[Aus dem hygienischen Institut der Universität Zürich.]

Ueber anaerobe Bakterien im normalen Säuglingsstuhle.

Von

Dr. A. Rodella,
Assistenten am Institut.

(Hierzu Taf. I u. II.)

Die Wichtigkeit der Frage, ob im Stuhlgange der Säuglinge Anaeroben existiren oder nicht, wurde schon von Escherich erkannt, welcher sich folgender Weise in seinem Werke ausdrückt: „Von besonderem Interesse erschien mir anfänglich die Cultur etwaiger anaerober Arten, die vielleicht gegen Contact mit Sauerstoff sehr empfindlich und so den gewöhnlichen Untersuchungsmethoden entgangen sein könnten.“

Was die Technik anbelangt, welcher sich Escherich bediente, um diese Frage zu studiren, kann man schon sagen, dass er alle damals für die Züchtung der Anaeroben bekannten Methoden (wie die überschichteten Platten, Verwendung von Culturen im Innern von Eiern oder unter Quecksilberabschluss) practicirte, aber es ergab sich ihm immer ein negatives Resultat, so dass er daraus schloss, „dass ihm überhaupt in Uebereinstimmung mit Hüppe die Existenz solcher Wesen (der Anaeroben) sehr fraglich zu sein scheint“.

Escherich's Misserfolg, durch den Mangel und die Mittelmässigkeit der damals gebrauchten Methoden gerechtfertigt, scheint auch noch einen Einfluss auf die nachher erschienenen zahlreichen Arbeiten über dieses wichtige Kapitel gehabt zu haben, denn in diesen erschien nie mehr ein Wort über anaerobe Bakterien in den Stuhlgängen der Säuglinge, wenigstens nicht in physiologischer Beziehung.

Nur Klein gelang es, einen anaeroben Bacillus aus diarrhoischen Entleerungen von kleinen Kindern zu isoliren, welchen er als den Krankheitserreger bezeichnet und Bacillus enteritidis sporogenes nennt.

Uebrigens, obwohl wir in Flügge lesen „stets finden sich im Darminhalt Anaëroben“, denkt doch, auch was die Erwachsenen anbetrifft, die Mehrheit der Autoren verschieden. So glaubt Miller, dass sich keine obligaten Anaëroben im Darm befinden, sondern nur Bakterien, welche sowohl aërob wie anaërob wachsen können.

Auch die neuerlichen Untersuchungen von Bienstock könnten einem glauben machen, die eingeführten Anaëroben seien bestimmt, während ihrem Aufenthalt im Darmtractus abzusterben. In der That nahm genannter Autor während drei Wochen täglich Erde zu sich, die Anaëroben-Mikroorganismen enthielt, fand aber in seinem eigenen Stuhle keinerlei Zeichen von der Gegenwart solcher Wesen vor.

Trotzdem ist bekannt, dass andere Forscher die Gegenwart anaërober Bacillen, d. h. des *Bacillus butyricus* Botkin und des *Bacillus butyricus* Prazmowski in den Fäces des Menschen nachgewiesen haben (Mannaberg). Die vergleichenden Forschungen über die Fäces der Thiere führten zu einem wenig übereinstimmenden Resultat.

So schreibt Flügge: „Besonders reich an solchen Anaëroben erwiesen sich die Därme der Pflanzenfresser.“

Hammerl konnte aber in den Entleerungen verschiedener Thiere niemals Anaëroben entdecken.

Klein dagegen glaubt die fortwährende Gegenwart von Anaëroben in den Fäces der Meerschweinchen bewiesen zu haben.

In einer vor kurzer Zeit erschienenen Arbeit von Kohlbrugge wird der Wunsch ausgesprochen, dass weitere Untersuchungen über die Darm-anaëroben vorgenommen werden.

Verfasser genannter Arbeit zweifelt aber sehr daran, ob wohl solche Wesen fortwährend im Darm vorkommen.

Diese wenigen Notizen auch über die neue Litteratur zeigen, dass wir sehr wenig wissen, was die Gegenwart der Anaëroben im Darmtractus sowohl des Menschen wie der Thiere betrifft.¹

Wenn man nun bedenkt, dass gerade die Anaëroben diejenigen Lebewesen sind, welche vornehmlich die Gährungs-, Fäulnis- und andere Zersetzungen bewirken, so lässt sich leicht ermessen, wie sehr diese mangelhafte Kenntniss besonders von der Physiologie empfunden werden muss.

¹ Nach der Drucklegung dieser Arbeit habe ich das interessante Werk von H. Tissier, *Recherches sur la flore intestinale normale et pathologique du nourisson*, Paris 1900, gelesen, worin u. a. auch drei neue anaërobe Arten angeführt werden. Dieselben sind von der hier beschriebenen ganz verschieden. In einer weiteren ausführlichen Abhandlung gedenke ich die Resultate von Tissier zu verwerthen.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit war, zu ermitteln: 1. ob in physiologischem Zustande in den Fäces der Säuglinge Anaeroben existiren; 2. welchen Einfluss die Verschiedenheit der Milchernährung (natürliche oder künstliche) auf das Vorkommen solcher Mikroorganismen ausübt; 3. ihre biologische Wichtigkeit in Bezug auf die Vorgänge im Verdauungs-canal kennen zu lernen. Nicht allein der Gedanke an grössere Einfachheit und Einheitlichkeit, mit welcher die Verdauungsfunctionen sich während dem frühesten Kindesalter abwickeln, war in Betracht zu ziehen; noch mehr veranlasste mich zu dieser Arbeit das Bewusstsein, dass in keinem anderen Alter die Ernährung und Verdauung eine solche capitale Wichtigkeit besitzt und dass einzig die Kenntniss der physiologischen Gährungsvorgänge und der Ursachen, welche sie erzeugen, der Ausgangspunkt des Studiums der in diesem Alter so häufigen pathologischen Processe, d. h. der Darmkrankheiten, sein muss.

