**Aus der dermatologischen Klinik des Prof.
Campana in Genua.**

Ueber Trichophytonculturen.

Von

Dr. Giuseppe Mazza in Genua.

(Hiezu Tafel XI.)

I.

Ehe ich über meine Culturversuche berichte, welche ich im Laboratorium der Klinik des Herrn Prof. Campana von October 1889 bis Juni 1890 anstellte, möchte ich Einiges aus den während des letzten Jahrzehnts erschienenen Arbeiten über Culturversuche des Trichophyton hervorheben.

Grawitz züchtete Trichophyton in Pflaumengelatine, in Johannisbeerengelatine, in Fleischextract mit oder ohne Gelatine. Es sind die Schlüsse bekannt, welche er in seiner ersten Arbeit über Trichophyton im Jahre 1877¹⁾ aufgestellt hatte. Derselbe Autor wiederholte neun Jahre später²⁾ seine Culturversuche mit dem neuen bakteriologischen Verfahren und erzielte dieselben Resultate wie mit der früher angewandten Methode. Er schreibt dem Parasiten die folgenden biologischen Eigenschaften zu. In Gelatine cultivirt, verflüssigt er das Nährsubstrat bald; die Oberfläche der Colonien ist dicht und weiss, die Unterfläche gelb. Wenn die Colonie die Grösse eines Stecknadelkopfes erreicht hat, verdickt sich nach und nach der centrale Theil, während das Mycel in die Gelatine eindringt.

Mikroskopisch besteht der centrale weisse Theil aus septirten Hyphen, deren Seitenäste grösstentheils eine elyptische

Gonidie enthalten. Nach einer Woche und später nimmt der centrale Theil eine goldgelbe Farbe an.

In Agar-Agar verlangt die Cultur eine etwas geringere Temperatur als Achorion. Das Wachsthum ist ein langsames. Die nach 8 bis 12 Tagen sich bildende Verdickung wird goldgelb im Innern, während die Peripherie weisslich wie mit Mehl bestäubt aussieht. Die septirten leeren Hyphen haben Seitenverästelungen; im centralen Theile der Cultur beobachtet man, gerade so wie bei den Gelatineculturen, Seitenhyphen, in deren Innern sehr kleine ovale oder viereckige oder an den Enden zugespitzte Gonidien sich befinden.

Grawitz cultivirte ferner den Trichophytonpilz auf Blutserum. Da wir dieses Nährsubstrat nicht benützt haben, so wollen wir vorderhand auf die diesbezüglichen Angaben des Autors nicht näher eingehen.

Verujski⁴⁾ bediente sich der Duclaux'schen³⁾ Methode zur Reinzüchtung des Herpespilzes und bestätigte die von letzterem erhaltenen Resultate. Er überzeugte sich aus den Culturen des Parasiten in Kalbsbrühe, in Milch, in Ascitesflüssigkeit, in Fleischextractbrühe, in Rübensode, in Traubenmost und anderen Nährmedien von der Constanz seiner Wuchsformen. Die jungen Culturen besitzen ein wenig verästeltes Luftmycel; in der Tiefe der Culturflüssigkeit bilden sich Gonidien und der untertauchte Theil zeigt sich gelbgefärbt. Die Entwicklung der Sporen im Luftmycel beginnt bereits bei einer Temperatur von 26° Celsius im Verlaufe der zweiten Woche nach der Aussaat. Agar und Gelatine sind nach Verujski ebenfalls günstige Nährböden für Trichophyton, aber die Entwicklung ist weniger üppig als in den flüssigen Nährmedien. Die Gelatine wird verflüssigt und färbt sich intensiv gelb; das Luftmycel ist weiss und die Colonien entwickeln sich bei gewöhnlicher Temperatur (15°).

George Thin⁵⁾ cultivirt Trichophyton, abweichend von den oben genannten Autoren, in Humor aqueus und Glaskörperflüssigkeit, aber ausserdem auch in Fleischbrühegelatine. Seine Versuche zeigen, dass der Parasit bei einer Temperatur von 96° bis 98° Fahr. wächst; die Entwicklung der Colonien findet in ca. 48 Stunden nach der Aussaat statt in Form eines kurzen, weissen Mycels. Das Wachsthum schreitet nicht weit

vor wegen Mangels an Nährflüssigkeit (in den dem sogenannten hängenden Tropfen ähnlichen Culturen) und wegen der raschen Zersetzung durch Bakterien, welche mit dem Haare in die Cultur gebracht wurden. Im Humor vitreus entwickelt sich der Pilz schon nach 48 Stunden; er wächst an der Oberfläche des Haares, stellt aber sein Wachsthum nach einiger Zeit ein. Eine wirkliche Septirung tritt selten in diesem Mycelein. Die supponirten Sporen sind nichts Anderes als Fragmente des Mycels. In Fleischbrühegelatine bei Zimmertemperatur sieht man die Entwicklung des kurzen weissen Mycels schon nach zwei Tagen auftreten. Nach fünf bis sechs Tagen ist das Mycel schon derart gewachsen, dass es ein bürstenähnliches Aussehen besitzt.

Campana⁶⁾ legte aus Trichophyton-Materiale aus einem Tumor Culturen an in Pflaumengelatine, in peptonisirter Fleisch-extractbrühe, auf Agar, auf gezuckerter Glyceringelatine, und konnte im Beginne, trotz der sorgfältigsten antiseptischen Maasregeln, keine günstigen Resultate erzielen. Später erhielt er zwei Culturen, eine in Zuckerwasser, die andere in Pflaumengelatine mit sehr feinem weissem Mycel, das unter dem Mikroskop sich aus sehr feinen, zartconturirten septirten Fäden zusammengesetzt erwies. Die Fäden hatten einen granulirten Inhalt, manche mit endständiger Anschwellung, bei manchen mit doppeltem Contour, andere eine vollkommene isolirte Spore enthaltend.

