[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.]
(Direktor: Geheimer Obermedizinalrat Prof. Dr. Gaffky)

Über Geißelzöpfe, *Spirochaete polyspira* und *Planosarcina* Schaudinni.

Von

Prof. Dr. Zettnow.

(Hierzu Taf. VII–IX.)

I.

Seitdem Löffler(1) den ersten Geißelzopf in einem mit seiner Beize behandelten Präparat von Rauschbrand beobachtet, photographiert und alsdann auch im hängenden Tropfen nach vielem Suchen zu Gesicht bekommen hat, sind diese Gebilde mehrfach in der Literatur erwähnt, sowie Photogramme von ihnen veröffentlicht worden. Mir sind außer

1. Löfflers Bildern noch folgende bekannt:

2. Pfeiffers(2) Photogramme sowohl von gefärbten wie ungefärbten Geißelzöpfen, gebildet von Novys Bacillus des malignen Ödems.

3. Schmorls Photogramm vom Heubacillus, Fig. 6 auf Taf. V, zu A. Fischers(3) Arbeit: Untersuchungen über Bakterien.

4. Dunbars Photographien zur Arbeit von Sames(4): Eine bewegliche Sarcine.

5. Ich selbst habe zwei Photogramme von Geißelzöpfen, herrührend von zwei verschiedenen Bakterien, in den Fig. 35 und 36 des von mir zusammengestellten Atlas zu Kolles und Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen veröffentlicht.

Bisher hat niemand diesen Geißelverschlingungen besondere Aufmerksamkeit geschenkt; sie werden als merkwürdige morphologische Gebilde

betrachtet und desto leichter übersehen, da sie ja fast stets erst nach Anfertigung eines guten Geißelpräparates dem Auge auffallen; ebenso wenig hat man ihrer äußeren Gestalt sonderliche Bedeutung zugemessen, obgleich bei den dünneren mitunter eine überraschende Ähnlichkeit mit korkzieherartig gedrehten Spirillen und Spirochäten, von deren Polen eine Endgeißel ausgeht, vorhanden ist.

In einer vor kurzem erschienenen vorläufigen Mitteilung über *Spirochaete polyspira* hat nun Max Wolff(5) sogar umgekehrt die Frage aufgeworfen (S. 452), „ob nicht so manches, was bisher als Geißelzopf gedeutet wurde, in Wirklichkeit etwas anderes gewesen ist und sich . . . schließlich als Spirochäte entpuppt haben würde.“

Sowohl am Anfang wie am Schluß seiner Mitteilung gibt der Verfasser als Grund für seine Veröffentlichung an, er wolle darauf aufmerksam machen, „daß echte Spirochäten in Reinkulturen von Bakterien vorkommen können und also diese in solchen Fällen für etwaige pathologische Wirkungen nicht allein verantwortlich gemacht werden dürfen, wenn es nicht gelingt, sie von den protozoären Kommensalen zu befreien“.

Bei wiederholtem Durchlesen dieser Arbeit und der genauen Betrachtung der ihr beigegebenen Photogramme von *Spirochaete polyspira* haben sich mir alsbald folgende drei Fragen aufgedrängt:

1. Handelt es sich hier wirklich um Spirochäten und nicht doch um Geißelzöpfe von ganz ähnlicher Art, wie dir solche aus den 1901 von *Sacrina agilis* Sames angefertigten Präparaten bekannt sind, besonders da *Plenosarcina Schaudinni* der *Sarcina agilis* außerordentlich nahe steht?

2. Sollte den Bakteriologen eine derartige, wenn auch erst im Laufe der Zeit sichtbar werdende Verunreinigung einer Reinkultur wirklich bisher entgangen sein? und

3. Zeigen die Photogramme wirklich alle Kennzeichen einer Spirochäte?

Wenn auch in den letzten Jahren die Anzahl der Spirochätenarten sich stark vermehrt hat und wahrscheinlich in kürzerer oder längerer Zeit eine Trennung eintreten wird, in solche, welche a) den Spirillen, also den Bakterien, und b) den Protozoen näher stehen, so lassen sich doch auf Grund der wohl bekannten Arten: *Spirochaete buccalis*, *dentium*, *gallinarum*, *anserina*, *Obermeieri*, *Duttoni*, *balanitidis*, *refringens* und *pallida* folgende Kennzeichen feststellen:

A. Die Breite wechselt bei derselben Färbungsart nur in mäßigen Grenzen; durch sehr kräftige Färbung werden besonders die kleinsten Arten, wie *Sp. pallida*, für das Auge leichter wahrnehmbar und erscheinen bedeutend breiter als schwach gefärbte, gerade erkennbare; bei wirklichen Messungen ergibt sich jedoch nur eine geringe Zunahme der Breite;

dasselbe Verhalten ist von kleinen, schwach und stark nach demselben Verfahren gefärbten Bakterien allgemein bekannt.

Bei Benutzung einer anderen Methode der Färbung kann die Breite zunehmen, nach Beizung und Versilberung das Doppelte bis Dreifache gegenüber der gewöhnlichen Färbung betragen. Aus diesem Verhalten bei letzterer Färbung schließe ich auf das Dasein eines sehr starken Ekto-plasmas bei den Spirochäten, wie ein solches außerordentlich starkes auch bei vielen Bakterien, z. B. Cholera-vibrionen, durch Beizung leicht nachweisbar ist.

