die in Farbe, Größe, Gestalt usw. hervortretenden Eigenschaften der einzelnen Kolonien so deutlich wahrnehmen, daß es leicht ist, die den verschiedenen Arten angehörigen Kolonien zu unterscheiden. So sind beispielsweise Milzbrandbazillen und Heubazillen in Gelatinekulturen gar nicht miteinander zu verwechseln. Die Milzbrandbazillen sind niemals beweglich und bilden immer aus langen wellen- und lockenförmigen oft umeinandergedrehten Fäden bestehende Flocken. Die Heubazillen dagegen sind nur in ganz jungen Kolonien zu längeren Fäden ausgewachsen, sobald sie sich weiter entwickeln und, was regelmäßig der Fall ist, dabei die Gelatine verflüssigen, dann sieht man sie nur in Form von lebhaft beweglichen Stäbchen den Innenraum der Kolonie erfüllen und am Rande derselben in ganz regelmäßigen, senkrecht gegen die Peripherie gerichteten Massen sich in die noch feste Gelatine einbohren, so daß die Kolonie so aussieht, als sei sie von einem Strahlenkranze umgeben. Es gibt das ein so charakteristisches und von dem der Milzbrandkolonie so weit verschiedenes Bild, dass man die einen Bazillen sowohl als die anderen sofort an den geschilderten Kennzeichen unter allen anderen Mikroorganismen wieder erkennen kann. Andere Bazillen zeigen noch wieder andere Formen; die beweglichen bilden meistens kranzartige Figuren ähnlich denen des Heubazillus, aber von diesem durch die Gestalt und Breite des Strahlenkränzes verschieden. Noch andere Bazillen bilden Kolonien, die wie ein weitausgreifendes, vielfach verschlungenes Wurzelgeflecht aussehen; bei den Desinfektionsversuchen erhielten wir einen der Hitze am längsten Widerstand haltenden Bazillus, der von ziemlich plumper Form ist und auf der Gelatine flach ausgebreitete Kolonien bildet, in denen die einzelnen Bazillen mosaikartig dicht nebeneinander gelagert sind, also keine Scheinfäden bilden und auch keine Bewegung zeigen. Damit ist die Reihe der verschiedenen Bazillenformen aber noch lange nicht erschöpft, es würde nur zu weit führen, wenn ich alle die von mir bis jetzt beobachteten Arten aufzählen wollte, und wieviele mag es noch außerdem geben. Noch zahlreicher sind die verschiedenen Formen der Mikrokokkenkolonien von einfachen, farblosen, kugelförmigen Gebilden, fein- bis grobkörnigen, bis zu bräunlich, rötlich, gelb, weiß usw. gefärbten, schraubenförmig gewundenen oder blattähnlich gelappten, ausgebreiteten Massen. Leicht kenntlich sind die Häufchen der Sarcinae, die ebenfalls in mehreren, an Größe verschiedenen Arten auftritt. Ganz ähnlich wie diese verhalten sich auch die Hefearten. Die Pilze lassen sich sehr leicht an den auf der Gelatine in voller Üppigkeit zur Entwicklung kommenden Fruktifikationsorganen voneinander unterscheiden. (Vgl. Taf. XIV, Fig. 54.) Wenn Bakterienkolonien im Innern der Gelatine liegen, treten ihre besonderen Eigenschaften nicht so deutlich hervor, als

wenn sie sich ganz ungehindert und im Kontakt mit der Luft an der Oberfläche der Gelatine entwickeln können. Es ist deswegen auch ratsam, nur die an der Oberfläche befindlichen Kolonien miteinander zu vergleichen und in der Tiefe liegende, über deren Zugehörigkeit man im Zweifel ist, auf die Oberfläche zu verimpfen und da wieder zur vollen Entwicklung kommen zu lassen.

Einige Beispiele von Gelatinekulturen sind unter den Photogrammen zu finden, auf deren Beschreibung am Schluß dieser Arbeit ich verweise.

Zahlreiche und oft lange Reihen von Reinkulturen habe ich mit pathogenen und nicht pathogenen Mikroorganismen auf gekochten Kartoffeln und Nährgelatine ausgeführt, und nicht ein einziges Mal ist es mir begegnet, daß einer dieser Organismen irgendwie erkennbare Veränderungen in seinen Eigenschaften hätte erkennen lassen. Sie behielten sämtlich, so oft sie auch untersucht und wenn sie monatelang in Reinkulturen erhalten wurden, ihre äußeren Kennzeichen sowohl als ihre physiologischen Eigenschaften, soweit sich dieselben feststellen ließen, von Anfang bis zum Ende der Beobachtung in ganz gleicher Weise. Auch wenn das Nährsubstrat zeitweilig verändert wurde, oder wenn die Zwischenzeiten der Weiterzüchtung das eine Mal möglichst lang und in einer anderen Reihe möglichst kurz genommen wurde, wenn in einer Reihe immer die Sporenbildung abgewartet, in einer anderen aber schon vor der Sporenbildung weiter geimpft wurde, so hatte das alles gar keinen Einfluß auf die Eigenschaften der gezüchteten Organismen. Es kamen selbstverständlich Verunreinigungen der verschiedensten Art vor. Aber wenn beispielsweise unter fünfzehn mit Milzbrandbazillen geimpften Impfstrichen einer Nährgelatine zwölf ganz rein zur Entwicklung kommen, in zweien sich neben den Milzbrandbazillen braune Mikrokokkenhaufen und in einem, aber auch nur an einer Stelle des langen Strichs, Heubazillen angesiedelt haben, und wenn außerdem an einzelnen von den Impfstrichen entfernten Stellen der Nährgelatine einige weitere Mikrokokkenhaufen, mehrere Heubazillenkolonien und Pilzmyzelien zur Entwicklung gekommen sind, dann wird doch niemand behaupten wollen, daß in dem einen Impfstrich und auch nur an einer Stelle desselben die Milzbrandbazillen sich ohne weitere Übergangsformen sofort in ganz veritable Heubazillen verwandelt hätten. Es würde eine solche Behauptung zu der Konsequenz führen, daß, weil alle übrigen Impfstriche sich unter den ganz gleichen Bedingungen befinden, man weiter schließen müßte, daß in den beiden mit Mikrokokken verunreinigten Strichen die Milzbrandbazillen sich unmittelbar in Mikrokokken umgewandelt und daß die frei und von den Impfstrichen entfernt entstandenen Mikrokokken-, Heubazillen- und Pilzkolonien durch *Generatio aequivoca* entstanden sein müßten. Zu dieser letzten Konsequenz wird man sich nun wohl am schwersten entschließen und wird sagen, daß die frei entstandenen Kolonien von Luftkeimen herrühren, die auf die Gelatine gefallen sind. Dann steht aber auch nichts der Annahme entgegen, daß sich ganz zufällig Mikrokokkenkeime auf zwei der Impfstriche und eine Heubazillenspore auf die eine Stelle des einen Impfstriches niedergelassen haben. Dies Beispiel ist keineswegs ganz ungewöhnlichen Verhältnissen entnommen, sondern ganz genau in der soeben geschilderten und in ähnlicher Weise kommen die Beimischungen fremder Organismen in den Reinkulturen vor. Deswegen ist auch der Einwand, den man gegen die Konstanz der Arten bei meinem Reinkulturverfahren erheben konnte, daß nämlich zur Weiterimpfung nur immer die besten und reinsten Impfstriche ausgesucht werden und daß es deswegen gar nicht zu einer Umwandlung der Art in eine andere kommen könne, nicht stichhaltig. Denn bei meinem Verfahren werden ja nur die schon durch ihre größeren Eigenschaften kenntlichen, von den reingezüchteten durch eine weite Kluft getrennten Arten ferngehalten, und wenn ganz allmäßliche Übergänge von einer Art zu einer anderen vorkämen, dann würde man dieselben, da sie doch nur minimal sein können, nicht mehr deutlich wahrnehmen,

und unzweifelhaft auch diese minimal veränderten Organismen weiterimpfen, und schließlich, ohne es abwenden zu können, die morphologisch abgeänderte Art erhalten. Der Umzüchtung in eine physiologisch verschiedene Varietät würde mein Verfahren auch nicht das geringste Hindernis entgegensetzen, da die Auswahl beim Weiterzüchten nicht nach physiologischen, sondern nach morphologischen Kriterien stattfindet. Aber, ich wiederhole es, es ist mir weder eine morphologische noch physiologische Wandlung der Art bei meinen Versuchen vorgekommen.

In der Botanik und Zoologie ist es ein allgemein befolgter Grundsatz, alle belebten Wesen, die bis dahin unbekannt waren, genau zu beschreiben, zu benennen und vorläufig als selbständige Arten zu registrieren. Es hat sich allerdings bisweilen zugetragen, daß einzelne als selbständig angesehene Arten sich später als Formen herausgestellt haben, die dem Entwicklungskreise einer schon bekannten Art angehörten. Aber weit häufiger war es notwendig, bei genauerer Untersuchung und Anwendung feinerer Methoden und besserer Instrumente, daß eine Art, die bis dahin für eine einheitliche gehalten wurde, in mehrere zerlegt werden mußte. Von diesem bewährten und allgemein gültigen Grundsatze, alle neuen Formen, die in ihren Eigenschaften wesentlich voneinander abweichen, solange ihre Zusammengehörigkeit nicht unumstößlich nachgewiesen ist, auseinanderzuhalten, ist man merkwürdigerweise auf dem Gebiete der Mikroorganismen, namentlich auf demjenigen der Bakterien, vielfach abgewichen. Es begegnen uns vom Anfange der Bakterienforschung bis auf die neueste Zeit von H a l l i e r bis N a e g e l i und B u c h - n e r die Bestrebungen, die, wie doch nun einmal nicht abzuleugnen ist, in ihren Eigenschaften sehr verschiedenen Bakterien unbesehen in einen Haufen zusammenzuwerfen und eine einzige oder höchstens ein paar Arten daraus zu machen. Wenn es wirklich dermaleinst gelingen sollte, die Bakterienarten durch Überführung oder Umzüchtung von einer in die andere bekannte Form zu verwandeln, dann ist es doch gewiß immer noch an der Zeit, diese als zusammengehörig erwiesenen Formen in eine Art zusammenzufassen. Bis jetzt ist dieser Beweis noch nicht geliefert, und es liegt nicht der geringste Grund vor, in der Bakterienlehre von den Maximen der allgemeinen Naturforschung abzuweichen. Wenn auch anfangs einige Arten zuviel angenommen würden, so kann das der Wissenschaft keinen Nachteil zufügen, aber wenn von vornherein die Nützlichkeit und Notwendigkeit, die verschiedenen Formen der Bakterien zu erforschen und der Wissenschaft zugänglich zu machen, von der Hand gewiesen wird, so wird damit überhaupt aller weiteren Forschung und allem Fortschritte auf diesem Gebiete ein Riegel vorgeschoben, und das ist gewiß zum größten Nachteile für die Entwicklung dieser jungen und vielversprechenden Lehre. Die Wahrheit und Erkenntnis wird sich unzweifelhaft ebenso wie auf anderen Wissensgebieten auch hier zuletzt Bahn brechen und allen unhaltbaren Hypothesenkram über den Haufen werfen. Aber wie so oft, kann auch hier der wahre Fortschritt der nur auf der Bahn mühsamer und langsam fortschreitender Forschung sich bewegt, durch vielversprechende Theorien, die selbst die schwierigsten Probleme spielend zu lösen scheinen, eine Zeitlang in den Hintergrund gedrängt werden, und wenn auch der Wissenschaft daraus kein bleibender Nachteil erwächst, so kann doch die falsche Richtung dadurch großes Unheil anrichten, daß sie eine Zeitlang Einfluß auf einige der wichtigsten Gebiete der Gesundheitspflege gewinnt und ihre Lehren in die Praxis übersetzt werden.

Mir scheint es also ganz unverfüglich und nicht allein das, sondern das einzige Richtige zu sein, eine recht sorgfältige Sonderung aller uns bei unseren Untersuchungen begegnenden Mikroorganismen und insbesondere der Bakterien eintreten zu lassen und sich bezüglich der letzteren ganz streng an den Satz zu halten, daß alle diejenigen Bakterien, welche auf demselben Nährboden und unter übri-

g e n s g I e i c h e n V e r h ä l t n i s s e n d u r c h m e h r e r e U m z ü c h t u n g e n o d e r s o g . G e n e r a t i o n e n i h r e E i g e n s c h a f t e n , d u r c h w e l c h e s i e s i c h v o n e i n a n d e r u n t e r s c h e i d e n , u n v e r ä n d e r t b e i b e - h a l t e n , a u c h a l s v e r s c h i e d e n a n z u s e h e n s i n d , m a g m a n s i e n u n a l s A r t e n , V a r i e t ä t e n , F o r m e n , o d e r w i e m a n s o n s t w i l l , b e z e i c h n e n .

Bevor ich das Kapitel von der Reinkultur beschließe, will ich mich noch gegen einen Einwurf verwahren, der mir ganz gewiß nicht erspart bleiben wird. Es wird mir entgegengehalten werden, daß mein Reinkulturverfahren eigentlich gar nichts Neues und daß es schon eine alte bekannte Sache sei, Bakterien auf Kartoffeln und in Gelatine zu züchten. Das ist schon richtig. Es ist schon lange bekannt gewesen, daß einige Bakterien recht gut auf gekochten Kartoffeln wachsen, und man hat auch schon in Gelatine und in Hausenblasengallerte Bakterien gezüchtet, aber man ist sich der Vorteile, welche der feste Nährboden gewährt, nicht bewußt gewesen, denn die Hausenblase und Gelatine wurden in so geringer Menge zur Nährlösung genommen, daß sie nicht gelatinieren, nicht zum festen Nährboden werden konnten, oder wenn auch genügend Hausenblase in der Nährlösung vorhanden war, um zu erstarren, dann wurde die Reinkultur mit unreinem Material angefangen und außerdem die Kulturen in Brütwärme gehalten, bei der die Gallerte wieder flüssig werden mußte. Und wie wenig die bisher auf Kartoffeln angestellten Kulturen mit wirklichen Reinkulturen zu tun haben, das zeigen die W e r n i c h s e n Untersuchungen über *Micrococcus prodigiosus*, bezüglich deren ich auf die Arbeit von G a f f k y (vgl. diese Veröffentl.)<sup>1)</sup> verweise, in welcher dieselben eine eingehende Erörterung finden.

Das meinem Verfahren Eigentümliche besteht darin, daß es einen festen, womöglich durchsichtigen Nährboden verwendet, daß die Nährsubstrate möglichst variiert und den zu züchtenden Organismen angemessen gewählt werden, daß alle Vorsichtsmaßregeln zum Schutze gegen nachträgliche Verunreinigungen überflüssig sind, daß die Weiterzüchtung in einer größeren Zahl von Einzelkulturen ausgeführt wird, von denen nur die reingebliebenen zur Fortsetzung der Kultur dienen und daß schließlich eine fortwährende Kontrolle über die Beschaffenheit der Kulturen mit dem Mikroskop ausgeübt wird. Fast in jedem dieser einzelnen Punkte differiert also mein Verfahren von den bisher üblichen und namentlich auch von den oben erwähnten früheren Kartoffel- und Hausenblasekulturen.

---

Es lag sehr nahe, die vortrefflichen Eigenschaften der Nährgelatinen auch für andere einschlägige Untersuchungen zu verwerten und zwar überall da, wo es darauf ankommt, die Menge und die Arten der vorhandenen Mikroorganismen, z. B. in der Luft, im Wasser, Boden, an Verkehrsgegenständen, Lebensmitteln usw. kennen zu lernen.

**Luftuntersuchung.** Wie leicht die Luft ihre Bestandteile an die Nährgelatine abgibt und mit welcher Bequemlichkeit und Sicherheit Zahl und Art der entwicklungsfähigen Organismen, die sich auf die Nährgelatine niedergelassen haben, gewissermaßen abzulesen sind, davon wird jeder, der nur einige Gelatinekulturen gemacht oder gesehen hat, überzeugt sein. Es würde, um vergleichbare Zahlen zu gewinnen, nur erforderlich sein, einer Nährgelatine von einem bestimmten Oberflächengehalt beliebig große Quantitäten Luft so zuzuführen, daß letztere alle in ihr enthaltenen Keime an erstere abgeben müßte.

So einfach es anfangs erschien, diese Bedingung erfüllen zu können, so schwierig wurde doch die Ausführung. Es wurde zunächst versucht, Luft durch desinfizierte Watte

<sup>1)</sup> G a f f k y , Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1881, Bd. I., p. 80. D. Hrsgb. Koch, Gesammelte Werke.

vermittels eines Aspirators zu filtrieren und den mit dem Luftstaub beladenen Wattepfropf in flüssig gemachte Nährgelatine zu bringen, darin zu verteilen und vor dem weiteren Eindringen von Luftkeimen durch einen vollständig luftdichten oder nur staubdichten Verschluß zu schützen. Dieser Versuch gelang insofern, als die Bakterien- und Pilzkolonien gut zur Entwicklung kamen, aber im Innern der Gelatine und von den Fasern des Baumwollenpfropfs hin und wieder verdeckt, bei weitem nicht das schöne und übersichtliche Bild gewährten, wie die an der Oberfläche einer Nährgelatine aus spontan abgelagerten Keimen entstandenen Kolonien. Deswegen wurde dieses Verfahren vorläufig wieder aufgegeben. Es würde sich indessen, wenn es auch für allgemeine Luftuntersuchungen nicht recht passend zu sein scheint, für gewisse Fälle, wenn beispielsweise innerhalb eines kurzen Zeitraums ganz bestimmte Quantitäten Luft untersucht werden sollen, verwenden lassen. Dann wurde nach dem Vorgange von anderen bekannten Luftuntersuchungsmethoden die durch den Aspirator angesogene Luft gegen einen Tropfen Glyzerin oder eine mit Glyzeringelatine bestrichene Glasplatte geleitet und der Glyzerintropfen oder die Glyzeringelatine mit soviel Nährgelatine vermischt, daß, wie Vorversuche ergeben hatten, die Menge des beigemischten Glyzerins keinen nachteiligen Einfluß auf die Nährgelatine ausüben konnte. Andere zu gleicher Zeit über den Einfluß des Glyzerins auf Mikroorganismen angestellte Versuche lehrten aber, daß das Glyzerin auf Sporen von Bazillen und Pilzen und auf Hefe nicht nachteilig wirkt, aber viele nicht in einem Dauerzustande befindliche, frisch getrocknete und noch entwicklungs-fähige Bakterien schon nach ziemlich kurzer Zeit tötet. Man erhält daher in der Nährgelatine fast nur Pilz-, Hefe- und Bazillenkolonien. Eine richtige Auskunft über den Gehalt der Luft an Entwicklungsfähigen Organismen erhält man auf diesem Wege also nicht, weil eine Anzahl derselben, ehe sie in Verhältnisse gebracht werden, in denen sie sich entwickeln könnten, vernichtet werden. Außerdem gewann ich den Eindruck, als ob von dem starken Luftstrom, der hier zur Anwendung kommen muß, viele Staubteile und Keime an dem Glyzerin oder der Glyzeringelatine vorbeigerissen und nicht an dieselbe abgegeben werden, denn gleichgroße Quantitäten Luft, zur selben Zeit und an demselben Orte durch Watte filtriert, ließen, ganz abgesehen von den durch das Glyzerin möglicherweise vernichteten Mikrokokken, viel mehr Pilzmyzelien und Bazillenkolonien zur Entwicklung kommen. Ferner wurde versucht, den Luftstrom unmittelbar gegen die Gelatine zu leiten. Wenn dies mittels eines engen Rohres geschah, dann vertrocknete die Gelatine an ihrer Oberfläche gegenüber der luftzuführenden Öffnung und es konnten dann natürlich keine Staubteile mehr haften. Aber auch bei einer möglichst weiten Öffnung gab die Luft nur wenige Keime an die Gelatineoberfläche ab, wie Kontrollversuche zeigten, und es konnte auch von dieser Einrichtung kein Gebrauch gemacht werden.