Quincke⁷⁾ fand, dass Trichophyton bei Zimmertemperatur auf Gelatine leicht wächst. Auf der Oberfläche der Colonie entwickelt sich ein weisses, sehr feines Luftmycel; die Unterfläche nimmt eine gelbe Färbung an, wenn das Culturmateriale auszutrocknen beginnt. Mikroskopisch sind die Hyphen des Trichophytonpilzes im Durchmesser und in der Verästelung ähnlich dem Pilze a des A. nur dass die freien Enden der Fäden nicht verjüngt endigen, sondern einfach abgerundet sind. Conidienbildung durch Hyphentheilung findet selten statt; in alten Culturen begegnet man Degenerationsformen in Gestalt kugelförmiger Auftreibungen.

Král⁸⁾ cultivirte Trichophyton in 10% Nährgelatine bei Zimmertemperatur, auf Nähragar bei Körpertemperatur, auf

Milchreis und auf anderen Nährböden, welche wir hier nicht anführen wollen, weil wir sie nicht benützt haben. In Nährgelatine entwickelt sich nach Král der Herpespilz als schneeweisse Colonie, die nach und nach an Grösse zunimmt und die Verflüssigung der Gelatine bewirkt. Auch auf Agar erscheint ein weisser Rasen von mehlbestäubtem Aussehen; die Colonie dringt tief in den Nährboden ein, die Unterfläche des Rasens wird nicht verfärbt, ebensowenig der Agar. Hingegen zeigt die Unterfläche der Rasen in den sogenannten Agardauerplatten eine strohgelbe Verfärbung. Auf Reisscheiben bilden sich schneeweisse Rasen von 3 bis 4 mm. Durchmesser mit schneeweissem Luftmycel ohne Verfärbung des Nährbodens.

Leslie Roberts⁹⁾ knüpfte seine Untersuchungen über Trichophyton an jene von Duclaux und Verujski an. Er hält Malzinfus und peptonisirte Kalbsbrühe für die günstigsten Nährböden für die Entwicklung des Pilzes. Er nahm die Sporen von der Kopfhaut eines Kranken nach vorausgegangener Desinfection derselben und säete sie unmittelbar in mit den erwähnten Flüssigkeiten gefüllte Pasteur'sche Kölbchen aus. Die Entwicklung des Pilzes kommt bei 30° Celsius nach 24 Stunden nach der Aussaat als sich nach allen Seiten erstreckende ungefärbte Hyphen aus den die Sporen enthaltenden Haarbulbi zur Wahrnehmung. Später erhebt sich die Colonie an die Oberfläche und jener Theil, welcher über selbe hinausragt, nimmt ein schneeweisses bestäubtes Aussehen an. Der centrale Theil der älteren Colonien färbt sich braun und besteht mikroskopisch aus regelmässigen, radiär und fächerartig angeordneten Hyphen, die mit granulirtem Protoplasma angefüllt und an manchen Stellen ampullenartig erweitert sind. Das Wachsthum der Hyphen ist monopodial; von den Haupthyphen können Seitenhyphen im rechten Winkel ausgesendet werden. Mit dem Dickerwerden der Hyphen tritt gleichzeitig ihre Segmentirung auf, so dass sie das Aussehen einer Perlenschnur annehmen. Die Sporen wachsen symmetrisch an der Hyphenmembran derart, dass ihr spitzes Ende gegen die Hyphenwand gerichtet ist. Die Impfungen mit den Culturen gaben positive Resultate. Unna¹⁰⁾ fand ebenfalls bei seinen Culturversuchen, dass Trichophyton die Gelatine verflüssigt. Die Unterfläche der Co-

lonie färbt sich strohgelb bis goldgelb, während die Oberfläche derselben wie mit einem weissen Pulver bestreut aussieht. Die Hyphen verlaufen im Allgemeinen dicht nebeneinander und bilden dichotomisch verzweigte strahlenförmige Figuren. Sie sind regelmässig septirt, $2-3\ \mu$ breit und jedes Septum $15-20\ \mu$ lang. Der Pilz fructificirt auch im Agar und dies geschieht von den Hyphen aus in gerader Linie; die Früchte treten in dichten Gruppen auf, was dem Ganzen ein kranzförmiges Aussehen verleiht. Manchmal schwellen die Fruchthyphen derart an, dass sie einer Erbsenschote ähneln. Die Sporen in alten Culturen sind oval, kurz, glänzend, von $3-4\ \mu$ Durchmesser. Solche Sporen, ausser ihrem terminalen oder lateralem Vorkommen, kommen auch in den geschwellten Fruchthyphen zur Beobachtung.

II.

Wir haben unsere Culturversuche sowohl auf festen Nährböden (Agar-Agar, peptonisirter Kochsalzfleischextractbrühe, Milcreisscheiben, Gelatine), als auch in flüssigen Nährböden vorgenommen. Die Nährböden wurden in vorher sterilisirten Reagensgläschen, Plattendosen und Doppelschälchen eingefüllt, gründlich sterilisirt und mit voller Berücksichtigung der Antisepsis benützt. Die Kopfhautstellen, von welchen die von der Pilzinvasion betroffenen Haare entnommen werden sollten, wurden vorerst sorgfältig mit Wasser und alkalinisirtem Seifenspiritus gewaschen, dann mit einer 1% Sublimatlösung und schliesslich mit absolutem Alkohol und Aether behandelt. Nachdem die Hautpartien desinficirt waren, wurden die Haare mittelst einer sterilisirten gebogenen Scheere dicht über den obersten Epidermisschichten abgeschnitten und direct in das Nährsubstrat übertragen.

Ausser diesen primären Culturen haben wir auch weitere Uebertragungen von den direct aus den Haaren erhaltenen Culturen oder von den aus Impfungen erhaltenen Vegetationen gemacht, um so 2, 3, 4 successive Culturen oder Impfungen zu haben.

