[Aus dem Institut „Robert Koch“ und aus einem Feldlaboratorium.]

Zur Ätiologie der bazillären Ruhr.

Von

Dr. G. Blumenthal,
Assistenten am Institut.

Die Frage der bazillären Ruhrätiologie ist auch durch die großen Erfahrungen, die man im Kriege sammeln konnte, nicht vollständig geklärt worden.

Allerdings sind an der Einheitlichkeit der sogenannten echten, nach Shiga-Kruse benannten Dysenteriestämme keine Zweifel mehr laut geworden, vielmehr haben sich die Untersucher bei schweren Epidemien, die besonders an der Ostfront zur Beobachtung gelangten, davon überzeugen können, daß an vielen Stellen in der Hauptsache der Shiga-Kruse-Bazillus als ursächliches Moment in Betracht kam.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bezüglich der großen Gruppe der vom Shiga-Krusetypus verschiedenen Ruhrbazillen. Hier stehen sich noch immer verschiedene Anschauungen gegenüber.

Während bekanntlich Lentz (1) zwischen „giftigen“ und „giftarmen“ Ruhrbazillen unterscheidet und diese mit His u. a. auf Grund ihres Zuckervergärungsvermögens in die Typen Flexner, Y und Strong einteilt, stellt Kruse (2) die „echten“ Dysenteriebazillen den „Pseudodysenteriebazillen“ gegenüber und läßt diese auf Grund agglutinatorischer Absorptionsversuche in die Rassen A bis J zerfallen.

Eine vermittelnde Stellung nahm bereits Shiga (3) und später Hehewerth (4) ein, und Korthof (5) greift neuerdings wieder auf diese Ansicht zurück. Er empfiehlt ebenfalls die Aufstellung von nur zwei Gruppen, und zwar der toxischen Shiga-Kruse-Bazillen und der atoxischen Bazillen, und lehnt jede weitere Einteilung in verschiedene Unterabteilungen wegen der Unsicherheit der oben erwähnten chemischen bzw. serologischen Differenzierungsmethoden ab. Das Wort atoxisch ist allerdings insofern nicht glücklich gewählt, als Pribram (6), Kolle (7) und anderen Autoren bereits der Nachweis echter Toxine auch bei den sogenannten ungiftigen Stämmen gelungen ist.

Ohno (8), Dopter (9) und Ascoli (10) dagegen vertreten eine einheitlichere Anschauung und halten alle beschriebenen Dysenteriebazillen für Varianten des Shiga-Kruse-Typus, und Seligmann (11) endlich nimmt an, daß die Ruhrbazillen überhaupt aus harmlosen Darmparasiten hervorgehen, indem sie unter gewissen Bedingungen parasitäre Eigenschaften annehmen und dadurch zu den typischen Erkrankungen führen. Er begründet diesen Standpunkt mit Bazillenbefunden, die er bei einer größeren Ruhrepidemie in einem Gefangenenlager zu erheben Gelegenheit hatte, und zwar fand er auf der Höhe der Infektion stets die typischen Vertreter der einzelnen Ruhrbazillen, während im Beginn und im Abklingen der Erkrankung zahlreiche Bakterien zur Beobachtung kamen, die wegen ihrer Mittelstellung zwischen Ruhr- und Colibazillen als Übergangsformen angesprochen werden konnten.

Beschreibungen ähnlicher Bakterientypen finden sich in der einschlägigen Literatur häufig, so bei Deicke und Reschad (12), Celli und Valagussa (13), Ebeling (14), O. Mayer (15), Hutt (16), Kemp (17), L. Nègre (18), L. Nègre, Ed. Sergent et Folley (19), Manteufel (20), Salus (21), Sonne (22), Morgan (23), W. Falta und H. Kohn (24), H. Braun und W. Liess (25) und anderen. Allerdings lassen die meisten Autoren die Frage, ob es sich um Krankheitserreger handelt, offen, neuerdings beschreibt jedoch wieder Nègre atypische und sogar auch bewegliche Bazillen als „Pseudodysenteriestämme“.

Auch wir haben während der großen Ruhrepidemie des Jahres 1917 an der Ostfront in einem bakteriologischen Laboratorium Galiziens aus den Fäzes typisch Ruhrkranker zahlreiche Stämme der Dysenterie-Coli-gruppe isolieren können, die sich nicht genau in einen der bekannten Typen einreihen ließen. Sie hatten sämtlich einige Merkmale gemeinsam, und zwar zeigten sie ein farbloses Wachstum auf Drigalskiagar, das Fehlen jeder Eigenbewegung, dafür aber lebhaftes Molekularbewegung, ferner wiesen sie einen auffallenden Geruch nach Sperma auf und ließen sich von keinem der üblichen Ruhrseren irgendwie agglutinatorisch beeinflussen.

Wurden nun ihre einzelnen Eigenschaften genauer studiert und zunächst ihr Verhalten gegenüber den bekannten Zuckernährböden Mannit-, Maltose-, Saccharoseagar geprüft, so konnte man verschiedene Gruppen unterscheiden, die sich wie Shiga, bzw. Flexner oder Y verhielten, die also auf

	Mannit	Maltose	Saccharose
1.	blau	blau	blau
2.	rot	rot	blau
3.	rot	blau	blau

wuchsen.

Auf eine vierte Art, die

4.	blau	rot	blau
----	------	-----	------

wuchs, also nur Maltose angriff und die beiden anderen Zuckerarten stets unbeeinflusst ließ, wollen wir erst später ausführlicher zurückkommen.

Das Interessante jedoch an diesen vier Typen war, daß jede wiederum in zwei Unterabteilungen zerfiel, in Bazillen, die Traubenzucker nicht angriffen und in solche, die in Traubenzuckeragarstichkulturen lebhaft Gas entwickelten, ähnlich wie die Stämme, die Deike und Reschad in Konstantinopel bei einer geschlossenen Epidemie als Ruhrerreger ansprachen. Und zwar fanden wir auffallenderweise die gasbildenden Stämme in annähernd der gleichen Anzahl wie die nicht gasbildenden. Während die Befunde der Gruppen 1 bis 3 relativ selten waren, wurden die Bakterien der Untergruppe 4 aus den Fäzes typischer Ruhrkranker so häufig gezüchtet (es waren mehrere Dutzend Stämme), daß wir diese sammelten und einem genaueren Studium unterwarfen. Der Kriegsereignisse halber konnte dasselbe im Felde nicht mehr zum Abschluß gebracht werden und wurde erst vor einigen Monaten hier wieder aufgenommen. Da es sich um einen einheitlichen, von den bis jetzt bekannten Dysenteriestämmen deutlich abgrenzbaren Bazillentyp zu handeln scheint, der auch im Patientenserum Antikörper auszulösen imstande war, so haben wir uns zu einer ausführlichen Darstellung seiner Eigenschaften entschlossen.