Die größte Breite bei den oben angeführten Spirochäten, also von *Sp. balbianii* und *anodontae* abgesehen, beträgt 0.5 bis 0.7 μ und geht bei den kleinsten auf etwa 0.2 μ hinunter.

B. Die Länge schwankt in bedeutenderem Maße als die Breite; sie kann z. B. bei *Sp. pallida* 4 bis 20 μ betragen, bei *Sp. Duttoni* und *refringens* auf 30 bis 40 μ steigen und bei verlangsamter Teilung das drei- bis fünffache von derjenigen betragen, welche man bei den kürzesten Exemplaren nach eben erfolgter Abtrennung beobachtet.

C. Die äußere Gestalt derselben Art erscheint verschieden, je nach der Präparation; wenn auch der Körper niemals gerade gestreckt erscheint und stets Windungen aufweist, so sind diese doch in dem einen Präparat lang ausgezogen, ähnlich wie eine geschwungene Peitschenschnur, in einem anderen dagegen mehr oder weniger stark spiralig gedreht. Bei Rekurrens-Spirochäten findet man fast nur die letztere Form in Präparaten, welche mit zentrifugiertem und durch Osmium abgetötetem Material hergestellt sind; in Blutaussstrichen dagegen selten eine andere als die erstere mit flachen ungleichmäßigen Windungen. Niemals fehlen die sich kurz zuspitzenden Enden, durch welche sie sich von den Spirillen unterscheiden.

Es passen also auf die oben angeführten Spirochäten auch heute noch die seit Jahrzehnten festgehaltenen Kennzeichen: Es sind spiralig oder peitschenschnurartig gewundene biegsame Fäden mit Eigenbewegung.

Niemals treten Unterschiede in der Breite auf, wie solche aus den beiden Photogrammen 1 und 2 von Wolff für *Spirochaete polyspira*, auf dieselbe Vergrößerung bezogen, abzuleiten sind. Für die lange Spirochäte in Fig. 1 beträgt in der Mitte die Breite 1.0 bis 1.1 μ ; die Vergrößerung berechnet sich aus den Angaben der Tafelerklärung auf rund 1100, also ist sie bei 1000 facher Vergrößerung 0.9 bis 1.1 μ breit. Bei dem großen Exemplar in Fig. 2 1500 fach vergrößert und 4 bis 4.5 μ breit, ergibt sich für 1000 fache Vergrößerung eine Breite von 2.7 bis 3 μ .

Derartige Gebilde, wie Fig. 2 zeigt, waren mir aus meinen 1898 von *Sarcina agilis* Sames angefertigten Geißelpräparaten in der verschiedensten

Größe wohlbekannt; solche ähnlich denen der Fig. 1 hatte ich 1901 bei Wiederholung des Versuchs erhalten.

Zur näheren Untersuchung in lebendem Zustande bezog ich von Král eine Kultur von *Planosarcina Schaudinni*, welche Hr. Dr. Max Wolff, dem ich sie zur Begütachtung einsandte, die Güte hatte, als echt anzuerkennen.

Außer einer Anzahl von hängenden Tropfen, in denen sich jedoch bis jetzt, 10 Wochen nach ihrer Anlage, von derartigen Gebilden nichts erkennen läßt, legte ich Bouillonkulturen an und ahmte, ebenso wie ich es früher bei *Sarcina agilis* getan hatte, den von Sames angegebenen Eintrocknungsversuch in größerem Maßstabe nach. Etwa 10^{cem} einer gut angegangenen, bzw. bei anderen Versuchen 14 Tage alten Bouillonkultur wurden in eine Schale gegossen und bei 28° halb eingetrocknet; hierzu genügten 3 bis 4 Tage; da der Deckel der Schale entfernt war, wurde zum Schutz gegen Verunreinigung eine Glasplatte etwa 2^{cm} über der Schale angebracht; auch wurde der Brutofen geschlossen gehalten. Als dann wurde die Kultur durch Hinzufügung von 1^{cem} 40 prozentigem Formalin abgetötet und mit 1 Prozent Formalin bis auf etwa 150^{cem} verdünnt. Der nach 48 Stunden im Spitzglase erhaltene Absatz wurde durch nochmaliges Aufschwemmen in 1 Prozent Formalin gewaschen und nach erneutem Absetzen zur Anfertigung von Präparaten benutzt.

Im hängenden Tropfen ließen sich von solchem Material nur an halbtrocknen Stellen, nicht an den von der Flüssigkeit völlig bedeckten, ganz ähnliche Gebilde beobachten, wie solche die Wolffschen Photogramme zeigen; besonders dickere, von *Sarcin*e-paketen ausgehende, meist etwas geschweifte Stränge zeigten sich in großer Menge; sie waren jedoch sämtlich nur schwierig, wenigstens für mein Auge, erkennbar. Bei einer anderen Bakterienart, dem *Bacillus brandenburgensis* Maaßen, habe ich solche Geißelzöpfe sowohl im hängenden Tropfen, in welchem sie sich gebildet hatten, wie in der wässerigen Aufschwemmung einer Agarkultur schon bei mittelstarker Vergrößerung ohne Schwierigkeiten erkennen können.