Die festen und flüssigen Nährböden wurden im Brütöfen bei $35-37^{\circ}$ Celsius gehalten und die Gelatinculturen bei Zimmertemperatur $16-17^{\circ}$ Celsius belassen.

Die Beobachtungen wurden zu einer bestimmten Nachmittagsstunde angestellt und in der Weise notirt, wie es für eine gewisse Anzahl Tage in den hier beigefügten Tabellen angeführt ist.

Die Untersuchung der Culturen geschah durch makroskopische Beobachtung oder mit der Loupe, oder indem die ganze Cultur direct unter das Mikroskop gebracht wurde, wobei uns die Plattendosen von Král sehr gute Dienste leisteten.

Eingehendere Beobachtungsergebnisse würden wir bei den Präparaten in hängenden Tropfen oder bei Benützung von viereckigen, sehr dünnwandigen Glasschälchen erhalten haben, in welche wir das Culturmateriel einbrachten. Doch gelangen sie uns, wie wir später sehen werden, nur theilweise. Um dem Einwande zu begegnen, dass die Entwicklung des Hyphomyceten durch accidentelle pathogene oder nichtpathogene Sporen, welche in den normalen Haaren und der Epidermis vorkommen, gehindert werden könnte, haben wir Controlversuche mit Haaren von gesunden Individuen angestellt.

Die Resultate aus diesen Culturen, verglichen mit jenen aus den von Anderen erhaltenen Culturen, liefern uns die folgenden Bilder.

a) Gelatineculturen. Die Anzahl der Gelatineculturen war ziemlich beträchtlich. Die Entwicklung der Colonie erscheint dem unbewaffneten Auge am dritten Tage nach der Aussaat bei einer Zimmertemperatur zwischen 16 und 20°.

Im Allgemeinen bemerkt man das Erscheinen von sehr feinen und sehr kurzen Hyphen, welche das ausgesäete Haarfragment strahlenförmig umgeben. Die Hyphen sind schneeweiss, sehr zart und bedecken dicht das Haarfragment. Das Wachsthum der Colonie ist im Beginne sehr langsam und die Colonie selbst verflüssigt die Gelatine gegen das Ende der ersten Woche nach der Impfung. Mit der Verflüssigung tritt keine specielle Verfärbung der Gelatine ein, wie ebenso die ganze Colonie von einer besonderen Verfärbung frei bleibt. Vielleicht ist es erst beim Erlöschen der Lebensfähigkeit der Cultur, dass sie eine dunkelbraune Farbe annimmt.

In den Plattendosen stellen sich die Colonien in Form eines seesternartigen Rasens mit sehr feinen, weissen, dichten,

durchscheinenden Strahlen dar, welche unmittelbar aus den verimpften Haarfragmenten nach allen Seiten hin austreten. Die Hyphen theilen sich dichotomisch, in nahezu spitzigem Winkel; irgendeine Septirung konnte nicht beobachtet werden. Viele Hyphen sind an ihrem freien Ende angeschwollen, (Siehe Fig. 1.)

Der centrale Theil stellt sich im ungefärbten Zustande auf dem Objectträger (Mikrosk. Nacet; Oc. 3, Obj. 8) folgendermassen dar: Angehäufte Sporenmassen ohne specielle Färbung, welche durchsichtig und rundlich sind und die vierfache Grösse der gewöhnlichen Sporen besitzen.

Wird ein wenig des Materiales derselben Herkunft mit Gentianaviolett nach der bekannten Methode behandelt, so sieht man kugelförmige Sporen mit granulirtem Inhalt und scharfem, manchmal mit doppeltem Contur.

Der periphere Theil derselben Cultur lässt im ungefärbten Zustande zarte, durchscheinende Hyphen sehen, von welchen wenige spitz zulaufen und der grössere Theil abgerundete Enden besitzt.

Im gefärbten Zustande zeigen sich die Hyphen aus dem peripheren Culturtheile mit Protoplasma angefüllt, dass nicht gleichmässig, sondern in Häufchen derart vertheilt ist, das es scheint, als wenn die Hyphen septirt wären; die birnenförmig angeschwollenen Enden enthalten intensiv gefärbtes Protoplasma.

b) Culturen in Agar, Liebig's Fleischextractbrühe, Kochsalz. Die Anzahl der Culturen auf diesen Nährsubstraten war eine reichliche. Die Entwicklung der Colonien fand constant bei der Temperatur von 35—37° statt, und sie wurden schon am vierten Tag nach der Aussaat sichtbar. Die Haarfragmente nehmen eine weissliche Farbe an, dann verschwinden sie in einer dichten Umhüllung von weissen Hyphen; die Colonie nimmt eine rundliche Gestalt an, sie wächst langsamer als jene in Gelatine. Der untertauchte Theil alter Culturen nimmt eine weiss-gelbliche Farbe ohne Glanz an; die Hyphen erscheinen sehr fein, dicht, strahlenförmig ausgehend und verästelt. Die runde Colonie hat 2 bis 3 Cm. Durchmesser. Der centrale Theil ist in Form eines Conus beträchtlich über die Fläche erhoben; der übrige Theil ist eben und lässt 3 concentrische Ringe

erkennen. Bei der mikroskopischen Untersuchung konnte eine Septirung der Hyphen nicht wahrgenommen werden. Die Vitalität der Colonie scheint nach drei bis vier Monaten zu erlöschen.

Die Colonie dringt tief in den Nährboden ein und das Cohäsionsvermögen ist ein derartiges, dass sich von dem Rasen nur schwierig einzelne Theilchen mit der Nadel aufnehmen lassen, noch schwieriger, wenn der Agar etwas eingetrocknet ist. Wir erhielten beispielsweise Colonien, welche 1—2 Cm. tief in den Agar eingedrungen waren.

