

gegangen waren. Von den echten Diphtheriefällen verliefen sieben letal (zwei tracheotomirt). Die Anginen (hierunter drei Scharlachanginen), bei welchen sich die gewöhnlichen eitererregenden Mikroccoen oder andere (s. u.) Mikroorganismen fanden, verliefen sanft und sonders günstig. Die Behandlungsweise war, der Herkunft des Materials entsprechend, ganz verschieden. Wo es nothwendig, wird später bei Besprechung der einzelnen Fälle auf sie noch besonders hingewiesen werden. Zunächst scheint es geboten, einige Bemerkungen über die bei der Untersuchung zur Anwendung gebrachten Methoden voranzuschicken.

Färbung der Diphtheriebacillen.

Man sollte meinen, dass bei den zahlreichen Arbeiten, die über Diphtherie veröffentlicht wurden, betreffs der Färbemethoden Differenzen unter den Autoren nicht mehr herrschen könnten. Dass dem nicht so ist, lehrt ein Blick auf beifolgende kleine Uebersicht, welche zeigt, dass betreffs der sogenannten Gram'schen Methode die Beobachtungen einzelner Forscher sich durchaus entgegenstehen:

Die Diphtheriebacillen färben sich

nicht nach Gram:

Hueppe, III. Auflage, S. 121. Entfärbt werden bei der Gram'schen Methode u. a. . . die Diphtheriebacillen.

Schenk, Grundriss der Bacteriologie S. 168: „Neben der Loeffler'schen Methode ist noch der negative Erfolg der Gram'schen Methode als Kriterium für das Vorhandensein der Loeffler'schen Diphtheriebacillen anzusehen“.

Heim, Lehrbuch der bacteriolog. Untersuchung und Diagnostik 1894, S. 50: „dagegen geben die Färbung ab: Der Diphtheriebacillus.“

Migula, Bact. Practicum S. 187: Die Gram'sche Methode lässt sich bei dem Diphtheriebacillus nicht anwenden; die Bacillen entfärben sich danach vollkommen etc.

nach Gram:

Roux et Yersin, Annales de l'Institut Pasteur 1890, S. 387: Par la méthode de Gram se colore d'une manière intense la diphtérie.

Tangl, Budapest. Ref. im Jahrb. von Baumgarten über Untersuchungen von Middeldorpf u. Goldmanns 1891, S. 233: „weil die Loeffler'schen nach den Erfahrungen anderer Untersucher und auch des Referenten sowohl nach der Weigert'schen, als auch nach der Gram'schen Methode färbbar sind.“

Abel, Taschenbuch etc. S. 35: Färbung der Diphtheriebacillen mit Loeffler'schem Methylenblau und nach Gram.

Seiffert, Mikroskopische Diagnostik, S. 111 u. 112: Die Diphtheriebacillen sind nach dem Gram'schen Verfahren nicht so unzugänglich, wie zuweilen behauptet wird u. s. w.

Auch wegen der Wahl des für den Diphtheriebacillus besten Farbstoffes sind die Ansichten verschieden, der eine empfiehlt Loefflerblau, der andere Dahliamethylgrünlösung als den besten, wieder ein anderer die Ziehl'sche Lösung. Alle diese Differenzen sind dazu angethan, den Praktiker zu verwirren. Ich habe daher dem Studium dieser Verhältnisse besondere Aufmerksamkeit gewidmet und bin zu folgendem Resultat gekommen.

Die Diphtheriebacillen nehmen einfache wässrige Anilinfarbstoffe nur schwer auf und färben sich in dem von Loeffler empfohlenen Farbstoff (30 cem concentrirter alkoholischer Methylenblaulösung auf 100 cem 0.01%iger Kalilauge) so, dass einzelne Theile derselben, besonders die Enden, gefärbt werden, andere nicht. Dies ist charakteristisch für die Diphtheriebacillen, und von diesem Standpunkte aus kann man den Loeffler'schen Farbstoff als besonders geeignet empfehlen. Die Diphtheriebacillen färben sich aber mit Loefflerblau lange nicht so rasch, intensiv und vollständig, wie mit Anilinölwassergentianaviolett (Anilinölwasser 100, concentrirte alkoholische Gentianaviolettlösung 5,0). Diese Farblösung ist frisch bereitet oder nicht älter als 3 mal 24 Stunden, das beste Färbemittel für die Diphtheriebacillen. Sie nehmen den Farbstoff in der Kälte sofort auf und viel intensiver als alle anderen Farbstoffe, das von Roux und Yersin empfohlene Dahliamethylgrün eingeschlossen. Wenn man nach der Färbung mit dieser Farblösung (drei Minuten in der Kälte) das Objectträgerausstrichpräparat in bekannter Weise mit Jodjodkaliumlösung übergießt (Gram'sche Methode), dann mit Alkohol leicht abspült, so aber, dass nicht völlige makroskopische Entfärbung der Schicht eintritt, sondern noch ein leichter graublauer Schimmer verbleibt, und dann untersucht, so bemerkt man, dass zwar einige Bacillen blässer geworden sind als nach Abspülung mit Wasser, dass die meisten aber den Farbstoff vortreflich conservirt haben. Spült man dann weiter, so wie es Gram vorschreibt, mit oft gewechseltem absolutem Alkohol ab, bis die Schicht makroskopisch völlig weiss geworden ist, so kann man nach und nach alle Diphtheriebacillen entfärben. Zunächst tritt nur theilweise Entfärbung des Inhalts ein, und einige Bacillen erscheinen graublau, dann grau, an Stellen jedoch, wo die Schicht dichter aufgetragen ist und deshalb der Farbstoff besser haftet, finden sich noch eine Zeit lang völlig intensiv tingirte Stäbchen, aber auch diese halten dem Alkohol auf die Dauer nicht Stand. Zuletzt sind alle Stäbchen entfärbt,

V. Studien zur bacteriellen Diagnostik der Diphtherie und der Anginen.⁴⁾

Von Dr. phil. u. med. **H. C. Plaut** in Leipzig.

