kochsalzlösungen. Bei den Bouillonculturen trat namentlich im Brütapparat anfangs ebenfalls eine starke Gasentwicklung auf. In eigens hierzu angefertigten Glasapparaten, die eine möglichst vollständige Ansammlung sowie eine bequeme Entnahme des gebildeten Gases für die Untersuchung gestatteten, wurden von zwei Tage lang im Brütapparat gewesenen Bouillonculturen auf 100 ccm Bouillon 15 ccm und mehr eines Gases erhalten, welches aus

2—5 Vol. % Kohlensäure
76—77 " " Wasserstoff
18—22 " " Stickstoff

bestand.

Unter gleichen Verhältnissen lieferte das aus demselben Stuhl isolirte Bacterium coli — ebenso das aus dem dysenterieverdächtigen Stuhl reingezüchtete Bacterium coli — nur wenig mehr als 5 ccm Gas auf 100 ccm Bouillon, und hatte das Gas die folgende Zusammensetzung:

8—11 Vol. % Kohlensäure
81—83 " " Wasserstoff
6—11 " " Stickstoff.

Dagegen entwickelte eine dem Bacterium coli bis zu einem gewissen Grade ähnliche, lebhaft bewegliche Bacterienart, die aus einem Bauchdeckenabscess gezüchtet war und die sich durch hervorragende pathogene Eigenschaften (namentlich durch die Fähigkeit, Entzündung und Eiterung zu erregen) auszeichnete, unter gleichen Bedingungen aus 500 ccm Bouillon nur 0,8 ccm Gas, welches zu 75 % aus Kohlensäure bestand.

Die beschriebenen, in Culturen den Cholera bacillen ähnlichen, durch ausserordentlich lebhaft Gasbildung ausgezeichneten Stäbchen wachsen ausserdem in Milch, in welcher sie unter Säurebildung Gerinnung bewirken. Auf gekochten Kartoffeln bilden sie schon bei Zimmertemperatur eine anfangs graubraune, später oft rothbraune, dicke, schmierige Auflagerung. Zum Unterschied von den Cholera bacillen, welche auf in Seewasser gekochten Kartoffelstückchen besonders üppig gedeihen, blieb auf solchen das Wachstum dieser Bacterien auch bei Brüttemperatur regelmässig aus. Die Cultur auf Agar bietet, abgesehen von der Braunfärbung der Culturauflagerungen bei älteren Culturen, nichts besonderes dar.

Während der nunmehr fast zehn Monate hindurch fortgesetzten Züchtung auf den verschiedensten Nährböden haben diese Bacterien im wesentlichen immer das beschriebene Verhalten gezeigt, nur ist das Wachstum jetzt nicht mehr ganz so lebhaft wie unmittelbar nach der Gewinnung aus dem Stuhl. Bei der häufig ausgeführten mikroskopischen Untersuchung wurden nie Sporen bzw. sporenähnliche Gebilde angetroffen, auch wurde an den Culturen, die unter den verschiedensten Verhältnissen gehalten waren, nie eine besondere Widerstandsfähigkeit beobachtet, die auf das Vorhandensein von Dauerformen hingewiesen hätte. Die Stäbchen lassen sich nicht nach der Methode von Gram färben. Gelegentlich vorkommende Biegungen und Krümmungen an den Stäbchen sind, wie ein genaueres Zusehen ergibt, auf eine winklige Aneinanderlagerung zweier Stäbchen zurückzuführen.

Die Stäbchen beanspruchen nun nicht nur durch die Aehnlichkeit der Culturen mit denjenigen der Cholera, sowie durch die lebhaft Gasbildung unser Interesse, sie sind auch durch hervorragende pathogene Eigenschaften ausgezeichnet.

Wie durch zahlreiche Versuche festgestellt ist, sterben Mäuse und Meerschweinchen, denen man eine bestimmte, nicht zu kleine Menge der Culturen in die Bauchhöhle oder unter die Rückenhaut bringt, in der Regel, und zwar oft innerhalb weniger Stunden. Nach subcutaner Impfung fand sich fast immer ein von der Impfstelle ausgehendes, mehr oder weniger ausgedehntes, blutiges Oedem, bei Meerschweinchen mehrmals von ähnlicher Stärke und Ausdehnung wie bei an malignem Oedem zugrunde gegangenen Thieren. Bei einigen Mäusen waren die Lungen besonders blutreich, und erschienen dieselben stellenweise verdichtet, im übrigen wurden größere Veränderungen an den Organen nicht wahrgenommen. Stets, auch bei den nach subcutaner Impfung in kürzester Zeit zugrunde gegangenen Mäusen, wurden die Stäbchen im Blut und in den Organen in grosser Zahl angetroffen und nicht nur in Ausstrichpräparaten sondern auch durch die Cultur nachgewiesen. In dem blutigen Oedem der Meerschweinchen waren sie in besonders grosser Menge vorhanden. In den Organen fanden sie sich auf Schnitten in den Capillaren meist in Haufen angeordnet, hier und da wurden hierbei kleine Blutaustretungen in das Gewebe beobachtet.