Die mikroskopische Untersuchung des centralen Theiles der Culturen, sowohl im ungefärbten als im gefärbten Präparate (Nacht, Oc. 3, Obj. 8.) liess Sporen sehen, die kleiner als jene in den Präparaten aus Gelatine waren, mit granulirtem Protoplasma, einige rundlich, andere oval, viele mit doppeltem Contur (was nur im gefärbten Präparate gesehen werden konnte). Der periphere Theil der Culturen besteht aus dichotomisch getheilten Hyphen, der grössere Theil in eine Spitze endigend, mit weniger gut färbbarem Protoplasma als in den Präparaten aus Gelatine-culturen und daher mit weniger deutlichen Zwischenräumen, welche Hyphensepta andeuteten.

c) Bouillonculturen. Selbe wurden von den Gelatineculturen aus angelegt und die Culturen entwickelten sich folgendermassen: 24 Stunden nach der Aussaat bildet die Impfspur ein aus schneeweissen Hyphen bestehendes, an der Oberfläche schwimmendes Kügelchen, das das Aussehen eines Watteflöckchens besitzt (siehe Fig. 2.) Die Colonie wächst sehr rasch und erreicht in kurzer Zeit die vierfache Dimension ihrer früheren Grösse; das Wachsthum schreitet weiter vor, bis die Colonie auf den Boden des Reagensröhrchens herabsinkt und jedes weitere Wachsthum nach 6—7 Tagen nach der Aussaat aus Mangel an Nährstoffen sistirt.

Die mikroskopische Untersuchung dieser Culturen, welche nach dem von Prof. Campana empfohlenen Vorgange ausgeführt wurden, hat alles das vollständig bestätigt, was Campana selbst in seiner von uns erwähnten Arbeit beobachtet hatte.

d) Culturen in viereckigen Schälchen nach derselben Methode wie jene im hängenden Tropfen. Sowohl die Colonien in Gelatine, als auch jene in Agar entwickeln sich ziemlich gut

in rundlicher Form und von schneeweissem Aussehen. Die Hyphen werden schon nach 48 Stunden sichtbar als zarte Ausläufer, welche aus den verimpften Haarpartikelchen entspringen. Am dritten Tage beginnen sie sich zu verästeln, aber leider hört das Wachstum der Colonien sehr bald auf, so dass es wegen der Erschöpfung des Nährbodens nicht möglich ist, das weitere Fortschreiten mikroskopisch zu beobachten.

e) Culturen aus normalen Haaren. Die Haare, welche zu diesen Culturen verwendet wurden, entnahmen wir einem jungen Diener der dermatologischen Klinik, der frei von irgendwelcher Haarerkrankung befunden wurde. Die Culturen wurden angelegt in Gelatine, in Kochsalzfleischextractbrühecagar und in Bouillon. Dem Entnehmen der Haare ging keine Desinfection voran; die Culturen wurden während eines Monats beobachtet und folgende Resultate erhalten.

5 Bouillonculturen blieben jederzeit steril.

Von 5 Gelatineculturen blieben 4 steril, in einer entwickelten sich Spaltpilze (*Staphylococcus pyogenes albus et albus cereus*).

In 4 von 5 Agarculturen entwickelten sich weder Schimmelpilze noch Schizomyceten; in einer erhielten wir den *Mikrococcus aureus*.

Die Schizomyceten konnten durch Uebertragung und Controlculturen als solche diagnosticirt werden.

III.

Wir übertrugen die aus den Haaren erhaltenen Culturen auf die menschliche Haut, um unseren Untersuchungen eine grössere Beweiskraft zu geben und um zu sehen, ob sich der Pilz für selbe pathogen verhält. Wir wählten zu diesem Versuche zwei Individuen, die frei von jeder Hauteruption waren, an welchen die Impfungen am Arme vorgenommen wurden. Der Arm wurde zuerst mit alkalischem Seifenspiritus und Wasser gewaschen, dann mit 2‰ Sublimatlösung behandelt und diese mit Alkohol aufgenommen, und hierauf mit Sublimatgaze getrocknet. Das Impfmaterial wurde mit allen Cautelen auf die

keimfreie Hautstelle gebracht und mittelst einer dünnen, vorher in der Flamme sterilisirten Messerklinge derart auf selber ungefähr 10 Minuten lang verrieben, dass die Haut gleichzeitig von ihrer oberflächlichsten Hornschichte entblösst wurde. Der so geimpfte Arm wurde mit einem Schutzverband gedeckt, welcher erst einige Tage später entfernt wurde. Wir wiederholten diese Impfungen, welche wir mit den Gelatineculturen gemacht hatten in identischer Weise auch mit den auf Agar, in Bouillon etc. erzielten Culturen. Die Ergebnisse aller dieser Impfversuche waren, wie folgt:

Aus den Impfungen, die mit den Gelatine-, Agar- etc. Culturen gemacht wurden, entwickelte sich keine Hauteruption, welche den gewöhnlich vom Trichophyton erzeugten ähnlich gewesen wäre. In der ersten Woche entstand an den Impfstellen ein entzündlicher Process vom Aussehen des sogenannten *Eczema marginatum*, dann hörte jedes Anzeichen von Entzündung auf und die producirten Schüppchen wurden bei der Untersuchung vollkommen frei von parasitären Elementen gefunden.

Hingegen war das Impfresultat mit den Bouillonculturen, die von Gelatineculturen aus angelegt worden waren, ein positives, welches sich folgendermassen charakterisirte. Während der ersten zwei Wochen trat, mit Ausnahme einer kleinen leichten Röthung der betreffenden Stelle, keine irgendwie bemerkenswerthe reactive Erscheinung auf. In der dritten Woche dagegen entstand an der Impfstelle eine runde ungefähr 20 mm. in Durchmesser haltende Eruption, deren geröthete und sich über das Niveau der sie umgebenden Hautpartie erhebenden Ränder mit dem weniger lebhaft gefärbten centralen Theile derselben contrastirten. Die Eruption breitete sich nach und nach aus, bis sie den Durchmesser von ca. 24 mm. erreichte, dann blieb sie stationär, während eine Desquamation des centralen Theiles auftrat. Die weisslichen dünnen Schuppen, mikroskopisch untersucht, zeigten zahlreiche, rundliche, im Epithel verstreute Conidien. Die Eruption persistirte in situ während zweier Monate, verursachte dem Individuum keine weiteren Beschwerden und verschwand rasch nach der eingeleiteten Therapie. Ehe wir weiter fortfahren, müssen wir bemerken, dass jede Impfung erst dann gemacht wurde, wenn wir uns überzeugt

hatten, dass die Wirkung der vorausgegangenen vollkommen verschwunden war.