Bei den zahlreichen Untersuchungen von Rachen- und Tonsillenbelag, welche ich in den letzten drei Jahren zur Entscheidung der Frage anstellte, ob der Loeffler'sche Diphtheriebacillus nachzuweisen sei oder nicht, habe ich eine Reihe von Beobachtungen verzeichnen können, die nicht nur von bacteriologischem Interesse, sondern auch für den praktischen Arzt von Wichtigkeit zu sein scheinen, so dass ich nicht länger zögern will, sie der Oeffentlichkeit zu übergeben.

Mein Material, welches ich zu weitaus dem grössten Theil von hiesigen praktischen Aerzten zugeschickt erhielt, erstreckt sich auf 80 Fälle. Unter diesen fand sich der Loeffler'sche Diphtheriebacillus nur 22 mal, obgleich die meisten mit der Diagnose „verdächtig“ oder „höchst verdächtig auf Diphtherie“ mir zu-

⁴⁾ Eingesandt am 15. August 1894.

nur die Involutionen mit keulenförmigen Anschwellungen halten in einigen wenigen Exemplaren den Farbstoff auch noch nach intensiver Alkoholbehandlung fest.

Bei Behandlung der Ausstrichpräparate mit Anilinöl wird der Farbstoff viel besser festgehalten als mit Alkohol.

So ist das Verhalten der Diphtheriebacillen bei Ausstrichpräparaten von Membranen und frischen Reinculturen. Alte Reinculturen entfärben sich bei der Alkoholbehandlung schneller. Bei Schnitten durch Membranen tritt nach langer Alkoholbehandlung eine nur theilweise Entfärbung der Diphtheriebacillen ein, so dass sie dann grob gekörnt erscheinen. Kurze Alkoholbehandlung bei dünnen Schnitten, besonders unter Ersatz des Alkohols durch Anilinöl, giebt prachtvoll Bilder.

Man erkennt aus dem Gesagten leicht, woher der oben berührte Zwiespalt der Autoren betreffs der Färbung der Diphtheriebacillen nach der Gram'schen Methode stammt und dass es sich nur um einen scheinbaren Widerspruch handelt. Je nachdem man mehr oder weniger Alkohol zum Entfärben benutzte, Schnitte oder Ausstrichpräparate, dicke oder dünnere Objecte, ältere oder jüngere Culturen, Alkohol oder Anilinöl anwandte, waren die gewonnenen Resultate verschiedene.

Man kann das eigenthümliche Verhalten der Diphtheriebacillen bei Anwendung der Gram'schen Methode zu differentialdiagnostischen Zwecken wohl verwenden. Die hierauf basirenden Methoden (siehe unten) sind aber mehr von theoretischer Bedeutung. Denn wenn in einer Membran viel Bacillen vorhanden sind, so weiss der Kenner bei der Anfertigung eines einzigen Präparates nach der gleich zu besprechenden Methode sofort, um was es sich handelt, sind aber nur vereinzelte Bacillen vorhanden, so führt die mikroskopische Untersuchung, und das kann nicht scharf genug betont werden, man mag anwenden, welche Methode man will, überhaupt zu keinem absolut sicheren Ergebniss, weil die Resultate zu subjectiv sind.

Die beste Methode, Diphtheriebacillen in Ausstrichpräparaten zur Anschauung zu bringen, ist nach meinen Erfahrungen folgende:

Das zu untersuchende Material wird zwischen zwei Objectträgern gequetscht und diese, nachdem ordentliche Vertheilung eingetreten ist, seitlich auseinandergesogen. Nachdem die Schicht lufttrocken geworden ist, wird sie durch mehrmaliges Ziehen des Objectträgers durch die Bunsenflamme, natürlich die Schichtseite nach oben, fixirt. Elfmaliges schnelles Ziehen genügt für nicht zu dicke Objectträger. Man legt, um nicht zu überhitzen, nach jedesmaligem Durchziehen den Finger auf die Unterseite des Objectträgers und hört mit dem Durchziehen auf, sobald das Gefühl der Wärme unangenehm empfunden wird. Nach dem Fixiren lässt man den Objectträger vollständig abkühlen und tropft dann von dem Anilinölwassergentianaviolett (2 g concentrirte alkoholische Lösung von Gentianaviolett auf 40 g Anilinölwasser) so viel auf, dass die ganze Schicht schwappend voll bedeckt ist. Einwirkung drei Minuten. Dann lässt man den überflüssigen Farbstoff über einen Eimer ablaufen und giesst Jodjodkalilösung (1 Jod, 3 Jodkali, 300 Aq.) auf die gefärbte Schicht, dass alles bedeckt ist, und lässt dann die Jodlösung ablaufen. Hierauf trocknet man den Objectträger in gutem schwedischem Fliesspapier durch Druck. Dann giesst man bis zur hellbläulichen oder auch gänzlichen Entfärbung Anilinöl auf, das in eine Schale ablaufen und mehrmals benutzt werden kann. Nun wird der Objectträger wieder in Fliesspapier abgetrocknet, ein Tropfen reines Anilinöl auf die Schicht gebracht, ein Deckgläschen darüber gebreitet und mit Oelimmersion $\frac{1}{12}$ Zeiss untersucht.