Im Geißelpräparat dagegen treten sie klar und in allen Einzelheiten so deutlich erkennbar hervor, daß der Vergleich mit dem ungefärbten Präparat gewisse Schwierigkeiten bereitet; in letzterem wird nur das gröbere Gefüge des Geißelzopfes dem Auge sichtbar, während die feineren Einzelheiten, z. B. die ihm angelagerten zarten Geißelverschlingungen, ihrer Durchsichtigkeit wegen übersehen oder falsch gedeutet werden; so z. B. berichtet Wolff auf S. 453: „Dagegen habe ich an vollständig ruhenden Spirochäten sehr schön beobachten können, wie ein feiner Zacken von einem Pol des Tieres zum anderen an der äußeren Kontur

der undulierenden Membran entlang wandert.“ Bei genauer Betrachtung des Wolffschen Photogramms Fig. 1 sieht man in der Mitte auf der rechten Seite des außergewöhnlich langen Geißelzopfes eine feine gewellte Linie, welche als Randfaden der undulierenden Membran gedeutet werden kann; im Geißelpräparat würde sie sich deutlicher als Geißelverschlingung erkennen lassen, wahrscheinlich das ganze Gebilde als aus einzelnen Geißeln zusammengesetzt sich erweisen; ähnlich wie die Fig. 1 und 2 auf Taf. VII es zeigen. Diese Photogramme zeigen Stellen aus Präparaten, welche von *Sarc. agilis* angefertigt sind, während die Fig. 22 bis 26 und 29 bis 31 solche an wirkliche Spirochäten nicht nur erinnernde, sondern sie täuschend nachahmende Geißelzöpfe von *Planosarcina* Schaudinni darstellen; erst die Durchmusterung der Präparate, in welchen sich ebenso wie bei *Sarcina agilis* alle nur erdenklichen Übergänge von freien oder am Bacterium befindlichen Geißeln zu kleinen und großen, lockeren und durch Verschmelzung verdichteten Geißelzöpfen befinden, zeigt, daß auch sie wirkliche Geißelzöpfe vorstellen und daß es sich nicht, wie ihr aus dem Zusammenhang gerissenes Bild vermuten lassen könnte, um Spirochäten handelt. Wolff geht von der Annahme aus, daß es bei derselben Art große und kleine Spirochäten gibt bis hinunter zu ultramikroskopischen Formen. Er stützt sich, wie dies aus der ganzen Arbeit ersichtlich ist, auf Schaudinns (6) Veröffentlichung über *Spirochaete Ziemanni*; er hat übersehen, daß Schaudinns Mitteilung sich eigentlich auf Trypanosomen bezieht und daß Schaudinn hinsichtlich der Spirochäten seine Ansicht etwa ein Jahr später, wenn auch nicht mit dünnen Worten, so doch in Wirklichkeit geändert hat, da er (7) sagt, daß die *Spirochaete Ziemanni* nur in einem kurzen Entwicklungszustande Spirochätengestalt (äußere Ähnlichkeit usw.) besitzt und nur phylogenetische Beziehungen zu diesen Organismen andeutet.

Infolge dieser Vorstellungen und hauptsächlich auf Beobachtung des lebenden Präparates gestützt, erkennt Wolff S. 453 eine undulierende Membran und sieht eine Bewegung derselben; er beobachtet S. 450 eine Längsteilung und sieht von der Herstellung eines gefärbten Präparates ab, da S. 453 seine „Spirochäte sehr schwer nach Giemsa, mit Heidenhain, Delafield, Romanowsky so gut wie gar nicht (d. h. ohne brauchbares Resultat) färbbar zu sein scheint“.

Ferner erkennt er S. 454, wenn auch mit Vorbehalt, sogar die Ruhestadien der Spirochäten, welche Schaudinn in den Fig. 17 *g* und *h* auf S. 431 seiner Arbeit abbildet.

Ein gutes, klares Geißelpräparat hätte ihm wie über die Zöpfe, so auch über diese kleinsten Gebilde sichere Aufklärung verschafft; ich halte sie für zerfallende und in Auflösung begriffene Sarcinen; im hängenden

Tropfen sieht man bereits 4 bis 6 Tage nach Anfertigung desselben jene kleinen, an Kapselkokken erinnernden, „stark lichtbrechenden minutiösen Gebilde“, wie Wolff sie sehr treffend bezeichnet; im Geißelpräparat älterer Kulturen trifft man sie vielfach an; meist sind zwei bis vier vorhanden, umgeben von einem großen gelben Hof mit unregelmäßiger Umrandung, von welcher mitunter Geißeln ausgehen; oft sieht man letzteren allein, ohne schwarzen Coccus; ich halte sie für untergehende Sarcinen, bei welchen die chromatische Substanz allmählich verschwindet, schließlich nicht mehr durch Färbung von dem durch die Beize darstellbaren Teil sich differenziert. Ein ganz ähnliches Verhalten habe ich bei *Bacillus alvei* beobachtet; bei diesem, auf ungünstigem Boden gewachsen, zeigten sich in einer 8 Tage alten Kultur im Geißelpräparat eine große Menge an Kokken erinnernde, mit breitem Hof und mit mehreren Geißeln versehene Gebilde; sie nahmen mit dem Alter der Kultur zu und betrugen schließlich 80 bis 90 Prozent; auf neuem Nährboden derselben Art wuchsen jedoch nur Kolonien von *Bac. alvei*.