IV.

Obzwar die angeführten Beobachtungen viele Thatsachen bieten, die bereits von anderen Autoren dargestellt worden sind, ist es immerhin von einigem Interesse darauf hinzuweisen; erstens, dass der Trichophytonpilz ohne Anwendung des Plattenverfahrens gezüchtet wurde, zweitens dass es möglich war, das Wachstum der Colonie mikroskopisch zu beobachten, ohne das letztere hätte zerstört werden müssen.

Dass die Plattenculturen ein ausgezeichnetes Mittel für bakteriologische Untersuchungen sind, steht ausser Frage, aber es bleibt auch unbestritten, dass das Plattenverfahren eine lange und fleissige Uebung erfordert, um eine genaue Wahl zwischen den vielen Mikroorganismen treffen zu können, welche mit demselben erhalten werden. Mit unserer Methode ist das Verfahren, Reinculturen des Trichophyton zu gewinnen, viel einfacher und unterliegt den folgenden Bedingungen:

1. Muss man typische Fälle von Trichophytiasis der Form tonsurans areata zur Verfügung haben; 2. muss man jene Haare genau zu diagnosticiren vermögen, welche sich zur Aussaat eignen (bezüglich dieser Frage verweisen wir auf früher Gesagtes in unserer Arbeit: „Di una forma rara di Tricophytiasis; — Giornale delle malattie della pelle e veneree, 1889); 3. muss man eine gewissenhafte Desinfection jenes Theiles vornehmen, von welchem das Impfmateriel entnommen wird.

Nach diesem Vorgehen gelang es uns immer, identische Züchtungsergebnisse zu erzielen. Nichtsdestoweniger geschieht es nicht selten, dass sich neben dem pathogenen Pilze auch andere Mikroorganismen entwickeln, unter welchen besonders die normalen Haut- und Haarschimmelpilze häufig vorkommen.

Wie können wir nun das eben Angeführte mit dem früher Gesagten in Einklang bringen? Obwohl das Vorhandensein von nicht pathogenen und von accidentellen pathogenen Hyphomyceten auf der Haut sichergestellt ist, wie es aus den schönen Arbeiten von Bizzozero und Anderen hervorgeht, so konnten wir doch

feststellen, dass bei unseren Kranken der Krankheitsprocess durch nichts anderes als den Trichophytonpilz hervorgebracht wurde, und es ist daher unbegründet, wenn man eine gleichzeitige Wirkung dieses Parasiten mit anderen Mikroorganismen derselben Classe annimmt, wenn man erwägt, dass der Parasit in dem von ihm occupirten Haare in einer solchen Ueberzahl gegenüber den wenigen Sporen anderer Pilze vorhanden ist, dass ein Ueberwuchern der letzteren nicht gut zustande kommen kann.

Jedenfalls scheint uns das Resultat bemerkenswerth, das wir aus den von normalen Haaren angelegten Culturen erhalten haben. Bei der Anlegung dieser Culturen haben wir absichtlich ungünstige Bedingungen herbeigeführt. Wie wir bereits sagten, war das betreffende Individuum, von dem die normalen Haare stammten, ein Krankenhausdiener, eine Beschäftigung, die gewiss nicht eine besondere Hygiene des Kopfhaares voraussetzt, und trotzdem gelang es uns nicht, irgendwelche Schimmelpilze aus dessen Haaren zu züchten und die gefundenen Spaltpilze waren wir im Stande zu diagnosticiren.

Wenn wir die Einheitlichkeit der von uns erhaltenen Resultate und des Controlversuches berücksichtigen, so scheinen sie unseren Schluss zu rechtfertigen, dass wir in der That den Trichophytonpilz und keinen anderen Hyphomyceten gezüchtet haben.

Die Plattendosen haben uns bei der mikroskopischen Beobachtung der Entwicklung der Culturen sehr gute Dienste geleistet, insbesondere auch dadurch, dass die graduelle Entwicklung des Pilzes bequem verfolgt werden kann. Die Deckglasculturen würden uns vielleicht noch grössere Vortheile gewährt haben, wenn nicht der Uebelstand dabei wäre, welchen schon ~~Thin~~ bedauerte, nämlich die rasche Erschöpfung des Nährmaterials.

Uebrigens weicht das von uns eingeschlagene Verfahren nicht von jenen Methoden ab, welcher sich die Mehrzahl der angeführten Autoren bedient hatte, und welche, so wie wir, directe Culturen des Schimmelpilzes angelegt hatten. Derart verfuhr Grawitz sowohl bei seiner ersten, als auch bei seiner zweiten

Arbeit (siehe letztere p. 404) und ebenso Leslie Roberts. Dieser sagt bezüglich der Methodik, dass er die Haarstümpfe direct in mit Malzinfus gefüllte Pasteur'sche Kölbchen brachte. Und so gingen auch Thin, Campana und, wenn wir nicht irren, Quincke vor.

V.