Die in Betracht kommenden Mikroorganismen erscheinen nach dieser Methode prachtvoll intensiv blauschwarz gefärbt. Die Epithelien, viele Mundbakterien und sonstigen Elemente fast gänzlich entfärbt und die eventuell vorhandenen Diphtheriebacillen so scharf gekennzeichnet, dass sie bei nur einiger Uebung an ihren charakteristischen Formen, ihren Involutionen und Anlagerungen leicht zu erkennen sind. Eine nur theilweise Färbung des Inhaltes findet nach dieser Methode nicht statt; wohl aber sieht man die Diphtheriebacillen nach einiger Zeit blässer werden und einige derselben den Farbstoff ganz abgeben. Nach 24 Stunden sind nur noch einige Bacillen schwach gefärbt, deutlich aber noch die Involutionen erkennbar. Wer noch nicht genügend Uebung hat, färbt nun noch ein anderes Präparat nach der Loeffler'schen Methode und bemerkt dann an den vorher total gefärbten Bacillen die charakteristische Körnungsfärbung. Zur Uebung empfiehlt es sich dann noch, ein Präparat stricte nach Gram zu färben, d. h. mit Alkohol intensiv zu entfärben, um die starke Entfärbung der Diphtheriebacillen zu studiren. In den meisten Fällen genügt aber, wie schon bemerkt, die eine Färbung, um eine Diagnose zu fällen. Auf die Ausnahmen wird weiter unten genauer eingegangen werden.

Cultur.

Steht eine Membran zur Verfügung, so benutze man für gewöhnlich die der Mundhöhle zugekehrte Seite. Viele empfehlen wohl, um gröbere Verunreinigungen zu vermeiden, die der Schleimhaut zugekehrte Seite der Membran zu benutzen. In der That nehmen alle Mikroorganismen an Zahl nach der Tiefe der

Membran zu ab, natürlich aber auch die Diphtheriebacillen, so dass es leicht geschehen kann, dass man, bei oberflächlicher Entnahme von der Kehrseite, überhaupt keine Bacillenculturen erhält. Die gewöhnlichen Mikroorganismen der Mundhöhle stören aber das Wachsthum der Diphtheriebacillen auf Löffler-Blutserum gar nicht, so dass die Vorschrift, die Bacillen von der Schleimhautseite zu entnehmen, wohl nur für Glycerinagarculturen Beobachtung zu finden braucht. In diesem Falle empfiehlt es sich aber, mit dem Platinspatel nicht zu oberflächlich abzutragen, sondern tiefer in die Membran einzudringen. Sicherer geht man, wie schon gesagt, die der Mundhöhle zugekehrte Seite zu benutzen, ein Verfahren, das man überhaupt dann stets anzuwenden gezwungen ist, wenn man keine Membran aus dem kindlichen Mund entfernen kann, sondern sich damit begnügen muss, ein wenig Belag von den Tonsillen am Platinspatel herauszubringen. Dieser Fall tritt so häufig ein, dass er die Regel bildet. Denn einmal sitzen die Membranen bei echter Diphtherie oft so fest, dass man ohne blutige Verletzung nichts abreißen kann, ein Verfahren, das nach dem heutigen Stande der Diphtherietherapie doch kaum mehr zu vertheidigen ist, andererseits sind die Kinder zu unbändig, um den Arzt mit einer Pincette in der Mundhöhle hantiren zu lassen. Man kann also meist damit zufrieden sein, wenn man soviel Material erhält, dass man zwei Ausstrichpräparate und eine Cultur machen kann. Das Material streicht man auf reine Objectträger, die man nach Beschickung aufeinanderquetscht und, um Verdunstung zu vermeiden, in Guttaperchapapier gut einwickelt. So habe ich mir mein Material theils selbst verschafft, theils schicken lassen und nie über einen Misserfolg zu klagen gehabt. Um eine Cultur anzulegen, nimmt man ein ganz kleines Stückchen des Materials und verreibt es gut auf der Oberfläche des nach Loeffler's Vorschrift bereiteten Blutserums. Man braucht, um eine sichere Diagnose zu erhalten, höchstens zwei Röhren zu verwenden, da, wie gesagt, die Diphtheriebacillen auf diesem Nährboden alle anderen Keime der Mundhöhle schnell überwuchern, so dass das Glycerinagar auch nicht mit ihm im entferntesten zu concurriren vermag. Nach 24 Stunden zeigt ein Blick auf die Cultur, um was es sich handelt: entweder feine Tröpfchen, oder milchweisse Scheiben. Bei der mikroskopischen Exploration erweisen sich die letzteren als Diphtheriebacillen.