Beziehungen zwischen makroskopischem und mikroskopischem Aussehen der Fäces. — Culturmethoden.

Zur Gewinnung des Materials verwandte ich ein beiderseits abgerundetes, hinten mittels eines Wattepfropfens verschlossenes Glasröhrchen, welches in einem Reagensglase sterilisirt wurde.

Von dem so gewonnenen Material beschrieb ich jedes Mal die makroskopischen Eigenschaften und prüfte mit dem Lackmuspapier die Reaction und nahm dann die mikroskopische Untersuchung vor, worauf ich zur Anlegung der Kulturen schritt. Die mikroskopischen Eigenschaften der Fäces betreffend möge man mir hier gestatten, das in einer früheren Arbeit Gesagte zu bestätigen, wobei ich hier einige genauere Details zu geben gedenke. Moro sagt in seiner Arbeit, dass die Fäces der Brustkinder wegen der Homogenität der Flora (welche nach der Gram'schen Methode sich nicht entfärbt) sich schon bei der mikroskopischen Untersuchung erkennen lassen, so dass man durch blosse Anwendung des Mikroskopes herausbringen könnte, ob ein Kind, welches ausschliesslich an der Mutterbrust genährt werden sollte, auch nur ein einziges Mal Kuhmilch erhielt. Ferner fügt er hinzu, dass bei Flaschenkindern die Flora sehr mannigfaltig ist und dass die Formen, welche sich nach der Methode Escherich-Weigert roth färben, vorherrschen oder sehr zahlreich sind.

Trotzdem nun Moro unbestreitbar das Verdienst zukommt, in eine Sache Einheit und System gebracht zu haben, welche man sich bis dahin vielförmiger und mannigfaltiger vorstellte als sie thatsächlich ist, muss ich dennoch, gestützt auf mehr als einjährige Beobachtungen,

sagen, dass die Angaben Moro's nicht völlig den Thatsachen entsprechen, wenigstens nicht mit der Sicherheit, womit er sich ausdrückt. Erstens erhält man, wie ich früher schon bemerkte, dasselbe Resultat bei vielen directen Stuhlpräparaten von Flaschenkindern wie bei solchen von Brustkindern, d. h. es finden sich auch in diesen die sogenannten säureliebenden Bacillen vorherrschend vor (Taf. I Fig. 2). Letztere kommen etwa wie Diphtheriebacillen lange Stäbchen vor, welche gerade oder gebogen sind und manchmal zugespitzte Enden aufweisen.

Andererseits geschieht es nicht selten, dass auch in mikroskopischen Stuhlpräparaten von durchaus gesunden Brustkindern neben den sogenannten säureliebenden specielle Formen zum Vorschein kommen, wie z. B. jene, die Escherich „punktirte Bacillen“ nannte, und noch verschiedene andere Mikroorganismen. Eine wesentlich beständigere Beziehung als in der Art der Milchernährung habe ich zwischen den makroskopischen und mikroskopischen Eigenschaften der Fäces gefunden.

Die Fäces von eidottergelber Farbe, weicher Consistenz und leichtsaurer Reaction, solche also, welche als Normaltyp des Säuglingsstuhls beschrieben werden, seien sie nun von Brustkindern oder von Flaschenkindern, weisen in den directen mikroskopischen Präparaten immer die als säureliebend bezeichneten Bacillen in grosser Anzahl oder fast allein auf. Die anderen Stühle, ebenfalls von gesunden Kindern, zeigen fast immer, ob von Brust- oder Flaschenkindern stammend, eine grössere oder geringere Mannigfaltigkeit. Die sogenannten säureliebenden Bacillen wurden bei Brustkindern häufiger als bei Flaschenkindern gefunden, aus dem einfachen Grunde, weil die Fäces von sogenanntem idealen Typus bei den ersteren in grösserer Häufigkeit beobachtet werden als bei der zweiten. —

Nachdem ich das Material mikroskopisch untersucht und mit Lackmuspapier die Reaction geprüft hatte, handelte es sich darum, die Technik für das Studium der Anaëroben zu bestimmen. Vor allem musste ich daran denken, den grösstmöglichen Theil der Aërobien, welche im Darm enthalten sind, zu eliminiren, speciell den *Bac. coli*, welcher durch schnelle und kräftige Entwicklung die anderen Arten überwuchert. Zu diesem Zwecke bin ich anfänglich folgendermaassen verfahren: Impfung von vielem Material in 1procentiger Essigsäure-Bouillon (Heymann'sche Methode) unter strenger Anaërobiose; nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank Ueberimpfung auf Gelatine anaërob.

Zu dieser Methode veranlasste mich der Umstand, dass *Bac. coli* und viele andere Mikroorganismen die Bouillon mit 1 Procent Essigsäure schlecht ertragen, und dass andererseits die sogenannten säureliebenden, welche sich sehr gut in solchem Substrat entwickeln, in Gelatine nicht wachsen, und so kam ich auf den Gedanken, zu probiren, ob anaërobe

Species, welche solcher Säure widerstehen, sich in dieser Weise isoliren liessen. Diese Methode zeigt grosse Mängel, u. a., auf einen so wichtigen Nährboden wie der Agar verzichten zu müssen, weshalb ich sofort beschloss, auch das folgende Verfahren anzuwenden: Verdünnung und Aufschwemmung der Fäces in etwas Bouillon. Das so verdünnte Material wurde auf drei Theile flüssigen Agar (80° C.) vertheilt (0.2 bis 0.5 ^{grm} pro Dosis). Zwei Röhrchen wurden 8 Minuten, das andere 12 Minuten auf 80° belassen. Dasselbe geschah mit drei Gelatineproben. Diese zweite Methode erwies sich als der ersten (nämlich derjenigen mit der Essigsäure) überlegen. Um dieses Verfahren noch sicherer zu gestalten, könnte man die Zeitdauer der Erwärmung auf 80° beliebig variiren (z. B. 3—5—8—10 Minuten).