Wenn wir die von uns erhaltenen Resultate mit jenen der uns vorangegangenen Autoren vergleichen, so finden wir, dass auch uns die Cultur des Trichophyton in Gelatine, Agar-Agar, und Bouillon gelang und dass wir in Uebereinstimmung mit Anderen keine differenzirbaren Fructificationsorgane in Gelatine-, Agar- etc. Culturen beobachten konnten. Wie erklärt es sich nun, dass auf denselben Nährsubstraten eine so üppige fructificirende Vegetation von *Unna* gesehen werden konnte, wie er sie beschreibt? Wir wollen uns hierüber nicht aussprechen; wir wollen einfach auf die Identität aller der von uns erhaltenen Culturen hinweisen, welche uns berechtigt, sie als Reinculturen anzusehen. Wenn wir auch nicht auf der Unumstösslichkeit unserer Meinung bestehen wollen, die immerhin wegen der Schwierigkeit, positive Impfresultate zu erzielen, discutirbar bleibt, so schliessen wir dennoch auf Grundlage der von uns erhaltenen Resultate mit den folgenden Betrachtungen.

Vor Allem stimmen wir mit Quincke darin überein, dass sich in den älteren Culturen auch blasenförmige Auftreibungen am Ende oder in der Continuität der Fäden vorfinden, welche von Quincke als Degenerationsformen angesehen werden, während sie Duclaux von der Unzulänglichkeit des Nährsubstrates ableitet, und Andere wieder sie als Mycelsporen betrachten, welche unter gewissen Umständen generative Functionen annehmen können (Roberts.)

Diese kugelförmigen Formen beobachteten wir constant in alten Culturen und in jener Weise, wie sie Figur 4 darstellt. In dieser sind sehr gut jene rundlichen und ovalen Körperchen sichtbar, welche den blasenförmigen Auftreibungen des Mycels entsprechen und am Ende oder im Verlaufe der Fäden auftreten.

An zweiter Stelle lassen die Resultate der Impfversuche die Meinung entstehen, dass, da unsere Uebertragungsversuche

von Gelatine- und Agar-Culturen auf die menschliche Haut negativ verliefen und nicht einmal die gewöhnlichsten klinischen Formen der Trichophytiasis hervorbrachten, in der That das Mycel dieser Culturen steril geblieben war und da wir hingegen bei den Impfungen mit Bouillonculturen positive Resultate erzielten, so scheint dies die Annahme Jener zu bestätigen, welche in den flüssigen Nährböden geeignetere Nährmedien für die Entwicklung des Hyphomyceten sehen. Ferner wäre zu wiederholen, dass in allen Agarculturen die Colonien des Trichophyton sich sehr tief und ausgebreitet im Nährboden entwickelt hatten, was uns zu der Annahme führt, dass das Invasionsvermögen des Parasiten ein grosses ist, was übrigens durch die Beobachtungen glaubwürdiger Forscher bestätigt wird, welche die Gegenwart des Pilzes im Derma nachweisen konnten. Es bestätigt sich überdies die Beobachtung von Thin und Campana, dass das Trichophyton im Gewebe, mit welchem es in Berührung kommt, einen nicht geringen Reizzustand hervorruft, der auch in einer Entfernung fühlbar auftritt, wo nur sehr wenige Sporen in der Epidermis und viele Emigrationselemente im Derma vorhanden sind. Nach unseren heutigen Kenntnissen der Mastzellen, der Phagocyten etc. kann das Vorhandensein von Sporen des Parasiten oder Residua desselben im Derma nicht geleugnet werden, wie es von den eben erwähnten Forschern beobachtet wurde, die hin und wieder Sporen im papillären Derma sahen, welchen von früheren Beobachtern, ihrer Seltenheit wegen, keine besondere Wichtigkeit beigelegt wurde. Sowohl in dem von Campana beschriebenen trichophytösen Tumor wie in den Hautschnitten von alter Trichophytiasis fanden sich zahlreiche dieser Mastzellen, deren Granula alle sehr gut nach Gram tingirbar und sehr resistent gegenüber alkalischen Lösungen waren, so dass hieraus klar hervorgeht, dass es sich um Trichophytonsporen handelte, welche in verschiedener Weise unter der Einwirkung des Gewebes verändert waren.

Hier würden wir unsere Betrachtungen über den in Frage stehenden Gegenstand schliessen, wenn wir hier nicht noch auf einige von Dr. Del Chiappa gemachte Einwände antworten müssten.

In dessen Bericht: II^o 1^o triennio della Clinica dermo-

sifilopatica di Pisa; Giornale italiano delle malattie veneree e della pelle; Fasc: 1^o, Marzo 1890, pag. 57, sagt Del Chiappa, dass er „die echte disseminirte Form der Trichophytiasis in verschiedenen Fällen allein vorhanden beobachtete; unter anderen bei einer Frau von 44 Jahren“. Del C. bezieht sich auf unsere Mittheilung, von welcher oben gesprochen wurde und führt an, dass wir „als disseminirte Formen auch jene Fälle angesehen haben, welche sich als multiple kleine Flecke darstellen, um welche herum sich mehr oder weniger entfernt kleine Schüppchen oder Haarstümpfe etc. finden.“

In unserer Arbeit wurde nun von Trichophytiasis disseminata bei der 3., 4. und 5. Beobachtung gesprochen, aber nur die 3. und 5. Beobachtung konnten Gegenstand eines Einwandes sein, während die 4., wie später gesagt wird, nicht in Zweifel gezogen werden kann und bei der ersten und zweiten es sich um die Pseudoareaform handelte. Um indess die Diagnose des 3. Falles zu rechtfertigen, brauchen wir nur die Beschreibung desselben zu wiederholen, in welcher wir sagen: „In dem die Haare dort, wo sie spärlicher vorkamen, auseinander „gebreitet wurden, fand man rundliche alopecische Areen . . . „wo untermischt mit durchaus unveränderten Haaren . . . die „gewohnten Haarstümpfe stehen; . . . da jene (d. i. die trichophytonfreien Haare) viel zahlreicher sind als diese (d. i. die „von Trichophyton-Elementen angefüllten), natürlicherweise die „Eruption zu maskiren haben“.

Wobei wir nichts anderes thaten, als das Vorhandensein einer Form (der disseminirten) zu constatiren, welche sich der anderen (der Pseudoarea) substituirte.