Daß Geißeln und die von ihnen gebildeten Zöpfe lange Zeit in der Flüssigkeit, in welcher sie sich gebildet haben, ohne Veränderung erhalten bleiben können, berichtet Fischer; noch nach 190 Tagen waren in jeder Öse des Bodensatzes einer Bouillonkultur vom *Heubacillus* Hunderte von Zöpfen enthalten; in Wasser übertragen, lösten sie sich jedoch in kurzer Zeit auf. Ich selbst habe in einer 15 Wochen alten, stark eingetrockneten Kultur von *Spirillum volutans* nach Aufweichung des Materials und Anfertigung eines Geißelpräparates fast an jedem *Spirillum* ein wohl erhaltenes Geißelbüschel gesehen; von einer außerordentlich langen Erhaltung derartiger Geißelzöpfe hat mir Maaßen von seinem *Bacillus brandenburgensis* berichtet; nicht nur in einem 2½ Jahre alten hängenden Tropfen waren viele große Geißelzöpfe bei mittelstarker Vergrößerung leicht zu erkennen, sondern auch in 20 Jahre alten Bienenlarven konnten sie durch Färbung nachgewiesen werden.

Welche besonderen Bedingungen für eine ausgiebige Bildung freier Geißelzöpfe bei Bakterien überhaupt notwendig sind, vermag ich ebenso wenig zu sagen, wie darüber, weshalb sie in dem einen Falle leicht sich auflösen, im anderen nicht. An erster Stelle ist wohl die Art des Bacteriums maßgebend, bzw. die Eigentümlichkeit seiner Geißeln. Bei so reich begeißelten Arten wie *Proteus vulgaris* und *Tetanus*, deren Körper von Geißeln strotzt, habe ich trotz darauf hinzielender Versuche niemals freie Zöpfe erhalten; selbst kleine Verschlingungen von Geißeln am Stäbchen sind gar nicht häufig. Bei Rauschbrand dagegen geht sowohl auf der Agaroberfläche, wie in der Bouillonkultur eine solche Verschlingung nicht nur am Bacterium selbst mit großer Leichtigkeit vor sich, sondern

man kann auch mit Sicherheit auf die Bildung von freien Geißelzöpfen rechnen; ähnlich verhält sich *Sarcina agilis* Sames.

Besser orientiert sind wir über den Aufbau von Geißelzöpfen; in jedem Präparat von Rauschbrand kann man ohne Schwierigkeit erkennen, wie aus den einzelnen Geißeln kleine, aus diesen wahrscheinlich durch chemotaktische Anziehung der verschmelzenden und in ihrer Substanz sich verändernden Masse größere, schließlich riesige Geißelzöpfe entstehen. (Vgl. Fig. 1 bis 5, 7, 10, 16, 17, 19, 28, 46 bis 49.) Selbst bei starker Beizung und Färbung erscheinen solche große Gebilde nicht so stark gefärbt, wie man es nach ihrer Masse vermuten sollte; dieses Verhalten deutet darauf hin, daß die ältesten Teile im Innern sich bereits stark umgeändert und die Färbbarkeit eingebüßt haben; sonst wäre es z. B. nicht möglich, daß der mächtige Geißelzopf von *Sarcina agilis* (Fig. 3, Taf. VII) solche Feinheiten im Bau erkennen ließe, wie das Bild sie zeigt. Die äußere Gestalt der Geißelzöpfe ist bei derselben Bakterienart wechselnd und richtet sich nach dem Nährboden sowie seiner Alkalität; 1898 lieferte mir *Sarcina agilis* nach starker Verdunstung der Spirillenbouillon ausnahmslos gewellte, dicht zusammengedrehte Zöpfe, wie die Fig. 3 und 4, Taf. VII, sie zeigen; 1901 erhielt ich fast nur lockere (vgl. Fig. 2, Taf. VII), obgleich dem Anschein nach der Versuch ganz ähnlich angestellt war; möglicherweise war die Eintrocknung etwas geringer. Die in Fig. 50 und 51, Taf. IX, dargestellten Zöpfe aus einem Originalpräparat von Sames (ein Tropfen Quetschwasser auf dem Objektträger langsam verdunstet und mit Karbolfuchsin gefärbt) zeigen nicht mehr die Zusammensetzung aus Geißeln und machen den Eindruck, als ob sie stärker degeneriert sind, als die vor völligem Eintrocknen fixierten.

Außer bei den genannten beiden Bakterienarten, bei welchen man mit Sicherheit auf die Bildung von Geißelzöpfen rechnen kann, habe ich 1890 solche in einer Faulflüssigkeit beobachtet; sie sind fast in jedem Gesichtsfeld des Präparates, dessen Färbung seit jener Zeit nur wenig abgeblaßt ist, zu sehen und rühren mit großer Wahrscheinlichkeit von dem in Fig. 43, dargestellten *Bacillus* her. Es ist derselbe, von welchem Löffler in seiner ersten Mitteilung über die Färbung der Geißeln in Fig. 1 eine Abbildung gibt; da ich ihn früher öfter in Faulflüssigkeiten angetroffen und eine Reihe von Photogrammen von ihm angefertigt habe, gab ich ihm den Namen *Bacillus flagellotortus*, auch ohne eine Reinkultur erhalten zu haben. Seine Polgeißeln sind fast ausnahmslos zu einem gewellten Zopf zusammengedreht; Exemplare mit einzelnen Geißeln sind äußerst selten.