Die mangelhaften Erfolge, die ich mit dem mehr oder weniger schnell bewegten Luftstrom gehabt hatte, brachten mich darauf, die Bestandteile der Luft sich aus einer wenig oder gar nicht bewegten Luftsicht absetzen zu lassen. Bis zu einem gewissen Grade konnte man dabei, wenn der ruhenden Luftsicht eine nicht zu geringe Höhe gegeben wurde, auf gleiche Luftmengen rechnen, die innerhalb eines gleichen Zeitraumes ihre festen Bestandteile auf die Nährgelatine herabfallen lassen. Es war allerdings notwendig, das Gefäß, in dem sich die Nährgelatine befindet, so einzurichten, daß ähnlich wie bei den früher geschilderten Objektträgerkulturen die Oberfläche der Gelatine unmittelbar unter das Mikroskop gebracht werden konnte, ohne daß die auf ihr befindlichen Kolonien dabei beschädigt wurden.

So entstand ein zwar sehr einfacher, aber, wie mir scheint, auch sehr leicht zu handhabender und für gewöhnliche Untersuchungen ausreichender Apparat. Derselbe ist

folgendermaßen eingerichtet. Am Boden eines zylindrischen Glasgefäßes von 6 cm Durchmesser und 18 cm Höhe befindet sich die zur Aufnahme der Nährgelatine bestimmte flache Glasschale von 1 cm Höhe (ohne die Dicke des Bodens) und 5,5 cm Durchmesser. Um diese Glasschale zum Einfüllen der Gelatine und zur mikroskopischen Prüfung der Kulturen aus dem Zylindergefäß bequem herausheben zu können, dient ein rechtwinklig gebogener schmaler Blechstreifen, auf dessen kurzen im Zylindergefäß quer gerichteten Schenkel die Glasschale gestellt wird und vermittels desselben leicht herauf und hinunter bewegt werden kann. Für fortlaufende Luftuntersuchungen ist eine nicht zu geringe Anzahl solcher Gefäße, mindestens zwanzig, erforderlich. Mit einem festen großen Wattepfpfropf wird das Zylinderglas, in welches die gut gereinigte Glasschale und der Blechstreifen eingesetzt sind, verschlossen und ein bis zwei Stunden lang einer Temperatur von 150° C ausgesetzt. Nach dem Abkühlen wird unter möglichst kurzer Lüftung des Wattepfpfropfes die Glasschale mit Hilfe des Blechstreifens bis an den Rand des Zylindergefäßes gehoben und mit sterilisierter Nährgelatine 0,5 cm hoch gefüllt, wieder hinabgelassen und das Gefäß mit dem Wattepfpfropf sogleich geschlossen. Wenn hierbei auch schon einzelne Keime aus der Luft des Arbeitsraumes in die Gelatine geraten sollten, dann sinken sie unter und kommen nicht, wie die später auf der erstarrten Fläche abgelagerten Keime, auf der Gelatine, sondern im Innern derselben zur Entwicklung. Nachdem die Gelatine erstarrt ist, kann der Apparat sofort benutzt werden. An dem Orte, wo die Luft untersucht werden soll, wird der Wattepfpfropf abgenommen und so aufbewahrt, daß er inzwischen nicht verunreinigt wird; am einfachsten steckt man ihn in ein zweites in Reserve gehaltenes desinfiziertes Zylindergefäß. Das Gefäß mit der Nährgelatine bleibt nun eine bestimmte Anzahl Stunden, z. B. 5, 10, 12 oder 24 Stunden offen stehen. Dann wird es durch seinen Wattepfpfropf wieder geschlossen, damit keine weiteren Keime hineingelangen können und bis zur vollständigen Entwicklung der Kolonien in einer Temperatur von 20 bis 25° C gehalten. Schon nach 24 bis 30 Stunden zeigen sich auf der Gelatine die ersten kleinen Kolonien in Gestalt von Tröpfchen oder weißlichen kreisrunden Flecken. Am zweiten Tage ist die Entwicklung meistens schon soweit vorgeschritten, daß die mikroskopische Untersuchung und mit Hilfe einer Lupe die Zählung der einzelnen Kolonien vorgenommen werden kann. Später darf dies nicht geschehen, weil sonst die Kolonien zu groß werden und teilweise zusammenfließen. Die Beschaffenheit der Gelatine ist für ein kräftiges Wachstum so verschiedener Keime, wie sie die Luft mit sich führt, von wesentlicher Bedeutung, weil sie zu gleicher Zeit den Schimmel- und Sproßpilzen, sowie den Bakterien einen günstigen Nährboden abgeben soll. Bei einem gleichzeitig mit einer Reihe verschiedener Nährgelatinen angestellten Versuch schien es mir, als ob eine mit Weizeninfus bereitete Gelatine sich am besten für die Luftuntersuchung eignen möchte, denn auf dieser kamen die verschiedenen Kategorien der Mikroorganismen am gleichmäßigsten zur Entwicklung. Doch würde ich es für zweckmäßig halten, wenn es nicht an Zeit und Arbeitskräften fehlt, möglichst verschiedene Nährsubstrate, z. B. gekochte Kartoffel, Pflaumeninfus-Gelatine, Blutserum-Gelatine, Weizeninfus-Gelatine in verschiedenen Gläsern zu gleicher Zeit dem Einfluß der Luft auszusetzen. Legt man nur auf den Nachweis von pathogenen Organismen Wert, z. B. bei der Untersuchung von Luft in Krankenzimmern, dann ist Fleischinfus-Pepton-Gelatine und ganz besonders Blutserum-Gelatine zu verwenden.

Mit Weizeninfus-Gelatine habe ich im Laufe des letzten Winters einige Wochen hindurch ziemlich regelmäßige Luftuntersuchungen angestellt, um mich von der Brauchbarkeit der Methode zu überzeugen und über das Vorkommen von Entwicklungsfähigen Keimen in der Luft einigermaßen zu orientieren. Die bis jetzt geübten Verfahren der Luftuntersuchung mit Filtrieren durch Watte, Aspiration gegen einen Glyzerintropfen

usw. geben über die Menge der staubförmigen Bestandteile der Luft ziemlich genaue Auskunft, auch gröbere Keime, wie Pilzsporen, lassen sich der Zahl nach bestimmen, aber die Zahl der entwickelungsfähigen Keime in der Luft konnte bis jetzt keine Untersuchungsmethode feststellen. Bis zu einem gewissen Grade leistet dies mein Verfahren ganz unzweifelhaft. Es läßt sich allerdings nicht sagen, in wieviel Luft die auf der Nährgelatine abgelagerten Keime enthalten waren, aber im großen und ganzen wird in den einzelnen Versuchen immer ein ziemlich gleichgroßes Quantum von Luft, auch wenn der Apparat im Freien bei mehr oder weniger bewegter Luft aufgestellt ist, seine staubförmigen Teile auf die Gelatine herabfallen lassen, weil der Glaszyylinder so hoch ist, daß in dem unteren Teile desselben die Luft immer als ruhend angenommen werden kann. Bei den obenerwähnten Versuchen, die, wie gesagt, nur als Orientierungsversuche gelten sollen, stellte sich heraus, daß in meinen Arbeitsräumen sehr viel weniger Bakterienkeime, aber mehr Schimmelpilzsporen als in der freien Luft, die vor einem nach dem Garten der Tierarzneischule gehenden Fenster untersucht wurde, sich befanden. In einem Sammlungszimmer, das zurzeit, als die Gläser mit Nährgelatine aufgestellt waren, wenig betreten wurde, fanden sich noch erheblich weniger Bakterien und Pilze als in den Arbeitsräumen; ganz vereinzelte Pilzmyzelien und wenige Bakterienkolonien hatten sich in einem Glase entwickelt, das in einem Schrank mit nicht fest geschlossener Tür drei Tage lang geöffnet gestanden hatte; dagegen waren auf Gelatine, die neben den Behältern der Versuchstiere aufgestellt gewesen war, fast ebensoviel Pilze und Bakterien gewachsen, wie auf der freien Luft ausgesetzten. Die freie Luft aber enthielt selbst im Winter soviel entwicklungsfähige Keime der verschiedensten Mikroorganismen, daß nach 24 stündigem Öffnen der Gläser sich oft weit über hundert Einzelkolonien auf der Gelatine gebildet hatten und letztere wie dicht besät mit Tröpfchen und kleinen Flecken aussah, nachdem die Entwicklung in Gang gekommen war. Auch bei nur 12 stündigem Öffnen der Gläser schwankte die Zahl der Kolonien noch zwischen vierzig und achtzig, also immer noch zuviel für eine schnelle Übersicht und für die weitere Untersuchung der einzelnen Kolonien. Hiernach scheint es mir am zweckmäßigsten zu sein, die Gläser nur 4 bis 6 Stunden zu öffnen und in sehr verunreinigter Luft vielleicht noch kürzere Zeit.

Bei einer regelrechten Untersuchung der aus der Luft erhaltenen Organismen hätten dieselben in Reinkulturen weitergezüchtet und auf ihre pathogenen und sonstigen Eigenschaften geprüft werden müssen. Dazu fehlte es mir damals an Zeit und ich behalte mir nach dieser Richtung hin sich erstreckende Untersuchungen für spätere Zeit vor.

**Bodenuntersuchung.** Sehr viel einfacher gestaltet sich die Untersuchung von Bodenproben auf ihren Gehalt an entwicklungsfähigen Keimen. Es bedarf dazu keiner besondern Vorbereitungen. Die Probe wird strichweise und so, daß die einzelnen Partikelchen nicht zu gehäuft liegen, auf Objektträgern, die einen Überzug von Nährgelatine haben, ausgestreut. Soll das nachträgliche Eindringen von Luftkeimen ganz ausgeschlossen werden, dann müßte eine ähnliche Vorrichtung oder dieselbe, wie bei der Luftuntersuchung angegeben ist, gebraucht werden. Übrigens ist eine Verwechslung der mit der Erde ausgesäten Keime mit später daraufgefallenen kaum möglich, weil die aus ersteren entstehenden Kolonien stets ihren Ausgangspunkt von den Sandkörnern und Erdbrocken nehmen. Auch für diese Untersuchungen ist eine Nährgelatine von Weizeninfus oder Fleischinfus mit Peptonzusatz besonders geeignet. Eine zwar nicht große Zahl von Bodenproben, die ich bisher auf ihren Gehalt an Mikroorganismen prüfen konnte, die aber ziemlich gleichmäßige Resultate gab, läßt darauf schließen, daß die oberen Erdschichten ganz außerordentlich reich an Bakterienkeimen sind. Auffallenderweise sind dies vorwiegend Bazillen. In ganz frisch entnommener Erde finden sich daneben auch Mikro-

kokken, aber fast immer in der Minderzahl. In Erdproben, die stark verunreinigten Stellen, z. B. einem mit Düngerjauche imprägnierten Orte entnommen waren, übertrafen die Mikrokokken an Zahl die Bazillen und es traten auch Schimmelpilze auf; das ist aber nur ein lokales Vorkommen. Die Bazillen dagegen scheinen in den oberen Kulturschichten von bewohnten Gegenden und überall, wo Garten- und Ackerbau getrieben wird, ganz konstant und immer in großer Menge vorzukommen; sie fanden sich in Erde aus dem Tierarzneischulgarten in Berlin ebenso reichlich als in der Erde eines nicht mehr benutzten Begräbnisplatzes und in Bodenproben von Gärten und Äckern, die weit von dicht bevölkerten Stellen entfernt liegen. Wenn man die Erdproben einige Wochen lang austrocknen läßt, dann verschwinden auch die wenigen Mikrokokken in den Kulturen und es bleiben nur noch die Bazillen und zwar ebenso reichlich als vor dem Trocknen. Da es bekannt ist, daß die nicht in Dauerformen übergegangenen Mikroorganismen sich in getrocknetem Zustande nicht lange Zeit lebensfähig erhalten, so läßt sich aus jener Erscheinung schließen, daß, während die Mikrokokken durch das Ein trocknen zugrunde gingen, sich die Bazillen in Dauerformen, d. h. als Sporen in der Erde befinden mußten. Diese Annahme wird auch dadurch bestätigt, daß die Bazillenkeime in der Erde, wie es sich bei den Hitzedesinfektions-Versuchen vielfach zeigte, hohen Hitzegraden, welche nur von Sporen überstanden werden, Widerstand leisteten. Es ist mir sehr wahrscheinlich, daß, weil in der Erde nur Sporen und keine oder nur sehr wenige Bazillen sich vorfinden, diese Sporen nicht an dem Orte entstanden sind, wo sie gefunden werden, sondern mit wirtschaftlichen Abfällen, Dungstoffen und Produkten der Fäulnis und Zersetzung in die Erde gelangten; teilweise mögen sie auch mit dem Luftstaub von Verkehrsstätten, wo sie sich bilden könnten, weit weggetragen, auf der Erde abgelagert und mit den oberen Schichten derselben vermischt sein. Vorwiegend fanden sich in der Erde die schon früher erwähnten, auf der Nährgelatine wurzelgeflechtnähliche Kolonien bildenden Bazillen und Heubazillen, außerdem aber mehr oder weniger zahlreich noch ungefähr sechs bis acht andere wohlcharakterisierte Bazillenarten.

Eine sehr auffallende Tatsache konnte ich, ebenfalls aber nur auf wenige Untersuchungen gestützt, konstatieren, so daß ich vorläufig die Allgemeingültigkeit derselben nicht behaupten möchte. Es zeigte sich nämlich, daß der Reichtum an Mikroorganismen im Erdboden nach der Tiefe zu sehr schnell abnimmt und daß kaum einen Meter tief der nicht umgewühlte Boden fast frei von Bakterien ist. Selbst inmitten von Berlin habe ich in Erdproben, die frisch aufgeworfenem Baugrunde entnommen waren, in Tiefe von einem Meter keine Bazillen und nur ganz vereinzelte Kolonien von sehr kleinen Mikrokokken nach der Aussaat auf Nährgelatine erhalten. In einem Falle stammte die Erde von einem unmittelbar neben der Panke in der Philippstraße aufgeföhrten Neubau aus zwei Meter Tiefe, im Niveau des Pankwassers und kaum zwei Meter von demselben entfernt, und auch diese Probe zeigte sich ganz außerordentlich arm an Mikroorganismen. Meine Untersuchungen sind allerdings, was wohl zu berücksichtigen ist, nur im Winter gemacht. Im Sommer könnten die Verhältnisse möglicherweise anders liegen. Doch müßten, wenn nach der jetzt überall gültigen Annahme im Grundwasser und den diesem benachbarten Erdschichten ein reges Leben von Mikroorganismen, und wenn auch nur im Sommer, stattfindet, die Dauerformen dieser Organismen daselbst zurückbleiben und sich, ebenso wie sie in den oberen Schichten leicht nachzuweisen sind, auch in den unteren selbst im Winter auffinden lassen. Da das aber nicht der Fall ist, so scheint es mir überhaupt fraglich, ob in den tieferen Bodenschichten viele Mikroorganismen existieren.

**Wasseruntersuchung.** Die Untersuchung von Wasser mit Hilfe der Nährgelatine bietet gleichfalls keine Schwierigkeiten. Man mischt ein bestimmtes Quantum des zu

untersuchenden Wassers mit entsprechend vieler Nährgelatine, die flüssig gemacht ist, schließt das Gefäß sofort mit desinfizierter Watte und läßt die im Innern der Nährgelatine zur Entwicklung kommenden Kolonien so groß werden, daß sie mit dem Mikroskop gut zu erkennen sind und daß von denselben Proben zum Weiterzüchten genommen werden können. Mit Rücksicht auf dieses letztere Erfordernis ist es zweckmäßig, die Mischung in einem flachen Gefäß vorzunehmen und erstarren zu lassen, um die einzelnen Kolonien möglichst ausgebrettet und leicht mit einer Präpariernadel erreichbar zu erhalten. Auch ist es vorteilhaft, eine möglichst klare und ungefärbte Nährgelatine, z. B. Weizeninfus-Gelatine, zu verwenden, weil es bei dieser Untersuchung gar nicht zu umgehen ist, daß sich die Kolonien innerhalb der Gelatine entwickeln. Was die Menge des zuzusetzenden Wassers betrifft, so habe ich bei einzelnen Wasserproben mit 1 ccm Wasser auf 10 ccm Nährgelatine nur sehr vereinzelte Bakterienkolonien erhalten; in anderen waren die Mikroorganismen, darunter namentlich aus ganz kurzen Stäbchen, also den eigentlichen Bakterien gebildete Kolonien und viele Schimmelpilzmyzelien, so massenhaft, daß sie nicht mehr übersichtlich waren und das Wasser auf das 10- bis 20 fache mit sterilisiertem Wasser verdünnt werden mußte, um brauchbare Kulturen zu gewinnen.

**Staubuntersuchung.** Ein sehr interessantes Untersuchungsobjekt für Gelatinekulturen ist der Staub. Anfangs glaubte ich aus demselben eine Musterkarte von allen möglichen durch die Luft verschleppten Mikroorganismen erhalten zu können, wurde aber bald gewahr, daß die Wirklichkeit meinen Erwartungen nicht entsprach. Aus frisch abgelagertem Staub entwickeln sich allerdings noch ziemlich viel Pilzmyzelien und einzelne Bazillen, aber im Verhältnis zu den unmittelbar aus der Luft auf die Gelatine gelangten zahlreichen Keimen schon ziemlich wenig Mikrokokken. Alter Staub dagegen, der im Innern von Möbeln oder in ganz abgelegenen Winkeln sich ansammelte, läßt auf Nährgelatine fast nur Pilzmyzelien und ziemlich viele Bazillen zur Entwicklung kommen. Also auch hier bestätigt es sich wieder, daß die große Mehrzahl der Luftkeime ziemlich schnell im eingetrockneten Zustand abstirbt, und daß nur die Dauerformen der Pilze und Bazillen, ganz besonders aber die der letzteren, lebensfähig bleiben und sich allmählich anhäufen.