Die Bereitung des Serums nach Loeffler ist nicht schwerer oder umständlicher als die gewöhnlichen Blutserums. Man fange das Blut nur selbst auf, lasse es so lange stehen, bis sich der Blutkuchen ordentlich abgesetzt hat und hebere dann das Serum direkt in die sterilisirten, schon mit sterilem Fleischwasserpepton im richtigen Verhältniss gefüllten Reagensgläser ab. Gelangen ein paar rothe Blutkörperchen mit in das Reagensglas, so schadet das gar nicht. Beim ruhigen Stehen setzen sie sich am Boden fest und bleiben da liegen, auch wenn man das Gläschen, um das in ihm befindliche Serum fest zu machen, schräg legt. Die Temperatur beim Erstarren kann auf 95° C allmählich erhöht werden, ohne dass die Durchsichtigkeit des Serums darunter leidet. Bei 78° C, dem Erstarrungspunkt des gewöhnlichen Serums, erstarrt das Loeffler'sche Blutserumgemisch nie, beim allmählichen Erwärmen auf 95° C in drei Stunden. Die continuirliche Sterilisation des Blutserums vor dem Erstarren ist selbstverständlich. Die sterilisirten Blutserumgläser werden am besten erst kurz vor dem Gebrauch zum Erstarren gebracht. Die mit flüssigem Inhalt versehenen werden mit Gummikappen aufbewahrt, die erstarrten bis zum Gebrauch mit eben solchen schräg liegend gehalten, damit das Condenswasser die Oberfläche des Serums eine Zeit lang vor Verdunstung schützt. Nach der Impfung werden sie gestellt und bei 36° C 24 Stunden im Ofen gehalten.

Thierversuch.

Zur Thierimpfung eignen sich bekanntlich junge, etwa 300 g schwere Meerschweinchen am besten. Die Impfung führt man am zweckmässigsten so aus: Man hebt eine Hautfalte am Rücken, oder, wenn man Assistenz hat, am Bauche des Thieres hoch, schneidet sie mit einer scharfen Scheere durch und schiebt den Impfstoff mit einer starken Platinnadel weit unter die Haut. Dann drückt man die kleine Wunde zu. Injection des Impfstoffs mit der Pravazspritze kann ich bei Meerschweinchen, ihrer dicken Haut wegen, nicht empfehlen.

Die Thiere gehen an der Impfung mit voll-virulenten Reinculturen gewöhnlich nach 36—48 Stunden zugrunde und sind schon nach 24 Stunden deutlich krank. Bei der Section finden sich an der Impfstelle im Unterhautzellgewebe ausgedehnte Entzündungen, starkes sulziges Oedem und gewöhnlich sehr zahlreiche Diphtheriebacillen.

Das Resultat der Thierimpfung mit aus Membranen oder Belägen gezüchteten Bacillenculturen entscheidet natürlich in allen Fällen am sichersten, ob es sich um Diphtherie handelt oder nicht. Dieses sichere Verfahren wurde bisher überall da in Anwendung gebracht, wo das Ausstrichpräparat ein unsicheres Ergebniss lieferte, oder wo die geringe Anzahl der Bacillen den Verdacht nahe legte, dass es sich um den Pseudodiphtheriebacillus handeln könne. Dieser Weg zum Ziel zu kommen, erfordert aber nicht nur eine ziemliche

Vertrautheit mit der Bacteriologie und ihren Methoden, sondern mindestens auch zwei volle Tage und Nächte, ein Zeitraum, der bei der grossen Wichtigkeit einer möglichst schnellen Diagnose bei der Diphtherie viel zu lang genannt werden muss.

Ich war deshalb bestrebt eine Methode zu finden, welche unter Vermeidung des Culturverfahrens in kürzerer Zeit eine sichere Diagnose ermöglicht, und glaube dieselbe in der Membranimpfung gefunden zu haben.

Wenn man einem Thier nach oben mitgetheilte Methode statt Reincultur von Diphtheriebacillen kleine Mengen von Diphtheriemembranen oder Tonsillenbelag unter die Haut bringt, so erkrankt das Thier an den gleichen Erscheinungen, wie bei der Impfung mit Reincultur, aber in mässigerem Grade, geht auch, wenn überhaupt, erst später zugrunde. Untersucht man nach 20 Stunden die Impfstelle am lebenden Thier, indem man den noch nicht verklebten Schnitt zum Klaffen bringt und mit einer Platinöse etwas von dem Gewebssaft entnimmt, auf einen Objectträger ausbreitet und nach obiger Methode färbt, so kann man, handelt es sich um Diphtherie, aus den zahlreichen charakteristischen Bacillen, die seltener frei, meist in Leukocyten liegend gefunden werden, in dieser kurzen Zeit schon eine absolut sichere Diagnose fällen. Von anderen Mikroorganismen bemerkt man merkwürdigerweise wenig, selbst dann, wenn das eingepfulte Material Unmassen davon enthielt. Zu Verwechslungen können sie in keinem Falle Veranlassung geben.