Im 5. Falle handelte es sich um ein Kind, auf dessen behaarter Haut die schwärzlichen Stellen unregelmässig vertheilt und von einander durch Zwischenräume mit gesunden Haaren getrennt waren, was zu Gunsten der von uns gestellten Diagnose spricht und in keiner Beziehung steht zu der so deutlich ausgeprägten Pseudoareaform von Trichophytiasis bei diesem Kranken.

Uebrigens freut es uns, dass Dr. Del Chiappa glücklicher als wir in der Beobachtung der echten disseminirten Form als „allein vorkommend“ war, was aber nicht verhindert, dass

bei unserem 4. Falle (l. c.) die angezweifelte Form nicht klar beschrieben worden wäre. Wir hatten die Gelegenheit die klinischen Bilder der verschiedenen Formen von Trichophytiasis eingehend zu studiren und in mehr als 300 im Verlaufe eines Jahres gesehenen Fällen von Trichophytiasis (gelegentlich einer im Jahre 1888 in Genua ausgebrochenen Trichophytiasisepidemie in den Instituten: Casa di Patronato, 80 Fälle; Albergo dei poveri, 157 Fälle; Istituto dei sordo-muti, 40 Fälle; Orfanotrofio, 60 Fälle) haben wir das Nachfolgen der disseminirten Form der Trichophytiasis nach der Pseudoareaform als Regel beobachten können, während nur ausnahmsweise jene Form sogleich als solche auftritt. Derselbe Kranke, dessen Eruption wir auf einer unserem angeführten klinischen Berichte beigefügten Tafel dargestellt haben, beweist klar unsere Angaben. Da die Heilung dieses Falles nicht gelungen ist und er sich noch bis heute in Behandlung befindet, so kann auch jetzt noch Jedermann, der denselben untersuchen will, die classischeste Form von Trichophytiasis disseminata und hier und da alopecische Flecke durch Canterisationsnarben hervorgerufen (Paquelin'sche Thermocauter) sehen.

Was die weitere Bemerkung des Dr. Del Chiappa in Betreff unserer Litteraturangaben betrifft, so glauben wir nicht, dass wir unseren früheren Angaben etwas hinzuzufügen oder wegzunehmen haben.

Litteratur.

1) Grawitz, P. Beiträge zur systematischen Botanik der pflanzlichen Parasiten mit experimentellen Untersuchungen über die durch sie bedingten Krankheiten. (Virchow's Archiv. LXX. 1877.)

2) Grawitz, P. Ueber die Parasiten des Soors, des Favus und Herpes tonsurans. (Virchow's Archiv. CIII. 1886.)

3) Duclaux, Comptes rendus de la Societé de biologie. Séance 16. Janvier 1886.

4) Verujski, Recherches sur la biologie et morphologie du trichophyton tonsurans. (Annales de l'Institut Pasteur, 24 Aout 1886. p. 378.)

5) Thin, Pathology and treatment of ringworm. London 1877, p. 12 u. ff.

6) Campana, R. Culture artificiali di trichophiton tonsurans di un tumore della gamba di una donna. (Relazione della clinica dermosifilopatica a 1887--1888.)

7) Quincke, Ueber Herpes tonsurans. (Monatsh. f. prakt. Dermat. 1887. Nr. 22.)

8) Král, F. Verhandlungen der Deutschen Dermatolog. Gesellschaft. (Erster Congress gehalten zu Prag. 10--12. Juni 1889 p. 84.)

9) Roberts, L. Untersuchungen über Reinculturen des Herpes tonsurans Pilzes. (Monatsh. f. prakt. Dermat. 1889. Nr. 8.)

10) Unna, Flora dermatologica. Unter Mitwirkung von H. Gründler und P. Taenzer. (Monatsh. f. prakt. Dermat. 1890. p. 489.)

Trichophytonculturen

			Plattendose I.	Plattendose II.
1890 Mai	5.	Zimmer- tempe- ratur 16° C.	Aussaat von zwei Haar- stümpfen in eine Platten- dose. Die Haare sind fast vollständig von Trichophy- tonelementen zerstört.	Aussaat von zwei Haar- stümpfen in eine Platten- dose. Die Haarfragmente sind sehr zerbrechlich.
Mai "	6. 7.	idem	Makroskopisch kein Wachsthum sichtbar.	Makroskopisch kein Wachsthum.
Mai	8.	20° C.	Die Haarstümpfe haben das Aussehen, als wären sie von einem Häufchen weis- ser Watte umgeben.	Die Haarstümpfen sehen einem weissen Baum- wolleflockchen ähnlich.
Mai	9.	idem	Die runden Colonien an beiden Haarstümpfen ha- ben die Grösse eines Steck- nadelkopfes erreicht.	Die an den Haarstümpf- chen gewachsenen runden Colonien haben Hirsekorn- grösse.
Mai "	10. 11.	idem idem	Keine Veränderung. Die Colonien sind von der Grösse eines Wicken- samens.	Keine Veränderung. Die Colonien haben die Grösse eines Leinsamens erreicht.
Mai	12.	idem	Die Colonien haben an Grösse etwas zugenommen.	Die Grösse der Colonien augenscheinlich unverän- dert.

in Gelatine.

Bemerkungen.
Vor der Entnahme des Impfmateri als wurden die betreffenden Hautstellen in der früher angegebenen Weise behandelt.   Die Aussaat wurde mit einer vorher geglühten Platinöse vorgenommen.
Die Colonien bestehen mikroskopisch aus weissen, sehr dicht gestellten Hyphen, welche sich von den Haarstümpfen nach allen Seiten hin erstrecken.   Keine besondere Verfärbung der Oberfläche oder der Unterfläche der Colonien.
Das Aussehen der Colonien bei schwacher Vergrößerung kann mit jenem der Actinien verglichen werden. Eine Septirung ist nicht sichtbar, die Hyphen verzweigen sich dichotomisch.
Mikroskopisch sieht man in allen Colonien die freien Hyphenenden angeschwollen.   Anzeichen von Verflüssigung der Gelatine.
Sichtbare Verflüssigung der Gelatine in beiden Plattendosen im Umkreise der Colonien.

