

## II. Zur Aetiologie der Tussis convulsiva.

Von Prof. **Livio Vincenzi** in Sassari.

Viele Forscher haben sich bemüht, den Erreger des Keuchhustens zu entdecken.

Burger (1883) findet im Keuchhustensputum eine grosse Menge kleiner Bacterien von gestreckt ellipsoider Form, und da solche Stäbchen in keinem anderen Sputum vorhanden waren und ihre Menge in geradem Verhältniss zur Intensität der Krankheit stand, so glaubte er, die kleinen Bacterien als Erreger der Tussis convulsiva ansehen zu müssen. Seine Untersuchungen beziehen sich nur auf mikroskopische Studien des Sputums.

Afanassieff (1886) beschreibt einen ziemlich grossen, plumpen Bacillus, beweglich, mit endogenen Sporen, der bei intratrachealer Injection bei Hunden und Katzen tödtliche Bronchopneumonien, mitunter typische Keuchhustenanfälle hervorrufen kann. Solche Bacillen fand er in grösserer Anzahl, wenn das Sputum schleimig-eitrig oder eitrig war. Dagegen zeigten sie sich in geringerer Menge bei rein schleimigem Sputum.

Die Untersuchungen von Afanassieff wurden von Semtschenko, Genser, Wendt bestätigt.

Ritter (1892–1896) fand im Sputum und in den Lungen Keuchhustenkranker einen kleinen Diplococcus, dessen Colonien in Agarculturen schon nach 12 Stunden sichtbar und nach 18 bis 20 vollkommen entwickelt waren. Die runden und circumscribten Colonien hätten eine besondere Consistenz und Cohäsionskraft. Während solcher Diplococcus auf Agar bei 37° gut wächst, zeigt er gar kein Wachsthum auf Bouillon.

Cohn und Neumann (1894) kommen nach vielen Untersuchungen zu keinen bestimmten Angaben. Sie erwähnen nur, dass die auf den mit Sputum angestellten Plattenculturen gewachsenen Colonien meist aus Streptococcen bestanden.

Kurloff (1896) schreibt den verschiedenen Bacterien, welche beim Keuchhusten gefunden wurden, keine spezifische Rolle zu und hält für Erreger der Krankheit eine kleine Amöbe mit Wimperchen versehen, die seiner Ansicht nach den allertypischsten Bestandtheil des Sputums bildet. Solcher Parasit wäre schon im Jahre 1886 von Deichler im Keuchhustenauswurf beschrieben und mit dem Process in Verbindung gebracht.

Czaplewski und Hensel (1897) beschreiben als Erreger der Tussis convulsiva ein sehr kleines kurzes Stäbchen mit eiförmig abgerundeten Enden.

Zur Isolation desselben waschen sie eine möglichst grosse und dichte Flocke des verdächtigen Sputums drei- bis viermal in ster-

rilem Peptonwasser und bringen die geringen Kernreste in ein steriles Petrischälchen. Dann ziehen sie mit Hilfe eines Platinspatelchens die festeren Partikel und streichen dieselben auf der Oberfläche von in Petrischälchen im Dampf undurchsichtig erstarrtem Loeffler'schen Blutserum aus. Die Platten werden 24 Stunden in dem Brutschrank bei 37° gehalten. Das eiförmige Stäbchen (Polbacterium) bildet sehr kleine, thautropfenartige, etwas erhabene, graugelblich durchscheinende Colonieen. Da dieselben wenig charakteristisch sind, berühren die Autoren die verdächtigen Colonieen mit einem sehr dünnen, spitz ausgezogenen Platindraht und ziehen einige Striche auf einer Serumplatte. Die Strichimpfungen sind am nächsten Tage bei 37° ausgewachsen. Durch mit Tinte auf der Serumfläche vorsichtig geschriebene Zahlen markiert man sich die einzelnen Striche, mikroskopiert sie und isoliert dann das Bacterium als Reincultur auf schrägerstarnten Serumröhrchen.

Das Polbacterium ist unbeweglich, erinnert sehr an den Influenzabacillus. Trübt die Bouillon bei 37° nach einem Tage kaum. Am Boden des Reagenzglases liegt ein ziemlich scharf abgesetztes, linsenartiges Sediment. Strichculturen auf Loeffler'schen Serumröhrchen zeigen einen wenig charakterisirten, weisslich bis graugelblichen Belag. Isolirte Colonieen wurden kaum grösser als 1 mm und sind flach gewölbt, rundlich. Culturen auf Agar, Glycerinagar, Zuckeragar zeigen einen zarten, graulichen Belag. Das Polbacterium wächst auch gut auf Gelatine; die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Oberfläche bildet sich bei Sticheulturen ein kleiner, graulicher, etwas trockener, gezackter Belag. In Gelatinestrichculturen zeigt sich ein graulicher, bandartiger Streifen.