Ich habe nämlich die verschiedenartigsten Tonsillenbeläge, Sputa, faulenden Urin etc. jungen Meerschweinchen in der angegebenen Weise verimpft und niemals einen nur ähnlichen bacteriologischen oder pathologischen Befund in so kurzer Zeit zu verzeichnen gehabt, wie dann, wenn das verimpfte Material virulente Diphtheriebacillen enthielt. Bei von Anginen stammenden Tonsillenbelägen zeigen Meerschweinchen meinen Erfahrungen nach überhaupt keine Krankheitserscheinungen. Der Meerschweinchenkörper hat eben eine ganz exquisite Gabe, sich den Diphtheriebacillus herauszuwählen und fortzuzüchten, so dass kaum ein Unterschied im mikroskopischen Präparat zu verzeichnen ist, einerlei, ob man Reincultur von Diphtheriebacillen oder Diphtheriemembran demselben einverleibt hat. Diese neue Methode, eine schnelle und sichere Diagnose auf Diphtherie zu fällen, hat nicht die geringste Schwierigkeit in der Ausführung, so dass sie jeder, der überhaupt mikroskopiren kann, fertig bringen muss. Der Hauptvortheil derselben aber ist der, dass die Cultur, die immerhin nicht so leicht und einfach ist, als dass sie jeder ausführen könnte, vollständig in Wegfall kommt. Das von dem Oedem schon nach der 20. Stunde angefertigte Präparat ist so charakteristisch, wie ein Sputumpräparat, wenn es Tuberkelbacillen enthält.

Die einzige Schwierigkeit, die sich dieser Methode entgegenstellt, besteht in der Beschaffung der jungen Meerschweinchen, ein Punkt, auf den ich noch näher bei den Schlussfolgerungen eingehen werde.

Diphtherie- und Anginafälle von besonderem Verlauf.

Fall 1. Kräftiges Mädchen von 17 Jahren erkrankte am 3. August 1892 unter den Erscheinungen einer mittelschweren Angina. Ihre kleinere Schwester, welche acht Tage vorher im hiesigen Krankenhaus an schwerer septischer Diphtherie gestorben war, war bis kurz vor dem Eintritt ins Spital von ihr gepflegt worden.

Ausstrichpräparat ergibt nur Coccen, die Cultur auf dem ersten Röhrenchen drei Diphtheriebacillenculturen, Agarplatten nur Staphylococcen. Ein 350 g schweres Meerschweinchen erkrankt bei der Impfung mit 1 ccm frischer Bouilloncultur nicht. Impfwunde ist schon nach 24 Stunden verklebt. Die Bacillen verhielten sich auch sonst wie Pseudodiphtheriebacillen.

Der Fall verlief leicht, schon nach vier Tagen trat völlige Genesung ein, er ist aber bemerkenswerth, weil er die Roux-Yersin'sche Ansicht über den Pseudodiphtheriebacillus, dass dieser nur einen abgeschwächten Abkömmling des echten Loeffler'schen Bacillus darstelle, zu stützen scheint. Hier wurde der echte Diphtheriebacillus auf den vielleicht durch die Pflege immunisirten Körper der Schwester übertragen, der ja auch den Jahren nach nicht mehr hochgradig für Diphtherie disponirt war.

Der Fall war vom behandelnden Arzte von vornherein als Diphtherie angesehen und trotz der bacteriologischen Diagnose auch an bezirksamtlicher Stelle als solcher gemeldet worden. Ein Verfahren, dass nach dem heutigen Stande der Pseudodiphtheriebacillenfrage meiner Ansicht nach im Interesse der Prophylaxe nur zu billigen ist.

Fall 2. Am 5. August untersuchte ich die Membran eines drei Jahr alten schwer erkrankten Kindes am dritten Tag der Erkrankung. Die mikroskopische Exploration ergab Coccen in grossen Mengen, wenig verdächtige Stäbchen. Die Cultur ergab echte Diphtheriebacillen, das mit der Membran geimpfte Meerschweinchen starb nach 48 Stunden an Diphtheriesepsis in typischer Weise. Das Kind starb am Abend des vierten Tages. Aus dem Objectträgerpräparat konnte man in diesem Fall kaum auf die Diphtherie schliessen, ein Beweis, dass es vorkommen kann, dass selbst bei einem schweren Fall die Diphtheriebacillen so in der Minderzahl vorhanden sind, dass man sie auf dem Objectträgerpräparate leicht übersehen kann. Sehr eng an diesen schliessen sich die folgenden Fälle an.

Fall 3., 4., 5., 6., 7., 8. Am 13. Februar 1893 bekam ich eine Membran eines vierjährigen Knaben mit der Diagnose „Lacunäre Angina“ zugeschiekt, in der ich bei der mikroskopischen Untersuchung keine Diphtheriebacillen nachweisen konnte. Auf den Blutsrumröhren gingen fünf Culturen des Diphtheriebacillus auf. Cultur und Membranimpfung ergaben positive Resultate. Das mit Cultur geimpfte Meerschweinchen starb am 15. Februar, das mit Membran geimpfte am 17. Februar an charakteristischer Meerschweinchendiphtherie.

Der Fall nahm einen schweren Verlauf und bald auch das klinische Bild der Diphtherie an. Am 21. Tage erst war der Patient in der Reconvalescenz.