Um die Anaërobie herzustellen, habe ich mich immer des folgenden Verfahrens, als des einfachsten und schnellsten, bedient: Verflüssigung des Agars und der Gelatine, Impfung des Materials, wobei nicht geschüttelt, sondern mit Platindraht recht gut gerührt wird, und dann das Substrat erstarren gelassen. Diese Methode hat den Uebelstand, dass man oft, wenn man die Colonieen von oben nicht herausbekommen kann, das Reagensglas zerbrechen muss, um dieselben zu isoliren. In diesem Falle wusch ich das Röhrchen äusserlich erst mit Sublimat und dann mit Alkohol und zerschlug sie mit einem an der Flamme sterilisirten Eisen. Eine weitere Regel ist die, die Entwicklung der angelegten Culturen genügend lange abzuwarten, da das Wachsthum der Anaëroben oft sehr langsam vor sich geht.

Reinculturen der isolirten anaëroben Bakterien.

Um der grösseren Klarheit willen und um unnütze Wiederholungen zu vermeiden, will ich schon an dieser Stelle die von mir beobachteten Species beschreiben. Die Fälle, welche das Material für die Untersuchungen lieferten, werden weiter unten besprochen. Die von mir isolirten Species mit schon bekannten zu identificiren, war mir nicht möglich. Dies mag vielleicht anderen Forschern gelingen, wenngleich es mir Angesichts der Unvollständigkeit, welche jetzt noch im Kapitel der Anaëroben herrscht, keineswegs als eine leichte Aufgabe erscheint. Ausser den Textbüchern hatte ich andere specielle Abhandlungen zur Hand, u. a. auch diejenigen von Gerstner, von Sanfelice, von Veillou et Zuber, ohne unter den schon bekannten Species welche zu finden, die meinen entsprochen hätten, weshalb ich diese, wenigstens vorläufig, als neue betrachten muss. Zwar hatte Escherich, sehr wahrscheinlich in den directen mikroskopischen

Präparaten und ohne sie züchten zu können, die beiden Bacillen gesehen, welche ich als Bacillus Nr. 2 und Nr. 3 bezeichnen werde.

Der Bacillus putrificus Bienstok, welchen Escherich mit seinen Köpfchenbakterien indentificirt hatte, hat mit meinem Bacillus Nr. 3 im mikroskopischen Aussehen eine gewisse Aehnlichkeit; andere Merkmale (Beweglichkeit, Verflüssigung der Gelatine u. s. w.) gestatten keine Identificirung. An dieser Stelle möchte ich noch erwähnen, dass, während Escherich die Köpfchenbakterien der reinen Meconiumflora zugeschrieben hatte, ich dieselben auch in dem Milchkoth gefunden habe. Die drei von mir isolirten Anaëroben zeigen folgende gemeinsame Eigenschaften: Sporenbildung — Gasbildung — kein Gelatine verflüssigendes Vermögen.

Bacillus Nr. 1.

Stäbchen von wechselnder Länge, gerade oder seltener gebogen, mit Neigung zu Fädenbildung. Sporen in den kürzeren Formen theils mittel-, theils endständig oval bis kugelig. Selten kann man auf beiden Enden eines Bacillus eine Spore beobachten. Eigenbewegung fehlt. (Taf. I, Fig. 4.)

Die Färbung gelingt leicht mit den üblichen Anilinfarbstoffen und auch nach Gram. Die blaue Färbung mit Jodlösungen habe ich nie beobachtet. Wachsthum sowohl bei 37° wie bei Zimmertemperatur.

Agarstich. Das Wachsthum beginnt erst 1 bis 1½ cm unter der Oberfläche und erfolgt längs dem ganzen Stiche in Form eines unregelmässig contourirten mit drusigen Auswüchsen besetzten Bandes (Taf. II, Fig. 2). Bei Impfung in verflüssigtem und nachher erstarrten Agar können die gut isolirten Colonieen im Laufe einer bis zwei Wochen in den unteren Theilen des Reagensglases die Grösse einer Erbse erreichen.

Sie zeigen einen flockigen, unregelmässigen, rundlichen Bau mit etwas compacterem, dunklerem Centrum. Es findet auch gewöhnlich im Zuckeragar Gasbildung statt. Ferner zeichnen sich die Culturen durch einen üblen Geruch aus, welcher an Skatol erinnert und sehr penetrant ist.

Gelatinestich. Trotz wiederholten Versuchen gelang es nicht, ein Wachsthum längs dem ganzen Stiche zu erhalten; es kamen höchstens zwei getrennte Colonieen zur Entwicklung. Auch bei Ueberimpfung von sehr viel Material mittels des Platindrahtes blieb sehr häufig jedes Wachsthum aus.

Bei Impfung in verflüssigte und nachher erstarrte Gelatine zeigten die Colonieen die Eigenschaft, lange, strahlenförmige, geschlängelte Ausläufer zu bilden, was bei Agarculturen nicht der Fall war. Denn diese hatten, wie oben bemerkt, einen watteähnlichen Bau, währenddem die

Colonieen in Gelatine rund, scharf begrenzt und mit vielen langen, geschlängelten Ausläufern versehen waren. (Taf. II, Fig. 1.)