Bezüglich der Untersuchungstechnik sei erwähnt, daß seinerzeit in Lemberg die bakterielle Ausbeute aus dem verdächtigen Material anfangs eine recht geringe war, wofür offenbar der lange Transport verantwortlich gemacht werden muß. Denn dadurch wird nicht nur das Überwuchern der wenig widerstandsfähigen Dysenteriebazillen durch die normale Darmflora begünstigt, sondern vor allem den in den ja vorwiegend rein serösen Entleerungen reichlich vorhandenen Antikörpern mit der Zeit Gelegenheit gegeben, ihre abschwächende bzw. vernichtende Wirkung auf die pathogenen Keime zu entfalten. Erst nachdem verabredungsgemäß die einzelnen Stuhlproben möglichst gleich nach der Entleerung dem nur etwa $\frac{1}{2}$ Stunde vom Seuchenlazarett entfernten Laboratorium überbracht und dort sofort nach Eintreffen weiter verarbeitet wurden, konnten in Übereinstimmung mit den Erfahrungen der anderen Untersucher verhältnismäßig zahlreiche bakteriologische Befunde über die Ätiologie der Erkrankung erhoben werden, die auch später die serologische Untersuchung bestätigte.

Bei den Proben, aus denen die fraglichen Bakterien gezüchtet wurden, handelte es sich stets um typische Ruhrstühle, die meist ausschließlich aus Serum mit Schleim- und Blutbeimengungen und Eiterfetzen bestanden und einen ganz charakteristischen faden Geruch besaßen. Wie üblich, wurden die Schleimflocken durch wiederholtes Waschen mit steriler physiologischer Kochsalzlösung von dem anhaftenden Serum bzw. von Stuhlpartikeln befreit und dann mit dem Spatel auf zwei Drigalski-

platten, die kein Kristallviolett enthielten, ausgestrichen. Nur typisch farblos wachsende Kolonien wurden dann weiter verarbeitet.

Die gefundenen Bakterien boten zunächst die äußeren Charakteristika der bekannten Ruhrbazillen. Es waren mittellange plumpe Stäbchen, die lebhaft molekulare, aber keine eigene Bewegung zeigten. Dementsprechend konnten Geißeln weder bei Beobachtung im Dunkelfeld, noch durch Färbung nachgewiesen werden. Ebenso fiel die Gramfärbung stets negativ aus.

Bei längerem Wachstum auf Agar bilden sie graubläuliche, leicht irisierende, glasig durchscheinende runde Kolonien, auf Gelatineplatten in der Regel weinblattartig gelappte, grauweiße Oberflächen- und mehr rundliche graue Tiefenkolonien. Besonders bemerkenswert ist hier noch der charakteristische spermaähnliche Geruch solcher Kulturen, der schon nach 24 Stunden auftritt und offenbar von Eiweißabbauprodukten herrührt.

Bouillon und Peptonwasser werden von den Bakterien gleichmäßig getrübt unter Bildung eines geringen Bodensatzes. Die Indolreaktion nach Salkowski ergibt stets schon nach 24 stündiger Prüfung ein deutlich positives Resultat. Neutralrot- und Traubenzuckeragar bleiben unverändert. Die Lackmusmolke wird nach Beimpfung und 24 stündiger Bebrütung leicht getrübt. Ihre Farbe spielt ins Rötlich-Violette hinüber.

Diese eben beschriebenen Eigenschaften würden mit Wahrscheinlichkeit dafür sprechen, daß wir es hier mit einem Vertreter der Ruhrbazillen zu tun haben, wenn er nicht durch sein Wachstum auf Zuckernährböden und vor allem sein merkwürdiges serologisches Verhalten betreffs der Bildung von Agglutininen eine offenbare Sonderstellung einnehmen würde.

Bezüglich der Vergärung der drei Zuckerarten Mannit, Maltose und Saccharose durch Ruhrbazillen enthält die Literatur ziemlich widersprechende Angaben. Nur bei frisch aus dem kranken Körper isolierten Stämmen ist die Einwirkung auf die einzelnen mit Lackmuslösung und mit möglichst 2 Prozent Zucker versetzten Agarplatten eine einigermaßen eindeutige und konstante. Der Shiga-Kruse-Bazillus soll alle drei Zuckersorten unverändert lassen, der Flexner-Bazillus Mannit und Maltose, der Y-Bazillus nur Mannit angreifen, während der Strong Bazillus Mannit und Saccharose unter Säurebildung vergärt und nur die Maltose unverändert läßt. Über die übrigen möglich erscheinenden Kombinationen betreffs der Zuckervergärung herrscht in der Literatur keine Einheitlichkeit, jedoch sind alle denkbaren Möglichkeiten beschrieben worden. So fanden Ohno (a. a. O.), Shiga (a. a. O.), Trembur (26), Martini (27), Kruse (a. a. O.), W. Falta und H. Kohn (a. a. O.), Bauch (28), H. Braun

und W. Liess (a. a. O.), L. Nègre (a. a. O.), L. Nègre, Ed. Sergent et Folley (a. a. O.), Denier (29), Denier et Huet (30), H. de R. Morgan (a. a. O.), Aronson (31) und andere zahlreiche Varietäten mit anderem Zuckervergärungsvermögen, wobei besondere Erwähnung die Bakterien verdienen, die im Gegensatz zu der Mehrzahl der übrigen Formen vor allem durch das Fehlen einer Beeinflussung des Mannits gekennzeichnet sind.

Ausgeschaltet müssen hier von vornherein die Stämme werden, die nach 24 Stunden einen bestimmten Vergärungstyp aufweisen, dann aber bei mehrtägiger Beobachtung nach der Anschauung von Lentz durch Änderung ihres parasitären Charakters oder infolge zu geringen Gehaltes des Nährmediums an der betreffenden Zuckerart in die entgegengesetzte Farbe umschlagen und dadurch zur Aufstellung neuer Gruppen verleitet haben. Hierher gehören vor allem zahlreiche von Shiga (a. a. O.), Ohno (a. a. O.) und Morgan (a. a. O.) beschriebene Formen, vielleicht auch der „Tuckahoe“-Bazillus von Park und Carey (32), der allerdings fast wie ein „Schmitz“-Bazillus anmutet, ferner der in der französischen Literatur weit verbreitete Typus „Saigon“. Er ist von Denier und Huet (a. a. O.) zuerst näher studiert worden und zeichnet sich dadurch aus, daß er nur Maltose säuert und rot färbt, dagegen Mannit und Saccharose auch bei längerer Beobachtungszeit unverändert läßt. Da er jedoch von Flexner-Serum noch in hohen Verdünnungen, meist sogar bis zur Titerhöhe agglutiniert wird, scheint er dieser Gruppe nahe zu stehen.