Die Frage, ob es sich in diesem Präparat der Faulflüssigkeit doch vielleicht um *Spirochäten* handelt, hat Hr. Geheimrat Löffler, welchem ich damals das Präparat zur Ansicht gesandt hatte, ebenso verneint, wie

ich selbst, und bei Rücksendung desselben ein anderes beigelegt, von welchem die Fig. 36 bis 38, Taf. IX, herrühren; das kleine, unbenannte Bacterium ist ausgezeichnet durch die ungeheure Menge von Geißelzöpfen, welche es bildet; einzelne Geißeln am Stäbchen oder im Untergrund sind im Präparat sehr selten, dagegen Zöpfe stellenweise in Unmasse vorhanden. Die unscharfen Ränder, von welchen häufig gut erkennbare einzelne Geißeln ausgehen, lassen sie leicht als wirkliche Zöpfe erkennen.

Auch *Bacillus brandenburgensis* Maaßen¹ (Fig. 44 bis 46) bildet, wie schon erwähnt, schöne Geißelzöpfe verschiedenster Größe.

Auffallend ist bei diesen Gebilden die oft außerordentliche Regelmäßigkeit, mit welcher sich zwei von ihnen, gleichgültig, ob schlank oder dick, miteinander verschlingen. Sie können vollkommene Bilder von einfachen oder in der Längsteilung befindlichen echten Spirochäten vortäuschen. Auch demjenigen, welcher in Kenntnis, daß es sich um Geißelzöpfe handelt, die Photogramme Nr. 22 bis 27, 32, 33, 35, 36, 39 bis 42 betrachtet, wird ihre Ähnlichkeit mit Spirochäten zugeben.

Nach Beendigung der Arbeiten über die angebliche *Spirochaete polyspira* hat es sich herausgestellt (vgl. II.), daß die *Planosarcina Schaudinni* keine besondere Art ist, sondern nur als Stamm von *Sarcina agilis* zu betrachten ist. Es können also die von letzterer Art gegebenen Figuren nicht nur, wie geschehen, als Vergleichsbilder herangezogen werden, sondern direkt als Beweise für die Ähnlichkeit der Zöpfe mit *Spirochaete polyspira* dienen.

II.

Planosarcina Schaudinni ist keine neue Art.

Als Kennzeichen, durch welche sich *Planosarcina Schaudinni* von *Sarcina agilis* Sames unterscheiden soll, gibt ihr Entdecker Max Wolff (8) S. 25 die folgenden an:

1. Sie ist die größte aller bekannt gewordenen *Planosarcinen*; der Einzelcoccus soll nach Messungen am lebenden Exemplar, S. 20 und 21, 2.5 bis 3 μ , die Tetrade 5.5 $\times$ 4.3 μ messen.

2. Auf Spirillenagar wächst Pl. Sch. nicht besondres gut; auf gewöhnlichen Nährböden dagegen besser; sie zeigt auf Agar wenig Neigung, einen zusammenhängenden Belag zu bilden.

3. Die Kolonien von Pl. Sch. in Gelatine sind rund, diejenigen von *S. agilis* wetzsteinförmig.

¹ Kultur und geeigneten Nährboden verdanke ich Hrn. Regierungsrat Maaßen.

4. Im Stich S. 22 wächst sie nur bis zu einer Tiefe von 1^{cm}.

5. In Uschinskys Lösung findet kein Wachstum statt.

Da aus der Beschreibung nicht hervorgeht, ob der Verfasser vergleichende Versuche mit *Sarcina agilis* Sames angestellt hat oder die betreffenden Unterschiede nur aus den Angaben der Arbeit von Sames ableitet, so habe ich bei der auffallenden Ähnlichkeit beider Arten einige derartige Versuche angestellt; hierbei muß man berücksichtigen, daß Sames seine Art vor fast 10 Jahren isoliert hat, und daß diese seit jener Zeit von mir auf *Spirillenagar* fortgezüchtet ist; dreimal ist mir in diesem Zeitraum die Kultur völlig eingetrocknet und nur mit Mühe wieder zum Weiterwachsen gebracht; an Beweglichkeit hat sie beträchtlich eingebüßt und trotz häufiger, in letzter Zeit erfolgter Überimpfung nicht wieder jene Kraft derselben erlangt, welche sie noch 1901 besessen hat. Die Ergebnisse der Vergleichung sind folgende:

A. Die Bestimmung der Größe ist mit gewissen Schwierigkeiten verknüpft, da einzelne Kokken in frischen Kulturen bei beiden Arten kaum angetroffen werden und alte Kulturen, in welchen sie neben sehr großen Verbänden von Maul- oder Himbeerenform vorkommen, mir für diese Bestimmung nicht geeignet erscheinen. Ich habe mich daher an die in 2 täglichen Kulturen in großer Menge auftretenden Viererformen gehalten; auch ist es mir nicht aufgefallen, daß die Verbände von *Pl. Sch.* normalerweise aus 16 bis 32 Zellen, diejenigen von *S. agilis* aus acht bestehen; in dem zur Ausmessung bestimmten Photogramm befinden sich ebenso wie bei *S. agilis* kaum andere als Viererformen. Die lebenden Sarcinen wurden in Wasser, welches durch Methylenblau schwach gefärbt war, eingerührt und nach Eintritt geringer Färbung von diesem nassen Präparat ein Photogramm bei genau 1000facher Vergrößerung hergestellt. Ebenso wie das in Fig. 15 in meinem Atlas zu Kolle und Wassermann veröffentlichte Photogramm von *S. agilis* zeigt dasjenige von *Pl. Sch.* bereits in jedem Coccus der Viererform eine durch Querlinien angedeutete Vorbereitung zur Teilung; häufig ist auch die eine Hälfte des Verbandes kleiner als die andere, ihr in der Teilung vorausgeeilte. Bei *Pl. Sch.* zeigen nun derartige möglichst gleichmäßig ausgebildete Formen, in der Diagonale des quadratischen Paketes gemessen, fast alle 4 bis 4.5 μ ; quer über den größten Durchmesser des Quadrates 3.8 bis 4.0 μ ; man wird daher der Wahrheit wohl sehr nahe kommen, wenn man für den Einzelcoccus 2 μ annimmt. Bei *S. agilis* betrug 1902 bei gleicher Art der Messung der Durchmesser des Quadrates 3.6 bis 4.2 μ ; im Mittel aus mehreren Messungen 3.85 μ ; der Einzelcoccus also 1.93 μ . Ein Unterschied in der Größe ist also nicht vorhanden. Sames sagt: „Der Durchmesser der einzelnen aus acht Kokken zusammengesetzten *Sarcina* beträgt