Die Autoren geben keine Beschreibung des mikroskopischen Aussehens der Colonieen auf Plattenculturen. Sie erwähnen, dass Uebertragungsversuche auf Thiere resultatlos verliefen. Durch die Constanz des Befundes wurden Czaplewski und Hensel zu der Annahme geführt, dass das Polbacterium der Erreger des Keuchlustens sei.

Koplik (1897) isolirte in 13 unter 16 Fällen von Keuchhusten aus dem Sputum einen Bacillus, welcher mit dem von Afanassieff beobachteten identisch zu sein scheint. Er ist beweglich; in Reincultur auf Hydroceleflüssigkeit mit Loeffler's Blau gefärbt, erscheint er als ein auffallend zarter, kurzer Bacillus, dünner als der Diphtheriebacillus. Er ist 0,8—1,7  $\mu$  lang und ungefähr 0,3—0,4  $\mu$  breit. Im Gegensatz zu der Erfahrung Afanassieff's hat Koplik sich niemals überzeugen können, dass dieser Bacillus Sporen besitzt oder der Sporulation fähig sei. In Peptonbouillon sieht man nach 24 Stunden eine feine Körnung des Nährbodens, die nach einiger Zeit in einen Niederschlag sich verwandelt. Nach einer Woche ist die Oberfläche der Bouillon mit einem Schaum oder einem Häutchen bedeckt. Auf Agar-Agar bildet sich eine opake, perlweisse Schicht. Die Colonieen auf Agar sind von unregelmässig gerundeter Gestalt und körnig. In Gelatinestrichculturen entwickelt sich ein feinkörniges weisses Gewächs mit einem Nagelkopfe. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Colonieen auf Gelatine haben unregelmässigen, kreisförmigen Umriss und sind körnig. Auf Loeffler's Diphtherieserumagar bekommt man ein weissliches Gewächs, welches dem von Diphtheriebacillen sehr ähnlich ist. Der Bacillus ist pathogen für weisse Mäuse. Intravenöse Injectionen von alter Bouillonculturen verursachen bei Kaninchen eine Form von Eiterung in den Gelenken oder Pyämie. Bei keinem von den Thierversuchen zeigten sich Läsionen der Lunge oder charakteristische convulsive Symptome.

Spengler (1897) fand im zweiten und dritten Stadium des Keuchlustens eine Stäbchenart, die grosse Aehnlichkeit mit dem Influenzabacillus hat. Die Bacillen erscheinen etwas dicker und länger als die Influenzabacillen, liegen meist zu zweien dicht aneinandergekettet, haben eiförmig zugespitzte Enden und bilden lange Scheinfäden. Sie wachsen gut auf Blutagar. Die Colonieen sind thautropfenartig, klarer als diejenigen der Influenzabacillen.

Behla (1898) hält die bislang cultivirten Schizomyceten nur für secundäre Begleiter des Processes und beschreibt als Erreger der Tussis convulsiva eine Amöbe sporipara.

Zusch fand im Sputum eines an typischem Keuchhusten erkrankten Kindes eine grosse Menge sehr kleiner ovalärer Kurzstäbchen. Solche Mikroorganismen, welche den Influenzabacillen sehr ähnlich erschienen, erwiesen sich bei der Züchtung von diesen sehr verschieden. Denselben Befund lieferten 24 weitere untersuchte Fälle. Die Bacterien von Zusch sind mit den von Czaplewski und Hensel beschriebenen vollkommen identisch.

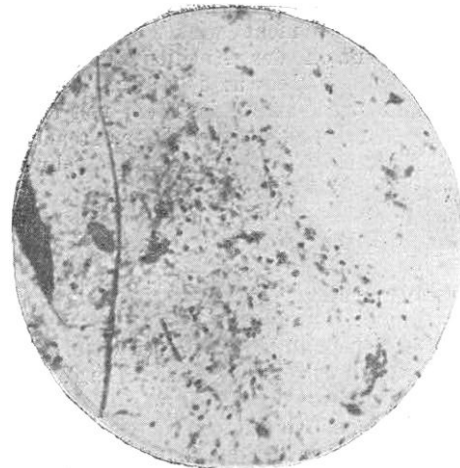
Eine Keuchhustenepidemie in Sassari hat mir Gelegenheit geboten, mikroskopische und bacteriologische Sputumuntersuchungen zu machen. Zu diesem Zwecke habe ich eine grosse Anzahl typischer Pertussisfälle ohne Complicationen ausgewählt und frische, frühmorgens vor dem Essen entleerte Sputa untersucht. Ein Theil derselben wurde in frischem Zustande und ungefärbt untersucht; ein anderer Theil auf Deckgläsern ausgestrichen, getrocknet, fixirt und

mit verschiedenen Farbstoffen gefärbt. Meine Resultate waren folgende:

Die mikroskopische Untersuchung des frischen Sputums zeigte mir nie Körperchen, die für Amöben gehalten werden könnten. Ich kann also der Meinung von Kurloff, dass Amöben den allertypischsten Bestandtheil des Keuchhustensputums bilden, nicht beistimmen.

In den mit Fuchsin gefärbten Trockenpräparaten fand ich in den ersten Fällen keine spezielle Bacterienart, aber in einem weiteren Falle, der ein 3½-jähriges Mädchen mit typischen und höchst schweren Anfällen mit Nasenbluten und Blutungen aus den Luftwegen betraf, sah ich eine sehr grosse Anzahl ganz kleiner Bacterien von ovaler Form. Solche Mikroorganismen, fast in Reincultur, waren regellos zerstreut frei (Fig. 166).

Fig. 166.

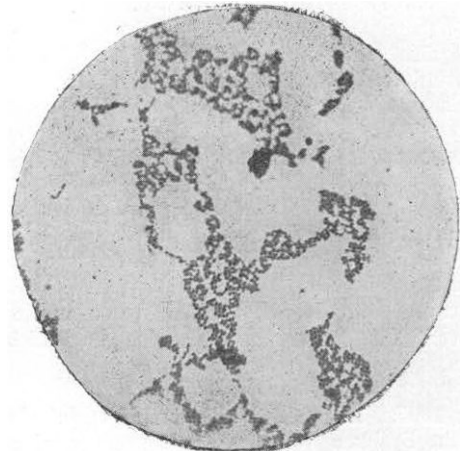


Keuchhustensputum. Ausstrichpräparat. Vergrösserung 1000 mal.

Aus diesem Sputum stellte ich Plattenculturen auf verschiedenen Nährsubstraten an. In Agarculturen bei 37° konnte ich nach 24 Stunden eine bedeutende Anzahl kleiner und sehr eigenthümlicher Colonieen bemerken. Sie sahen wie mikroskopische Luftbläschen aus, deren manche mit einigen unregelmässigen Detriten wie mit Krystallen begrenzt waren. Mit dem etwas höher gestellten Objectiv wurden solche Luftbläschen in kleine glänzende Massen mit einem lichtbrechenden Punkt in der Mitte verwandelt. Bei lateralem Lichte erscheinen sie wie kleine Schmechäufchen, mit einer ausgehöhlten Spitze.

Solche Colonieen kann man wirklich charakteristisch nennen. Ihrer Kleinheit und ihres speziellen Aussehens wegen können sie von dem geübtesten Auge leicht übersehen werden. Die mikroskopische Untersuchung derartiger Colonieen zeigte mir ein kleines kurzes Stäbchen (Coccobacillus), manchmal kettenartig angeordnet und identisch dem im Sputumpräparate gesehenen Mikroorganismus (Fig. 167).

Fig. 167.



Klatschpräparat einer auf Agarplatte gewachsenen Colonie. Dieselbe Vergrösserung.

In dem Sputum eines 8-jährigen Mädchens mit sehr heftigen Keuchhustenanfällen, welche bedeutende subconjunctivale Blutungen, Blutungen aus der Nase und aus den Luftwegen hervorriefen, konnte ich wieder eine so colossale Anzahl desselben Bacteriums finden, dass ich zu der Vermuthung kam, solchen Mikroorganismus als möglichen Erreger der Krankheit anzusehen.

Diese Vermuthung wurde durch meine folgenden zahlreichen Studien bestätigt. In 18 Keuchhustenfällen gelang es mir, denselben Mikroorganismus in sehr verschiedener Menge, doch immer in bedeutender Anzahl zu finden und zu isoliren. Doch muss ich erwähnen, dass ein grosser Theil der Auswürfe zur bacteriologischen