Einige Male war ein Centrum nicht zu erkennen, sondern nur ein Geflecht von Zweigen. Auch in alten Culturen wurde die Gelatine niemals verflüssigt. Der Geruch der Gelatineculturen ist etwas schwächer als der der Agarculturen.

Bouilloncultur (anaërob). In den drei ersten Tagen findet eine starke Trübung der Flüssigkeit mit bedeutender Gasentwicklung statt. Dann hellt sich die Bouillon auf und am Grunde des Reagensglases befindet sich ein zusammenhängender Bodensatz, welcher beim Schütteln fetzenartig herumschwimmt. Auch in der Bouillon ist der charakteristische Geruch wahrnehmbar.

Milchcultur. Die aërobe Kultur in der Milch zeigt in den ersten Tagen keine Veränderung; nach 5 bis 6 Tagen nimmt sie eine Rosafarbe an und wird peptonisirt. In der Flüssigkeit befinden sich viele feine Gerinnsel; eine Gerinnung im wahren Sinne des Wortes findet aber nicht statt. Die obere Rahmschicht bleibt unverändert und bildet auf der Oberfläche eine dicke Schicht, welche das Wachsthum dieses Anaërobiums ermöglicht. Charakteristisch ist der Geruch nach Skatol, welcher in dieser Cultur noch ausgesprochener ist als in allen anderen.

Die Milchpeptonisirung von Seite dieses nicht verflüssigenden Bacillus steht in directem Widerspruch mit der Annahme von Eyckmann, dass „caseinspaltendes und leimverflüssigendes Vermögen stets zu einander quellen und dass beide Ausbreitungsgebiete sich genau decken“.

Pathogenität.

Der soeben beschriebene Mikroorganismus erwies sich für alle Laboratoriumsthiere, d. h. für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen in hohem Maasse pathogen.

Es wäre zwecklos, die ausführlichen Protokolle der Thierobductionen hier wiederzugeben. Ich beschränke mich darauf, die Resultate derselben in Kürze anzuführen.

Subcutane Injection. Kaninchen im Gewicht von etwa 1000 gram mit 2 ^{ccm} einer 5—8tägigen Bouilloncultur geimpft, gehen binnen einer Woche zu Grunde.

Der interessante Befund ist, neben einer starken Abmagerung, das subcutane Oedem, welches schon einige (3 bis 5) Stunden nach der Impfung an der Injectionsstelle zum Vorschein kommt.

Von da aus verbreitet sich das sulzige, geruchlose Oedem gegen die benachbarten Körpertheile, so dass in manchen Fällen mehr als die Hälfte

des Körpers ödematös erscheint. In der Oedemflüssigkeit sind die Bacillen in nicht sehr grosser Anzahl zu finden. Ferner findet man bei der Section: Vermehrung der Intraperitonealflüssigkeit; Hyperämie der Darmgefässe; acute Nephritis. — Die Milz ist nicht vergrössert.

Versuche mit Meerschweinchen und Mäusen führten zu ähnlichen Resultaten.

Mit Injectionen von grossen Quantitäten ($1\frac{1}{2}$ bis 2^{ccm}) tritt bei Mäusen der Tod schon binnen 24 Stunden ein.

Intraperitoneale Injectionen. 12 bis 24 Stunden nach der Impfung mit Bouillonculturen sind die Thiere krank. Nach 2 bis 3 Tagen zeigen sich Brechanfälle; die Thiere fressen wenig oder gar nichts und im Verlaufe von 2 bis 3 Tagen gehen sie unter einer sehr starken Abmagerung zu Grunde.

Sectionsergebniss. Auch bei intraperitonealer Impfung beobachtet man an der Injectionsstelle ein geringgradiges subcutanes Oedem.

Die Peritonealflüssigkeit ist vermehrt. Die Darmgefässe sind injicirt. Die Milz ist etwas verkleinert. Ferner acute Nephritis. In dem Pleuralraum findet sich in sehr grosser Quantität eine citronengelbe, zum Theil blutige Flüssigkeit, worin culturell und mikroskopisch die geimpften Bacillen nachgewiesen werden konnten.

Ich wollte auch versuchen, ob der in Frage stehende Mikroorganismus, per os und per anum im Thierkörper eingeführt, schädlich gewirkt hätte.

Mittels einer sterilisirten Klystierspritze wurden einem Hunde 150^{ccm} einer 10tägigen Bouilloncultur per anum eingespritzt. Ein anderer Hund bekam Futter, welches mit älteren Milhculturen vermenget wurde, zu fressen.

Beide Hunde sind gesund geblieben.

Bacillus Nr. 2.

Die Form dieses Bacillus ändert sich nach den verschiedenen Phasen seiner Entwicklung. Im Stadium der Sporenbildung zeigt er sich in Form eines Weberschiffchens oder eines sehr kurzen plumpen Bacillus mit abgerundeten Enden, wo in der Mitte sich die Spore befindet. (Taf. I, Fig. 5). Der reife Bacillus ist ein Stäbchen welches, nämlich auf festen Nährböden, zu ziemlich langen Fäden anwachsen kann. (Taf. I, Fig. 6.)

Manchmal begegnet man, aber doch seltener, hauptsächlich in flüssigen Nährböden, Formen, welche in Gestalt einer Birne oder einer langen Flasche sich zeigen.

Die Bacillen sind meist vereinzelt, zuweilen parallel angeordnet, seltener reihen sie sich in Ketten an einander.

Eigenbewegung habe ich nie beobachtet. Die Färbung gelingt gut mit allen üblichen Farbstoffen und auch nach Gram.