**Untersuchung verschiedener Objekte.** Es bedarf nur eines kurzen Hinweises, daß in gleicher oder ähnlicher Weise wie Luft, Wasser, Boden, Staub auch die verschiedensten anderweitigen Objekte auf ihren Gehalt an entwicklungsfähigen Mikroorganismen geprüft werden können. Das Arbeitsfeld, welches durch dieses neue Untersuchungsverfahren eröffnet wird, ist ein so großes, daß es sehr wünschenswert ist, wenn es von recht vielen Kräften in Angriff genommen würde. Außer regelmäßigen und gründlichen allgemeinen Luft-, Wasser- und Bodenuntersuchungen mit besonderer Berücksichtigung des Grundwassers und Regenwassers an recht vielen verschiedenen Orten und zu verschiedenen Zeiten, wäre es notwendig, Spezialuntersuchungen über Luft in bewohnten und unbewohnten Räumen, Schulzimmern, Krankenzimmern, Leichenhäusern, Arbeitsräumen, namentlich in solchen, welche überfüllt sind oder wo leicht zersetzbare und fäulnisfähige Substanzen verarbeitet werden, usw. auszuführen. Ferner würde Mauerwerk, Holzwände, Tapeten, Kleidung, alle möglichen Verkehrsgegenstände, Geld, besonders auch Nahrungsmittel, z. B. Milch, Wurst (mit Rücksicht auf die in letzter Zeit wieder häufigeren Fälle von Wurstvergiftung), kurz alles, was als Aufenthaltsort oder Träger von pathogenen Mikroorganismen dienen kann, auf seinen Gehalt an letzteren zu untersuchen sein.

### Beschreibung der Photogramme.

Auf einige bei der Betrachtung und Beurteilung der Photogramme zu berücksichtigende Punkte habe ich vorher aufmerksam zu machen.

Der Mikroskopiker setzt, während er ein Objekt betrachtet, fast unaufhörlich die Mikrometerschraube in Bewegung, bald nähert er den Tubus, bald entfernt er denselben von dem ins Auge gefaßten Punkt und erhält dadurch in rascher Folge nicht allein den Gesichtseindruck des fraglichen Gegenstandes und alles dessen, was mit diesem in derselben Ebene liegt, sondern er orientiert sich sofort noch über das, was unmittelbar darüber und darunter liegt. Auf diesen Vorteil muß die Photographie verzichten; denn das photographische Bild kann immer nur eine einzige sehr dünne Schicht des Präparates wiedergeben. Was genau in dieser Ebene liegt, erscheint mit scharfen Umrissen, alles andere, je nachdem es mehr oder weniger von der scharf eingestellten Ebene entfernt ist, undeutlich, noch weiterhin sieht es verschwommen aus und die in der Richtung der Mikroskopachse am weitesten von dem fixierten Punkt gelegenen Gegenstände erzeugen im Bilde nur noch einen Schatten. Je stärker die Vergrößerung ist, um so mehr macht sich das geltend. Auf den ersten Blick erscheint deswegen das photographische Bild von Präparaten, die eine gewisse Dicke haben, also von allen Gewebsschnitten, etwas fremdartig. Es befinden sich darin viele Gegenstände mit undeutlichen Umrissen, dann Schatten, die gar nicht erkennen lassen, woher sie entstanden sind. Es sind dies die nicht in der eingestellten Ebene gelagerten Kerne, Bakterienhaufen usw., denen man weiter keine Beachtung zu schenken hat. Nur die Stellen des Photogramms sind ins Auge zu fassen, die scharf eingestellt gewesen sind. Oft ist es nur eine kleine Gruppe von Bakterien, welche zu gleicher Zeit in eine Gesichtsebene zu bringen waren; diese wenigen Individuen genügen aber vollkommen, um die Größenverhältnisse, Gruppierung usw. zu kennzeichnen. Um übersichtliche Bilder von der Lagerung der Bakterienkolonien im Innern von Organen zu gewinnen, sind schwächere Vergrößerungen, am besten hundertfache geeignet.

Bei dieser Gelegenheit will ich noch einmal in Erinnerung bringen, daß Zellkerne sowohl wie Bakterien nicht das gleiche Aussehen haben, wenn sie diffus am Deckglas gefärbt oder mit der Kernfärbung behandelt sind. Besonders auffallend ist dies bei den Milzbrandbazillen, die bei Kernfärbung in Gewebsschnitten ein wesentlich anderes Bild geben, als am Deckglas. Vergleiche kann man auf den Photogrammen also auch nur an solchen Bakterien anstellen, die in gleicher Weise präpariert und gefärbt sind. Um übrigens die so notwendigen vergleichenden Beobachtungen der pathogenen Bakterien zu erleichtern, habe ich fast durchweg gleichstarke Vergrößerungen gewählt. Die Übersichtsbilder sind bei hundertfacher, die stark vergrößerten bei siebenhundertfacher Vergrößerung aufgenommen. Noch stärkere Vergrößerungen gewähren, wie mir vielfache Versuche gezeigt haben, keinen Nutzen, da bekanntlich die Grenze des Leistungsvermögens unserer besten Systeme ungefähr bei der angegebenen Vergrößerung erreicht ist.

Die Photogramme sind sämtlich mit Seibert'schen Objektivsystemen aufgenommen; die schwächsten Vergrößerungen mit dem photographischen Objektiv 1 Zoll, die hundertfach vergrößerten mit dem photographischen Objektiv  $\frac{1}{4}$  Zoll und die siebenhundertfach vergrößerten mit dem Immersionssystem VII.

Bei der Vorbereitung für den Lichtdruck, die in Entfernung des Negativlacks und Übertragung des Negativs auf Gelatinefolie bestand, sind manche Negative beschädigt, einzelne haben auch an der ursprünglichen Schärfe etwas eingebüßt. Diese und andere Fehler, die beim photographischen Verfahren niemals ganz zu vermeiden sind und vom Fachphotographen durch Retouche verbessert werden, habe ich mit Ab-

sicht vermieden. An sämtlichen Bildern ist auch nicht der allergeringste verbessern oder sonst wie abändernde Eingriff vorgenommen; sie entbehren jeder Art von Retouche und geben das unverfälschte und vollkommen naturgetreue Bild der Objekte wieder. Ich muß deswegen den Beschauer bitten, die hier und da, namentlich an den Ecken und Rändern der Bilder befindlichen Streifen, Flecken usw., die sich übrigens immer leicht als nicht zum eigentlichen Bild gehörig erkennen lassen, übersehen oder wenigstens für einen Beweis des rein objektiven Charakters der Bilder nehmen zu wollen.

Taf. VI, Fig. 1—6 und Taf. VII, Fig. 7—10. Diese zehn Photogramme beziehen sich sämtlich auf das Erysipelas des Menschen.

Bekanntlich ist schon von verschiedenen Forschern das Vorkommen von Mikrokokken in der erysipelatös veränderten Haut konstatiert. Zuerst von v. Recklinghausen und Lukomsky<sup>1)</sup>, dann von Billroth und Ehrlich<sup>2)</sup>, von Tillmanns<sup>3)</sup> und zuletzt von M. Wolff<sup>4)</sup>. Doch wurden die Mikrokokken von ihnen nicht in allen Fällen gefunden. Auch lauten die Angaben über den Fundort verschieden. Teils sollen die Mikrokokken in den Lymphgefäßen, teils in den Blutgefäßen sich befinden haben. Wolff weicht noch insofern von den anderen Autoren ab, daß er in Blutproben, aus dem Erysipelrande entnommen, neben Mikrokokken auch Stäbchenformen gefunden haben will. Im ganzen genommen herrscht also noch eine gewisse Unsicherheit über die Konstanz des Mikrokokkenbefundes. Inwieweit übrigens die Angaben von Wolff Beachtung verdienen, darüber habe ich mich im Texte dieser Arbeit schon ausgesprochen und verweise auf die betreffende Stelle<sup>5)</sup>.

Es bot sich mir die Gelegenheit, acht Fälle von Erysipelas zu untersuchen, davon drei an Leichen und fünf an Lebenden. Den Lebenden wurde ein kleines, ungefähr linsengroßes Stückchen Haut vom Erysipelrande und zwar da, wo der Prozeß im schnellsten Fortschreiten begriffen war, exzidiert. Den Leichen wurden die Hautstücke ebenfalls vom Rande des Erysipels wenige Stunden nach dem Tode entnommen. Die Hautstückchen kamen sofort nach der Exzision in absoluten Alkohol. In allen diesen Fällen wurden am Rande des Erysipels in den Lymphgefäßen und den benachbarten Bindegewebspalten Mikrokokken gefunden. In den leichten Fällen waren die Mikrokokken nur in spärlicher Zahl zwischen den Lymphzellen verteilt, so daß sie oft nur schwer zu finden waren und ohne die Anilinkernfärbung zweifellos gar nicht nachzuweisen gewesen wären. In zwei der tödlich verlaufenen Fälle waren die Mikrokokken in den Lymphgefäßen in großer Menge, sie lagen in dichtgedrängten Massen, zwischen denen keine Lymphzellen mehr zu erkennen waren, und die dadurch erzeugten Bilder glichen einigermaßen denen von Lukomsky, welcher nur tödliche Erysipelasfälle untersuchte. Die Mikrokokken waren in allen Fällen von gleicher Größe und gleicher Gruppierung, öfters kurze Ketten bildend. In den Blutgefäßen habe ich sie in keinem Falle von Erysipelas gesehen; auch vermißt man sie in den von Erysipelrande entfernten Lymphgefäßen. Wenn man sie mit Sicherheit treffen will, muß also der Rand untersucht werden. Stäbchenartige Gebilde, wie Wolff sie gefunden haben will, sind mir in keinem Falle zu Gesicht gekommen.

Die neun ersten Photogramme gehören ein und demselben Falle von ganz typischem Wunderysipel an. Kurz skizziert verhielt sich derselbe folgendermaßen: An einem schlecht geheilten Amputationsstumpf des Unterschenkels war eine Knochenresektion unter An-

<sup>1)</sup> Virchows Archiv, Bd. 60, p. 418.

<sup>2)</sup> Langenbecks Archiv, Bd. XX, p. 418.

<sup>3)</sup> Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft f. Chirurgie 1878, p. 211.

<sup>4)</sup> Virchows Archiv, Bd. 81, p. 193.

<sup>5)</sup> Diese Werke, p. 115, Anm. 2. D. Herausgeber.

wendung des antiseptischen Verfahrens gemacht. Am zweiten Tage trat Fieber ein und stieg am dritten Tage zu bedeutender Höhe. Der Lister'sche Verband wurde abgenommen. Die Operationswunde war in den oberen zwei Dritteln verklebt, zwischen den Rändern des unteren Drittels fand sich eine mäßige Menge gelblichen dünnen Eiters. Von letzterem wurden einige Tröpfchen auf Deckgläsern ausgestrichen und in Alkohol gelegt. Auch wurden einige Glaszellen (hohle Objektträger) mit demselben Eiter beschickt. Von der Operationswunde (in der Mitte des Unterschenkels) erstreckte sich bis dicht unterhalb des Knies dunkle Rötung und Schwellung der Haut, welche mit einem scharf abgeschnittenen Rande endigte. Am vierten Tage hatte sich das Erysipel bis oberhalb des Knies ausgebreitet und erreichte am fünften Tag die Grenze zwischen oberem und mittlerem Drittel des Oberschenkels. Jetzt wurde ein Hautstückchen vom Rande exzidiert und sofort in absoluten Alkohol gelegt. Das Erysipel schriff in den nächsten Tagen bis zur Kreuzgegend fort und hörte dann auf. Die Wunde heilte ebenfalls in der Folge ziemlich schnell. Fig. 1, 2, 3 der Taf. VI zeigen nun Schnitte aus jenem Hautstückchen bei 100 facher Vergrößerung. Nr. 1 liegt dicht vor dem roten Rande des Erysipels, Nr. 2 entspricht dem Rande und Nr. 3 liegt ungefähr 2—3 mm davon entfernt. Im oberen Teil der Bilder erscheint die infolge der plötzlichen Alkoholeinwirkung stark gerunzelte Epidermis, darunter in Nr. 1 die in geringem Maß von Kernen durchsetzte Kutis, in welcher einige zum Teil in der Längsrichtung vom Schnitt getroffene Lymphgefäß durch ihre Anfüllung mit Kernen auffallen. In Nr. 2 ist der Kernreichtum der Kutis schon erheblich stärker als in Nr. 1, und in Nr. 3 ist derselbe, wenigstens soweit der Schnitt sich in der Ebene der scharfen Einstellung befindet, sehr reichlich. Die Veränderung der Lymphgefäß vor dem Erysipelrand, wie Nr. 1 es zeigt, ließ schon vermuten, daß die Krankheitsursache hier schon zur unmittelbaren Wirkung gekommen sei, und in der Tat zeigen sich bei 700 facher Vergrößerung schon vereinzelte oder auch paarweise verbundene Mikrokokken in diesen Lymphgefäß. Nr. 6 gibt das auf Nr. 1 links befindliche lange Lymphgefäß zum Teil wieder und es sind schon in der einen Ebene, welche das Photogramm fixiert, eine nicht geringe Anzahl zwischen und neben den Kernen der Lymphkörperchen befindliche Mikrokokken zu sehen. Die Mikrokokken werden in den Lymphgefäß reichlicher, wenn die Erysipelgrenze, also die gerötete Hautpartie, untersucht wird. Nr. 7 auf Taf. VII (700×) zeigt ein solches fast quer durchschnittenes Lymphgefäß. An manchen Stellen wuchern die Mikrokokken in die benachbarten Bindegewebspalten hinein, wie auf Taf. VII, Nr. 8 und 9 (700×) zu sehen ist. Die dunklen Schatten am oberen Rande von Nr. 8 und 9 und an der rechten Seite von Nr. 7 der Taf. VII gehören der untersten Schicht des *Rete Malpighii* an. Es spielt sich der eigentliche Wachstumsprozeß der Mikrokokken bei leichteren Erysipelfällen also nur in den am oberflächlichsten gelegenen Lymphgefäß ab. Wie erwähnt, wurden am dritten Tage der Krankheit der Eiter zur weiteren Untersuchung an Deckgläsern ausgestrichen. Auf Taf. VI gibt Nr. 4 (700×) ein Bild desselben. Zwischen den Kernen der Eiterkörperchen liegen die paarweise, höchstens bis zu vier verbundenen Mikrokokken, welche in der Größe den in den weit von der Wunde entfernten Hautstückchen gefundenen vollständig gleichen. Taf. VI, Nr. 5 (700×) zeigt die in der Glaszelle zur Weiterentwicklung und Vermehrung gekommenen Mikrokokken des Eiters.

Taf. VII, Nr. 10. 700×. Schnitt aus der Haut eines an Kopferysipelas Verstorbenen. (Das Material verdanke ich Herrn Dr. Ehrlich). Reichliche Anhäufung von Mikrokokken in einem erweiterten Lymphgefäß. Rechts unten befindet sich der Querschnitt eines Blutgefäßes, welches ganz frei von Mikrokokken ist.

Taf. VII, Nr. 11. 100×. *Endocarditis ulcerosa*. Mikrokokkenhaltiges Gefäß im Herzmuskel. Geringe Kernansammlung in der Umgebung.

Taf. VII, Nr. 12. 700 ×. Die rechte Hälfte des in Nr. 5 abgebildeten Gefäßes. An den dünneren Stellen löst sich die dunkle Masse bei starker Vergrößerung in die einzelnen Mikrokokken auf.

Taf. VIII, Nr. 13. 100 ×. *Endocarditis ulcerosa*. Herzmuskel. Teilungsstelle eines Gefäßes durch Mikrokokken verstopft. Starke Kernanhäufung rund umher.

Taf. VIII, Nr. 14. 700 ×. *Endocarditis ulcerosa*. Mikrokokkenhaufen in einem Harnkanälchen. Vom Epithel des Harnkanälchens sind nur noch Reste am linken Rande vorhanden. In der Nachbarschaft befanden sich noch weitere mit Mikrokokken mehr oder weniger gefüllte Harnkanälchen, die sich um einen mit Mikrokokken dicht gefüllten und von denselben gesprengten Glomerulus grupperten.

Taf. VIII, Nr. 15 und 16. 100 ×. Schnitte aus der Niere von Menschenpocken. Gefäße mit Mikrokokken gefüllt.

Taf. VIII, Nr. 17. 700 ×. Menschenpocken. Leberkapillaren mit Mikrokokken.

Taf. VIII, Nr. 18. 700 ×. Menschenpocken. Nierenkapillare mit Mikrokokken.

Taf. IX, Nr. 19. 700 ×. Zahnspirochaeten. Zum Vergleich mit den daneben befindlichen Rekurrensspirochaeten.

Taf. IX, Nr. 20. 700 ×. Blut von einem Rekurrenkskranken, welches zur Impfung eines Affen diente.

Taf. IX, Nr. 21. 700 ×. Rekurrensspirochaeten in Knäuelform. Aus Indien. Nach einem von Dr. H. V. Carter aus Bombay erhaltenen Präparat<sup>1)</sup>. (In Glyzerinbraun eingelegt; deswegen erscheinen die roten Blutkörperchen fast farblos, während die anderen in Kanadabalsam eingelegten Deckglaspräparate von Rekurrens die roten Blutkörperchen dunkel gefärbt zeigen).

Taf. IX, Nr. 22. 700 ×. Rekurrensspirochaeten aus dem Blute des mit dem Blute Nr. 20 geimpften Affen. (Leider ging ein kräftigeres und weit schärferes Negativ von diesem Bilde bei der Präparation zugrunde und es mußte deswegen dieses nicht die volle Schärfe besitzende Bild als Ersatz genommen werden.)