Das gleiche Wachstum wie dieser „Saigon“-Bazillus auf den drei Zuckernährböden zeigten nun übereinstimmend unsere sämtlichen Kulturen, während sie bezüglich ihres serologischen Verhaltens von ihm vollkommen verschieden waren.

Sowohl die frisch aus den Fäzes isolierten Stämme, als auch die längere Zeit künstlich fortgezüchteten Kulturen vermochten auch auf 2 Prozent Mannit- oder Saccharoseagar keinen Farbumschlag hervorzurufen, und bildeten nur auf Maltoseagar leuchtend rot wachsende Kolonien. Diese Eigenschaft haben sie mehrere Jahre lang beibehalten, dann aber später etwas geändert.

Nach mehrjähriger Umzüchtung färben sie nämlich Mannit nach 24 Stunden deutlich rot, lassen aber bereits am nächsten Tage den im Nährboden als Reagens vorhandenen Lackmusfarbstoff doch wieder einen blauen Ton annehmen. Sie haben also offenbar, wenn wir den Anschauungen von Lentz (a. a. O.) folgen dürfen, durch die langjährige künstliche Fortzüchtung ihren parasitären Charakter, der früher in ihrer großen Avidität zum Nährbodeneiweiß zum Ausdruck kam, nur gewandelt und etwas eingebüßt und dokumentieren ihre allmähliche Gewöhnung an das saprophytische Dasein durch eine anfänglich etwas erhöhte Zuckervergärungsfähigkeit und entsprechende Säuerung des Nährmediums. Nach kurzer Zeit aber gewinnt ihr alter parasitärer Charakter die Ober-

hand, und die alkalische Reaktion findet ihren sinnfälligen Ausdruck in dem Umschlagen der Rotfärbung in Blau.

Die Reaktionen auf den entsprechenden flüssigen Nährböden nach Barsiekow ergaben ähnliche Resultate. Die frischen Stämme griffen Mannit- und Saccharoselösung nicht an, nur Maltoselösung war stets stark gesäuert, erst nach jahrelanger Umzüchtung konnte dieselbe Beeinflussung der Mannitlösung festgestellt werden, wie oben bei dem festen Mannitnährboden. Die Prüfung wurde hier auch auf Milchzucker und Traubenzucker ausgedehnt. Während der Milchzucker nach dreitägiger Beobachtung unverändert blieb, wurde der Traubenzucker in der für Ruhr charakteristischen Weise vergoren und rot gefärbt (vgl. Tabelle I).

Tabelle I.

Stamm	Mannitagar bzw. Barsiekow- Mannit	Maltoseagar bzw. Barsiekow- Maltose	Saccharose- agar bzw. Barsiekow- Saccharose	Barsiekow- Milchzucker	Barsiekow Trauben- zucker
3	blau	rot	blau	blau	rot
3 ^{II}					
5					
7 ^{II}					
11	rot	blau	rot		
16					
Shiga					
Flexner					
Y		blau	rot		
Strong					

Beeinflussung von Zuckernährböden. (Beobachtung nach 24 Stunden.)

Das serologische Verhalten der Bazillen nun bot, wie schon erwähnt wurde, recht auffallende Besonderheiten. Mit keinem der üblichen Ruhrseren, Shiga-, Flexner-, Y-Serum, auch nicht mit einem der mit den Kruseschen Rassen A, D, E oder H hergestellten Seren, konnte eine spezifische Zusammenballung erzielt werden.

Ebenso gestaltete sich die Immunisierung von Kaninchen zwecks Gewinnung von agglutinierendem Serum recht schwierig.

Angaben über inagglutinable Ruhrstämmen sind in der älteren Literatur überhaupt nicht vorhanden oder es wird ihnen darin keine Bedeutung beigemessen. Man stand eben auf dem Standpunkt, daß alle ruhrähnlichen Stäbchen, die von keinem der bekannten Seren bis zu einer bestimmten

Höhe verklebt wurden, nicht zur Dysenteriegruppe gezählt werden dürften. Erst in der letzten Zeit mehren sich die Angaben über das Vorkommen solcher ruhrartigen Stäbchen, die zum Teil als Erreger typischer Erkrankungen anzusehen sind. So haben Schmitz (34), Kruse (34), Gehrman (35), Bauch (36) und Lampl (37) über einen neuen Typus berichtet, über dessen Bedeutung die Diskussion noch nicht abgeschlossen ist. In der ausländischen Kriegsliteratur, die uns vorläufig leider zum größten Teil nur in Referaten zugänglich ist, werden mehrere Typen beschrieben, die ebenfalls in dieses Gebiet gehören, so der *Bacillus ambiguus* und der *Bacillus dispar* von Andrewes (zitiert nach Et. Burnet et R. Legroux (38) und andere.

Ihre Eingruppierung wurde von den einzelnen Autoren auf die verschiedenste Weise versucht. So gelang es, einzelne Stämme durch längeres mehrfaches Umzüchten als Shiga-Kruse zu identifizieren, doch erst Hamburger (39) gebührt das Verdienst, die von Porges (40) zuerst angegebene und von L. Nègre (a. a. O.) später wieder empfohlene Verwendung von gekochten Bakterien zu Agglutinationsversuchen auf die Prüfung von Ruhrbakterien übertragen und systematisch ausgearbeitet zu haben.

So haben auch wir bei unseren serologischen Versuchen auf die Kochprobe großes Gewicht gelegt, und zwar ließen wir die Kulturaufschwemmung stets etwa $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbade kochen. Es hatte sich nämlich herausgestellt, daß bei kurzer Erwärmung auf 100° der Titer wesentlich niedriger ausfiel, als nach $\frac{1}{2}$ stündigem Erhitzen, daß aber durch längeren Aufenthalt im kochenden Wasserbade keine nennenswerte Erhöhung mehr erzielt wurde.

Aber auch nach $\frac{1}{2}$ stündigem Aufkochen fielen die Agglutinationen unserer Stämme mit mehreren Shiga-, Flexner- und Y-Seren verschiedener Herkunft negativ aus, dagegen vermochten einzelne uns von Herrn Geheimrat Kruse freundlichst überlassene, gegen gewisse „Pseudodysenterie“-Rassen hergestellte Sera, die gekochten Bakterien bis zu einem gewissen Grade zu beeinflussen.