Gelatinestich. Das Wachsthum der Colonieen erfolgt 1 bis 2^{cm} unter der Oberfläche, nicht längs des ganzen Stiches in dichter Reihenfolge, sondern nur in weiteren Abständen. (Taf. II, Fig. 2.) In den ersten Tagen sind die Colonieen klein, weiss, rundlich und homogen. Später treten bei jeder Colonie Wolken auf, die mit dem Alter der Cultur ihre Grössen- und Formverhältnisse ändern. Anfänglich sind diese Wolken klein, später jedoch wachsen einzelne theils in gerader Richtung, theils in Windungen aus, und man kann gleichzeitig die Beobachtung machen, dass einzelne Colonieen ihre ursprüngliche Lage verändern und seitlich aus der Stichrichtung heraustreten.

Da dieser Bacillus ein gasbildender ist, so wäre es möglich, dass auch in den Culturen, in welchen keine makroskopische Gasentwicklung zu constatiren war, sich dem Auge unsichtbar Gas gebildet hätte, welches die Colonieen aus einander trieb.

In flüssig geimpfter und nachher erstarrter Gelatine sind die Merkmale der einzelnen Colonieen, besonders die Wolken- und Gasbildung, noch deutlicher. (Taf. II, Fig. 5.)

Agarstich. Das Wachsthum erfolgt 1 bis 2^{cm} unter der Oberfläche in Form eines unregelmässig eingeschnürten Stranges, auf welchem stellenweise kleine rundliche Colonien sichtbar sind.

Schon nach 1 bis 2 Tagen tritt in dem Nährboden Gasentwicklung auf.

In flüssig geimpftem und nachher erstarrtem Agar sieht man schon nach einem Tage in der Tiefe des Röhrchens kleine runde, weisse, Colonieen. Bald darauf tritt eine so starke Gasentwicklung auf, dass der Nährboden zerrissen und gegen die Rohöffnung getrieben wird.

Agarstrich (anaërob). Längs des ganzen Striches sieht man dicht an einander gereiht rundliche, ziemlich erhabene weissliche Colonieen von verschiedener Grösse, vergleichbar mit einer Perlenschnur. Das Wachsthum breitet sich nicht über die ganze Fläche, sondern bleibt auf den Strich beschränkt. Das Condenswasser ist wenig getrübt mit spärlichem weisslichen Bodensatz. (Taf. II, Fig. 4.)

Bouillon (anaërob). Schon binnen 24 Stunden findet das Wachsthum statt. Die Bouillon ist wenig getrübt und am Boden des Röhrchens befindet sich ein weisslicher, mehlig Bodensatz.

Milch. Dieselbe bleibt unverändert.

Pathogenität. Die an Mäusen und an Meerschweinchen vorgenommenen Thierversuche lieferten ein negatives Resultat.

Bacillus Nr. 3.

Was das Aussehen dieses Bacillus in directen Präparaten (Taf. I, Fig. 1) betrifft, findet sich eine so zutreffende Beschreibung in Escherich's Werke (a. a. O.), dass ich derselben nichts hinzuzufügen habe.

Ich beschränke mich darauf, Escherich's Worte hier wiederzugeben.

„Diese Art gehört den sogenannten Köpfchenbakterien an, wobei ich dieselben mit diesem Namen lediglich ihrer Form wegen belege. Sie bestehen aus einem 4 bis 7 μ langen sehr schlanken Stiele, auf dem eine glänzende Spore aufsitzt; dieselbe ist in der Richtung des Fadens längs oval, erreicht in diesem Durchmesser bis zu 1.5 μ . Bei einzelnen sporentragenden Formen ist der Faden nicht mehr gerade, sondern schlängelt sich unter Verjüngung seines peripheren Endes. Dass das helle glänzende Köpfchen als Spore zu deuten ist, ergibt sich aus dem Verhalten gegen Anilinfarben, indem es nach Behandlung mit concentrirter Schwefelsäure, sowie in heisser, concentrirter Farbstofflösung die Anilinfarben aufnimmt, während es bei der gewöhnlichen Färbemethode ungefärbt bleibt.

Ausser den eben beschriebenen Formen finden sich auch noch Fäden mit kleinerem, intensiv färbbaren Köpfchen (Stadium der Sporenbildung), und endlich solche, an denen das letztere fehlt.“

Die Form des Bacillus lässt sich einigermaassen doch nicht viel von der Natur des Nährbodens beeinflussen.

In Bouillon haben wir die längsten sporentragenden Formen der Köpfchenbakterien (Taf. I, Fig. 7), auf den festen Nährböden die kürzesten, so dass manchmal der sporentragende Stiel kaum sichtbar ist. (Taf. I, Fig. 8.) Sporenfreie Fäden von verschiedener Länge, sogar ziemlich kurze Stäbchen, kommen in jedem Nährboden vor.

Die Färbbarkeit ist gut nach Gram. Eigenbewegung fehlt.

Gelatinestich. Das Wachsthum erfolgt $1\frac{1}{2}$ bis 3 cm unter der Oberfläche längs des ganzen Stiches, jedoch nicht so dicht, dass die einzelnen Colonieen nicht deutlich sichtbar wären. Letztere ähneln meistens einem zerzupften Wattebäuschchen mit verdichtetem Centrum, welches aber keine bestimmte Form hat. (Taf. II, Fig. 6.) Vergleicht man diese Colonieen mit solchen des Bacillus Nr. 1, so sieht man sofort, dass die langen und relativ dicken Fäden und der scharf begrenzte Kern der letzteren fehlen. Die Gasbildung in der Sticheultur tritt spärlich auf, deutlicher ist sie, wenn man die Gelatine in flüssigem Zustand impft und nachher erstarren lässt. (Taf. II, Fig. 8.)