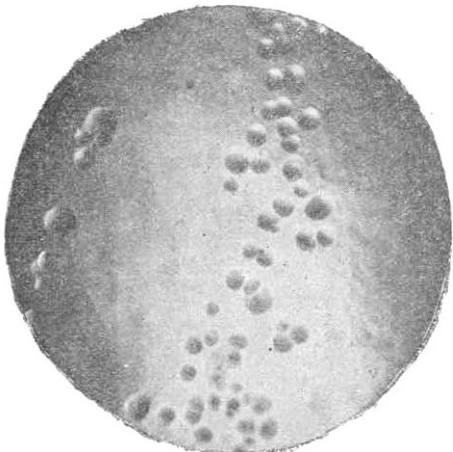


Untersuchung ungeeignet ist. Manche Sputa enthalten allerhand Mikroorganismen, und auch das Waschen nach dem von Kitasato beschriebenen Verfahren führt zu keinem guten Resultat. In diesen Fällen ist es jedoch nicht ganz unmöglich einzelne Colonien des beschriebenen Bacteriums zu sehen, aber die Isolation desselben gelingt nur mit grosser Mühe.

Das bacteriologische Studium des Keuchhustensputums ist daher eine sehr schwere Aufgabe. Sind die Fälle nicht gut ausgewählt und giebt die sorgfältigste mikroskopische Untersuchung keinen bestimmten Anhaltspunkt, so ist das weitere bacteriologische Studium ganz unnütz, wenn nicht irreführend.

Das kleine Bacterium (*Coccobacillus*), welches ich in einigen Fällen in grosser Anzahl bemerkte und isolirte, hat folgende biologischen und culturellen Eigenschaften. Es ist unbeweglich, sehr klein; ungefähr so wie jenes der Influenza. Auf Bouillon bei 37° giebt es nach 24 Stunden eine leichte, diffuse Trübung. Nach zwei Tagen bemerkt man am Boden des Reagenzglases ein feines, linsenartiges Sediment. Die Reaction des Nährsubstrats wird stark sauer. Nach drei Tagen hört jedes Wachstum auf, und die Bouillon nimmt ihre Transparenz wieder an. Kein Wachstum auf Gelatine: der *Coccobacillus* wächst unter 24° C absolut nicht. In Strichculturen auf Agar-Agar erscheinen sehr kleine Colonien, nicht confluirend und sehr transparent. Dieselben sind rundlich: durch eine leichte Vergrösserung sieht man, dass jede Colonie einen lichtbrechenden Punkt in der Mitte besitzt (Fig. 168). Bei

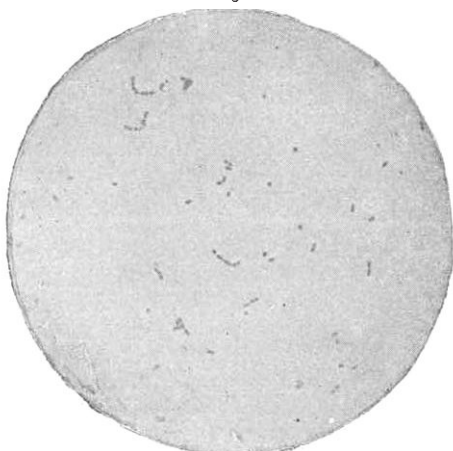
Fig. 168.



Strichkultur auf Agar-Agar.

Strichculturen bildet sich ein feiner, uniformer Streifen. Kein Wachstum auf der Oberfläche. Auf Blutserum, sowie auf Loeffler'schem Serum hat der *Coccobacillus* nur ein kümmerliches Wachstum, und sehr oft blieben die Impfungen ohne Erfolg. Die Milch bildet für den *Coccobacillus* einen guten Nährboden, sie gerinnt in 24 Stunden vollkommen. Auf den Agarplattenculturen entwickeln sich bei 37° nach 30 Stunden winzig kleine Colonien, von denen die unteren als runde oder ovale lichtbrechende Linsen gar nicht körnig aussehen, während diejenigen, welche auf der Oberfläche wachsen, wie Luftbläschen erscheinen, von unregelmässigem Detritus begrenzt. Sind die auf der Oberfläche entwickelten Colonien in grosser Zahl vorhanden, so ist der Nährboden wie mit feinem

Fig. 169.



Coccobacillus aus Bouillonkultur. Dieselbe Vergrösserung

Pulver bestreut. Die Colonien sind kaum mit blossen Auge sichtbar. In den verschiedenen Nährmitteln behält der Mikroorganismus eine leicht ovale Form und bildet oft kurze gerade Ketten (Fig. 169). Die Lebensfähigkeit des *Coccobacillus* ist eine sehr kurze. Die auf Agar in Petrischälchen gewachsenen Colonien geben schon

nach 48 Stunden negative Ueberimpfungen. In Peptonbouillon stirbt er nach vier Tagen. Nur in Agarstichculturen erhält er sich sechs Tage lang lebensfähig. Der *Coccobacillus* geht bei einer Temperatur von 60° in drei Minuten zugrunde und ist gegen die Austrocknung sehr empfindlich. Was sein Verhalten zu den Farbstoffen anbetrifft, ist hervorzuheben, dass er sich nach den gewöhnlichen Färbungsmethoden gut färbt und der Gram'schen Entfärbungsmethode nicht widersteht.