Taf. IX, Nr. 23. 700 ×. Schnitt aus dem Gehirn des mit Rekurrensblut geimpften und auf der Höhe der Krankheit getöteten Affen. Zwei Kapillaren ziehen sich von oben nach unten. In der rechts befindlichen liegt eine der Längsrichtung des Gefäßes entsprechende, in der Mitte schwach geknickte Spirochaete. In solcher Ausdehnung, wie Nr. 5 die Spirochaete zeigt, bekommt man sie nur selten zu Gesicht, weil es ein Zufall ist, daß die Längsachse der Spirochaete vollständig in der Einstellungsebene liegt. Meistens sind nur einige Windungen der Spirocheaten einigermaßen deutlich zu sehen. Um von diesem, dem gewöhnlichen Bilde der Spirochaeten in Gewebsschnitten eine Vorstellung zu geben, soll

Taf. IX, Nr. 24. 700 ×, dienen; ebenfalls ein Schnitt aus dem Gehirn desselben Affen, und zwar vom Rande. Den unteren Teil des Bildes nimmt die dunkelgefärbte Hirnsubstanz ein, dann folgt eine hellere Partie, die *Pia mater*, innerhalb welcher ein größeres Gefäß quer durchschnitten ist. Die Ränder des Gefäßes erscheinen bei dieser Einstellung nur am linken unteren Rande einigermaßen deutlich. In der Nähe dieses unteren Randes befinden sich zwei schräg von unten rechts nach oben links verlaufende Spirochaeten, von denen 3 bis 4 Windungen deutlich zu unterscheiden sind.

Taf. X, Nr. 25. 100 ×. Schnitt aus der Leber von einem an Impfmilzbrand gestorbenen Kaninchen. Alle Kapillaren sind mit Milzbrandbazillen mehr oder weniger gefüllt.

Taf. X, Nr. 26. 700 ×. Aus demselben Präparat wie das vorhergehende Photogramm. Bei der stärkeren Vergrößerung erscheinen in dem die Leberzellen umspinnenden Kapillarnetz die einzelnen Milzbrandbazillen.

<sup>1)</sup> Vgl. p. 109—111. D. Herausgeber.

Taf. X, Nr. 27. 700 ×. Schnitt aus der Niere von einem milzbrandigen Karinchen. Glomerulus mit Milzbrandbazillen.

Taf. X, Nr. 28. 500 ×. Aus demselben Präparat wie das vorige. Bei der schwächeren Vergrößerung erscheint der mit Bazillen teilweise dicht gefüllte Glomerulus plastischer als der des vorhergehenden Photogramms.

Taf. X, Nr. 29 u. 30. 700 ×. Milzbrandbazillen aus der Milz einer an Impfmilzbrand gestorbenen weißen Ratte; neben dunkelgefärbten lebensfähigen befinden sich in demselben Bazillus abgestorbene Glieder, die sich dadurch auszeichnen, daß sie die Anilinfarben nicht mehr annehmen, etwas gequollen aussehen und fast den Eindruck machen, als wäre es eine ihres Inhalts beraubte Hülle.

Taf. XI, Nr. 31. 20 ×. Das eine Ende eines Seidenfadens, an welchem Milzbrandsporen angetrocknet waren und welcher 24 Stunden in einer konzentrierten wäßrigen Lösung von schwefliger Säure (11,436 Gewichtsprozent) gelegen hatte. Auf Nährgelatine gebracht, entwickelten sich die Milzbrandsporen trotz dieser Behandlung in der üppigsten Weise zu langen lockigen und vielfach verschlungenen Fäden und Fadenbündeln. Bei dieser schwachen Vergrößerung sind die einzelnen Fäden kaum zu erkennen und die sichtbaren Linien bestehen fast durchweg aus Fadenbündeln. Dies Photogramm gibt die höchst charakteristische Form, in welcher die bei den Desinfektionsversuchen so vielfach zur Verwendung gekommenen Milzbrandsporen auf Nährgelatine auswachsen, in ausgezeichneter Weise wieder.

Taf. XI, Nr. 32 und die übrigen Photogramme dieser Tafel sowie die drei ersten der nächsten Tafel verdanken ihren Ursprung einem Fall von Milzbrand beim Menschen, der in vielfacher Beziehung Interesse erweckt. In meinem früheren Wirkungskreise hatte ich nicht selten Gelegenheit, Milzbrandinfektion beim Menschen zu beobachten. Die Form, unter welcher die Krankheit auftrat, war fast immer eine erhebliche Schwellung und Rötung, welche von der im Gesicht, am Hals, am Vorderarm oder Hand gelegenen Infektionsstelle sich mehr oder weniger ausbreitete. Die Haut an der Infektionsstelle selbst war, wenn die Kranken ärztliche Hilfe suchten, meistens schon in weiter Ausdehnung gangränös, bisweilen mit blauroten oder schwärzlichen Blasen umgeben. Die Diagnose ließ sich mit Sicherheit nur durch den Nachweis der Milzbrandbazillen an der Infektionsstelle und durch die erfolgreiche Infektion von Versuchstieren feststellen. Ganz abweichend von diesen Milzbrandformen verhält sich der uns hier beschäftigende Fall. Bei einer kräftigen Viehmagd aus einem Orte, in welchem alljährlich der Milzbrand unter Schafen, nicht selten auch unter dem Rindvieh Verheerungen anrichtete, hatte sich im Laufe von acht Tagen in der oberen Sternalgegend aus einer kleinen Kratzwunde eine eigentümliche Geschwulst gebildet. Am einfachsten läßt sich die Gestalt dieser Geschwulst mit derjenigen einer Pocke, welche ganz ungewöhnliche Dimensionen angenommen hat, vergleichen. In der Mitte eine tiefe Depression von schwärzlicher Farbe, die von einem gelblichweiß gefärbten breiten Wulst umgeben ist. Letzterer hat eine ziemlich feste Konsistenz und ist strahlenförmig gefurcht; am äußeren Rande ist die Geschwulst noch von Epidermis bekleidet; nach innen zu hat sich die Epidermis abgelöst. Die dadurch bloßgelegte Geschwulstmasse sezerniert eine fast wasserklare Flüssigkeit in solcher Menge, daß dieselbe tropfenweise herabsickert. Die Größe der Geschwulst entsprach ungefähr derjenigen einer kleinen, mitten durchgeschnittenen Kartoffel. Diese in ihrem Aussehen ganz eigenartige Affektion erinnerte, zumal die Geschwulst gegen die nicht gerötete oder sonstwie veränderte Umgebung ganz scharf abgesetzt war, nicht im entferntesten an die bekannten Erscheinungen einer Milzbrandaffektion. Als nun aber etwas von der Substanz an der Oberfläche des Knotens abgeschabt und mikroskopisch untersucht wurde, zeigten sich neben zahlreichen anderen Bakterien, namentlich Mikrokokken,

ganz unverkennbare Milzbrandbazillen. Zur weiteren Sicherung der Diagnose wurde noch ein Kaninchen am Ohr und zwei Mäuse an der Schwanzwurzel mit der Geschwulstmasse geimpft. Die Kranke erschien übrigens sehr schwach, klagte über die heftigsten Schmerzen in der Brust und hatte eine Körpertemperatur von  $40,9^{\circ}\text{C}$ . Über den weiteren Verlauf kann ich mich kurz fassen. Der Knoten wurde sofort exstirpiert, die Operationswunde mit 5 proz. Karbolsäurelösung behandelt und in die Umgebung außerdem 2 proz. Karbol-injektionen mit der Pravazschen Spritze gemacht. Es erfolgte danach schnelle Heilung. Die Geschwulst war nach der Exzision sofort in Alkohol gelegt und die weitere mikroskopische Untersuchung bestätigte vollständig die vorläufige Diagnose auf Milzbrand. Auch die geimpften Tiere erlagen, und zwar die Mäuse am nächsten, das Kaninchen am darauffolgenden Tage dem regelrechten Milzbrand; sie hatten sämtlich stark vergrößerte Milz und zahllose Milzbrandbazillen in der Milz, Lunge und im Herzblut. Von diesen Tieren wurden dann noch weitere Impfungen vorgenommen, welche in der gewöhnlichen Weise typischen Milzbrand hervorriefen. Die hier beschriebene Milzbrandform scheint beim Menschen nur sehr selten vorzukommen. Die Schriftsteller führen allerdings eine sogenannte Pockenform des Milzbrandes auf, die sich aber doch wesentlich anders verhält; es soll eine erbsen- bis bohnengroße Blase von zelligem Gefüge in der Mitte mit einer Vertiefung versehen auf der Höhe einer erysipelatösen Geschwulst stehen. In unserem Falle war die Pocke, wenn ich sie so nennen soll, bedeutend größer und die Umgebung ganz unverändert, also kann man sie nicht unter die gewöhnlich so bezeichnete Pockenform des Milzbrandes subsummieren. Unter den zahlreichen Fällen von Milzbrand, die in der Literatur zu finden sind, habe ich nur einen einzigen angetroffen, der dem von mir beobachteten vollständig gleicht. *M a t t h y*<sup>1)</sup> gibt folgende Schilderung davon: „Ein junger Mensch hatte auf jedem Arm eine Blatter, dunkelbraun von Farbe, in der Mitte eine schwarze Vertiefung wie bei den Pocken, und die Narben der Haut (unter Narben sollen wohl die strafferen Bindegewebszüge derselben verstanden sein) in die Höhe gedeckt, so daß sie Einschnitte derselben bildeten und die Blättern vollkommen die Gestalt einer gefurchten Pastete oder einer Art von Liebesäpfel darstellte. Ich skarifizierte diese, legte *Diachylon comp.* darüber, empfahl ihm Branntwein zu trinken, und so genas er.“ Einige Beschreibungen von Milzbrandformen, die *H u n n i u s*, *G l a n - s t r o e m* und andere von *H e u s i n g e r* zitierte Autoren geliefert haben, machen es allerdings wahrscheinlich, daß dieselbe Form hin und wieder schon anderweitig beobachtet ist, immerhin aber zu den seltenen Milzbrandformen gehört. Der von *M a t t h y* gewählte Vergleich des Karbunkels mit einer Art von Liebesäpfeln, womit er unzweifelhaft die heutzutage auf jedem Gemüsemarkt zu findenden Tomaten meint, ist außerordentlich zutreffend, wenigstens in bezug auf Größe und Gestalt der Geschwulst. Auf die Bemerkung *M a t t h y*s über die bei seinem Kranken befolgte Heilmethode mache ich noch ganz besonders aufmerksam als ein recht schlagendes Beispiel, daß der Milzbrand beim Menschen auch bei einer so widersinnigen Behandlung, wie die von *M a t t h y* angewendete, bei welcher durch das Skarifizieren des Knotens die tieferen noch nicht infizierten Gewebsschichten der Infektion durch die an der Oberfläche wuchernden Milzbrandbazillen ausgesetzt werden mußten, dennoch heilen kann. Auch in meinem Falle wäre die Heilung möglicherweise ohne Exstirpation und Karbolsäurebehandlung eingetreten und ich bin weit davon entfernt, dieser Behandlung eine hervorragende Heilwirkung zuzuschreiben. Wenn der *M a t t h y*sche Kranke nach französischer Methode anstatt mit Branntwein mit Jod innerlich behandelt worden wäre, dann würde selbstverständlich dem Jod der Heileffekt zugewiesen werden.

<sup>1)</sup> Briefe über wichtige Gegenstände der Therapie, 1801, p. 170 (zitiert nach *H e u s i n g e r*, Milzbrandkrankheiten).

Was nun die mikroskopische Beschaffenheit des Tumors betrifft, so bestand der selbe aus einer eigentümlichen fibrinösen Substanz, in welcher außer den gleich zu beschreibenden Bakterien keine Gewebeelemente zu unterscheiden waren. Nur am Grunde des Knotens, wo er in das aufgelockerte Kutisgewebe überging, fanden sich Kerne von Rundzellen. Soweit die Epidermis der Geschwulstmasse fest anlag, waren nur Milzbrandbazillen in die fibrinöse Substanz eingebettet, und zwar am dichtesten unmittelbar unter der Epidermislage, und von da aus meistens in dichtgedrängten Zügen in das Innere der Geschwulst sich hineinerstreckend.

Taf. XI, Nr. 32. 100 ×. Zeigt einen Schnitt aus einer solchen Randpartie der Geschwulst, nach oben zu die Epidermis, darunter die, wie selbst bei dieser geringen Vergrößerung schon auffällt, eigentümlich gekräuselten und verschlungenen Bazillen. Je weiter man die Bazillen nach dem Innern der Geschwulst zu verfolgt, um so mehr fällt die Abweichung der Bazillen von der gewöhnlichen bekannten Form des geraden, glatten Stäbchens auf. Sie werden immer stärker gekrümmmt, verzerrt, sehen (bei starker Vergrößerung) gequollen und an den Rändern rauh aus und verlieren immer mehr das Vermögen, Farbstoffe aufzunehmen, kurz sie zeigen alle diejenigen Veränderungen, welche man an absterbenden oder in ungeeigneter, z. B. schwach saurer Nährflüssigkeit kümmerlich wachsenden Milzbrandbazillen zu sehen gewohnt ist. Etwas ähnliches wurde schon von den Bazillen in der Rattenmilz erwähnt (vgl. Taf. X, Nr. 29 und 30). Dieses Verhalten der Bazillen läßt darauf schließen, daß die tieferen Schichten der Geschwulst ihnen sehr schlechte Bedingungen für ihre Ernährung bieten, und daher mag es auch gekommen sein, daß die Krankheit durch eine so verhältnismäßig lange Zeit ganz lokal geblieben war. Wie man sich dieses merkwürdige Faktum erklären soll, ob hier individuelle Verhältnisse, etwa besonders geringe Empfänglichkeit der Kranken für die Milzbrandkrankheit, wie sie bei manchen Menschen unzweifelhaft vorhanden ist, oder ob eine Mitwirkung der gleich zu erwähnenden anderen Bakterien hier im Spiele ist, muß ich dahingestellt bleiben lassen. Alle die Stellen der Geschwulstoberfläche, welche von Epidermis entblößt waren und sich in einem feuchten Zustande befanden, waren von verschiedenen anderen Bakterienarten in Besitz genommen, welche die Milzbrandbazillen daselbst teilweise oder ganz verdrängt hatten. Daß sie erst nach den Milzbrandbazillen sich angesiedelt hatten, ging daraus hervor, daß letztere immer in den tieferen Schichten unter den an der Oberfläche üppig wuchernden Bakterien, Mikrokokken usw. noch deutlich, wenn auch meistens in der oben angegebenen Weise verändert, zu erkennen waren. Diese nachträglich angesiedelten Schmarotzer, denen offenbar durch die pathogenen Milzbrandbazillen erst das Terrain zugänglich gemacht werden mußte, haben insofern ein hohes Interesse, als sie uns Beispiele von Bakterien bieten, für welche unter Umständen die Ge webssäfte des lebenden menschlichen Körpers einen günstigen Nährboden abgeben können. Selbstverständlich bleibt vorläufig jedes Urteil darüber, ob diese Bakterien gelegentlich auch selbständig pathogen im menschlichen Körper auftreten können oder ob ihnen immer nur eine sekundäre Rolle, wie im vorliegenden Falle, beschieden ist, *in suspenso*. Es fanden sich unter denselben einige, welche eine ganz auffallende Ähnlichkeit mit schon bei Pocken und Malaria gefundenen, angeblich pathogenen Bakterien haben, daß es mir notwendig schien, gerade von diesen Photogramme zu veröffentlichen, um die Frage anzuregen, ob die erwähnten als pathogen angesprochenen Bakterien ebenso, wie in meinem Falle, nur sekundäre und, wie ich vorläufig annehmen muß, bedeutungslose Verunreinigungen eines ursprünglich reinen Krankheitsprozesses sind in demselben Sinne, wie man von einer Verunreinigung einer Bakterien-Reinkultur spricht, oder ob die in meinem Falle gefundenen Bakterien zufällig dahin verirrte, ursprünglich gleichfalls selbständig pathogene Bakterien sind. Es wäre, wenn die Frage im letzteren Sinne entschieden werden sollte, allerdings

etwas auffällig, daß zu einer Milzbrandinfektion sich noch ganz zufällig Pocken- und Malaria Bakterien gesellen sollten.

Nach diesen Ausführungen werde ich mich in der Beschreibung der hierher gehörigen Photogramme kurz fassen können.

Taf. XI, Nr. 33. 700 ×. Schnitt von der Oberfläche der Geschwulst an einer von Epidermis bedeckten Stelle. Rechts die Epidermis, deren Zellen gequollen sind, darunter, nach links zu, das dichte Gewirr von kräftig entwickelten Milzbrandbazillen.

Taf. XI, Nr. 34. 700 ×. Aus dem Innern der Geschwulst. Gekrümmte, wenig gefärbte, im Absterben begriffene oder auch zum Teil schon abgestorbene Milzbrandbazillen.

Taf. XI, Nr. 35. 700 ×. Dichtgehäufte Kolonien von ziemlich großen Mikrokokken neben Milzbrandbazillen, welche teilweise noch wohlerhalten, teilweise gequollen, ungefärbt, also abgestorben sind.

Taf. XI, Nr. 36. 700 ×. Kolonien von verschiedenen Mikrokokken. Darunter solche, welche kurze Ketten bilden, in denen je zwei Glieder enger miteinander verbunden sind. Nach unten blasse abgestorbene Milzbrandbazillen.

Taf. XII, Nr. 37. 700 ×. Mikrokokken in einzelnen kleinen, dichtgedrängten Haufen und teilweise zerstreut. Letztere zeigen überall da, wo sie bei der photographischen Aufnahme scharf eingestellt waren, eine ganz regelmäßige Anordnung entweder zu zweien, oder noch häufiger zu vier, gruppiert. Wenn dieses Photogramm mit der Abbildung der von Klebs beschriebenen Variola-Mikrokokken<sup>1)</sup>, wie er sie im Trachealschleim einer Pockenleiche gefunden hat, verglichen wird, dann tritt eine so wesentliche Übereinstimmung in Größe und Anordnung der Mikrokokken hervor, daß man kaum an ihrer Identität zweifeln kann.

Taf. XII, Nr. 38. 700 ×. Gruppen einer anderen größeren, aber ebenfalls vorwiegend zu je vier Individuen verbundenen Mikrokokkenart.

Taf. XII, Nr. 39. 700 ×. Die Milzbrandbazillen gehen an dieser Stelle bis dicht an die von Epidermis entblößte Oberfläche der Geschwulst. Darüber hinweg ist eine Schicht außerordentlich zierlicher und feiner Bazillen gelagert, welche dadurch ausgezeichnet sind, daß in ziemlich regelmäßigen Abständen dunkler gefärbte Punkte eingelagert sind. Am meisten nach außen befinden sich einige Bazillen, in denen diese Punkte kaum angedeutet sind, daneben lassen sich alle Übergänge bis zu solchen auffinden, in denen die Bazillensubstanz fast verschwunden, dagegen die dunklen Punkte sehr ausgesprochen hervortreten. Ob dies fortlaufende Stufen von Entwicklung und vielleicht Sporenbildung sind, vermag ich bislang nicht zu entscheiden. Sollte es sich um Sporen handeln, dann würden diese sich von den übrigen bekannten Bazillensporen sehr wesentlich unterscheiden, weil letztere bei der Kernfärbung keine Anilinfarbstoffe annehmen. Diese Bazillen entsprechen, soweit sich aus Beschreibung und Abbildung schließen läßt, vollkommen den von Klebs und Tommasi-Cruddeli<sup>2)</sup>, sowie von Marchiafava und Cuboni<sup>3)</sup> geschilderten Malariabazillen. Weitere Untersuchung und Vergleichung, wozu sich namentlich photographische Abbildungen der Malariabazillen eignen würden, müssen über dieses eigentümliche Zusammentreffen Aufklärung verschaffen.