Agarstich. Die Sticheultur entspricht dem umgekehrten Bilde eines jungen Tannenbaums mit wagerechten, jedoch unregelmässig angeordneten Aesten, dessen unverzweigter Stamm dem wachsthumlosen Stich (von der Oberfläche an gerechnet) entspricht. (Taf. II, Fig. 7.) In flüssig geimpftem und nachher erstarrtem Agar sieht man runde, kleine Colonieen, welche eine ziemlich starke Gasbildung veranlassen.

Agarstrich. Das Wachsthum erfolgt nur stellenweise längs des Striches; die Colonieen haben ein flaches bis halbkugeliges Relief und

sind von grauweisser Farbe. Auch in dieser Cultur kommt eine ziemlich bedeutende Gasentwicklung vor.

Bouilloncultur (anaërob). In den zwei ersten Tagen tritt eine Trübung ein, dann klärt sich die Bouillon und am Boden des Röhrchens bildet sich ein Satz, bestehend aus weisslichen Klumpen von schwach käsigem Geruch. Die Gasbildung, welche in dieser Kultur eine sehr deutliche ist, dauert nur etwa zwei Tage an.

Die Milch wird nicht zur Gerinnung gebracht und bleibt makroskopisch ganz unverändert. Auch dieser Mikroorganismus erwies sich für sämtliche Laboratoriumsthiere als nicht pathogen.

Eine Uebersicht der untersuchten Fälle und ihrer Resultate wird in nachstehender Tabelle gegeben.

Es sei hier nur bemerkt, dass alle untersuchten Kinder vollständig gesund waren und aus der Frauenklinik der Universität Zürich stammten. Hrn. Prof. Dr. Wyder, Director der Frauenklinik spreche ich für die gütige Ueberlassung des klinischen Materiales an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus.

Da, wie aus nachstehender Tabelle ersichtlich, nicht alle untersuchten Fälle ein positives Resultat lieferten, so bin ich nicht berechtigt, die Anaërobenflora im Säuglingsstuhl als eine constante zu betrachten. Es sei hier aber betont, wie ich im Anfang meiner Arbeit bereits bemerkt habe, dass die von mir angewandten Isolierungsmethoden keineswegs ideal waren und dass die gewöhnlichen Nährböden wahrscheinlich für viele Darm-anaëroben ein schlechtes Substrat lieferten.

Es liegt auch nicht im Rahmen dieser Arbeit festzustellen, wie viele und welche anaërobe Arten im Säuglingsstuhle sich finden. Durch meine Untersuchungen ist doch der Nachweis geliefert, dass anaërobe Mikroorganismen in demselben vorkommen, weshalb ich mich berechtigt fühle, die Angaben der Autoren, welche den Kinderdarm als anaërobenfrei betrachteten, zu widerlegen, und der Ansicht bin, dass in fast allen, ja sogar in sämtlichen physiologischen Fällen, Anaëroben existiren. Wenn sie sich unseren Untersuchungsmethoden entzogen haben, so ist dies der mangelhaften Methode zuzuschreiben. Ich weise noch auf die Thatsache hin, dass auch in Fällen (wie z. B. in dem vorletzt angegebenen), wo mikroskopisch fast mit Sicherheit anaërobe Bacillen zu sehen waren, eine Züchtung derselben misslang. Weitere Schwierigkeiten für die Züchtung der Anaëroben finden wir bei Säuglingen in der Entnahme des Materiales, weil bloss die unteren Theile des Stuhles zur Untersuchung gelangen.

Es wäre sehr wünschenswerth, dass die verschiedenen Darmabschnitte auf ihren Gehalt an Anaëroben geprüft würden, entweder bei Operationen oder unmittelbar nach dem Exitus.

Tabellarische Uebersicht.

Fälle	Alter	Art der Ernährung	Makroskopisches Aussehen	Reaction	Consistenz	Directer mikroskopischer Befund	Isolirte anaerobe Arten
1. Fall Soh.	11 Tage	Gemischte Nahrung	gelbblaue Farbe	saure	feste	Allerlei Arten von Stäbchen. Einige sind kurz, plump, mit abgerundeten Enden in regelloser Anordnung, andere sind schmale und in paralleler Anordnung. Einige lange, fadenförmige, daneben lange, dicke Stäbchen. Wenige Kokken. Wenige Bacillen, die das mikroskopische Aussehen der säuretragenden haben. Verschiedene nach Gram entfärbbare Stäbchen. (Taf. I, Fig. 3.)	Bacillus 1
2. Fall W.	10 Tage	Flaschen-kind	gelbe Farbe mit wenigen weissen Flocken	"	"	Sehr pleomorphes Bild. Ziemlich viele sporentragende Bacillen; darunter sind auch solche, die den von mir isolirten Anaëroben gleich aussehen. Es hat auch viele lange, schmale Stäbchen und einige Kokken. Keine „säuretragenden“ Bacillen. Verschiedene nach Gram entfärbbare Stäbchen.	Bacillus 1 "
3. Fall Soh.	9 Tage	Gemischte Nahrung	oidottergelbe Farbe	"	weiche	Die „säuretragenden“ Bacillen sind fast in Reinkultur. Daneben sehr wenige dickere und einige nach Gram entfärbbare Stäbchen. Die säuretragenden sind auch gezüchtet wurden. (Taf. I, Fig. 2.)	
4. Fall H.	6 Tage	"	"	"	"	Einheitlichkeit der Flora. Fast alle nach Gram sich nicht entfärbbare, den „säuretragenden“ ähnliche Stäbchen.	
5. Fall Fl.	18 Tage	Flaschen-kind	weisslich-gelbe Farbe	"	feste	Die „säuretragenden“ sind in mittlerer Zahl. Daneben einige ovale Gebilde mit einer Spore in der Mitte (Bac. 2f) und noch sehr schmale lange Stäbchen. Es sind noch kurze, plumpe Stäbchen in Diploanordnung und einige lange, dicke Bacillen (Bac. 1f). Nicht viele nach Gram sich entfärbbare Stäbchen und wenige Kokken.	Bacillus 1

(Fortsetzung.)