Fünf in derselben Familie unter elenden Verhältnissen lebende Geschwister — nur eine Stube stand zur Verfügung — blieben von der Krankheit verschont, nur ein sieben Jahr altes Mädchen bekam eine leichte Coccenangina, die nur vier Tage bis zur Wiederherstellung brauchte. Die Behandlung des Diphtheriefalles bestand in Pinselung mit 10 % Pyocyaninlösung.

Ganz ähnlich lagen die Verhältnisse in einer anderen Familie, wo ein Knabe von 13 und einer von fünf Jahren gleichzeitig an echter Diphtherie erkrankt waren (18. October 1892) und ein zweijähriges Mädchen, welches nicht isolirt werden konnte, völlig gesund blieb. Da ich die Fälle schon in der *Médecine scientifique* Januar 1893 beschrieben habe, will ich hier nicht noch einmal näher auf sie eingehen und nur bemerken, dass auch hier die Behandlung in Pinselung von Pyocyaninlösung 1:10 bestand. Nun bin ich zwar weit entfernt, das Verschontbleiben der Kinder in diesen Fällen auf die Behandlung der anderen mit Pyocyanin zu schieben, — im zuerst beschriebenen Fall scheint vielmehr die geringe Anzahl der vorhandenen Diphtheriebacillen, im zweiten das nicht so zu Diphtherie disponirte Alter der Kinder verantwortlich gemacht werden zu müssen, — immerhin aber ist die Thatsache so auffallend, dass sie zum Versuch der Pyocyaninbehandlung in Fällen, wo Isoliren unmöglich ist, ermuntern kann.

Ein vierter hierhergehöriger Fall weicht nur insofern von obigen ab, als die hier in Betracht kommenden sechs Kinder prophylaktisch mit Schering's Diphtherieantitoxinlösung geimpft worden waren, als ihre Mutter an Diphtherie (bacteriologisch genau festgestellt und durch Thierexperiment bewiesen) erkrankte. Auch hier wurde Pyocyaninlösung mit Erfolg angewandt.

In einem anderen hierhergehörigen Fall unterliess ich das Thierexperiment und die Cultur, da das Präparat, welches vom Belag gemacht worden war, absolut keine Stäbchen aufwies. Der Knabe bekam nach langer Krankheit (drei Wochen) eine Gaumenparese und nieste während der Krankheit Membranen aus. Seine zwölfjährige Schwester erkrankte nach 14 Tagen gleichfalls. Das Thierexperiment und die Cultur ergaben diesmal, dass es sich um echte Diphtherie gehandelt habe, auch die ausgeniesten Membranen enthielten zahlreiche virulente Diphtheriebacillen.

Aus diesen acht Fällen geht mit Gewissheit hervor, dass man aus dem negativen Befunde des Objectträgerausstrichpräparats keineswegs Diphtherie ausschliessen darf.

Fall 9. Leichter Diphtheriefall. Wenig Bacillen auf dem Ausstrichpräparat und der Cultur nachweisbar. Thierexperiment positiv. Die Geschwister des Knaben werden sofort entfernt und unglücklicherweise, selbstverständlich ohne Wissen des behandelnden Arztes, in einer Familie in Plagwitz untergebracht; in der selbst zwei Kinder sind. Beide Kinder dieser Familie erkranken an Diphtherie. Die Geschwister des oben erwähnten Knaben verlassen nochmals ihren Wohnsitz und werden nach Berlin zu Verwandten gebracht, die leider auch ein Kind besitzen. Dieses Kind erkrankt gleichfalls an schwerer Diphtherie und stirbt.

Dieser Fall zeigt recht deutlich, wie leicht das Contagium der Diphtherie gerade durch solche Individuen verschleppt werden kann, die eine gewisse Immunität gegen diese Krankheit besitzen, und wie vorsichtig man bei dem Isoliren der Kinder zu Werke gehen muss.

Fall 10 bis 14. Fünf nun sich anreihende Fälle von einfacher Angina verdienen die Erwähnung wegen der sie wohl zweifellos erzeugten habenden Mikroorganismenart.

Der erste betraf ein Mädchen von vier Jahren, welches mir aus der Sprechstunde eines hiesigen Arztes mit der Diagnose „schwere septische Diphtherie“ am Nachmittage des 2. December 1892 zur Abimpfung in mein Laboratorium geschickt wurde. In der That war der Geruch, der sich verbreitete, als das Kind in die Stube getragen wurde, durchaus dem ähnlich, der in der Umgebung septisch diphtheriekranker Kinder wahrzunehmen ist. Das Kind fieberte heftig und machte einen sehr kranken Eindruck. Bei der Inspection der mit vielen cariösen Zähnen versehenen Mundhöhle, bemerkte man schmierige Beläge auf beiden Innenflächen der stark geschwollenen Tonsillen und der linken Seite der Uvula. Starke Entzündung des ganzen weichen Gaumens, aber nur mässige Drüsenanschwellung. Die mikroskopische Untersuchung des Belags ergab, dass derselbe bacteriologisch aus weiter nichts als aus Miller'schen Spirochaeten und Miller'schen Bacillen bestand. Bei der Färbung nahmen die letzteren den Farbstoff intensiv auf, während die ersteren sich nur schwach tingiren liessen. Bei der Züchtung vom Belage auf Loeffler's Blutserum gingen nur einige wenige Colonieen von Streptococcen auf, die Bacillen und Spirochaeten liessen sich nicht züchten. Diphtheriebacillen waren weder durch Cultur noch durch das Thierexperiment nachweisbar. Das Kind, das schon am anderen Morgen kaum noch Beläge erkennen liess, fieberte bis zum nächsten Abend. Am dritten Tage normale Temperatur, Beläge völlig verschwunden, nur noch leise Röthung des Halses vorhanden. Am vierten Tage völlig normales Befinden. Die mikroskopische Exploration des Tonsillenschleims ergab schon am dritten Tage normale Verhältnisse, d. h. die Miller'schen Spirochaeten und Bacillen waren in nicht grösserer Anzahl vorhanden als bei sonst gesunden Personen mit unreiner Mundhöhle.