3 μ im Mittel“, ohne Angabe, ob diese Messung sich auf lebende oder auf gefärbte, in Balsam liegende Sarcinen bezieht; wahrscheinlich ist die letztere Annahme die richtige, da sich gegenüber meiner Messung der Durchmesser des einzelnen Coccus nur auf 1.5 μ berechnet. In einem von mir hergestellten 1000fachen Photogramm, nach einem von Sames angefertigten Geißelpräparat, beträgt die Breite eines derartigen Paketes 3 bis 3.2 μ ; der schrumpfende Einfluß des Balsams macht sich also trotz der Beize bemerklich.

B. Auf Spirillenagar in möglichst gleicher Menge von frischer Kultur übergeimpft, wachsen beide ohne bemerkbaren Unterschied, wenn auch weniger stark als auf den gewöhnlichen Nährböden; der Vorsprung in der Entwicklung, welchen *S. agilis* in den ersten 2 bis 3 Tagen zeigt, wird von Pl. Sch., welche an diesen Nährboden noch nicht so gewöhnt ist wie die erstere, allmählich vollkommen eingeholt.

C. Impft man in das Quetschwasser von gewöhnlichem Agar und läßt dieses über die Oberfläche fließen, so wachsen beide in gesonderten, nicht zusammenfließenden Kolonien.

D. Im Strich auf gewöhnlichen Agar bleiben beide auf ihn beschränkt und breiten sich nur allmählich von den Seiten aus.

E. Beide bilden, in Gelatine ausgesät, völlig gleiche Kolonien; sie gehen bei 22° nach 48 Stunden deutlich an, bilden genau so, wie Wolff es beschreibt, kugelfunde, in der Tiefe dunklere Kolonien als auf der Oberfläche, und behalten diese Form auch bei weiterem Wachstum bei. Ist die Gelatine fester als gewöhnlich, z. B. bei einem Gehalt von 13 bis 15 Prozent, so bleiben die Kolonien beider in der Tiefe nicht völlig rund, sondern werden etwas unregelmäßig in der Umrandung. Wetzsteinförmige Kolonien habe ich niemals bei *S. ag.* gesehen, auch Sames berichtet von solchen nichts; er sagt: „die tiefer liegenden sind unregelmäßig geformt“. Wetzsteinförmiges Aussehen habe ich auch nicht im Stich, 3 cm unter der Oberfläche, beobachtet.

Dagegen machte sich bei *S. agilis* ein kräftigeres Wachstum bemerklich; die Kolonien wurden fast doppelt so groß als bei Pl. Sch.

F. Im Stich entwickelte sich *S. agilis* bis zu 3.5 cm Tiefe, Pl. Sch. stellte bei 2.5 cm unterhalb der Oberfläche plötzlich das Wachstum ein.

G. In Uschinskys Lösung wuchsen beide erst nach Alkalisierung z. B. mit 0.7^{cem} Normalnatron auf 10^{cem} Lösung; sie bildeten beide nach 5 bis 8 Tagen einen nicht unbedeutenden Satz, welcher bei *S. agilis* etwas stärker war als bei Pl. Sch.

H. Auf Rinderblutserum wachsen beide so gleichmäßig, daß es unmöglich ist, sie zu unterscheiden; der Rasen ist schwach und zeigt an den Rändern eine braungelbe Kante, schließlich durchweg diese Farbe.

J. Auf Drigalskiagar (Milchzucker - Kristallviolett) wachsen beide Arten gleich gut, werden jedoch unbeweglich, trotzdem die Geißeln sich ausgebildet haben, wie Geißelpräparate zeigten.

K. Auf Maltoselakmus ist das Verhalten dasselbe wie unter J., der Nährboden wird schwach gerötet.

L. Auf Malachitgrünagar wurde ein Wachstum nicht beobachtet.

Bei dieser fast völligen Gleichheit in kultureller Hinsicht mußte der biologische Versuch die Entscheidung bringen.

Hr. Dr. Leuchs hatte die Güte, ihn anzustellen, und Hr. Geheimrat Wassermann ihn zu begutachten; ich statue den Herren auch an dieser Stelle für ihre freundliche Beihilfe meinen verbindlichsten Dank ab. Zwei mit den beiden Sarcinen vorbehandelte Kaninchen lieferten ziemlich hochwertige Sera, welche nicht nur ihren eigenen Stamm bis zur Verdünnung 1:500 agglutinierten, sondern auch den fremden; der einzige Unterschied zeigte sich bei der letzten Verdünnung; bei dieser war die Agglutination des eigenen Stammes ein wenig stärker als diejenige des fremden.