Fälle	Alter	Art der Ernährung	Makroskopisches Aussehen	Reaction	Consistenz	Directer mikroskopischer Befund	Isolirte anaerobe Arten
6. Fall H.	9 Tage	Gemischte Nahrung	weisslich-gelbe Farbe (mit einigen grünen Flocken)	neutral	feste	Die Mehrzahl der Mikroorganismen besteht aus Kokken und aus sehr schmalen, kurzen Stäbchen. Es sind aber noch einige ovale, sporentragende Gebilde (Bac. 2?) und äusserst spärliche Köpfchenbakterien (Bac. 3?).	Bacillus 2
7. Fall Sch.	9 Tage	Brustkind	eidottergelbe Farbe	"	"	Einheitlichkeit der Flora, welche fast ausschliesslich aus „säureertragenden“ Bacillen besteht. Dieselben habe ich auch cultivirt. Daneben einige Bacillen mit kolbigen Anschwellungen und einige echte Köpfchenbakterien; dann noch einige in Ketten angeordnete und einige dem Bacillus 2 im Stadium der Sporenbildung ähnliche Bacillen. (Taf. I, Fig. 1.)	Bacillus 3 "
8. Fall S.	3 Wochen	"	"	sauere	weiche	Die „säureertragenden“ Bacillen sind fast in Reincultur. Daneben befinden sich wenige sporentragende Bacillen, die dem Bacillus 2 ähnlich sind.	Bacillus 2 "
9. Fall T.	9 Tage	"	dunkelgelbe Farbe	"	sehr weiche	Sehr pleomorphes Bild. An einigen Stellen des Gesichtsfeldes sieht man schmale, lange, fadenförmige Bacillen und Köpfchenbakterien. An anderen Stellen sind ovale Gebilde mit einer Spore in der Mitte (Bac. 2) und auch kräftige, zuweilen sporentragende Stäbchen (Bac. 1?). Die „säureertragenden“ in spärlicher Zahl.	Bacillus 2 "

Berücksichtigt man alle diese Factoren, so wird man die Procentzahl der gefundenen Anaëroben nicht als eine geringe schätzen und meine Ansicht, dass in sämtlichen Fällen Anaëroben vorkommen, als nicht grundlos betrachten.

Dafür spricht auch der Umstand, dass Bacillus 1 in vier, Bacillus 2 in drei und Bacillus 3 in zwei von verschiedenen Säuglingen stammenden Stühlen gefunden wurden.

Ich möchte hier noch erwähnen, dass ich in letzter Zeit zwei Fälle von Kinderdiarrhöen auf Anaëroben untersucht habe und beide mit positivem Resultat.

Es sei hier nur hervorgehoben, dass, währenddem ich in physiologischen Fällen keine verflüssigende Anaërobenart isolirte, in den zwei erwähnten pathologischen Fällen die Gelatineverflüssigung von Seite eines anaëroben, welcher auch ein gasbildender war, eine sehr starke ist.

Wir sind entfernt, aus diesen wenigen Versuchen weite Schlüsse ziehen zu wollen. Die Frage der Darmanaëroben muss sowohl bei Kindern wie bei Erwachsenen, sowohl bei Menschen wie bei Thieren gründlich studirt werden, bevor allgemein geltende Gesetze von der Physiologie und der Pathologie aufgestellt werden. Das kann aber nicht Sache eines Einzelnen, noch weniger einer einzigen Arbeit sein.

Nach meinem Dafürhalten aber lässt sich der constante Befund von *Bacterium lactis aerogenes* und *Bacterium coli commune* in den Stühlen gesunder sowie kranker Individuen und insbesondere die grosse pathologische Bedeutung des *Bacterium coli* nach den bisherigen Untersuchungen dadurch erklären, dass diese Bacillen sehr leicht zu züchten sind und die übrigen überwuchern.

Escherich hat dem *Bacterium lactis aerogenes* allein die Rolle der Gasbildung im Säuglingsdarme zugeschrieben und behauptet, dass eine durch diesen Mikroorganismus bedingte Gährung „nur in den oberen Partien des Dünndarmes stattfindet“. Heut zu Tage ist eher anzunehmen, dass verschiedene, darunter auch Anaëroben-Darmbakterien diese Eigenschaft haben. Bis jetzt ist, dank der steten Ueberwucherung des *Bacterium coli* bzw. des *Bacterium lactis aerogenes* in Culturen aus dem Stuhl, diesem Mikroorganismus für manche Fälle eine zu grosse Bedeutung zugeschrieben worden.

Escherich hat noch viele Versuche mit sterilisirtem Casein und Fibrin gemacht, welche er mit Kinderkoth inficirte, und ist zu dem Resultat gekommen, dass sowohl das Casein wie das Fibrin durch die Bakterien keine Veränderung erleiden. Hervorzuheben ist, dass er alle diese Versuche nur bei Luftzutritt gemacht hat; er kommt zu folgendem Schluss: „Da die gemachten Versuche deutlich zeigten, dass die beiden chemischen

Stoffe sich auf keinerlei Weise verändern, so wird im Darmcanal selbst bei dem Mangel an freiem Sauerstoff die Vermehrung der Bakterien und ihre Einwirkung auf das Casein eine noch weit geringere sein.“ Wäre es nicht möglich, ja sogar wahrscheinlich, wenn er die Versuche bei Luftabschluss gemacht hätte, dass er dann Bakterien gefunden hätte, wie z. B. Bacillus Nr. 1, welche im Stande sind, das Casein stark zu verändern?