Taf. XII, Nr. 40. 700 ×. Bakterien aus Blut, welches einige Tage gefault war. Dieses Photogramm wurde als Beispiel für die Mannigfaltigkeit der Bakterienarten in Faulflüssigkeiten gewählt. Dicht nebeneinander und doch deutlich gruppenweise gesondert, zeigen sich auf demselben sehr feine blasse Bazillen, andere dunkler gefärbte und etwas größere Bazillen, ferner Mikrokokken in allen möglichen Größen, Unter-

<sup>1)</sup> Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. X, Heft 3 u. 4, p. 226.

<sup>2)</sup> Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. XI.

<sup>3)</sup> Ebendas., Bd. XIII

schieden im Färbungsvermögen usw. Zu diesem Photogramm ist zu vergleichen diese Veröffentlichung p. 120.<sup>1)</sup>

Taf. XII, Nr. 41 und 42. 700 ×. Nr. 41 Bazillen im Blute einer an Septicämie gestorbenen Maus. Nr. 42 Schnitt aus dem Ohr einer mit Septicämie am Ohr geimpften Maus. Im unteren Teil des Photogramms die großen Knorpelzellen, an deren Rande sich ein Schwarm von kleinen Bazillen hinzieht. Vgl. diese Veröffentlichungen p. 169 ff.<sup>2)</sup>

Taf. XIII, Nr. 43, 44 und 45. 700 ×. Bazillen des malignen Ödems. Nr. 43 aus der Ödemflüssigkeit eines Meerschweinchens. Nr. 44 aus der Lunge einer Maus. Nr. 45 aus der Milz eines Meerschweinchens (etwas verlängerte Bazillen, wie sie bisweilen vorkommen, besonders wenn die Sektion nicht sofort nach dem Tode vorgenommen wird). Vgl. diese Veröffentl. p. 54 (diese Werke p. 179. D. Herausgeber).

Taf. XIII, Nr. 46. 700 ×. Schnitt vom Rande der Niere eines an malignem Ödem gestorbenen Meerschweinchens. Beim Vergleich dieses Photogramms mit den Schnitten aus Milzbrandorganen Taf. X, Nr. 26 und 27 fällt sofort die große Ähnlichkeit der beiden Bazillenarten ins Auge.

Taf. XIII, Nr. 47 und 48. 700 ×. Schnitte aus der Hornhaut eines pockenkranken Schafes, und zwar vom Rande eines Hornhautgeschwüres. Die ulzerierte Stelle ist von einer massenhaften Kernanhäufung umgeben und zwischen den Kernen breitet sich ein dichter Filz von leicht gekrümmten, stellenweise wellig gebogenen Bazillen aus. An manchen Punkten schieben sich die Bazillenmassen vor den Kernen her in das noch intakte Hornhautgewebe hinein wie auf Nr. 47. Es ist deswegen auch wahrscheinlich, daß die Ulzeration durch die Einwanderung der Bazillen bedingt ist. Hin und wieder haben die Bazillen ein gekörntes Aussehen, Nr. 48, ähnlich denjenigen der Bazillen auf Taf. XII, Nr. 39.

Taf. XIV, Nr. 49. 100 ×. Bakterienherd aus der Niere von *Typhus abdominalis*.

Taf. XIV, Nr. 50. 100 ×. Ein ebensolcher aus der Leber von *Typhus abdominalis*.

Taf. XIV, Nr. 51. 100 ×. Ein ebensolcher aus der Milz von *Typhus abdominalis*.

Taf. XIV, Nr. 52. 700 ×. Schnitt aus der Leber von *Typhus abdominalis*. Rand eines Bakterienherdes, wo sich derselbe stellenweise auflöst und die einzelnen Bakterien sehr gut zu erkennen sind.

Taf. XIV, Nr. 53. 700 ×. Schnitt aus der Milz von *Typhus abdominalis*. Kleiner Bakterienherd, in dem die Bakterien ebenfalls einzeln zu unterscheiden sind.

Zu diesen fünf Photogrammen habe ich folgendes zu bemerken. Beim Abdominaltyphus sind schon mehrfach Bakterien gefunden, und zwar drei verschiedene Arten. Mikrokokken von mehreren Autoren beschrieben, kurze dicke Bazillen, über welche E b e r t h<sup>3)</sup> zuerst berichtet hat, und lange dünne Bazillen, die kürzlich von K l e b s<sup>4)</sup> beschrieben sind. Die Mikrokokken kommen, wie Eberth gefunden hat, nicht sehr oft vor, die kurzen Bazillen dagegen ungefähr in der Hälfte der untersuchten Fälle; und zwar werden diese beiden Bakterienarten immer im Innern der verschiedensten Organe gefunden. Die Klebsschen Bazillen befinden sich fast nur im Bereich der nekrotischen Darmgeschwüre. Es fragt sich nun, kommt einem von diesen Organismen die Bezeichnung Typhusbakterien zu, d. h. ist er die Typhusursache und, wenn dies der Fall ist, welchem. Die beiden Bazillenarten sind fast regelmäßige Begleiter des Typhus, die Mikrokokken treten seltener auf und haben sehr viel Ähnlichkeit mit den in anderen Krankheiten vorkommenden sekundär in die Gewebe eingedrungenen Mikrokokken. Es wird also darüber wohl kein Zweifel bestehen, daß die Mikrokokken, von denen ich übrigens auf der fol-

<sup>1)</sup> G a f f k y , Mitteil. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt, 1881, Bd I, p. 120 ff. D. Herausgeber.

<sup>2)</sup> L ö f f l e r , ebendas. p. 169 ff. D. Herausgeber.

<sup>3)</sup> Virchows Archiv, Bd. 81 u. 83.

<sup>4)</sup> Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. XIII

genden Tafel ebenfalls eine photographische Abbildung gebe, auch im *Typhus abdominalis* ein gelegentliches Vorkommen von sekundärer Bedeutung bilden. Es bleiben mithin nur die Klebs'schen und die Eberth'schen Bazillen. Klebs scheint beide für identisch und für verschiedene Entwicklungsformen desselben Bazillus zu halten. Dem möchte ich widersprechen. So weit meine Erfahrung reicht, haben die Bazillen in den Mesenterialdrüsen in der Milz, Niere, Leber usw. nur immer die von Eberth beschriebene Gestalt und genau ebenso sehen sie in den tieferen, nicht nekrotischen Teilen der Darmschleimhaut unterhalb der Darmgeschwüre aus, wo ich sie in zahlreichen Präparaten in ausgedehnten Lagern vorgefunden habe. In den oberen nekrotischen Partien der Darmschleimhaut, welche die Kernfärbung nicht mehr annehmen, traten die dünnen langen Bazillen auf, wie sie Klebs abbildet. Einen Übergang zwischen beiden Bazillensorten habe ich nicht beobachten können und muß sie wegen der Formverschiedenheit, wegen ihres verschiedenen Färbungsvermögens und wegen des verschiedenen Verhaltens zu den inneren Organen für zwei verschiedene Bakterienarten halten.

In dem mir zu Gebote stehenden Material, welches weit geringer ist als das von Eberth benutzte, gestaltete sich der Bakterienbefund genau in dem von ihm angegebenen Zahlenverhältnis. In der Hälfte der Fälle waren fast in allen Organen die Herde, welche aus den ganz charakteristischen kurzen Bazillen bestehen, vorhanden, in der anderen Hälfte fehlten sie und nur in einem Falle kamen Mikrokokken vor. Ohne damit irgendwie Eberth die Priorität streitig machen zu wollen, sondern nur, weil ich annehme, daß ein solcher Befund durch die voneinander unabhängige mehrfache Konstatierung an Wert gewinnt, will ich noch anführen, daß die hier veröffentlichten, auf *Typhus abdominalis* bezüglichen Photogramme schon vor zwei Jahren, also zu einer Zeit, als Eberth seine Beobachtungen noch nicht veröffentlicht hatte, angefertigt sind. Nach meinem Dafürhalten gewinnt die Annahme, daß die Eberth'schen Bazillen mit dem *Typhus abdominalis* in einem ursächlichen Zusammenhang stehen, dadurch sehr an Wahrscheinlichkeit, daß sie überall in den inneren Organen verbreitet gefunden werden, während die Klebs'schen Bazillen nur nekrotische Darmpartien in Besitz nehmen. Sehr charakteristische Beispiele dafür, daß andere Bakterien sich mit Vorliebe auf einem von pathogenen Bakterien vorbereiteten Boden niederlassen, habe ich in den Photogrammen von Milzbrand des Menschen gegeben. Auch hatte ich Gelegenheit, bei einem Falle von Darmmilzbrand des Menschen in den nekrotischen Partien der Schleimhaut genau dieselben dünnen, langen Bazillen, wie sie beim Typhus vorkommen, in großer Zahl zu finden, und ich kann aus diesen Gründen die Klebs'schen Typhusbazillen vorläufig nur als eine sekundäre Erscheinung ansehen. Eine bestimmte Entscheidung über die Bedeutung dieser verschiedenen Bazillen für den Typhus läßt sich nach den bis jetzt vorliegenden Tatsachen indessen noch nicht gewinnen.

Eberth hat noch behauptet, daß die kurzen Bazillen wenig Neigung hätten, Farbstoffe aufzunehmen. Die vorliegenden Photogramme beweisen wohl dagegen, daß auch diese Bazillen im Färbungsvermögen wenig hinter anderen Bakterien zurückstehen.

Taf. XIV, Nr. 54. 100×. *Aspergillus glaucus*. Aus der mit Myzelien durchsetzten Niere eines nach Injektion von Sporen dieses Pilzes gestorbenen Kaninchens auf Nähr-gelatine gezüchtet. (Vgl. diese Veröffentlichung p. 131.)<sup>1)</sup>

Taf. XV, Nr. 55. 100×. Schnitt aus der Niere von *Typhus abdominalis*. Mit Mikrokokken gefüllte Gefäße. Stellenweise dringen die Mikrokokken ähnlich wie bei *Endocarditis ulcerosa* aus einem gesprengten Glomerulus in die benachbarten Harnkanälchen.

Taf. XV. Nr. 56. 700×. Querschnitt eines solchen Harnkanälchens aus der Typhusniere einen Mikrokokkenhaufen einschließend.

<sup>1)</sup> Gaffky, Mitteil. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt, 1881, Bd. I, p. 131. D. Herausgeber.

Taf. XV, Nr. 57, 58, 59 und 60. 700×. Nr. 57 Schnitt aus der Lunge und Nr. 58, 59, 60 Schnitte aus der Niere von einer tödlich verlaufenden Pneumonie, welche sich an einen überstandenen Rekurrens angeschlossen hatte. Die Verbreitung der in diesem Falle gefundenen Bakterien erinnert an diejenige beim Erysipel. Nur in den am Rande der verdichteten Lungenpartien gelegenen Alveolen waren die Bakterien zu finden. Am deutlichsten waren sie in solchen Alveolen, wie das Photogramm Nr. 57 zeigt, in denen das Exsudat den Raum nur teilweise ausfüllte. In den benachbarten, vollständig luftleeren Alveolen waren auch noch die Bakterien zu sehen, aber weniger gut gefärbt und anscheinend im Absterben begriffen. Sie umgaben also, ebenso wie die Erysipelas-Mikrokokken, den Krankheitsherd in einem schmalen Saum, demselben teilweise vorausgehend. An manchen Stellen ließ sich ihr Übergang in einzelne Lungenkapillaren verfolgen und sie fanden sich dementsprechend auch in der Niere (andere Organe standen mir von diesem Falle nicht zu Gebote) in einigen Kapillaren. Solche Nierenkapillaren, in denen die Form dieser eigentümlichen, stellenweise kurze Ketten bildenden Bakterien besonders hervortritt, sind in den Photogrammen Nr. 58, 59, 60 gegeben. Ohne Kernfärbungsmethode und Anwendung des A b b é schen Beleuchtungsapparates wären diese Bakterien in den Lungenalveolen unmöglich zu erkennen. Sollte sich nicht noch manche Pneumonie, wenn die Randzone ganz besonders aufmerksam und mit Hilfe der auch in diesem Falle so bewährten Untersuchungsmethode durchforscht würde, als eine durch Bakterieninvasion bedingte Krankheit herausstellen?

Taf. XVI, Nr. 61. 100×. Schnitt aus einer pyelonephritischen Niere. In der Mitte, querverlaufend, ein mit dunklem Inhalt gefülltes Harnkanälchen. Andere mehr oder weniger schräg durchschnittene, ebenfalls mit Bakterien gefüllte Kanälchen daneben und darunter.

Taf. XVI, Nr. 62. 700×. Schnitt aus derselben Niere. Ein schräg durchschnittenes bakterienhaltiges Harnkanälchen; das noch gut erhaltene Epithel umschließt die locker zusammengehäuften, etwas länglichen Bakterien, welche einige Ähnlichkeit mit den Eberthschen Typhusbazillen haben.

Taf. XVI, Nr. 63. 700×. Schnitt aus derselben Niere. Die Größe und Gestalt der Bakterien tritt an dieser Stelle, an welcher sie durch den Schnitt anscheinend von ihrer Kolonie losgerissen und zur Seite gestreut sind, besonders gut hervor.

Taf. XVI, Nr. 64 und 65. 100×. Schnitte aus einer Niere von einem nach Blasendifphtheritis (Wirbelfraktur, häufiges Katheterisieren) tödlich verlaufenen Fall. In der Niere waren bei der Sektion schon makroskopisch kaum mohnkorngroße graubraune Knötchen in Mark- und Rindensubstanz ziemlich gleichmäßig verstreut zu erkennen. Vermutlich sind dies dieselben bräunlich gefärbten Bakterienherde, welche zuerst von v. R e c k l i n g h a u s e n beschrieben sind. Nr. 64 zeigt einen solchen Herd aus der Marksustanz, Nr. 65 einen aus der Rindensubstanz der Niere bei 100× Vergrößerung. Auf letzterem Bilde ist sofort zu erkennen, daß die Bakterienmassen im Gefäßsystem und nicht in den Harnkanälchen liegen. Die Form der diese Herde konstituierenden Bakterien zeigt sich am besten in einem Präparat, welches in der Weise angefertigt wurde, daß gleich bei der Sektion ein Knötchen vorsichtig aus dem Nierengewebe herauspräpariert und mit einer Nadel auf einem Deckglas ausgestrichen wurde.

Taf. XVI, Nr. 66. 700× ist ein von dem soeben beschriebenen Präparat angefertigtes Photogramm. Ihrer Form nach, welche mehr länglich als rund ist, würde sie zur Gattung Bakterium und nicht zu Mikrokokkus zu rechnen sein.

Taf. XVII, Nr. 67. 20×. Sporenhaltige Gartenerde durch Anwendung von Hitze desinfiziert; auf Nährgelatine ausgesät blieb dieselbe unverändert.

Taf. XVII, Nr. 68. 20×. Dieselbe sporenhaltige Erde, nicht desinfiziert, als Kontrollpräparat für das vorhergehende dienend, auf Nährgelatine ausgestreut und inner-

halb 30 Stunden eine reichliche Entwicklung verschiedener Bazillenarten zeigend. Die einzelnen Bakterien sind selbstverständlich bei der zur photographischen Aufnahme benutzten schwachen Vergrößerung nicht zu unterscheiden. Nur die dichteren Massen, welche fast jedes Erdpartikelchen umschließen, geben sich als wolkenförmige Massen zu erkennen.

Taf. XVII, Nr. 69. 20×. Kolonien von Bazillen der Mäusesepticämie in Nähr-gelatine geimpft. Namentlich im oberen Teil des Impfstriches erscheint die eigentümliche, verzweigte Form der kleinen Kolonien. (Vgl. diese Veröffentlichung von Löffler<sup>1)</sup>.

Taf. XVII, Nr. 70. 20×. Kolonien von Bakterien der Kaninchensepticämie in Nähr-gelatine geimpft. Die strichförmig von rechts nach links sich hinziehenden kugelförmigen Tropfen sind die auf einem Impfstrich zur Entwicklung gekommenen Kolonien. (Vgl. diese Veröffentlichung von Gaffky<sup>2)</sup>.

Die Photogramme Nr. 31, 69 und 70 geben recht anschauliche Beispiele über die schon bei schwacher Vergrößerung sich unverkennbar kundgebenden Unterschiede in der Form der Kolonien verschiedener Bakterien in Nähr-gelatine.

Taf. XVII, Nr. 71 und 72. 700×. Blut von einem Sperling, der mit Kaninchen-septicämie geimpft war. Die charakteristische Form dieser Bakterien (kurze, an den Enden schwach zugespitzte und dunkel gefärbte Stäbchen, in deren Mitte eine Stelle ungefärbt bleibt) tritt besonders auf Nr. 5\*) am oberen Rande des Bakterienschwärms hervor. An einigen Stellen, so in der Mitte von Nr. 6,\*\*\*) sind zwei und selbst mehrere Bakterien nach der Teilung in Zusammenhang geblieben und bilden scheinbar längere Stäbchen, die sich aber bei genauerer Betrachtung in die einzelnen Bakterien auflösen lassen. Die großen dunklen ovalen Körper zwischen den Bakterien sind die Kerne der roten Blutkörperchen. (Vgl. diese Veröffentlichung von Gaffky<sup>3)</sup>).

Taf. XVIII, Nr. 73. 700×. Bazillen aus dem Perikardialserum einer Leiche, welche im Sommer drei Tage gelegen hatte, ehe sie seziert wurde.

Taf. XVIII, Nr. 74. 700×. Breite Bazillen von eigentlich körniger Beschaffenheit, die sich spontan in Froschblut entwickelt hatten. Daneben finden sich in ziemlich reichlicher Zahl sehr kleine dünne Bazillen.

Taf. XVIII, Nr. 75. 700×. Bazillen, die sich aus Staub, der auf Nähr-gelatine ausgestreut war, entwickelt hatten. Dieselben sind beweglich und bilden an der Oberfläche von Nährflüssigkeiten eine dichte weiße Decke, würden also dem, was man gewöhnlich als Heubazillen bezeichnet, entsprechen.

Taf. XVIII, Nr. 76. 700×. Sporenbildung der in Nr. 3\*\*\*\*) abgebildeten Bazillen.

Die Photogramme der zuletzt beschriebenen verschiedenen Bazillenarten, deren Zahl sich leicht vervielfältigen ließe, mögen im Verein mit den anderen früher besprochenen Photogrammen der pathogenen Bazillen eine Vorstellung von der Mannigfaltigkeit der Bazillenform geben.