Mit dem Blut bzw. mit Organstückchen auch der rasch nach der Impfung erlegenen Thiere gelang es, neue Thiere zu inficiren. Auf diese Weise wurde die Verimpfung von Maus zu Maus allein durch Einspritzung von Blut der der Infection erlegenen Thiere einmal durch fünf und einmal durch sieben Generationen hindurch mit Erfolg ausgeführt. Es zeigte sich hierbei, dass zu

VI. Aus dem hygienischen Institut der Universität Kiel.

Weitere Beobachtungen bei der Untersuchung choleraverdächtigen Materials.

Von Professor Dr. Bernhard Fischer.

(Fortsetzung aus No. 26.)

In den Aussaaten aus dem Herzblut dieser drei Thiere, sowie in den aus den Peptonculturen angelegten Plattenaussaaten fanden sich wieder, und zwar ausschliesslich, die besprochenen, den Cholera colonieen ähnlichen Colonieen. Wenn schon am ersten Tage nach der Aussaat das Wachstum bei diesen Bacterien ein weit rascheres und kräftigeres war als bei den Cholera bacillen, so trat dies weiterhin noch mehr hervor. Bereits vor Ablauf von 24 Stunden waren die Originalplatten, am nächsten Tage auch schon die ersten Verdünnungen zerflossen, während auf den weiteren Verdünnungen die Mehrzahl der Colonieen Stecknadelkopf- bis Hanfkorngrösse erreicht hatte, wobei die grauweissen Culturmassen theils in Form kreisrunder, gleichmässig getrüübter Scheiben, theils in Ringform in der Gelatine auf dem Boden der tiefen, kraterförmigen Einsenkungen lagen. Bei schwacher Vergrösserung wurden jetzt nur noch ganz vereinzelt, in der Entwicklung zurückgebliebene Colonieen angetroffen, die eine entfernte Aehnlichkeit mit zwei bis drei Tage alten Cholera colonieen darboten, während die kleineren Colonieen fast alle kreisrund, scharflinig begrenzt, grobkörnig und von brauner Färbung waren und sich meist am Rand ein schmaler, radiär gestrichelter Saum unterscheiden liess.

Die von isolirten Colonieen der Platten angelegten Stichculturen in Gelatine waren am nächsten Tage von einer 2—3tägigen Sticheultur der Cholera bacillen bei blosser Besichtigung nicht zu unterscheiden. Weiterhin verschwand jedoch diese Aehnlichkeit rasch, indem die Gelatine in der Umgebung des Impfstiches auch in der Tiefe rasch und in grosser Ausdehnung verflüssigt wurde. Ausserdem machte sich frühzeitig eine ausserordentlich lebhaft Gasbildung bemerkbar. Schon nach wenigen Tagen war das ganze Röhrchen verflüssigt, und man beobachtete auf der Oberfläche der verflüssigten Massen, die im Laufe der Zeit eine leichte grünlichgelbe Farbe annahmen, ein ziemlich dickes, schleimig-gallertiges Häutchen, welches jedoch schon bei leichten Erschütterungen zerstört wurde, worauf die Culturmassen in Form von langgezogenen Tropfen und Fäden dem Boden zustrebten.

Ein ganz ähnliches, leicht zerstörbares Häutchen fand sich nun auch regelmässig auf den Culturen in Bouillon bzw. in Pepton-

einer erfolgreichen Weiterimpfung schon der zehnte Theil einer Blutaufschwemmung genügt, die man erhält, wenn man das Herz einer der Impfung erlegenen Maus sammt seinem Inhalt in 1—2 ccm sterilisirtes Wasser einbringt und darin einige Minuten lang hin und herbewegt.