Der siebenjährige Sohn der Pflegeeltern des oben erwähnten Kindes erkrankte sieben Wochen später ganz plötzlich an der gleichen Krankheit.

Die Inspection der gleichfalls schlecht gehaltenen Mundhöhle dieses Knaben hatte zur Zeit der Erkrankung des Pflegekindees stattgefunden. Damals hatten sich im Schleim, der von den Tonsillen stammte, mässige Mengen des erwähnten Mikroorganismus ergeben. Der Zahnbelag enthielt damals reichlicher diese Mikroorganismen. Am Tage der Erkrankung bestand der schmutzige Belag der hinteren Tonsille wieder aus weiter nichts als aus den erwähnten Stäbchen und Spirochaeten mit wenig Eiterkörperchen und Epithelzellen untermischt, Foetor ex ore, Drüenschwellung, Fieber, schwerer Krankheitseindruck, alles wie oben. Auf dem Löffler'schen Blutserum wuchs von den reichlich ausgestrichenen Belägen diesmal überhaupt nichts, auf den Agarplatten gingen die gewöhnlichen züchtbaren Mundbakterien auf. Der Verlauf der Krankheit war wieder ein überaus günstiger und schneller. Am 17. Januar Beginn der Erkrankung, am 21. Januar entliess ich den Knaben als völlig geheilt.

Die drei anderen Fälle dieser Art verdanke ich der Freundlichkeit zweier meiner Collegen. Die Krankengeschichten unterscheiden sich in nichts von den obenerwähnten.

Charakteristisch für das Krankheitsbild ist: Der plötzliche Beginn, der starke Foetor, das schwere Krankheitsbild mit hohem Fieber, der schmierige zähe Belag und das auffallend schnelle Verschwinden aller Symptome.

Eine Verwechslung der Miller'schen Bacillen mit den echten Diphtheriebacillen auf Ausstrichpräparaten kommt, so unmöglich es scheinen sollte, dennoch unter bestimmten Umständen, mangelnder Uebung etc., vor. Ein Präparat, das von einem der zuletzt erwähnten Fälle stammte, wurde mir von einem Collegen als „leicht verlaufene Diphtherie trotz massenhafter Bacillen“ demonstrirt, und ich selbst irrte mich in einem Falle in der Diagnose, als ich ein Präparat, das mir in später Nachmittagsstunde gebracht wurde, bei sehr schlechter Beleuchtung untersuchte. Am anderen Morgen erkannte ich sofort meinen Irrthum und auch die bald darauf vorgenommene Untersuchung der Cultur bestätigte, dass es sich nicht um Diphtherie handelte. Die Miller'schen Bacillen sind einmal viel grösser als die Diphtheriebacillen, sind im Gegensatz zu diesen an den Enden spitz und immer in Gesellschaft der Spirochäten, die wahrscheinlich im genetischen Zusammenhang mit ihnen stehen. Diese Vermuthung hat Miller schon im Jahre 1883 ausgesprochen, meinte aber später von dieser Annahme abgehen zu müssen, weil die Bacillen die Farbstoffe intensiver aufnehmen, als die Spirochäten. Da derartige Unterschiede aber auch bei anderen Mikroorganismen bei den verschiedenen Entwicklungszuständen derselben beobachtet werden, so glaube ich nicht, dass man aus dem Farbstoffverhalten allein diesen Schluss ziehen kann.

Diese Miller'schen Mikroorganismen finden sich in geringer Zahl fast in jeder normalen Mundhöhle; sie sitzen aber meist nur unter dem Zahnfleischrand. Wenn dieser entzündet ist, findet man auch die Spirochäten und Bacillen vermehrt. Pathogene Eigenschaften derselben wurden bisher meines Wissens nur von Verneuil und Clado (citirt nach Miller) an ihnen wahrgenommen. Sie fanden sie in einem Abscess der sublingualen Speicheldrüse, dann bei Adenitis submaxillaris und einmal in einem Abscess der Fingerspitze, verursacht durch die Verletzung mit einem alten künstlichen Gebiss.

Dass diese Mikroorganismen in den fünf von mir beobachteten Fällen wirklich die Erzeuger der Anginen gewesen sind, glaube ich aus folgenden Punkten mit einiger Wahrscheinlichkeit schliessen zu dürfen:

1. fanden sie sich einmal als Reincultur in den Belägen, und es gingen bei den Culturversuchen die gewöhnlichen, bei Anginen gefundenen Staphylo- und Streptococci nicht auf;
2. spricht die ungeheure Menge dieser Mikroorganismen auf der Höhe der Krankheit und das schnelle Verschwinden derselben beim Nachlassen derselben für eine pathogene Betheiligung;
3. wurde diese Erkrankung in derselben Familie zweimal innerhalb sechs Wochen beobachtet.