Taf. XVIII, Nr. 77. 700×. Bakterienhaltiges Exsudat aus der Bauchhöhle eines Kaninchens, dem eine intraperitoneale Injektion mit den Bakterien des blaugrünen Eiters gemacht war.

Taf. XVIII, Nr. 78. 700×. Eine, wie es scheint, ziemlich seltene Art von Vibrio oder Spirillum. Die einzige Notiz, welche ich über dieses seltsame Wesen auffinden konnte, enthält ein Werk von M. Perty, „Zur Kenntnis kleinster Lebensformen, 1852“. Es wird daselbst als *Spirillum leucomelaenum* bezeichnet und gesagt, daß bei richtiger Fokal-

<sup>1)</sup> Löffler, Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, 1881, p. 169.

<sup>2)</sup> Gaffky, ebenda, p. 98.

<sup>3)</sup> Gaffky, ebenda, p. 94.

\*) Soll heißen 71, \*\*) 72. \*\*\*\*) 75. D. Herausgeber.

stellung intensiv schwarze, mit glashellen Räumen abwechselnd in dem Spirillum erscheinen. Diese Angabe und die auf Taf. XV, Fig. 31 enthaltene Abbildung lassen keinen Zweifel darüber, daß Perty's *Spirillum leucomelaenum* und das von mir gesehene identisch sind. Ich habe dasselbe nur einmal in Wasser gefunden, welches über faulenden Algen stand. Der Sammlung von Bakterienphotographien habe ich dieses Photogramm nicht wegen der Seltenheit des Objektes beigefügt, sondern wegen der überraschenden Ähnlichkeit, welche dieses Spirillum mit der schematischen Abbildung N a e g e l i s in seinem Werk über die niederen Pilze, p. 4, hat. Naegeli nimmt bekanntlich an, daß alle Bakterien, auch die schraubenförmigen, aus kurzen, im allgemeinen gleichwertigen Gliedern bestehen. Inwieweit diese Annahme begründet ist, will ich hier nicht weiter untersuchen. Das *Spirillum leucomelaenum* sollte nur als ein Beispiel dafür dienen, daß nicht immer eine dem ersten Anblick als evident erscheinende Gliederung auch in Wirklichkeit einer solchen entspricht. Rechts von dem großen *Spirillum leucomelaenum* befindet sich auf dem Photogramm ein zweites, kleineres Exemplar, welches mit unregelmäßig verteilten kleineren und größeren dunklen Punkten versehen ist. Von solchen mit einer eben wahrnehmbaren Punktierung bis zu den regelmäßig schwarz- und weißgestreiften Spirillen finden sich alle Übergänge, und es läßt sich leicht verfolgen, daß nicht eine fortwährende Teilung der einzelnen scheinbaren Glieder des *Spirillum leucomelaenum* stattfindet, sondern daß sich eine im Innern desselben auftretende dunkelgefärbte körnige Substanz immer mehr an einzelnen Punkten anhäuft und schließlich in regelmäßigen Abständen quer verlaufende Bänder bildet.

Taf. XIX, Nr. 79 und 80. 700×. Blut vom Hamster mit monadenartigen Parasiten. (Vgl. diese Veröffentlichung p. 8.)<sup>1)</sup>

Taf. XIX, Nr. 81. 100×. Schnitt vom Rand der Nierenpapille einer pyelonephritischen Niere. Schon makroskopisch ließ sich an der Oberfläche einiger Papillen dieser Nieren ein weißgelblicher Überzug bemerken, der sich bei 100 facher Vergrößerung als eine fadenartige Masse erweist, die sich an der Papillenoberfläche ausbreitet und ziemlich tief in das Gewebe derselben eindringt.

Taf. XIX, Nr. 82. 700×. In demselben Schnitt zeigt sich bei starker Vergrößerung die fadenartige Masse als ein kräftig wucherndes Pilzmyzel.

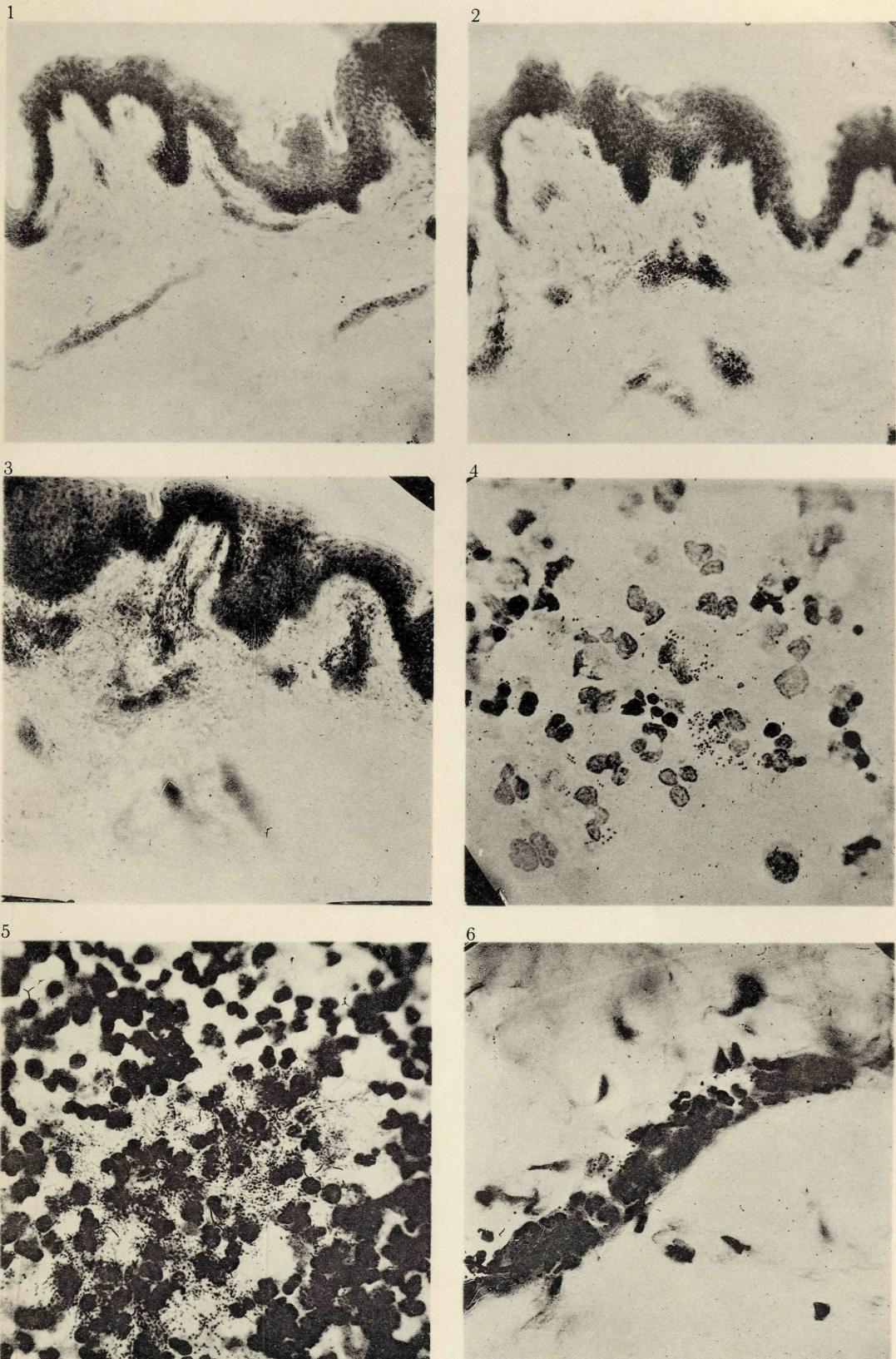
Taf. XIX, Nr. 83. 20×. Schnitt aus einer durch *Plasmodiophora brassicae* veränderten Kohlwurzel. Nach einem Präparat von Dr. Eida m. Die dunklen, zwischen den Gefäßbündeln auftretenden und nach der Rinde zu sich erstreckenden Massen sind die mit Sporen der Plasmodiophora gefüllten Zellen.

Taf. XIX, Nr. 84. 700×. Eine der im vorhergehenden Bilde enthaltenen Zellen bei starker Vergrößerung, bei welcher die einzelnen Sporen der Plasmodiophora zu unterscheiden sind. (Vgl. diese Veröffentlichung p. 9.)<sup>2)</sup>

Berlin, den 10. Mai 1881.

<sup>1)</sup> Diese Werke, p. 119. D. Herausgeber.

<sup>2)</sup> Diese Werke, p. 120. D. Herausgeber.

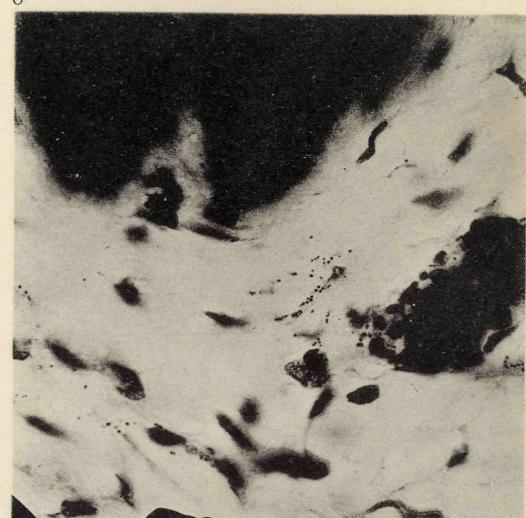


Zur Untersuchung von pathogenen Organismen.

7



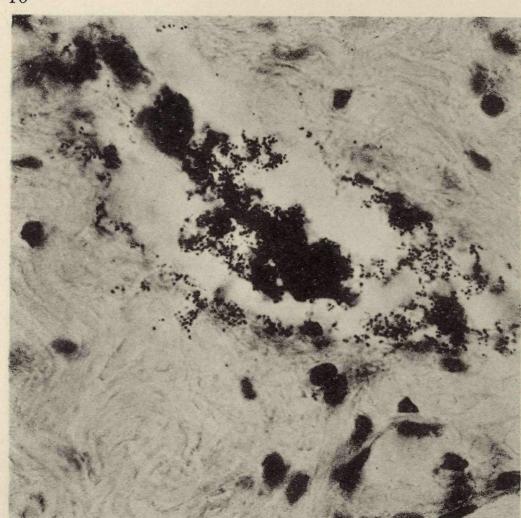
8



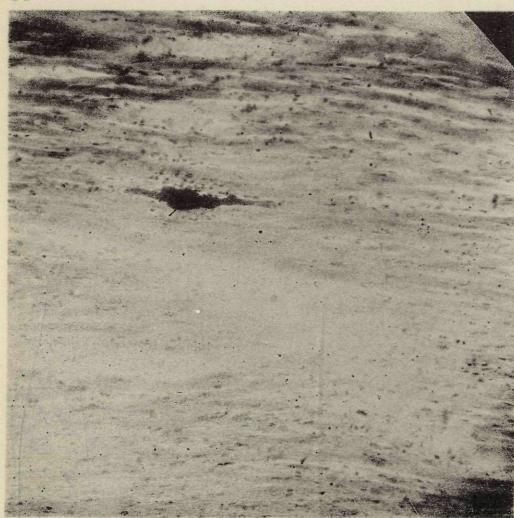
9



10



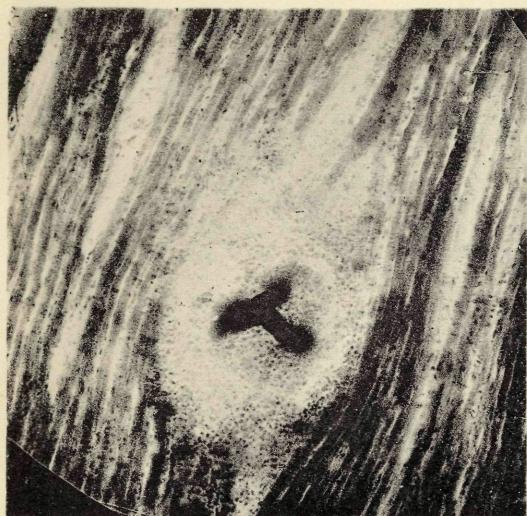
11



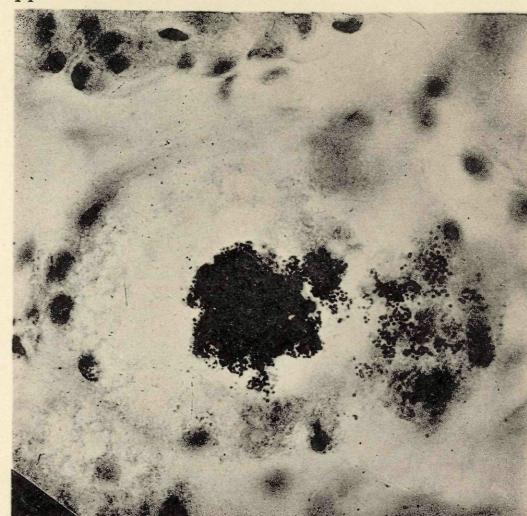
12



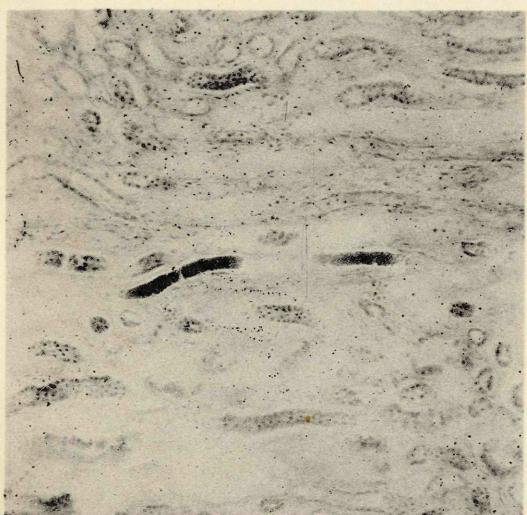
13



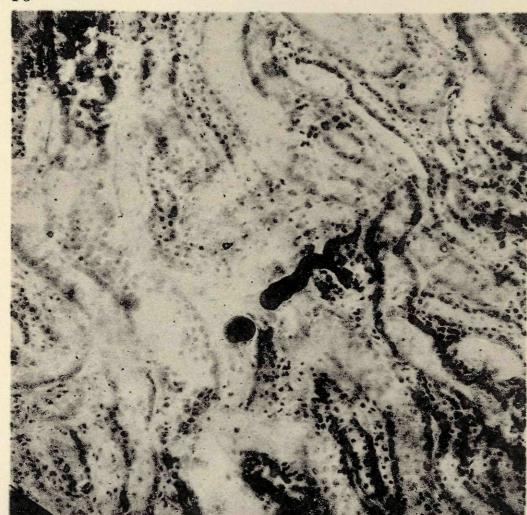
14



15



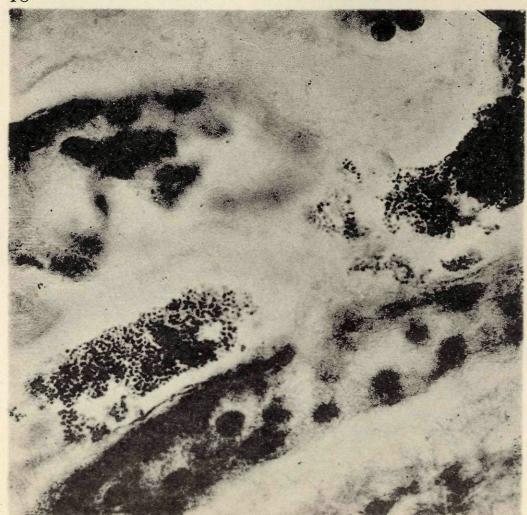
16



17



18



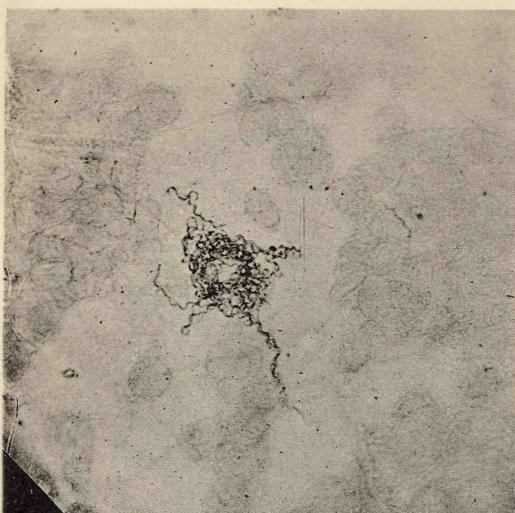
19



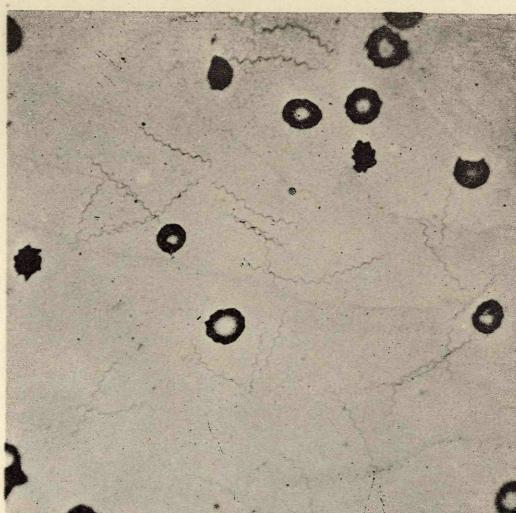
20



21



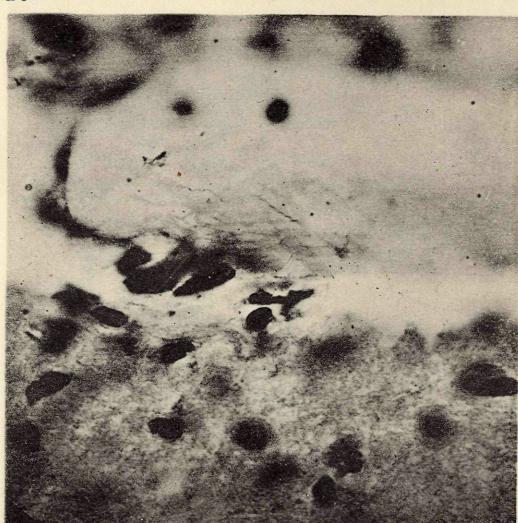
22



23

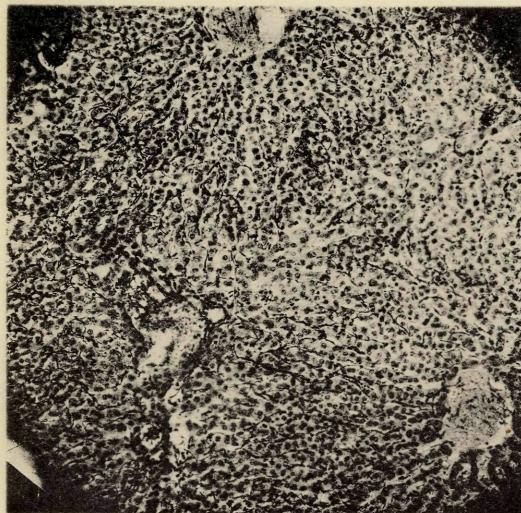


24

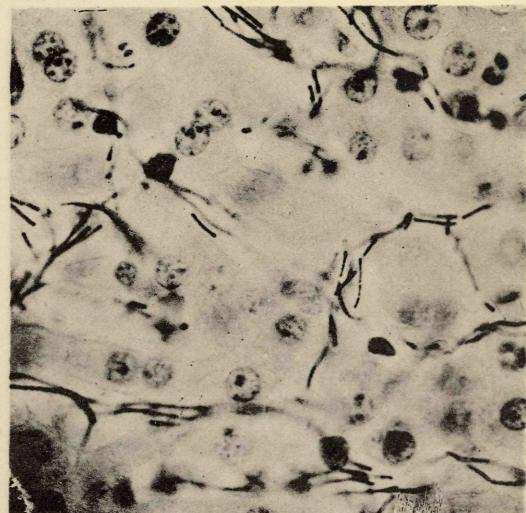


Zur Untersuchung von pathogenen Organismen.