Nach den Ergebnissen dieses entscheidenden Versuches kann *Planosarcina* Schaudinni als selbständige Art fernerhin nicht aufrecht erhalten werden; sie kann nur als Stamm Wolff der *Sarcina agilis* Sames gelten.

Als bestes Merkmal, um die beiden Stämme zurzeit zu unterscheiden, kann die Kraft ihrer Beweglichkeit herangezogen werden; während der Stamm Wolff, von frischer Agarkultur in Wasser übertragen, sich außerordentlich lebhaft bewegt, im hängenden Tropfen sogar wochenlang, ist die Beweglichkeit bei dem Stamm Sames, welcher sie in früheren Zeiten in gleich starkem Maße besaß, jetzt eine bedeutend geringere.

Nachschrift.

Während des Druckes meiner Arbeit habe ich mit Hrn. Dr. M. Wolff korrespondiert; ich entspreche seinem Wunsche, wenn ich die folgende Stelle aus einem seiner Briefe anführe: „Auf Grund Ihrer Angaben und Photogramme habe ich mich von der Irrigkeit meiner Auffassung überzeugt.“

Literatur-Verzeichnis.

1. Löffler, Weitere Untersuchungen über Beizung und Färbung der Geißeln bei den Bakterien. *Centralblatt für Bakteriologie*. Mai 1890. Bd. VII. S. 625.
 2. R. Pfeiffer, *Diese Zeitschrift*. Oktober 1893. Bd. XVII. S. 233.
 3. A. Fischer, Untersuchungen über Bakterien. *Jahrbuch für wissenschaftl. Botanik*. 1895. Bd. XXVII.
 4. Sames, Eine bewegliche Sarcine. *Centralblatt für Bakteriologie*. Septbr. 1898. Abt. II. Bd. IV.
 5. Max Wolff, Spirochaete polyspira n. sp. *Ebenda*. Juli 1907. Abt. II. Bd. XVIII.
 6. Schaudinn, Generations- und Wirtswechsel usw. *Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte*. 1904. Bd. XX.
 7. Derselbe, Zur Kenntnis der Spirochaete pallida. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1905. Nr. 42.
 8. Max Wolff, Pedioplana Haeckeli n. g. n. sp. und Planosarcina Schaudinni usw. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1907. Abt. II. Bd. XVIII.
 9. Gonder, Studien über Spirochäten aus dem Blut von Vespertilio Kuhl. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. Bd. XXVII. S. 406.
 10. v. Prowazek, Vergleichende Spirochätenuntersuchungen. *Ebenda*. Bd. XXVI. Taf. IV. Fig. 8.
-

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. VII—IX.)

Die Vergrößerung beträgt, falls sie nicht anders angegeben ist, stets das Tausendfache. Die Geißelpräparate sind durch Behandlung mit Antimonbeize und Äthylaminsilber erhalten; für die Fig. 36 bis 43 dienten zwei nach Löfflers Verfahren hergestellte Präparate.

Tafel VII.

Sarcina agilis Sames. Spirillenbouillon eingedunstet.

Geißelpräparate 1901 (Fig. 1, 2 u. 5).

Fig. 1. Ein sehr langer Geißelzopf; wegen der gewellten Form würde er in ungefärbtem Zustande mit einer Spirochäte noch eher zu verwechseln gewesen sein, wie der von Wolff in Fig. 1 seiner Arbeit dargestellte.

Fig. 2. Zwei sehr große, ziemlich dicke, von einer *Sarcina* ausgehende Zöpfe; die Zusammensetzung aus Geißeln überall gut erkennbar.

Geißelpräparat 1898 (Fig. 3 u. 4.)

Fig. 3. Verschlingung von großen und kleinen Geißelzöpfen in eng spiralförmiger Windung.

Fig. 4. Wie Fig. 3, jedoch bedeutend dicker; die Auflösung der Geißelmasse, besonders im mittleren Teil, ist deutlich erkennbar.

Fig. 5. Mehrere Geißelzöpfe; nur 250 fach vergrößert, da sie in das Gesichtsfeld einer Olimmersion nicht hineingingen.

Planosarcina Schaudinni

aus 14 Tage alter, stark eingedunsteter Bouillonkultur. Fig. 6—10.

Fig. 6 u. 9. Geißelzöpfe in Auflösung; daher die Zusammensetzung aus einzelnen Strängen kaum mehr erkennbar.

Fig. 7 zeigt sehr schön die Bildung eines Zopfes aus einzelnen Geißeln, welche durch Ineinanderdrehung einen festen Strang bilden.

Fig. 8. Der vorigen Figur ähnlich; könnte bei stärkerer Verschlingung und Verschmelzung eine Spirochäte in Längsteilung vertauschen; vielleicht Vorläufer für solche Bildungen; vergleiche die Fig. 25, 26, 35 u. 42.

Fig. 9. Wie Fig. 6; Auflösung weniger weit vorgeschritten.

Fig. 10. Vorläufer zu Figuren, ähnlich den Nr. 23—27.

Tafel VIII.

Fig. 11. *Sarc. agilis* 1898, mittelgroßer Verband.

Planosarcina Schaudinni (Fig. 12 bis 18, sowie 20 u. 21).
Bouillonkultur, 14 Tage alt, stark eingedunstet; Fig. 17 und 18 Bouillonkultur 4 Wochen alt.