Von noch größerer Bedeutung wurde die Kochprobe für die Auswertung eines agglutinierenden Kaninchenserums Nr. 437, das durch intravenöse Injektionen steigender Dosen in 5 tägigen Abständen von $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{4}$, 1 Öse und einer ganzen Schrägagarkultur lebender Bazillen gewonnen wurde. Zur Verwendung kam für die ersten Einspritzungen der Stamm 5, später der zu derselben Gruppe gehörende Stamm 3 II.

Tabelle II veranschaulicht die Ergebnisse der Agglutinationsprüfung unserer Stämme gegenüber dem Shiga-, Flexner, Y-, dem Kruse-, A-, D-, E-, H- und dem durch Immunisierung eines Kaninchens hergestellten

homologen Serum Nr. 437. In ungekochtem Zustande werden nur die Kontrollstämme von den entsprechenden Seren mehr oder weniger stark zusammengeballt. Unsere Kulturen aber bleiben völlig unbeeinflusst. Auch das homologe Immunserum Nr. 437 vermag selbst in der Verdünnung 1 : 100 nicht, eine Verklumpung hervorzurufen.

Wurden die Bazillen dagegen nach $\frac{1}{2}$ stündigem Kochen hinzugesetzt (Stamm E gibt, wie auch schon Kruse und seine Mitarbeiter berichtet haben, beim Erhitzen Spontanausfällung und scheidet deshalb hierfür aus), so verschiebt sich das Bild für die Kontrollstämme unwesentlich. Es werden in der Hauptsache nur die unspezifischen Reaktionen ausgeschaltet: Stamm Y mit Shiga-Serum und Rasse H mit Serum D.

Dagegen ist in dem Verhalten unserer Stämme eine bedeutende Umwandlung eingetreten. Allerdings werden sie vom Shiga- oder Flexner-Y-Serum auch jetzt nicht angegriffen, jedoch vom Serum D teils 1 : 100, 1 : 200, teils 1 : 400, vom Serum H sogar in der Verdünnung 1 : 1600 bis 1 : 3200 zusammengeballt. Für das homologe Serum Nr. 437 endlich ist der Titer bis auf 1 : 6400, ja mit Stamm 3 bis auf 1 : 10000 gestiegen, und zwar ist diese Wirkung streng spezifisch, da sämtliche übrigen Stämme auch nicht in der Konzentration 1 : 100 gekocht oder ungekocht irgendwie beeinflußt werden. Aus diesem Verhalten geht hervor, daß sie zwar den Gruppen D und H verwandte Rezeptoren besitzen, aber trotzdem eine völlige Sonderstellung einnehmen.

Interessant war bei der Auswertung des Serums Nr. 437 die Beobachtung der fortschreitenden Immunisierung des betreffenden Kaninchens. Schon 6 Tage nach der zweiten Injektion mit lebenden Bazillen betrug für gekochte Bazillen der Agglutinationstiter 1 : 6400 bis 10000, nach der nächsten Injektion ging er bereits etwas zurück, um nach weiteren Injektionen von sogar einer ganzen lebenden Kultur deutlich weiter abzusinken.

Der recht umständliche Castellanische Versuch zur weiteren Klärung dieser Frage schien uns, abgesehen von seiner Unzuverlässigkeit, auf die in letzter Zeit wieder Sonne, Salus, Aronson und andere hingewiesen haben, schon deshalb von untergeordneter Bedeutung zu sein, da unsere Stämme zwar vom Serum H, umgekehrt aber der Stamm H in keiner Weise vom Serum Nr. 437 angegriffen wurde. Daher wurde er nicht angestellt.

Dagegen erschien eine serologische Abgrenzung unserer Stämme von den von Kruse, Schmitz, Bauch, Gehrman und Lampl beschriebenen Bazillen von größerer Wichtigkeit zu sein. Nach den Angaben von Kruse ist der Stamm J unfähig Agglutinine zu bilden, ein agglu-

Tabelle II.

Zahlen über dem Strich: lebende Bazillen; Zahlen unter dem Strich: gekochte Bazillen.

Serum erzeugt mit Stamm:	Stamm:														
	8	3 ^{II}	5	7 ^{II}	11	16	Shiga	Flexner	Y	A	D	E	H	J	Schmitz
Schmitz J Shiga Flexner/Y, Berlin Kruze 3 ^{II} + 5 NaCl	-/-	-/-	-/-	-/-	-/100	-/-	-/-	-/-	-/100	-/-	-/-	-	-/-	100/400	200/400
	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-/-	-/800	-/800
	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	6400/6400	-/-	400/-	-/-	-/-	-	-/-	-/-	-/-
	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	6400/5000	3200/6400	6400/6400	-/-	-	6400/6400	-/-	-/-
	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	6400/6400	3200/3200	6400/6400	-/800	-	6400/6400	-/-	-/100
	-/100	-/400	-/200	-/-	-/200	-/400	-/-	6400/3200	6400/3200	3200/3200	6400/6400	1000	-	-/100	-/-
	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-/-	-/-	-/-
	-/1600	-/1600	-/1800	-/1600	-/1600	-/3200	-/-	1600/1600	3200/1800	6400/3200	800/-	-	10000/6400	-/100	-/-
	-/10000	-/6400	-/6400	-/6400	-/6400	-/6400	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-/-	-/-	-/-
	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-/-	-/-	-/-
Agglutination nach 2½ Stunden.															

Agglutination nach 24 Stunden.

Tabelle III.

Zahlen über dem Strich: lebende Bazillen; Zahlen unter dem Strich: gekochte Bazillen.

Serum 16 erzeugt mit ge- kocht. Bazillen	Stamm:														
	3	3H	5	7H	11	16	Shiga	Flexner	Y	A	D	E	H	J	Schmitz
1. Entnahme	400/12800	800/12800	1600/15000	400/12800	400/12800	400/15000	-/-	-/-	-/-	400/100	-/100	100 Spontan- Ausfällung	200/100	-/-	-/-
2. Entnahme	400/6400	400/6400	400/6400	400/6400	400/6400	400/6400	-/-	-/-	-/-	200/100	-/100	-	100/100	-/-	-/-
NaCl	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-/-	-/-	-/-

Agglutination nach 24 Stunden.

Agglutination nach 24 Stunden.

tinierendes Schmitz-Serum war leider bis heute auch nicht zu erhalten. So sahen wir uns zur eigenen Darstellung dieser Sera gezwungen. Es wurden je einem Kaninchen im Abstände von 5 Tagen je $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{4}$, 1 Öse und eine Schrägagarkultur lebender Schmitz- bzw. J-Bazillen intravenös injiziert mit dem Erfolg, daß der Titer beim Serum J für lebende Bazillen auch nach der vierten Injektion gleich 0 war, dagegen für den gekochten Schmitz- sowohl wie für den gekochten J-Bazillus 1 : 800 betrug. Das Serum Schmitz agglutinierte den lebenden homologen Stamm bis 1 : 200, den lebenden J-Stamm bis 1 : 100, während es beide Stämme gekocht bis 1 : 400 verklumpte. Die Identität beider Rassen scheint dadurch wahrscheinlich gemacht zu sein.