Ich möchte hier noch, was Bacillus Nr. 1 betrifft, auf die merkwürdige Thatsache hinweisen, dass, währenddem der Stuhl aller untersuchten Fälle geruchlos war, alle die Culturen des vier Mal isolirten Bacillus Nr. 1 einen sehr starken üblen Geruch hatten.

Ich fasse die Resultate meiner Untersuchungen folgendermaassen zusammen:

1. Im Stuhle gesunder, nur einige Tage alter Säuglinge kommen anaerobe Mikroorganismen vor.

2. Dieselben lassen sich nicht nur bei Flaschenkindern sondern auch bei Brustkindern nachweisen.

3. In sechs von neun untersuchten Fällen ist es mir gelungen, Arten von anaeroben sporentragenden Bacillen zu isoliren, welche alle gasbildend waren.

Zum Schlusse möchte ich Hrn. Docent Dr. Silberschmidt für die Ueberlassung des Themas und für seinen stets bereitwilligst ertheilten Rath herzlich danken.

Litteratur-Verzeichniss.

- Bienstock, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1900. T. XIV. p. 750.
 Eyckmann, Ueber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1901. Bd. XXXIX. Nr. 22.
 Escherich, *Die Darmbakterien des Säuglings*. Stuttgart 1886.
 Flügge, *Die Mikroorganismen*. Leipzig 1896.
 Gerstner, *Arbeiten aus dem bakteriol. Institut der technischen Hochschule zu Karlsruhe*. Bd. I. S. 152.
 Hammerl, *Zeitschrift für Biologie*. 1897. Bd. XXXV.
 Klein, *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XVIII. S. 737. — Bd. XXII. S. 114 u. 576. — Bd. XXV. S. 278.
 Kohlbrugge, Der Darm u. seine Bakterien. *Ebenda*. 1901. Bd. XXX. Nr. 1 u. 2.
 Mannaberg, *Specielle Pathologie und Therapie* von Nothnagel. Bd. XVII.
 Müller, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1885. S. 843.
 Moro, *Jahrbuch für Kinderheilkunde*. 1900. Juliheft.
 Rodella, Ueber die sogenannten säureliebenden Bacillen im Säuglingsstuhle. *Ebenda*. 1901. Bd. XXIX. Nr. 18.
 Sanfelice, Untersuchungen über anaerobe Mikroorganismen. *Diese Zeitschrift*. Bd. XIV. S. 339.
 Veillou et Zuber, Recherches sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle en pathologie. *Arch. de méd. expér.* 1898. Nr. 4. Juillet.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. I u. II.)

Tafel I.

Fig. 1. (Fall Scha., 9täg. Brustkind.) Directes Ausstrichpräparat. Gram'sche Färbung.

Fig. 2. (Fall Schr., 9tägiges Flaschenkind.) Directes Ausstrichpräparat. Gram'sche Färbung.

Fig. 3. (Fall Sche., 11tägiges Brust- und Flaschenkind.) Directes Ausstrichpräparat. Färbung nach Gram.

Fig. 4. Ausstrichpräparat aus einer 15tägigen Milhcultur des Bacillus Nr. 1. Gram'sche Färbung.

Fig. 5. Ausstrichpräparat aus einer 5tägigen Bouilloncultur des Bacillus Nr. 2. Gram'sche Färbung.

Fig. 6. Ausstrichpräparat aus einer 5tägigen schrägen Agarcultur des Bacillus Nr. 2. Färbung mit Anilinwassergentianaviolett.

Fig. 7. Ausstrichpräparat aus einer 5tägigen Bouilloncultur des Bacillus Nr. 3. Färbung nach Gram.

Fig. 8. Ausstrichpräparat aus einer 3tägigen schrägen Agarcultur. Färbung nach Gram.

Vergrosserung sämtlicher Figuren 450:1. — Koristka, $\frac{1}{12}$ Imm., Oc. 2 mit Camera gez. Hr. L. Schröter in Zürich hat die Zeichnungen ausgeführt.

Tafel II.

Fig. 1. 17tägige, flüssig geimpfte Gelatinereincultur des Bacillus Nr. 1.

Fig. 2. 6tägige Agarstichcultur des Bacillus Nr. 1.

Fig. 3. 4tägige Gelatinestichcultur des Bacillus Nr. 2.

Fig. 4. 3tägige Agarstichcultur des Bacillus Nr. 2.

Fig. 5. 8tägige, flüssig geimpfte Gelatinereincultur des Bacillus Nr. 2.

Fig. 6. 7tägige Gelatinestichcultur des Bacillus Nr. 3.

Fig. 7. 5tägige Agarstichcultur des Bacillus Nr. 3.

Fig. 8. 10tägige, flüssig geimpfte Gelatinereincultur des Bacillus Nr. 3.

Die photographischen Aufnahmen Figg. 1, 2, 3, 4, 6, 8 wurden von Hrn. Prof. Barbieri gemacht. Figg. 5 und 7 verdanke ich Hrn. Prof. Karl Egli.

Vergr. sämtl. Fig. 450: 1.
Koristka. 12. Jh. Oc. 2. mit Camera gez.

1.

2.

3.

4.

5.

6.

7.

8.