Fig. 12. Reich begeißelter mittelgroßer Verband; wahrscheinlich haben sich einzelne freie Geißeln in die von ihm ausgehenden verschlungen, obgleich solche in der Nähe nicht mehr vorhanden waren.

Fig. 13. Kleiner Verband mit einer der längsten, spiralig gewundenen Geißeln von etwa 26μ Länge, die ich beobachtet habe.

Fig. 14. Kleines Paket mit fast graden, vielleicht schon abgestorbenen Geißeln von 40 bis 45μ Länge.

Fig. 15. Sehr großer Verband; nach den gewellten Geißeln zu schließen völlig lebenskräftig. Beispiel für Geißelzöpfe am Bacterium selbst.

Fig. 16. Großer Verband, welcher viel Geißeln verloren hat, während die vorhandenen fast sämtlich zu einem Zopf zusammengedreht sind, welchem sich lose Geißeln zugesellen. Die zwei Geißeln in Verschlingung, der Spitze des Zopfes anliegend, sind dem Zopfe Fig. 30 ähnlich.

Fig. 17 und 18. Kleine Verbände, deren Geißeln zu Zöpfen zusammengedreht sind.

Fig. 19 wie 17 stammt jedoch von *Sarc. agilis* Präparat 1901.

Fig. 20. Durch Verschmelzen bereits ineinander geflossene Geißeln an sehr kleinem Verband; an der Spitze 2 oder 3 ebenfalls schon innig vereinigte Geißeln, an welche sich zwei von einander deutlich getrennte Geißeln angesetzt haben.

Fig. 21. Enge und weite Wellungen an derselben Geißel; selten beobachtet.

Die in den Fig. 22 bis 27, sowie 30 und 35 wiedergegebenen Geißelzöpfe besitzen große Ähnlichkeit mit echten Spirochäten.

Planosarcina Schaudinni (Fig. 22 und 23).

Fig. 22 gleicht in hohem Maße der Fig. 16 in Gonders (9) Arbeit über die Spirochäten bei *Vespertilio Kuhl.*

Fig. 23 gleicht den Fig. 2 und 4 von Gonder daselbst, wenn auch die Wellung ein wenig anders ist.

Tafel IX.

Planosarcina Schaudinni (Fig. 24 bis 27).

Fig. 24 könnte als Spirochäte mit beginnender Auffaserung der Membran gedeutet werden.

Fig. 25 bis 27 könnten als Teilungsformen angesprochen werden.

Fig. 28. *Sarcina agilis* 1898. Ein Haufen dünner freier Geißelzöpfe in ähnlicher Verschlingung wie sie bei Rekurrensspirochäten im hängenden Tropfen beobachtet wird; ganz freiliegend.

Planosarcina Schaudinni (Fig. 29 bis 31).

Fig. 29. Spirochäten ähnliche Geißelzöpfe zwischen Sarcinapaketen.

Fig. 30 und 31. Spirochäten ähnliche Geißelzöpfe.

Fig. 32 und 33. *Sarcina agilis* 1898. Geißelzöpfe von großer Ähnlichkeit in der äußeren Form mit den von v. Prowazek (10) in Fig. 8 gezeichneten, und als männliche Spirochäten aus *Ulcus tropicum* aufgeführten Bildern; nur ist bei den Geißelzöpfen die undulierende Membran bzw. ihr Randfaden deutlich sichtbar.

Fig. 34. *Planosarcina Schaudinni*; sehr schlanke Geißelzöpfe in stärkerer Verschlingung als bei Fig. 28.

Fig. 35. *Sarcina agilis*; Täuschungsbilder für Längsteilung von Spirochäten.

Fig. 36 bis 38 stammen aus einem von Löffler 1890 mit der Reinkultur eines unbenannten Bacteriums hergestellten Präparate; während bei Nr. 36 die Geißelzöpfe Ähnlichkeit besitzen mit Mundspirochäten, zeigt der mittlere Zopf in Fig. 37 eine scheinbare Querteilung und Fig. 38 einen Haufen freier Zöpfe.

Fig. 39 bis 43 stammen aus einem nach Löfflers Verfahren 1890 hergestellten Präparat von einer Faulflüssigkeit; die Geißelzöpfe sind wahrscheinlich von den Geißeln des *Bacillus flagellotortus* gebildet (Fig. 43). Auch hier tritt wieder die hohe Ähnlichkeit mit Spirochäten bzw. solchen in Längsteilung hervor; sogar der fast ausnahmslos statt einzelner Geißeln am *Bacillus* vorhandene Geißelzopf zeigt Spirochätenform.

Fig. 44 bis 46. *Bacillus brandenburgensis*. Der reiche Geißelbehang hat sich fast völlig zu Zöpfen verschlungen; ein bereits recht stattlicher befindet sich noch im Zusammenhang mit dem Faden; die freien vereinigen sich leicht zu dickeren Gebilden.

Fig. 47 bis 49. Geißelzöpfe von Rauschbrand aus Bouillonkultur; diese wurde mit Formalin abgetötet, als die Höhe der Entwicklung eben überschritten war und die Flüssigkeit anfang, sich zu klären.

Fig. 50 und 51. *Sarcina agilis*; Geißelzöpfe aus einem zur Trockne verdunsteten Tropfen von Agarflüssigkeit; gefärbt mit Karbolfuchsin; Präparat von Sames 1890.

E. Zettnow phot.