Auch hier begegneten wir denselben Schwierigkeiten, auf die schon Gehrmanngewiesen hat und die wir bei der Immunisierung gegen unsere Stämme ebenfalls beobachten konnten. Der höchste Agglutinationswert wurde nach kurzer Zeit durch geringe Injektionsdosen erreicht, spätere Nachinjektionen mit größeren Mengen vermochten den Titer nicht mehr zu erhöhen, ihn eher etwas herabzudrücken.

Tabelle II zeigt außer diesen Verhältnissen noch das Fehlen einer nennenswerten Einwirkung des Schmitz- bzw. J-Serums auf unsere Stämme, auf die Shiga-, Flexner-, Y-Bazillen und auf die vier Kruse-Rassen A, D, E und H. Die geringe Beeinflussung in der Konzentration 1 : 100 auf die Stämme 11, Flexner und Y kann wohl vernachlässigt werden, ebenso die schwache Einwirkung der Sera A, D und H auf die Bazillen Schmitz bzw. J. Sie sind bei der Verwandtschaft aller dieser Arten wohl als Gruppenreaktionen aufzufassen. Vor allem geht aus diesen Versuchen hervor, daß die Agglutination der Bazillen Schmitz bzw. J in ungekochtem wie gekochtem Zustande mit dem Serum Nr. 437 völlig negativ ausgefallen ist und daher unsere Gruppe von diesen Bazillen leicht abgegrenzt werden kann.

Nach dem Vorschlage Hamburgers versuchten wir auch die Herstellung eines agglutinierenden Serums mit gekochten Bazillen. Hierzu wurde Stamm 16 verwendet. Einem Kaninchen wurden zunächst $\frac{1}{100}$ Öse 30 Minuten im Wasserbade gekochter Kultur intravenös einverleibt, dann im Abstände von je 5 Tagen $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{4}$, 1 Öse und eine Kultur jedesmal abgekochter Bakterien gegeben. Das Tier vertrug die Injektionen gut, hatte aber nach den ersten Einspritzungen unter ziemlich heftigen Durchfällen zu leiden.

Die Auswertung dieses Serums 16 veranschaulicht Tabelle III. Abgesehen von dem deutlichen Unterschied des Titers der Entnahmen 1 und 2, fällt hier vor allem die Tatsache auf, daß es uns durch die In-

jektion gekochter Bazillen geglückt ist, auch für ungekochte Bakterien einen, wenn auch verhältnismäßig nicht hohen, Agglutinationswert zu erzielen. Allerdings ist dieser für gekochte homologe Bakterien auf über 10000, durchschnittlich 12800, angewachsen, immerhin ist aber diese Steigerung gegenüber den durch Immunisierung mit ungekochten Bazillen erzielten Werten von 6400 bis 10000 nicht so bedeutend, um für das plötzliche Auftreten von Agglutininen gegen ungekochte Bakterien eine genügende Erklärung zu bieten. Während derartige Antikörper früher überhaupt nicht nachweisbar waren, haben wir sie in dem Serum 16 zur Darstellung bringen können und für die ungekochten homologen Stämme Werte zwischen 400 und 800, ja für den einen früher nur in lebendem Zustande zur Immunisierung benutzten Stamm 5 sogar den Titer 1 : 1600 gefunden. Gegen die lebenden Shiga-, Flexner-, Y-, Schmitz-, Kruse-, J- und D-Bazillen ist keine Beeinflussung zu bemerken. Dagegen werden Kruse A bis 1 : 400, Kruse E bis 1 : 100 und Kruse H bis 1 : 200 in lebendem Zustande verklumpt. Für die gekochten Bazillen, wofür hier wieder Rasse E wegen ihrer spontanen Ausfällung in der Hitze nicht in Frage kommt, betragen die entsprechenden Werte nur 1 : 100. Somit ist auch hier der Beweis für eine serologische Verwandtschaft unserer Stämme mit den Dysenteriebazillen, aber für ihre selbständige Stellung im Rahmen dieser Gruppe erbracht.

Versuche zur Darstellung etwa gebildeter Toxine haben wir nicht ausgeführt, zumal ihr Nachweis noch recht schwierig und unsicher ist.

Dagegen wurden, als sich die betreffenden Bazillenbefunde häuften, allerdings aus äußeren Gründen leider erst im abklingenden Stadium der Epidemie, Prüfungen von Patientenseren auf ihren Gehalt an agglutinierenden Substanzen gegenüber unseren Stämmen vorgenommen. Da der Verdacht, daß wir es hier mit Krankheitserregern zu tun hatten, erst auftauchte, nachdem einige Dutzend sich gleich verhaltender Stämme isoliert worden waren, waren die Patienten, von denen die einzelnen Kulturen stammten, bereits entlassen. Leider konnte die Übersendung von Blutproben von ihnen nicht mehr erreicht werden. So waren wir auf Neuerkrankte angewiesen, und zwar haben wir lediglich bei solchen Patienten die Ruhrwidal's angesetzt, deren klinische Diagnose einwandfrei auf Ruhr lautete und deren Stuhluntersuchung einige Male negativ ausgefallen war.

Die eingesandten Sera wurden stets in den Verdünnungen 1 : 100 bis 1 : 3200

1. mit einem Shiga-Kruse-Stamm,
2. mit einer Mischung einer Flexner- und Y-Kultur und

3. mit einer Mischung von zwei unserer neuen Stämme angesetzt. Die Röhren blieben zunächst 2 Stunden im Brutschrank, wurden dann bei Zimmertemperatur verschlossen aufbewahrt und nach etwa 24 Stunden mit der aplanatischen, sechsfachen Lupe von Zeiß abgelesen.

Nun soll nach Ansicht vieler Untersucher [Friedemann (41), Dünner (42), vgl. auch Schiemann (43)] das gleichzeitige Auftreten von Agglutininen gegen Shiga- und gegen Flexner-Y-Bazillen im Patientenserum, insbesondere bei grobflockiger Agglutination, für eine Shiga-Infektion sprechen, während die Flexner-Y-Agglutination selbst bei höheren Werten in der Regel als Mitagglutination anzusehen sei.