Liess man eine solche Blutaufschwemmung bei Zimmertemperatur ein oder zwei Tage lang stehen, so genügten schon weit kleinere Mengen für eine erfolgreiche Weiterverimpfung, und erwies sich dieselbe weit wirksamer als eine gleichaltrige oder selbst ältere Bouilloncultur.

Die subcutane Verimpfung von Culturen auf Mäuse blieb gewöhnlich ohne Erfolg, wenn von mehrtägigen Bouillonculturen weniger als 0,1 ccm oder von einer eintägigen Agarcultur weniger als der zehnte Theil einer Platinöse genommen wurde. Mit 0,1 ccm einer solchen eintägigen Blutaufschwemmung subcutan geimpfte Meerschweinchen gingen zugrunde, während 0,5—1,0 ccm einer mehrtägigen Bouilloncultur ohne Wirkung blieben.

Die subcutane Verimpfung von Bouillon- bzw. Gelatineculturen auf Kaninchen blieb bei zwei Versuchen erfolglos, nach dem Einbringen von 0,3 ccm Herzblut eines der Impfung erlegenen Meerschweinchens in die Ohrvene entwickelte sich bei einem dritten Kaninchen eine ausgedehnte Nekrose an der Einstichstelle. Von anderen Versuchsthiere erlagen Hausmäuse sowie eine Fledermaus ähnlich wie weisse Mäuse der subcutanen Impfung mit Agarculturen dieser Bakterien, während dieselbe bei einer Krähe in einem Versuch, sowie bei Fröschen in vier Versuchen erfolglos blieb.

Auffallend war die Schnelligkeit, mit welcher die erfolgreich geimpften Thiere zugrunde gingen. Bei 34 der Impfung erlegenen Mäusen ist der Tod 15 mal vor Ablauf von 15 Stunden erfolgt, bei den anderen, meist über Nacht eingegangenen Mäusen war die Zeit des Todes nicht genau festgestellt, doch erfolgte derselbe in keinem Falle später als nach 27 Stunden. Fünf Mäuse starben nach Einspritzung von Agarculturaufschwemmungen (1 bzw. 0,1 Oese der Cultur) in die Bauchhöhle schon nach 3—4, drei subcutan geimpfte schon nach 5—6 Stunden. Von den Meerschweinchen erlagen drei subcutan geimpfte nach 10—16 Stunden.

Ein derartig rascher Eintritt des Todes muss die Vermuthung nahelegen, dass die Bakterien die Versuchsthiere durch Giftwirkung zu Grunde richten. Indess trotz der mannigfachen Versuche gelang es bisher nicht, in den Culturen das Vorhandensein eines solchen Giftes darzuthun. Von Bouillonculturen, von denen 0,2 ccm zur erfolgreichen Impfung von Mäusen genügten, konnte in mehreren Versuchen, nachdem die Bakterien daraus durch Filtration entfernt waren, selbst 1 ccm ohne Schaden eingespritzt werden. War hiernach das Vorhandensein eines gelösten Giftes in den Culturen nicht wahrscheinlich, so gelang es auch nicht, eine Giftwirkung der Bakterienleiber nachzuweisen. Bei mehrfach wiederholten Versuchen konnte ohne Schaden den Mäusen eine Bouilloncultur eingespritzt werden, wenn dieselbe eine Stunde lang auf 60° oder auf 54° C erwärmt oder ebenso lange mit Chloroform behandelt oder vier Stunden dem Sonnenlicht ausgesetzt war, während die gleich grosse Menge, oder auch schon der sechste Theil der nicht erwärmten, nicht der Sonne ausgesetzten, bzw. nicht mit Chloroform behandelten Bouillon den Tod der Thiere bewirkte.

Von der Aufschwemmung einer eintägigen Agarcultur in Wasser (je eine Oese auf einen ccm), von welcher bereits $\frac{1}{10}$ ccm Mäuse in $3\frac{1}{2}$ Stunden tödtete, konnte anderen Mäusen ohne jeden Schaden je ein ganzer ccm in die Bauchhöhle gespritzt werden, wenn die Aufschwemmung vorher in der Flamme einmal aufgeköcht oder eine Stunde lang auf 70° C oder ebenso lange auf 50° C erwärmt war, oder wenn die Bakterien vorher abfiltrirt waren. Einstündiges Behandeln mit Chloroform sowie die zweistündige Einwirkung des Sonnenlichtes während des Vormittags (im Februar) hatten bei diesem Versuche, wie durch nachträgliche Aussaaten festgestellt wurde, nicht zur Abtödtung der Bakterien geführt, und war daher die Impfung in diesem Fall erfolgreich.