Die übrigen von mir bacteriologisch untersuchten Fälle boten nichts aussergewöhnliches.

Die Hauptergebnisse meiner Untersuchung noch einmal kurz zusammengefasst lauten:

1. Die Roux-Yersin'sche Methode (Färbung des Tonsillenbelags und mikroskopische Exploration) genügt zur Fällung einer exacten Diagnose auf Diphtherie nur dann, wenn man in dem gefärbten Präparat viele Diphtheriebacillen oder Bacillennester findet. Finden sich keine Diphtheriebacillen, so darf man aus diesem negativen Befunde noch nicht schliessen, dass nur Angina vorliegt.
2. Die Cultur mit nachfolgendem Thierexperiment ist die sicherste Methode der Diphtheriediagnostik.
3. Eine schnelle und sichere Diagnose giebt auch die Membranimpfung mit mikroskopischer Exploration der Impfsecrete nach 20 Stunden für alle, welche aus irgend einem Grunde Culturen nicht aufstellen können.

Schlussfolgerungen. Da wir infolge der Entdeckung Loeffler's in den Stand gesetzt sind, bei jeder Angina zu entscheiden, ob es sich um Diphtherie handelt oder nicht, so dürfen diejenigen, denen die Handhabung der praktischen Hygiene obliegt, nicht eher sich zufrieden geben, bis Mittel und Wege gefunden sind, dass auch jede Diphtherie rechtzeitig zur Kenntniss der Medicinalbehörden komme. Um dies zu ermöglichen, ist es nothwendig, dass jede, auch die unschuldigste Angina bacteriologisch geprüft werde.¹⁾ Dass diese Forderung in den Grenzen der Möglichkeit liegt, kann kaum bezweifelt werden. Sehen wir doch, dass, um die ersten Fälle von Cholera rechtzeitig zu diagnosticiren, Maassregeln getroffen sind, die sich als leicht durchführbar und von enormer Bedeutung für die schnelle Unterdrückung dieser Krankheit gezeigt haben. Wenn von jedem Arzt verlangt werden kann, dass er bei jedem „verdächtigen“ Fall von Brechdurchfall die Excremente an bestimmte Institute schickt, wo sie untersucht werden, so können wir auch verlangen, dass dasselbe mit den Belägen und Membranen der Angina geschehe¹⁾, wenn der behandelnde Arzt nicht in der Lage ist, die Untersuchung selbst auszuführen. Denn eine einfache Meldung, wie sie jetzt üblich ist, kann keine wirksamen prophylactischen Maassregeln zur Folge haben, weil sie nur auf Grund der klinischen Diagnose erfolgt, die, wie wir wissen, gerade bei Diphtherie im hohen Grade unsicher ist. Sollen die Erfolge der Maassregeln günstige sein, so müssen auch die Meldungen, auf die hin jene in Ausführung kommen, den Thatsachen entsprechen, und das ist nur dann möglich, wenn die Meldung auf Grund der bacteriologischen Diagnose erfolgt.

Die prophylactischen Maassregeln gegen die Diphtherie hätten also damit zu beginnen, dass man zunächst Gewissheit darüber erhält, wo der Feind steckt. Dorthin sende die Behörde ihre Beamten, die sich überzeugen müssen, dass eine zweckmässige Isolirung der Kranken statthabe, dass eine genügende Desinfection stattfindet, dass die gefährdeten, noch nicht erkrankten Kinder an Orte gebracht werden, wo man sicher ist, dass sie die Krankheit nicht verschleppen. Die schnelle Erkenntniss der Krankheit würde ja auch die Erfolge der Serumtherapie verbessern, von der wir erst aus jüngster Zeit hören, dass sie zeitig angewandt, glänzende Resultate erbe. Bei strieter Durchführung solcher Maassregeln lässt sich wirklich hoffen, dass es endlich gelingt, eine Krankheit einzudämmen, gegen welche sich bis jetzt alles als ohnmächtig erwiesen hat.

¹⁾ Die einzige Schwierigkeit, die sich vielleicht der Durchführung massenhafter Anginenuntersuchungen in Instituten entgegenstellt, dürfte, wie schon oben angedeutet, die Beschaffung der nöthigen Versuchsthiere sein. Es ist aber, wie ich seit Jahren aus eigener Erfahrung weiss, gar nicht so mühevoll und schwierig, Meerschweinchenzucht zu treiben, wenn man die Mutterthiere bei der Impfung schon. Ein Meerschweinchen wirft jährlich dreimal zwei bis sechs Junge, die nach $\frac{3}{4}$ Jahren schon wieder fortpflanzungsfähig sind. Das ist eine Fruchtbarkeit, wie wir sie nur bei wenigen Thieren kennen. Die Institute müssten also die Meerschweinchenzucht selbst in die Hand nehmen. Da von 100 Anginen höchstens 20 Diphtherieen zu sein pflegen, so würde der Verbrauch an Thieren an und für sich kein allzu grosser sein.