Von diesem Gesichtspunkt aus muß auch die Agglutination mit Krankenserum, die Schmitz zum Beweise der Erregernatur der von ihm beschriebenen Bazillen heranzieht, einer Revision unterworfen werden, da seine Patienten zwar einen hohen Agglutinationstiter (bis 1:6000) für seine Stämme hatten, „nebenbei“ aber seinen eigenen Angaben nach alle einen hohen Shiga-Widal aufwiesen. Lampl und Braun und Gaethgens (nach brieflichen Mitteilungen an Schmitz) haben diese Beobachtung bestätigen können.

Auch bei unseren Befunden möchten wir es dahingestellt sein lassen, ob in den Fällen, die mit Shiga-Bazillen und gleichzeitig mit unseren Stämmen positiv reagierten, die letztere Agglutination als Mitagglutination aufzufassen ist.

Leider konnten wir bei mehreren Tausend Widaluntersuchungen nur etwa hundertmal die Prüfung auch auf unsere Stämme ausdehnen und mußten diese aus äußeren Gründen später wieder aufgeben, da dem Laboratorium täglich mehrere Hundert Untersuchungen zuzingen, die jede nicht unbedingt notwendigen Nebenarbeiten schon aus Mangel an Reagenzröhren von vornherein verbieten mußten.

Immerhin reagierten zwei Sera ausschließlich mit unseren Stämmen positiv, zwei weitere zeigen daneben nur mit Flexner-Y eine schwächere Agglutination, andere wiederum erreichen mit unseren Stämmen den gleichen Titer wie mit den Flexner-Y-Bazillen, ohne Shiga-Bazillen zu beeinflussen. Schließlich haben wir noch mit unseren Stämmen in einer Reihe von Fällen Reaktionen bis zur Verdünnung 1:3200 beobachtet, gleichzeitig aber war die Agglutination mit Shiga- bzw. Flexner-Y-Bazillen oder mit beiden Bakteriengruppen positiv. Tabelle IV gibt einen Auszug aus diesen Versuchen wieder, wobei noch zu bemerken ist, daß unsere Stämme, genau wie die Shiga- und Flexner-Y-Bazillen mit Normalserum stets negativ reagiert haben.

Merkwürdig erscheint uns hier die Tatsache, daß unsere Stämme, die in nativem Zustande von keinem mit lebenden Bazillen hergestellten Serum agglutiniert werden, sich von Krankenserum sogar bis zur Verdünnung

Tabelle IV.

Serum Nr.	Shiga-Baz.	Flexner-Y-Baz.	Unsere Stämme
19 429	—	—	200 +
19 437	—	—	200 +
20 274	—	200 +	800 +
21 154	—	200 +	400 +
20 775	—	200 +	200 +
20 781	—	800 +	800 +
20 263	200 +	200 +	1600 +
20 269	200 +	200 +	1600 +
20 273	200 +	800 +	1600 +
20 352	400 +	200 +	3200 +
20 266	400 +	800 +	3200 +
20 043	400 +	1600 +	1600 +

Ruhr-Widal mit Krankenserum nach 24 Stunden.

von 1:800 beeinflussen lassen. Eine Erklärung für diese Beobachtung scheint uns vielleicht in der besonderen Konstitution des menschlichen Körpers zu liegen. In Analogie damit zeigen ja auch bei der künstlichen Infektion die einzelnen Tierarten bezüglich ihrer Reaktionsfähigkeit und der Bildung von Immunstoffen oft untereinander ein recht verschiedenes Verhalten.

Die besondere serologische Stellung unserer Stämme dürfte von großem Interesse sein, auch wenn es sich später herausstellen sollte, daß die beschriebenen Eigenschaften keine völlig konstanten sind und die Stämme sich nach längerer Zeit ändern können, ähnlich wie oben eine Änderung im Wachstum auf Mannitnährböden nach mehrjähriger Fortzucht beschrieben wurde. Ein solches Verhalten ist uns von den Bakterien der Voldagsengruppe bekannt, die serologisch, zum Teil auch chemisch vom Paratyphus B vollständig verschieden sind, so daß sie ebenso wie unsere ruhrähnlichen Stäbchen nur mit Hilfe besonderer Sera diagnostiziert werden können, die sich dabei aber im Laufe langer Fortzuchtungen schließlich sowohl chemisch wie bakteriologisch den Paratyphus B-Bakterien nähern können.

In Analogie hiermit konnten Sobernheim und Seligmann aus Paratyphus- und Gärtnerkulturen und Bernhard (56) aus Typhusbazillen Stämme abspalten, die sich serologisch vollkommen anders verhielten als die Ausgangsstämme. Wir werden daher unsere Stämme weiterhin auf ihr biologisches und serologisches Verhalten beobachten.

Unsere Befunde lassen es wohl geboten erscheinen, unseren Stämmen bei künftigen Ruhrepidemien neben dem Bazillus J von Kruse bzw. dem Bazillus Schmitz Aufmerksamkeit zu schenken. Eine weitere Aufklärung ist wohl zu erwarten, sobald an den gleichen Patienten Züchtungs- und Agglutinationsversuche angestellt und zu diesen gekochte Bazillen herangezogen werden. Das ist bei unseren Versuchen nicht geschehen,

weil uns die Arbeiten von Hamburger und Gehrmannd damals unbekannt waren.

Zum Schluß müssen wir noch kurz auf die Stellung unserer Stämme im System der Ruhrbazillen zurückkommen.

Die von verschiedenen Autoren vorgeschlagene Trennung in Mannitvergärer und Mannitnichtvergärer scheint uns nicht brauchbar zu sein, nachdem in der Literatur zahlreiche Stämme bekannt geworden sind, die zu mehr oder weniger umfangreichen Epidemien Veranlassung gegeben haben, verschiedenen Eigenschaften nach sicherlich nicht zum Typus Shiga-Kruse gehören und doch den Mannitzucker unverändert lassen. Wir erinnern nur an den *Bacillus ambiguus* Andrewes (a. a. O.), den Typus Saigon von Denier und Huet (a. a. O.), Kruse J (a. a. O.), Schmitz (a. a. O.), Salasiew von Gehrmannd (a. a. O.) und vielleicht auch an unsere Stämme.

Eine weitere Untergruppierung der vom Shiga-Kruse-Bazillus deutlich abgrenzbaren Ruhrtypen erscheint uns theoretisch, zum Teil auch praktisch erwünscht. Die Unterscheidung in Flexner, Y und Strong nach der Einwirkung auf die drei Zuckerarten Mannit, Maltose und Saccharose halten wir allerdings nur bei ganz frisch isolierten Stämmen für durchführbar. Dagegen bereitet eine solche Trennung bei älteren Kulturen nach den vorliegenden Versuchen von Torrey (44), Twort (45), Schroeter und Gutjahr (46) und Sonne (a. a. O.) und auch nach unseren Erfahrungen besondere Schwierigkeiten, da sie bei längerer Fortzüchtung ihre zuckervergärenden Eigenschaften zu ändern pflegen.