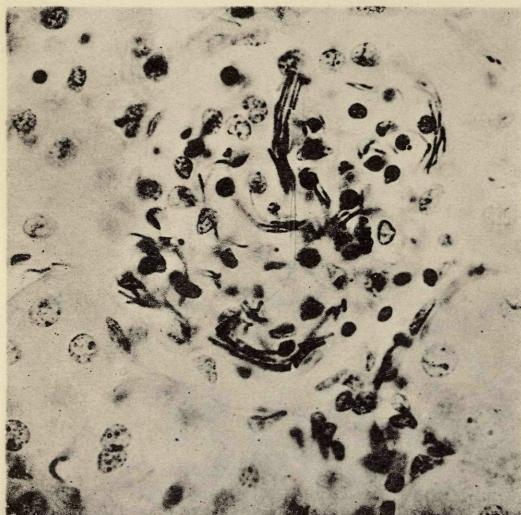
25



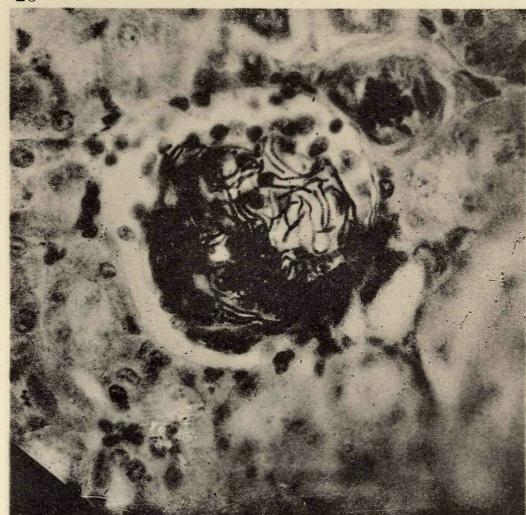
26



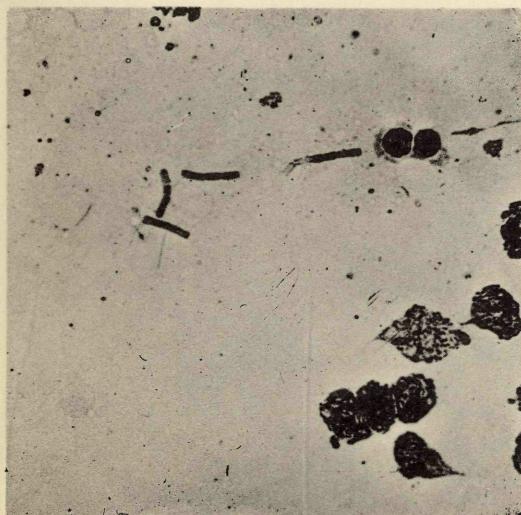
27



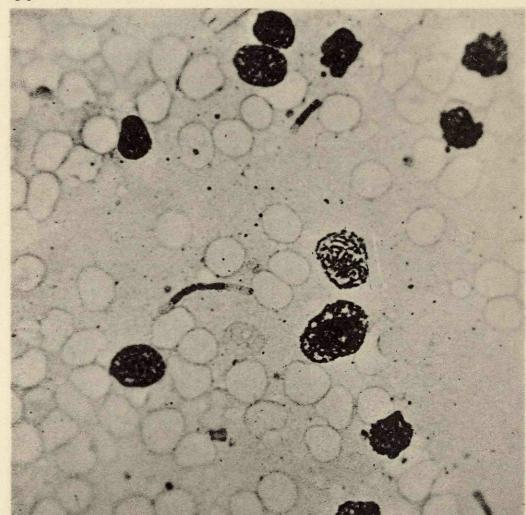
28



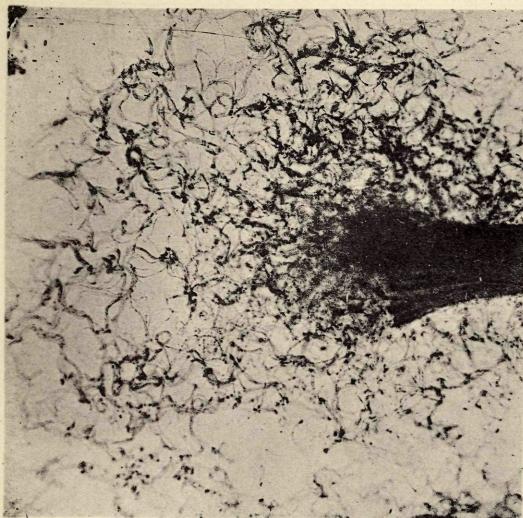
29



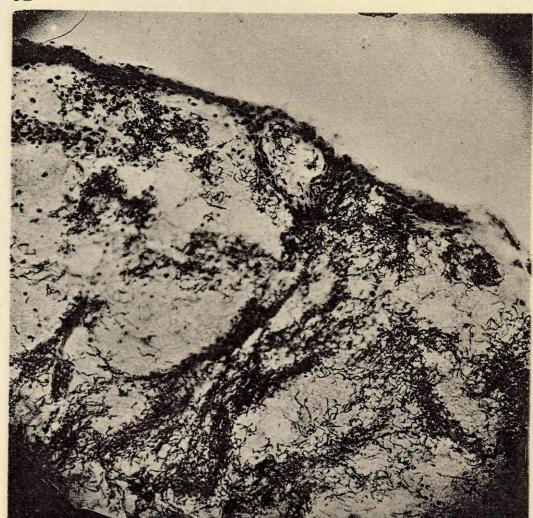
30



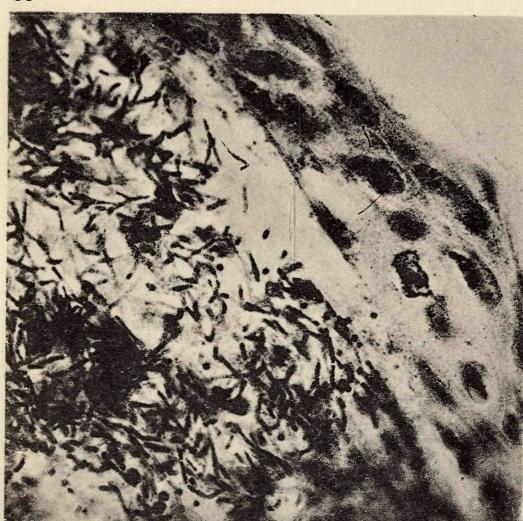
31



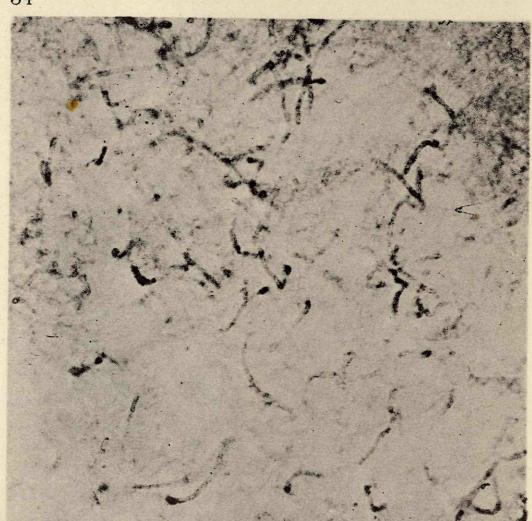
32



33



34



35



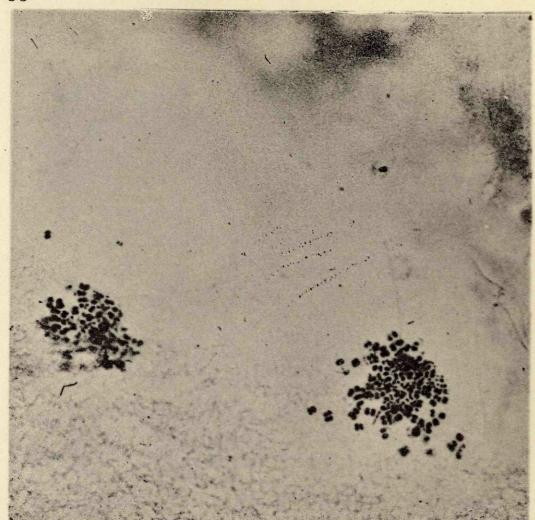
36



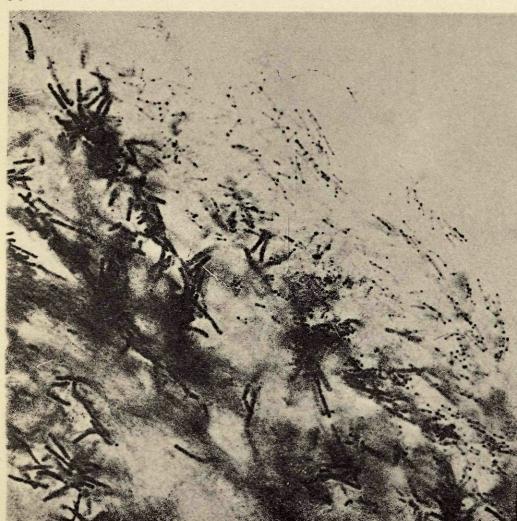
37



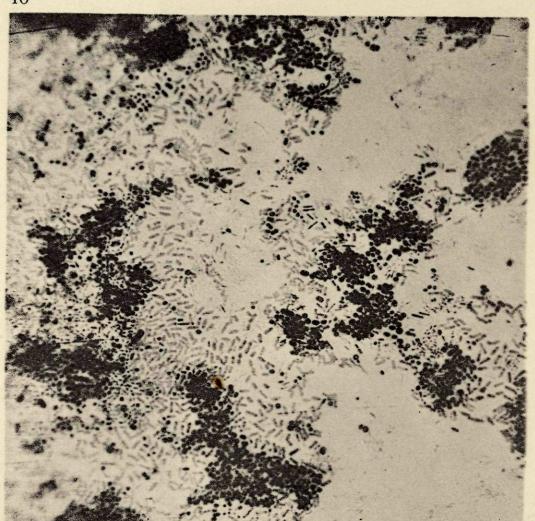
38



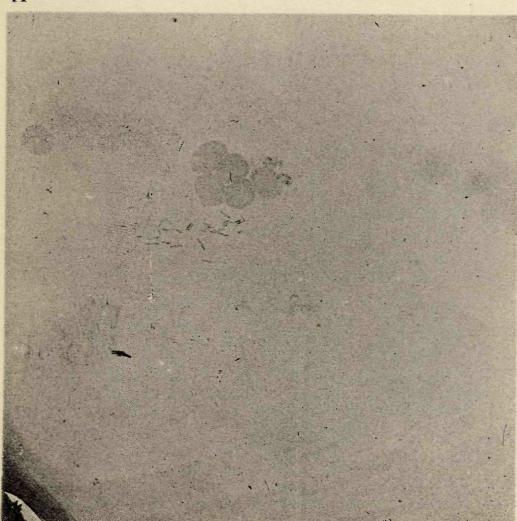
39



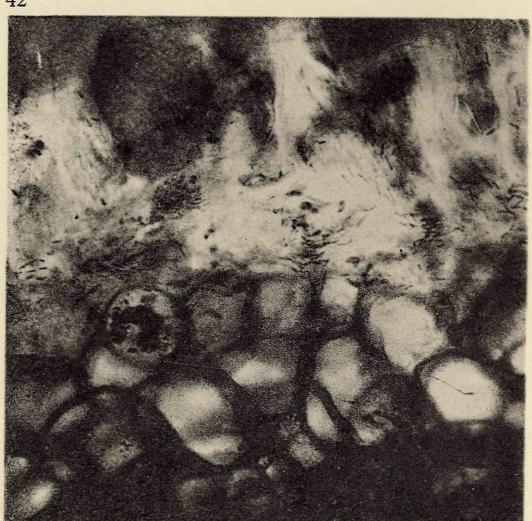
40



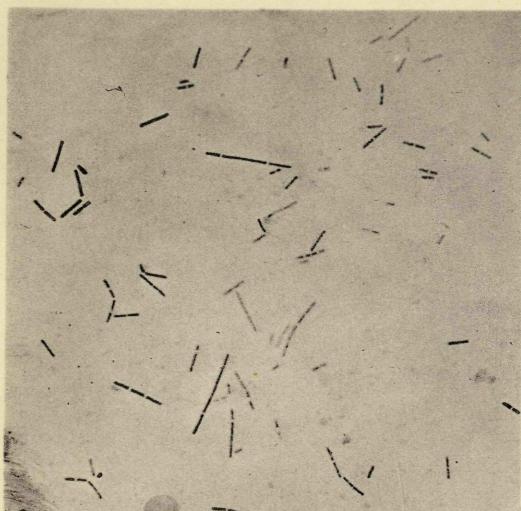
41



42



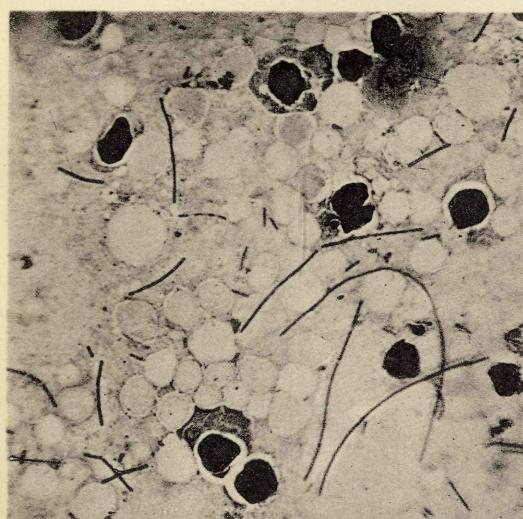
43



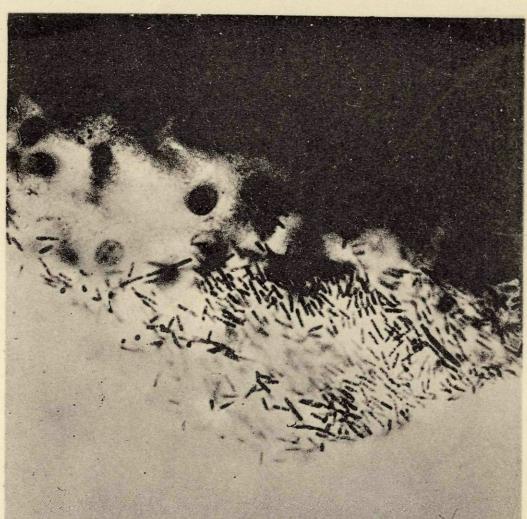
44



45



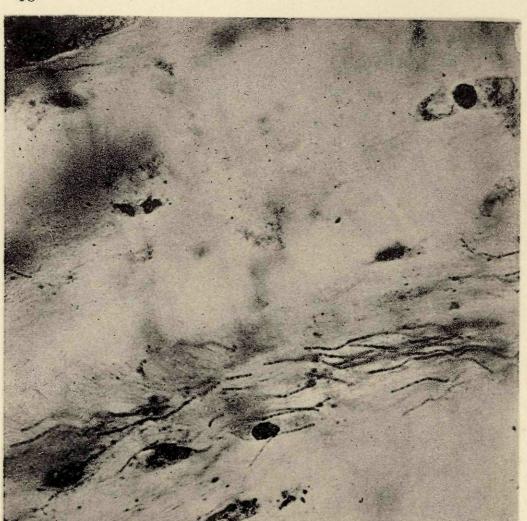
46



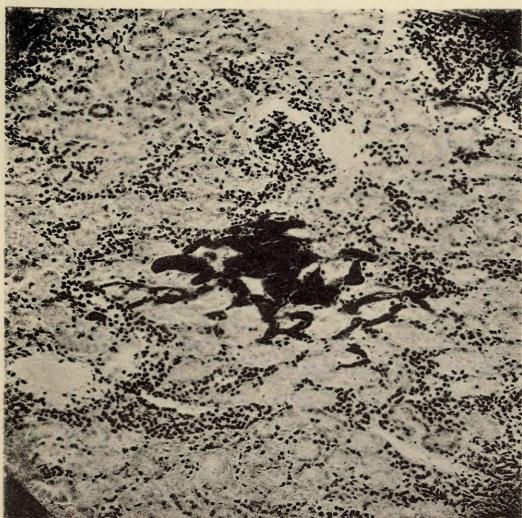
47



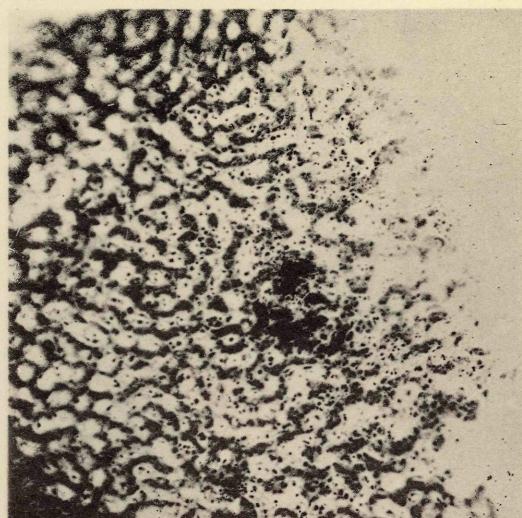
48



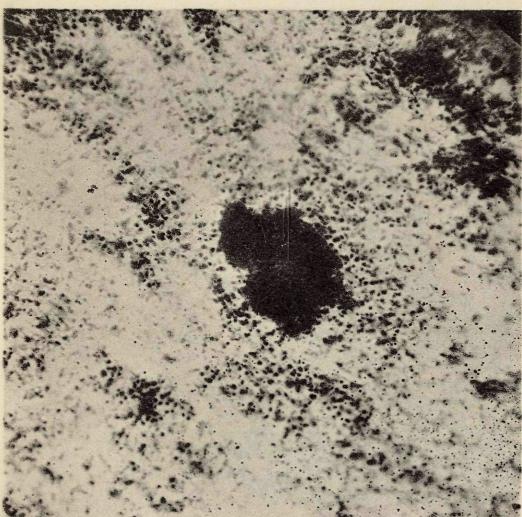
49



50



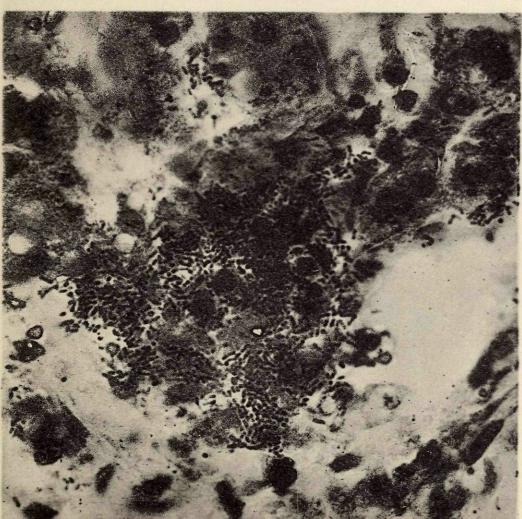