Nach diesen Beobachtungen könnte man vermuthen, dass die Bakterien erst innerhalb des Körpers das verderbenbringende Gift erzeugen. Vielleicht spielt aber die Giftwirkung bei diesen Bakterien gar keine oder doch nur eine untergeordnete Rolle, und kommt der schnelle Tod dadurch zu Stande, dass die Bakterien, die sich, wie gezeigt, ausserordentlich rasch im Körper verbreiten und auch stark vermehren, in einem oder auch wohl einigen für das Leben wichtigeren Organen eine besonders lebhafte Vermehrung erfahren und hier schon durch ihre Masse Störungen bedingen, durch welche die Function dieser Organe aufgehoben wird. Ob diese Auffassung, für welche der in einigen Fällen auf Schnitten durch die Lunge und durch die Milz beobachtete überaus grosse Bakterienreichtum sprechen würde, richtig ist, wird aber erst durch weitere Untersuchungen festzustellen sein.

Die vorstehend geschilderten Bakterien stimmen mit den bisher bekannt gewordenen nicht überein, es handelt sich vielmehr um eine neue Bakterienart, für welche ich wegen der ausserordentlichen Schnelligkeit, mit welcher sie den Tod der Versuchsthiere herbeizuführen vermögen, vorläufig die Bezeichnung *Bacterium tachykonum* d. h. „schnell tödtendes Bakterium“ in Vorschlag bringen möchte.

Bakterien von ähnlichem pathogenen Verhalten sind bisher nur von G. Sanarelli in Bologna beschrieben worden (Centralblatt f. Bakteriologie Bd. 9, S. 193). Die von ihm mehrfach im Wasser gefundenen Bacillen, die er wegen der braunen, den Rotzculturen ähnlichen Auflagerungen, welche sie auf Kartoffeln bilden, als *Bacillus hydrophilus fuscus* bezeichnet hat, haben sich nicht nur für die verschiedensten Säugethiere und Vögel, sondern auch für Amphibien und Fische als in hohem Maasse pathogen erwiesen, während das *Bacterium tachykonum*, wie erwähnt, Fröschen gegenüber wirkungslos blieb. Bei den Versuchen von Sanarelli erlagen der Impfung mit Culturen von *Bacillus hydrophilus fuscus* weisse Mäuse nach 7—8 (bei *Bacterium tachykonum* schon nach 3—6 Stunden), Meerschweinchen innerhalb 12, Kaninchen (Einspritzung in die Blutbahn) in 5—6, Fledermäuse in 5—6, Frösche in 8—10 Stunden. Wie Sanarelli feststellte, verloren die Culturen, wenn die Bakterien durch Filtration daraus entfernt waren, völlig ihre Wirkung. Von dem *Bacterium tachykonum* unterscheidet sich der *Bacillus hydrophilus fuscus* aber nicht nur durch die Wirkung auf Versuchsthiere, sondern er hat nach den von Sanarelli gegebenen Abbildungen und Beschreibungen eine ganz andere Gestalt und verhält sich, abgesehen von der Kartoffelcultur, die eine gewisse Aehnlichkeit besitzt, in den Culturen wesentlich anders.