Die eine Tatsache haben zwar alle und auch wir stets bestätigt gefunden. Echte Shiga-Kruse-Stämme sind weder durch Tierpassagen noch durch Umzüchtungen auf Gelatine oder bestimmten Zuckernährböden zur Zersetzung von Mannit zu bewegen. Allerdings beruht dieses Verhalten, wie die Versuche von Pottévin (47) gezeigt haben, nicht etwa auf dem Fehlen einer Zersetzung dieses Zuckers, sondern auf dem Überwiegen der Alkalibildung infolge Zerstörung des Nährbodeneiweißes. Daher würde ein Mannitvergärer mit Sicherheit vom Shiga-Kruse abgrenzbar sein. Dagegen ist das Wachstum auf Saccharose- und noch mehr auf Maltosenährböden solchen Schwankungen ausgesetzt, daß hier nach eine Gruppierung bei älteren Stämmen zu sehr dem Zufall unterworfen wäre.

Haben doch die Beobachtungen der oben erwähnten Autoren gelehrt, Flexner-Stämme in Y- oder Strong-Bazillen überzuführen. Gelingt es doch ferner, aus einer sicheren Reinkultur von Kruse A-, D- oder H-Bazillen aus einer Kolonie jeder Rasse je eine Flexner- und eine Y-Komponente

herauszuzüchten, und zwar bei Prüfung auf 2 Prozent Maltoseagar, wie ihn Lentz empfiehlt, noch besser als auf 1 Prozent Maltoseagar und ferner diese Y-Komponente, die also zunächst Maltose nicht angreift, wieder in die beiden Spielarten zu zerlegen, Reaktionen, die, wie wir uns ebenfalls überzeugen konnten, sich willkürlich durch Zwischenschaltungen von reinem Agar bzw. Drigalski-Agar ändern lassen. Dazu ist nicht, wie Twort, sowie Schroeter und Gutjahr behaupten, eine künstliche Gewöhnung an einen bestimmten Zucker durch längeres Fortzüchten auf demselben unbedingt erforderlich, sondern in unseren Versuchen genügt bereits ein 24stündiges Wachstum auf dem üblichen Drigalski-Agar.

So sind auch die meisten neueren Untersucher, zu denen außer den oben erwähnten noch Arnheim (48) und Manteufel (a. a. O.) hinzukommen, von der Unhaltbarkeit einer Trennung von Flexner und Y überzeugt und wollen diese für eine gemeinsame Art angesehen wissen. Ähnlich liegen die Verhältnisse bezüglich der Zuckervergärung bei der Strong-Varietät.

Im Gegensatz hierzu scheinen uns die serologischen Eigenschaften der einzelnen Stämme eine bessere Handhabe zu einer brauchbaren Einteilung zu bieten. Dazu reichen aber unsere üblichen Flexner-Y-Sera nicht aus, da, wie auch aus unseren Tabellen hervorgeht, von diesen Seren anerkannte Krankheitserreger, die bereits zu ausgedehnten Epidemien an verschiedenen Orten Veranlassung gegeben haben, wie die Kruse-Rassen D und E, nur wenig oder überhaupt nicht agglutinatorisch beeinflußt werden.

Wenn, wie bisher vielfach, der Standpunkt vertreten wird, daß alle ruhrähnlichen Stäbchen, die nach längerer künstlicher Fortzüchtung mit keinem der bekannten Flexner-, Y- oder Strong-Seren eine nennenswerte Agglutination ergeben, nicht als Ruhrerreger anzusehen sind, so würden zahlreiche wirkliche Krankheitserreger der Diagnose verloren gehen.

Und doch haben die Kruse-Rassen D nach Kruse (a. a. O.) und seinen Mitarbeitern Rittershaus, Kemp und Metz, ferner nach Willmore (49) und anderen und auch die Milch säuernde Rasse E nach Kruse und seinen Mitarbeitern, sowie nach Beobachtungen von Baerthlein (50), Duval und Shorer (51), Gay und Duval (52), Kendall (53), Leiner (54) und Sonne (a. a. O.) schwere und verbreitete Ruhrinfektionen hervorgerufen, die das Bild wirklich ernster Erkrankungen mit nicht selten tödlichem Ausgang darboten. Ja, bei genauerer Durchsicht der älteren Literatur findet man zahlreiche Angaben, die Hinweise auf dieselben oder ähnliche Bazillenbefunde enthalten, aber wegen des Fehlens der Agglutination mit irgendeinem der üblichen Seren unbeachtet geblieben sind. Erst

kürzlich hat auch Dienes (55) auf Grund der serologischen Prüfung von fast 100 Ruhrstämmen auf die Wichtigkeit der Kruse-Hauptrassen A, D und H hingewiesen.

Was nun die Praxis der bakteriologischen Ruhrdiagnose betrifft, so geht unser Vorschlag dahin, zur Identifizierung von Ruhrbazillen ein Shiga-Kruse-Serum und ein von den giftärmeren Stämmen hergestelltes multivalentes Serum zu verwenden. Und zwar würden zur Vorbehandlung der Tiere, wozu nicht Pferde, sondern nur Kaninchen zu benutzen wären, am besten die Kruse-Rassen A, D und H geeignet sein.

Außerdem müßte sich jedes Laboratorium ein Kruse-E-Serum vorrätig halten.

Bezüglich der Bedeutung der Kruse-J-Rasse, der Schmitz-, Salasiew- und auch unserer Stämme scheint uns die Diskussion noch nicht abgeschlossen zu sein. Darüber müssen noch Beobachtungen an anderen Stellen abgewartet werden.

Zusammenfassung.

1. Bei einer Reihe von Ruhrerkrankungen fanden sich in den Darmentleerungen Bazillen der Ruhrgruppe, die serologisch von den bekannten Stämmen abweichen. Sie werden, abgesehen von einer verhältnismäßig geringen Beeinflussung durch ein Kruse-H-Serum nur von ihren homologen Sera und zwar auch von diesen in der Regel nur in gekochtem Zustande agglutiniert; nur Patientensera sowie Sera von Tieren, die mit gekochten Bazillen gewonnen sind, wirken auch auf die lebenden Bazillen ein. Ihre ätiologische Bedeutung läßt sich erst durch weitere Beobachtungen feststellen; für eine solche scheinen positive Agglutinationsbefunde an Krankenseris zu sprechen.

2. Die „Schmitz“-Bazillen sind auf Grund von Agglutinationsversuchen als identisch mit der Rasse J von Kruse anzusehen; auch die ätiologische Bedeutung dieser Bazillen kann erst durch weitere Beobachtungen endgültig geklärt werden.