Trichophytonculturen auf

Temperatur 20° C.		Plattendose I.	Plattendose II.
1890			
Mai	13.	Keine sichtbare Veränderung.	Keine sichtbare Veränderung.
"	14.	Die Colonien sind mikroskopisch nicht mehr sichtbar.	Die Colonien mikroskopisch nicht mehr sichtbar.
Mai	15.	Die vollständige Verflüssigung der Gelatine ist Ursache der Vertheilung der Cultur.	Keine sichtbare Veränderung.
Mai	16.	Keine Veränderung.	Vollständige Verflüssigung der Gelatine.
Mai	17.	In der verflüssigten Gelatine bemerkt man zahlreiche neue sternförmige Colonien.	Zahlreiche neue sternförmige Colonien in der verflüssigten Gelatine.
Mai	18.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.
Mai	19.	Grössenzunahme der neuen Colonien welche ihr strahlenförmiges Aussehen beibehalten.	Keine sichtbare Veränderung.

Trichophytonculturen in Agar-Agar,

Datum		Temperatur	Eprouvette I.	Eprouvette II.
1890				
Mai	14.	35° C.	Aussaat von drei Haarstümpfchen.	Aussaat von zwei Haarstümpfchen.
"	15)	"	Makroskopisch nichts wahrnehmbar.	Makroskopisch nichts wahrnehmbar.
"	16)	"		
"	17)	"		
Mai	18.	36° C.	Alle drei Haarstümpfchen von weisslicher Farbe und hirsekorngross.	An einem Haarstümpfchen eine weisse Colonie von der Grösse eines Stecknadelkopfes.
Mai	19.	idem	Keine bemerkenswerthe Veränderung.	Keine Veränderung in der Entwicklung der Colonie. Der andere Haarstumpf ebenfalls unverändert.
Mai	20.	idem	Alle drei Haarstümpfchen durch fortgesetztes Wachsthum in eine einzige Colonie von Hirsekorngrösse confluit.	Die weisse Colonie von Wickensamengrösse. Kein Wachsthum am anderen Haarstumpf.
Mai	20.	35° C.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.

Fleischextractbrühe, Kochsalzlösung.

Eprouvette III.	Eprouvette IV.	Bemerkungen.
Aussaat eines einzigen Haarstümpfchens. Makroskopisch nichts wahrnehmbar.	Aussaat von zwei Haarstümpfchen. Makroskopisch nichts wahrnehmbar.	Waschung mit Seifen- spiritus, Sublimatlösung, absoluten Alkohol, Aether der Stellen, von welchen die verimpften Haarstümpfe entnommen wurden.
Das ganze Haar- stümpfchen ist von einer Vegetation von schneeweissen Hyphen bedeckt; die Colonie hat die Grösse eines Hirsekornes.	Beide Haarstümpfe scheinen durch die Ve- getation von weissen Hyphen an ihrer Ober- fläche an Grösse zuge- nommen zu haben.	
Keine Veränderung.	Keine bemerkens- werthe Veränderung.	
Die jetzt reiskorn- grosse Colonie ist un- verändert in Bezug auf ihre Farbe.	Die zwei Haarstümpf- chen confluit und zu- sammen von der Grösse eines Roggenkornes.	
Keine Veränderung.	Keine Veränderung.	

Trichophytonculturen in Agar-Agar,

Datum		Temperatur	Eprouvette I.	Eprouvette II.
1890 Mai	22.	37° C.	Keine sichtbare Veränderung.	Eines der Haarstümpfchen ist noch immer steril geblieben; das andere mit einer kleinen Colonie.
Mai	23.	idem	Die Colonien vereinigt zu einem runden erbsengrossen Rasen, mit gelblicher Unterfläche.	Keine Veränderung.
Mai	26.	36° C.	Geringe Grössenzunahme der Colonie bei unveränderter Form und Färbung.	Die Colonie erbsengross, an der Oberfläche derselben mit weissen strahlenförmigen Hyphen besetzt.
Mai	28.	idem	Die Colonie hat einen Durchmesser von 22 Mm. erreicht und taucht circa $\frac{1}{2}$ Cm. unter.	Der untertauchte Theil der Colonie ungefähr ein Centimeter gross.
Mai	30.	35° C.	Keine Veränderung; die Unterfläche des Rasens braungelb verfärbt.	Keine Veränderung. Der untertauchte Theil der Colonie braungelb verfärbt.

Fleischextractbrühe, Kochsalzlösung.

Eprouvette III.	Eprouvette IV.	Bemerkungen.
Die runde Colonie von Linsengröße mit strahliger Anordnung der Hyphen.	Keine Veränderung.	Bei der Untersuchung des Haarstümpfchens aus der zweiten Eprouvette stellt es sich heraus, dass es von der nicht genügend abgekühlten Platinnadel verkohlt worden war.
Die Unterfläche der Colonie schmutziggelblich verfärbt.	Keine bemerkbare Veränderung.	
Die Colonie hat 12 Mm. im Durchmesser und zeigt sonst keine Veränderung.	Die Colonie ungefähr 12 Mm. im Durchmesser, von runder Gestalt mit strahlenförmigen Hyphen und gelblicher Unterfläche.	Der untere Theil der Colonien ist in allen Eprouvetten im Nährsubstrat untersucht.
Der untertauchte Theil der Colonie von einer weniger bräunlich-gelben Farbe als bei den anderen Colonien.	Keine Veränderung.	
Die Colonie hat 22 Mm. Durchmesser erreicht und lässt keine Veränderung in der Verfärbung sehen.	Der untertauchte Theil der Cultur von unveränderter Verfärbung.	

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.