Eine weitgehende Aehnlichkeit in den Culturen und auch im mikroskopischen Verhalten, nicht dagegen in der Wirkung auf Versuchsthiere, zeigen aber die Bakterien, welche der Kreisphysikus Dr. Max Bleisch in Cosel in den Dejectionen eines nach prodromaler Diarrhoe binnen 24 Stunden unter choleraartigen Erscheinungen gestorbenen Mannes gefunden und in der Zeitschrift für Hygiene Bd. 13 S. 31 beschrieben hat. Eingehendere vergleichende Untersuchungen, zu denen Culturen benutzt wurden, die von einer von Herrn Dr. Bleisch in der lebenswürdigsten Weise zur Verfügung gestellten abstammten, ergaben, dass die Bleisch'schen Bakterien u. a. etwas länger und dünner sind, dass sie erst bei 9° C gedeihen, während *Bacterium tachykonum* schon bei 7° C wächst, und dass das Wachstum und das Verflüssigungsvermögen bei den Bleisch'schen Bakterien ein erheblich schwächeres ist. In jungen Plattenculturen der Bleisch-Bakterien, die makroskopisch die grösste Aehnlichkeit mit Choleraeulturen darbieten, fanden sich bei schwacher Vergrösserung neben den von jungen Choleraeolonien kaum zu unterscheidenden stets unregelmässige, am Rande eigenthümlich verzweigte, mit mehr oder minder dicken, oft verästelten Ausläufern versehene Colonien, wie solche in den Colonien des *Bacterium tachykonum* bisher nie vorkamen. Die Bleisch-Bakterien bilden auf Kartoffeln einen Anfangs bläsgelben, das *Bacterium tachykonum* von Anfang an einen braunen Belag. Bei den Bleisch-Bakterien wurde in Culturen auf Peptonkochsalzlösungen oder Bouillon zum Unterschied von dem *Bacterium tachykonum* nie ein Häutchen beobachtet. Wie durch diese vergleichenden Versuche festgestellt wurde, bilden die Bleisch-Bakterien in den Culturen ebenfalls Gas, ja sie entwickelten bei mehreren, jedesmal gleichzeitig mit *Bacterium tachykonum* angestellten und unter möglichst gleichen Bedingungen ausgeführten Versuchen in Nährbouillon etwa gleichviel Gas, aber ein Gas von einer ganz anderen Zusammensetzung. Statt 2—5 Vol. % Kohlensäure wurden hier 30—40 Vol. %, statt 18—22 Vol. % Stickstoff etwa 4 Vol. %, statt 76—77 Vol. % Wasserstoff nur 56—60 Vol. % gefunden.

Auch die mit Culturen der Bleisch-Bakterien geimpften Mäuse starben, falls grössere Mengen der Culturen unter die Rückenhaut gebracht wurden, aber frühestens (vier Mäuse) nach 20—24 Stunden, oft (sieben Mäuse) sogar erst nach 2—6 Tagen. Bei fünf dieser Thiere, welche erst 5—6 Tage nach der Impfung starben, bildeten sich in der Nähe der Injectionsstelle, zweimal auch entfernt davon, am Bauch Abscesse und daraus hervorgehende Hautgeschwüre, wie sie ähnlich nach der Verimpfung des aus dem Stuhl eines Brechdurchfallkranken gezüchteten *Kommabacillus* „*Vibrio helkogenes*“ von mir beobachtet und im vorigen Jahrgang dieser Wochenschrift S. 599 beschrieben sind. Auch beim *Bacterium tachykonum* waren übrigens zweimal bei Mäusen, denen absichtlich sehr kleine Mengen von Agarculturen einverleibt waren, kleine Hautverschwörungen in der Nähe der Einspritzungsstelle beobachtet worden. In den Absonderungen dieser durch die Bleisch-Bakterien sowie durch das *Bacterium tachykonum* hervorgerufenen Hautgeschwüre waren die Bakterien durch die Cultur nachgewiesen worden.

Es mag bei dieser Gelegenheit erwähnt sein, dass die von mir inzwischen auch mit anderen Kommabacillen ausgeführten Uebertragungsversuche auf Mäuse ergeben haben, dass sich auch mit Cholera-bacillen, sowie mit den Kommabacillen von Miller und Finkler bei Verimpfung von nicht zu grossen, d. h. nicht tödtlich wirkenden Mengen der Culturen Hautgeschwüre hervorrufen lassen, die oft ziemlich weit von der Einspritzungsstelle entfernt sind und die namentlich an den abhängigen Theilen auftreten. Indess bei den genannten Kommabacillen trat die Geschwürbildung weit seltener auf, und bei zahlreichen derartigen Versuchen erlangten die Hautgeschwüre nie eine solche Ausdehnung wie beim *Vibrio helkogenes*. Bei Verimpfung von Cholera-culturen auf Mäuse starben die Thiere meist frühzeitig, nur wenn zur Impfung das Blut solcher der Impfung mit Cholera-bacillen erlegener Thiere verwendet wurde, bildeten sich einige Male, und zwar erst am achten bzw. zehnten Tage kleine Hautgeschwüre, ohne dass es indess hier gelang, Kommabacillen durch die Cultur im Secret nachzuweisen.

Bei den der Impfung mit Bleisch-Bakterien frühzeitig erlegenen Mäusen fehlte das blutige, von der Impfstelle ausgehende Oedem, es wurden aber auch gröbere Veränderungen an den inneren Organen stets vermisst. Aus dem Blute und, wie bereits erwähnt, aus dem Geschwürsecret wurden die Bleisch-Bakterien meist durch die Cultur wieder erlangt.

(Schluss folgt.)