3. Für die Praxis der bakteriologischen Ruhrdiagnose reichen die vielfach gebräuchlichen Flexner-Y-Sera nicht aus; es sind zweckmäßig multivalente Kaninchensera anzuwenden, die vor allem Agglutinine gegen die Kruseschen Rassen A, D und H enthalten, sowie daneben ein univalentes Serum gegen die Rasse E von Kruse.

Literaturverzeichnis.

1. Lentz, Dysenterie. Kolle-Wassermanns *Handbuch d. pathog. Mikroorganismen*. 1913. Bd. III.
2. Kruse, Rittershaus, Kemp und Metz, *Diese Zeitschrift*. 1907. Bd. LVII. S. 417.
3. Shiga, *Ebenda*. 1908. Bd. LX. H. 1. S. 75.
4. Hehwerth, *Centr. f. Bakt. Abt. I. Orig.-Bd. LXXVIII. H. 1. S. 1.*
5. Korthof, *Ebenda. Abt. I. Orig.-Bd. LXXXIII. H. 6. S. 409.*
6. Pribram, *Ebenda. Abt. I. Orig.-Bd. LXXX. S. 33; Bd. LXXXI. S. 37.*
7. Kolle, Heller und de Mestral, *Arbeiten aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern*. 1901. H. 1. S. 1.
8. Ohno, Philippine, *Journ. of sc.* 1906. Vol. I. No. 9. p. 951.
9. Dopter, *Bull. de l'Inst. Pasteur*. 1906. Année IV. No. 1 u. 2. S. 1 u. 49.
10. Ascoli, *La Presse médicale*. 1918. No. 39.
11. Seligmann, *Centr. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. LXXIX. H. 2. S. 71.*
12. Deycke und Reschad, Für die Türkei von Dr. R. Rieder. Jena 1904. G. Fischer.
- 13a. Celli und s. Mitarbeiter, *Internationale Beiträge zur inneren Medizin zum 70. Geb. von E. v. Leyden*. Berlin 1902. Bd. I.
- 13b. Valagussa, *Ann. d'igiene speriment.* 1900. Bd. X. Nr. 4.
14. Ebeling, *Diese Zeitschrift*. 1913. Bd. LXXIV. S. 447.
15. Mayer, O., *Centr. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 1912. Bd. LXVI. H. 5 u. 6. S. 328.
16. Hutt, *Diese Zeitschrift*. 1913. Bd. LXXIV. S. 108.
17. Kemp, *Ebenda*. 1907. Bd. LVII. H. 3. S. 489.
18. Nègre, L., *Ann. de l'Inst. Pasteur*. 1917. T. XXXI. S. 172: — *Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. LXXIX. p. 44.*
19. Nègre, L., Ed. Sergent et Folley, *Bull. Soc. Path. exot.* T. IX. p. 204.
20. Manteufel, *Diese Zeitschrift*. 1915. Bd. LXXIX. H. 2. S. 319.
21. Salus, G., *Wiener klin. Wochenschr.* 1915. S. 1101.
22. Sonne, *Centr. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 1915. Bd. LXXV. S. 408; Bd. LXXVI. S. 65.
23. Morgan, *Journ. of Hyg.* Vol. XI. p. 1.
24. Falta, E. u. H. Kohn, *Wiener klin. Wochenschr.* 1915. S. 583.
25. Braun, H. und W. Liess, *Diese Zeitschrift*. 1919. Bd. LXXXVIII. S. 251.
26. Trembur, *Archiv f. Schiffs- u. Tropenhyg.* 1908.
27. Martini, *Diese Zeitschrift*. 1911. Bd. LXIX. S. 376.
28. Bauch, *Centr. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 1918. Bd. LXXXIV. S. 228.
29. Denier, *Bull. Soc. de Path. exot.* 1915. T. VIII. p. 720.
30. Denier et Huet, *Ebenda*. 1913. T. VI. p. 413.
31. Aronson, *Münchener med. Wochenschr.* 1915. S. 954.
32. Park und Carey, *Journ. of med. Research*. 1903. Vol. IX. No. 2. p. 180.
33. Schmitz, *Diese Zeitschrift*. 1917. Bd. LXXXIV. S. 449.

34. Kruse, *Münchener med. Wochenschr.* 1917. Nr. 40. S. 1309.
 35. Gehrman, *Inaug.-Dissert.* Halle 1918. Hohmann.
 36. Hamburger und Bauch, *Berliner klin. Wochenschr.* 1917. Nr. 32. S. 770.
 37. Lampl, *Wiener klin. Wochenschr.* 1918. Nr. 30. S. 835.
 38. Burnet, Et., et R. Legroux, *Bull. de l'Inst. Pasteur.* 1919. T. XVII.
 - No: 14. p. 449.
 39. Hamburger, *Zeitschr. f. klin. Med.* Bd. LXXXVI. H. 3 u. 4.
 40. Porges, *Wiener klin. Wochenschr.* 1905. S. 691.
 41. U. Friedemann und Steinbock, *Deutsche med. Wochenschr.* 1916.
 - S. 215.
 42. Dünner, *Berliner klin. Wochenschr.* 1915. S. 1184.
 43. Schiemann, *Diese Zeitschrift.* 1916. Bd. LXXXII. S. 405.
 44. Torrey, *Journ. of experim. Med.* 1905. Vol. VII. p. 365.
 45. Twort, *Centr. f. Bakt. Ref.* 1907. Bd. XL. S. 508.
 46. Schroeter und Gutjahr, *Ebenda.* Abt. I. Orig. Bd. LVIII. S. 577.
 47. Pottévin, *Bull. de la Soc. Pathol. exot.* 1913. p. 20.
 48. Arnheim, *Berliner klin. Wochenschr.* 1915. S. 915.
 49. Willmore und Savage, *The Brit. med. Journ.* 1913. p. 1283.
 50. Baerthlein, *Berliner klin. Wochenschr.* 1912. Nr. 16. S. 735.
 51. Duval und Shorer, *Studies from the Rockefeller Inst.* 1904. Vol. II.
 - p. 42.
 52. Gay und Duval, *Penns. med. Bull.* 1903. Vol. XVI. p. 117.
 53. Kendall, *Boston med. and surg. journ.* 1910, 8. Sept. und 1911, 23. Febr.
 - and 2. März.
 54. Leiner, *Centr. f. Bakt.* Abt. I. Orig. Bd. XLIII. H. 8. S. 783.
 55. Dienes, *Zeitschr. f. Immun.-Forsch.* 1919. Bd. XXVIII. H. 6. S. 456.
 56. Bernhardt, *Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.-Krankh.* Bd. LXXIX. S. 179.
-