Der *Coccobacillus* ist für Thiere nicht pathogen. Die zahlreichen angeführten Impfversuche sind alle ohne Ausnahme resultatlos verlaufen. Weder Mäuse, noch Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde sind gegen den Mikroorganismus empfindlich. Auch direkte intratracheale Inoculationen bei Kaninchen und Hunden sind ohne irgend welche Folgen geblieben.

Aus meinen fünf Monate lang fortgesetzten Untersuchungen lässt sich schliessen, dass in gewissen Fällen im Keuchhustensputum eine spezielle Bacterienart vorhanden ist. Dass dieselbe kein gewöhnlicher Mundparasit sei, davon konnte ich mich in zahlreichen Versuchen überzeugen. Die 18 Fälle, in welchen ich die Anwesenheit des *Coccobacillus* in grosser Anzahl beobachtete, lassen sich wie folgt einteilen.

Ein Kranker hatte heftige Keuchhustenanfälle seit sieben Tagen; neun Kranke waren zwei Wochen lang von Pertussis gequält; vier Patienten mit drei Wochen, drei mit vier Wochen altem Keuchhusten, und ein Patient war ungefähr zwei Monate krank. Die grösste Anzahl der beschriebenen *Coccobacillen* wurde bei rein schleimigem Sputum gefunden.

Kann man das fragliche Bacterium als Erreger des Keuchhustens ansehen?

Da in einigen Pertussisfällen der *Coccobacillus* in kolossaler Menge vorhanden war und in keinem anderen Sputum gefunden wurde, glaube ich denselben in ätiologischen Zusammenhang mit der Krankheit bringen zu können.

War er nicht imstande, einen dem Keuchhusten analogen Process bei Thieren hervorzurufen, und zeigte er sich ohne irgend welche Virulenz, so fehlt uns natürlich eine der wichtigsten Bestätigungen seiner Specificität. Doch muss ich betonen, dass die Taxis convulsiva nie bei Thieren vorkommt und dass man andere Krankheitserreger kennt, die sehr pathogen für Menschen, auf Thiere jedoch nicht übertragbar sind.

Ich will jetzt nicht discutiren, ob mein *Coccobacillus* schon von anderen Forschern im Keuchhustensputum gesehen wurde, nur will ich bemerken, dass das von Czaplowski und Hensel, Zusch cultivirte Bacterium mit dem meinen nicht übereinstimmt. Herr Dr. Czaplowski war so liebenswürdig, mir zwei Culturen seines Polbacteriums zu senden. Schon nach der mikroskopischen Untersuchung derselben konnte ich leicht die grosse Verschiedenheit des Polbacteriums von dem meinigen erkennen. Der Unterschied wurde auch in den Culturen bestätigt. Ich muss weiter sagen, dass das von Czaplowski cultivirte Bacterium mit dem von ihm im Keuchhustensputum gesehenen und in Photogrammen angegebenen Mikroorganismus nicht übereinstimmt. Das von ihm cultivirte Bacterium stellt einen kurzen diphtherieähnlichen Bacillus dar.

Eine Kritik der bis jetzt über Keuchhustenätiologie publicirten Arbeiten behalte ich mir vor.

#### Litteratur.

Burger, Berliner klinische Wochenschrift 1883, No. 1. — Afanassioff, Petersburger medicinische Wochenschrift 1887. — Semtschenko, ibidem 1888, No. 18. — Genser, Wiener medicinische Wochenschrift 1888, No. 18—24. — Wendt, Med. News 1888, No. 12. — Koplik, Centralblatt für Bacteriologie Bd. XXII, No. 8 und 9. — Ritter, Berliner klinische Wochenschrift 1892, No. 50. — Ritter, Berliner klinische Wochenschrift 1896, No. 47—48. — Cohn und Neumann, Archiv für Kinderheilkunde 1893. — Kurloff, Centralblatt für Bacteriologie Bd. XIX, No. 14 und 15. — Czaplowski und Hensel, Deutsche medicinische Wochenschrift 1897, No. 37; Centralblatt für Bacteriologie Bd. XXII, No. 24 und 25. — Spengler, Deutsche medicinische Wochenschrift 1897, No. 52. — Behla, Deutsche medicinische Wochenschrift 1898, No. 19. — Zusch, Münchener medicinische Wochenschrift 1898, No. 23.