51



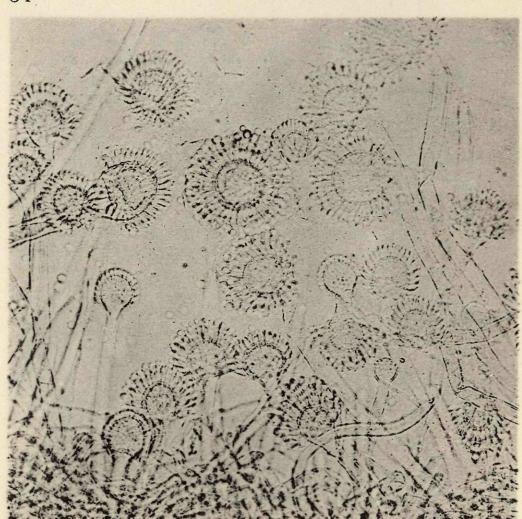
52



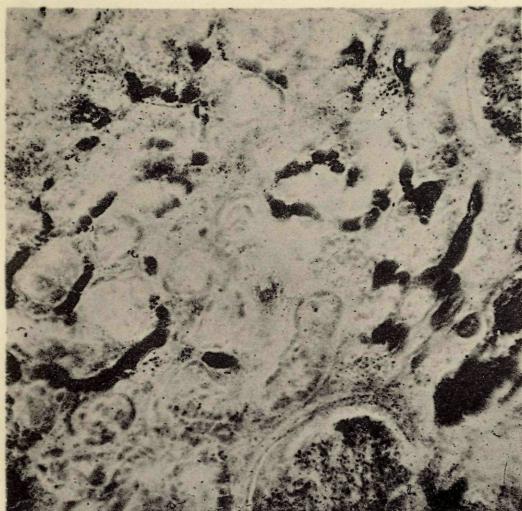
53



54



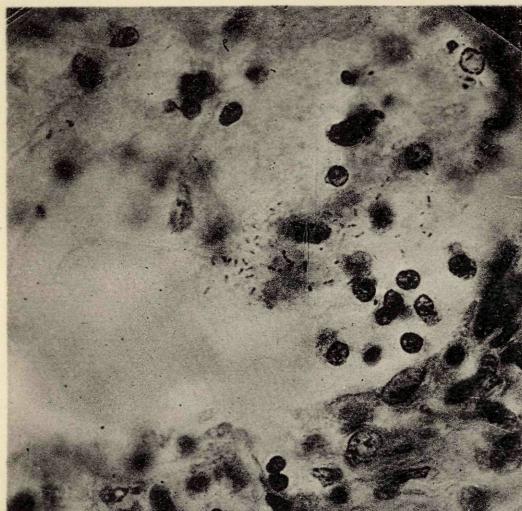
55



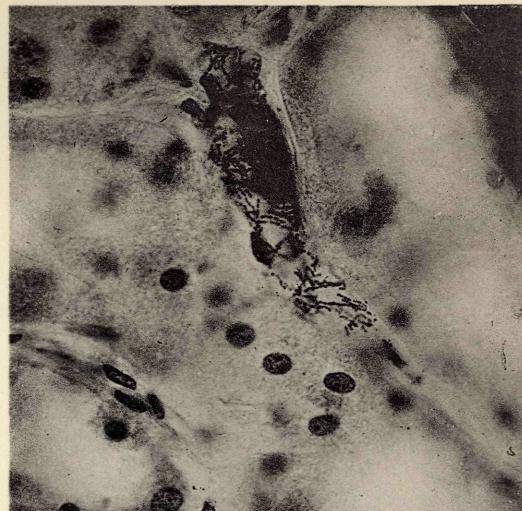
56



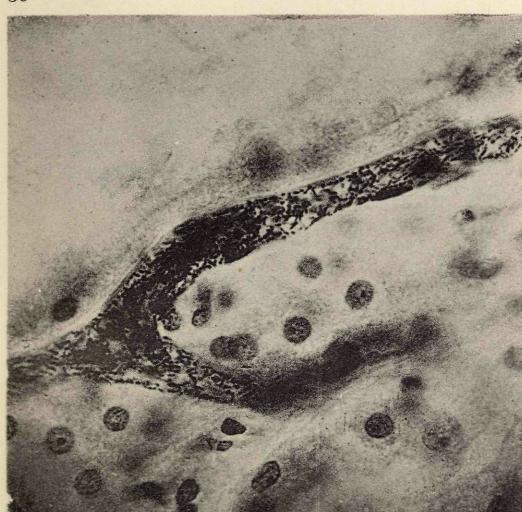
57



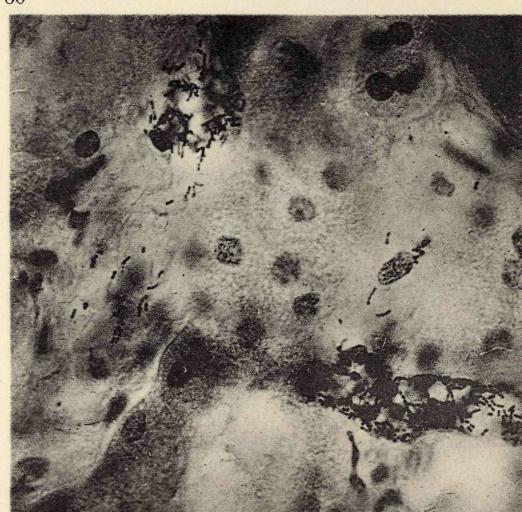
58



59



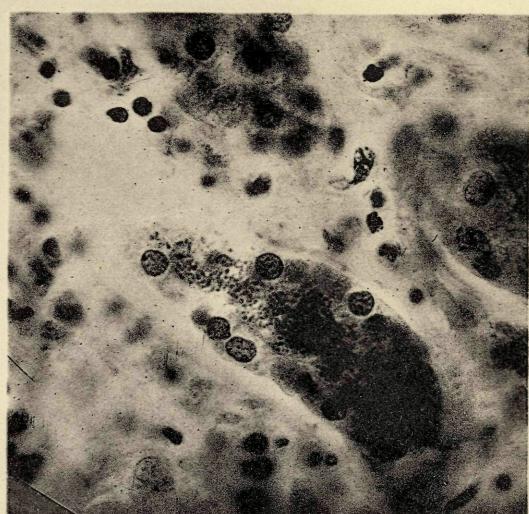
60



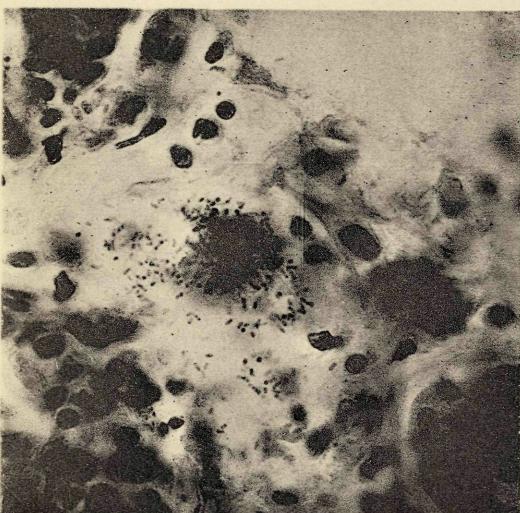
61



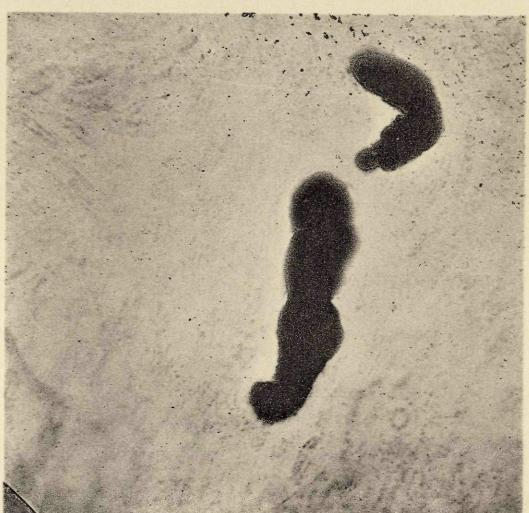
62



63



64



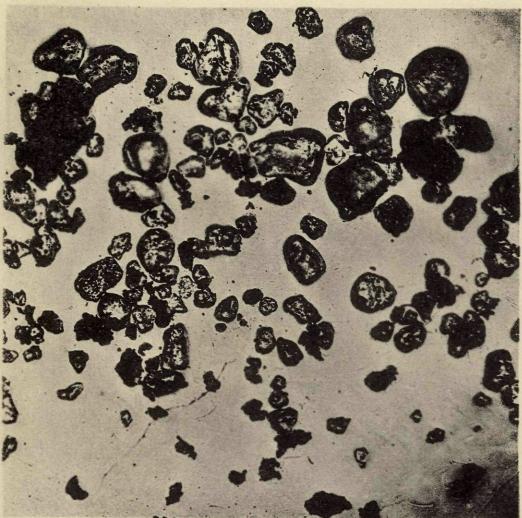
65



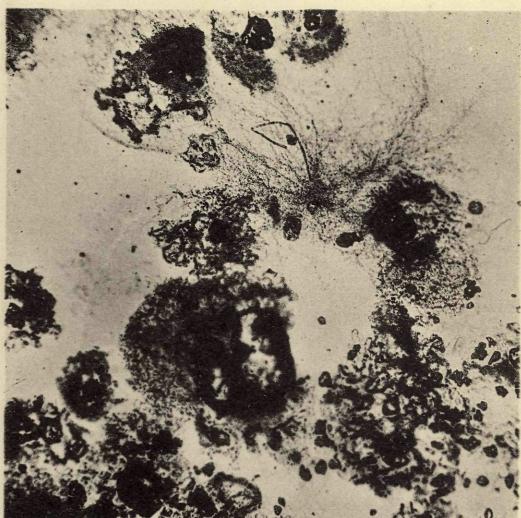
66



67



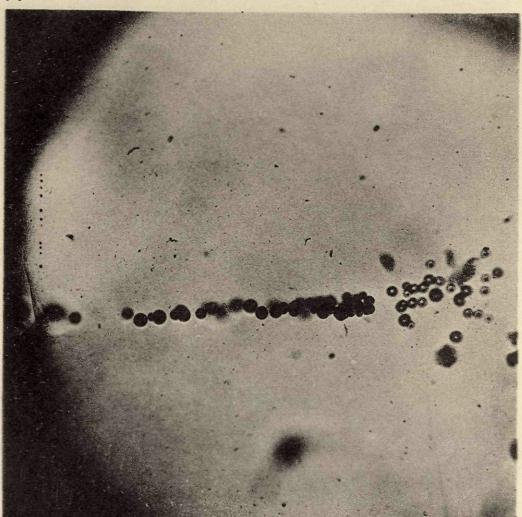
68



69



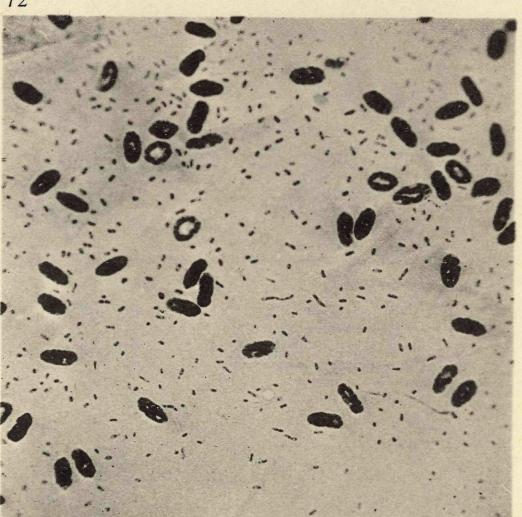
70



71



72



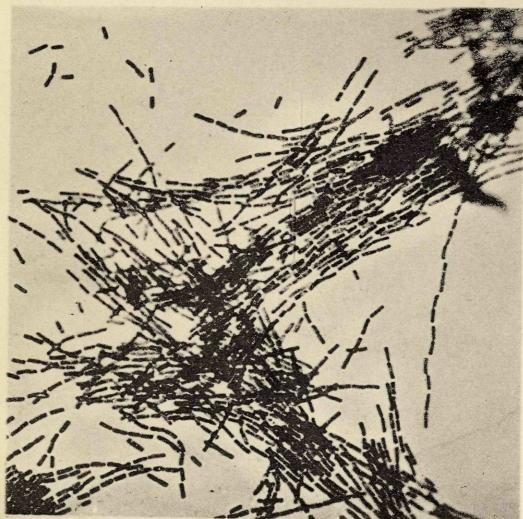
73



74



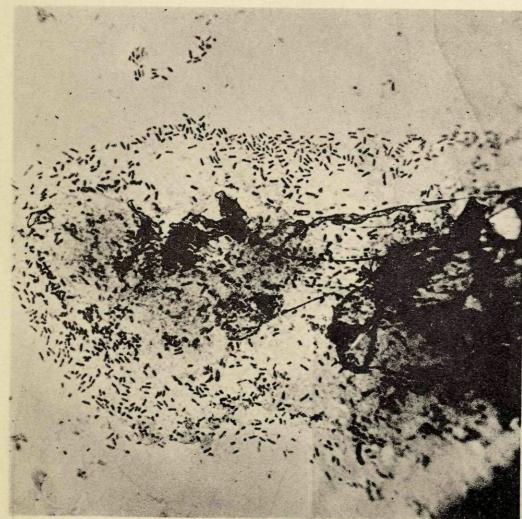
75



76



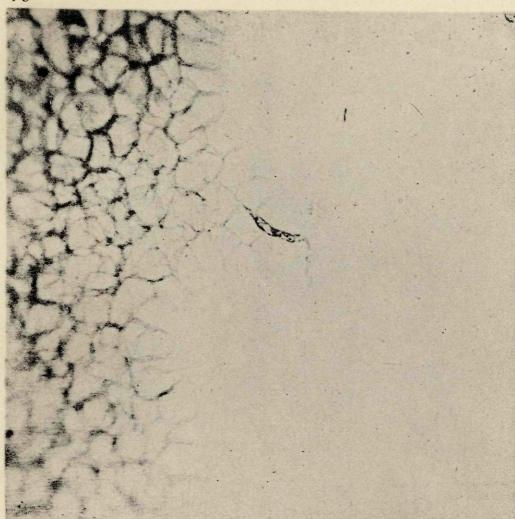
77



78



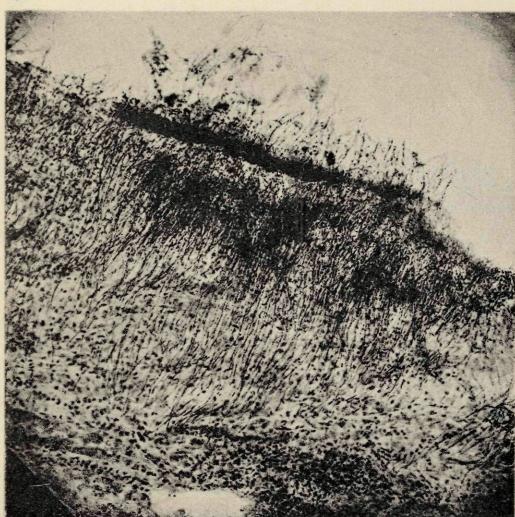
79



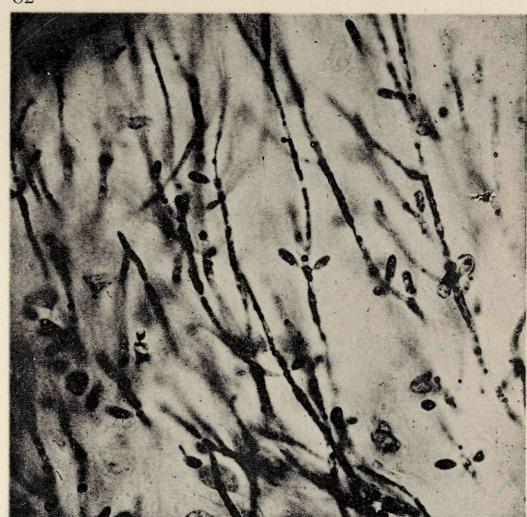
80



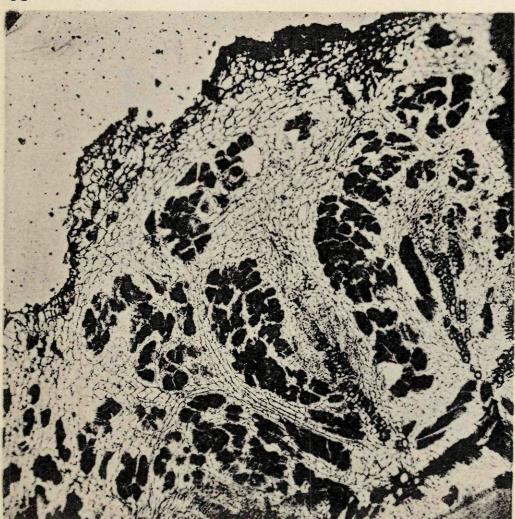
81



82



83



84

