[Aus dem hygienischen Institut der Universität Bonn.]

Ueber *Actinomyces thermophilus* und andere Aktinomyceten.

Von

Dr. Gilbert.

Assistenten der Augenklinik in Bonn.

(Hierzu Taf. IX.)

Die Veranlassung zu dieser Arbeit gab der zufällige Fund eines thermophilen Aktinomyces, der im Bonner hygienischen Institut im Sommer 1903 gemacht war; sodann liess die neuerdings vielfach citirte Arbeit von Neukirch (1) „Ueber Strahlenpilze“, die leider geeignet ist, in unsere leidlich geklärten Anschauungen über die Morphologie und Biologie der Aktinomyceten neue Verwirrung zu tragen, eine abermalige Untersuchung der Aktinomyceten wünschenswerth erscheinen.

Diese Gruppe hat in den dreissig Jahren ihrer Bearbeitung oft ihren Namen gewechselt. Der von Cohn (2) 1875 für eine bestimmte Art gewählte, von Kruse (3) 1896 für die Gattung und auch für die ganze Gruppe angenommene Name „Streptothrix“ kann nicht aufrecht erhalten werden, obwohl er sich ziemlich eingebürgert hat, weil er schon lange für einen andern Pilz¹ vergeben ist. 1882 stellte Zopf (4) Cohn's Art zu „Cladothrix“, welche Benennung ebenfalls unzutreffend ist, da *Cladothrix dichotoma* nur unechte Verzweigung aufweist. Ebenso wenig berechtigt sind die Benennungen de Toni und Trevisans (5) (*Nocardia* 1889), sowie Sauvageau und Radais' (6) (*Oospora*² 1892), denn

¹ Die *Streptothrix* Corda, eine echte Hyphomycetengattung mit 5 Arten.

² Uebrigens auch die alte Bezeichnung für einen Fadenpilz.

schon 1877 hatte Harz (7) unter dem Namen „*Actinomyces bovis*“ einen Pilz beschrieben, der offenbar die nächste Verwandtschaft mit der Cohn'schen *Streptothrix* hat. Nach den Regeln der Priorität muss dieser Name, da er sonst einwandfrei ist, anerkannt werden. Gasperini (8) hatte also Recht, als er 1892 die später gefundenen ähnlichen Arten zu der Gattung *Aktinomyces* stellte.

Sehr strittig ist aber die Frage, ob man, wie dieser Autor es wollte, die *Aktinomyceten* zu den *Hyphomyceten* d. h. den echten Pilzen oder zu den Bakterien ziehen soll, die durch die Vermittelung der Tuberkel-, Diphtherie- und Rotzbacillen eine nahe Verwandtschaft mit ihnen zeigen.

Unter den zahlreichen beschriebenen Arten von *Aktinomyceten* befinden sich nur einige, wenig beachtete, die bei höherer Temperatur vorkommen. Zuerst züchtete Globig (9) aus Gartenerde eine thermophile Art, die in ihrem Wachstum streng auf Temperaturen von 52 bis 65° beschränkt ist. Bei 58° bildet sich ein aus runden Colonieen von schleimkreidenartiger Farbe bestehender dünner Ueberzug auf Kartoffeln. Sodann gewann Kedzior (10) mehrmals aus Cloakenwasser einen bei 45 bis 65° wachsenden *Aktinomyces*, der auch kreideweisse Auflagerungen bei den auf Agarplatten gewachsenen Colonieen bot. Diese Art soll bei 35° noch wachsen, wenn auch erheblich langsamer und ist facultativ anaërob. Aus ungekochter Milch isolierte Sames (11) eine anaërob und aërob bei 22 bis 62° gedeihende Art, wobei aber Bemerkungen über die Häufigkeit dieses Befundes fehlen. Es folgte dann die Beobachtung zweier thermophiler *Aktinomyceten* im menschlichen Stuhle durch Tsiklinsky (12). Nr. 1 wächst aërob bei 20, 37° und 57°; Kartoffelculturen bedecken sich mit weissem Sporenbelag; ganz alte Culturen sehen schwarz aus; Gelatine wird sehr schnell verflüssigt, Milch peptonisirt. Nr. 2 wächst aërob in den Grenzen von 45° bis 66°; Gelatine wird nicht verflüssigt, Milch nicht verändert. Günther (13) erwähnt schliesslich eine von Pretti untersuchte, aber nicht beschriebene Art.

Als das Gemeinsame dieser Beschreibungen ergibt sich ein Temperaturoptimum von ca. 55°, die typische Form der Strahlenpilzcolonieen, reichliches Wachstum auf Kartoffeln, sowie mikroskopisch ein Fadennetz mit echter Verzweigung und endlich Sporenbildung.

Das vereinzelte Vorkommen der von Kedzior, Tsiklinsky und Sames (?) beschriebenen Arten macht einen zufälligen Befund wahrscheinlich, hingegen soll Globig's *Aktinomyces* häufig in Gartenerde zu finden sein. Ich wählte daher zum Studium des thermophilen A. gleichfalls Erde als Ausgangsmaterial.

Die Flora der Bodenaktinomyceten scheint nach den Angaben der Litteratur recht erheblichen örtlichen Schwankungen zu unterliegen. So

erhielt Rullmann (14) aus zahlreichen Erdproben in Südbayern auf Gelatineplatten bei 21° keine A. Nach Neukirch wäre das so zu erklären, dass bei dieser Temperatur die langsamer wachsenden A. von anderen Keimen überwuchert werden, denn er gewann bei 10 bis 15° 12 Stämme, von denen 6 zur Species chromogenus gehörten, die auch Beyerinck (15) neben A. albus von den oberflächlichsten Zellschichten mehrerer Pflanzenwurzeln züchtete. Mir gelang es nicht, nach den von Beyerinck und Neukirch angegebenen Methoden A. zu gewinnen.

Dagegen konnte ich aus 10 verschiedenen Erdproben von Gärten, Anlagen, Feldern und Wäldern Bonns und der näheren Umgebung 9 Mal eine thermophile Aktinomycesart züchten. Das reichlichste Wachstum erzielte ich immer aus Gartenerde, manchmal bot sich diese Art von vornherein in Reincultur dar, öfters aber machte das Wachstum anderer Mikroorganismen eine weitere Isolirung nöthig. Im folgenden gebe ich eine Beschreibung der Culturen dieses

Actinomyces thermophilus.

Auf gekochten Kartoffelscheiben wird mit dem Platinpinsel wenig Erde fein vertheilt. Im Brütöfen von 55° nimmt die Impffläche nach 24 Stunden eine fahlgelbe, von der Kartoffel sich heller abhebende Farbe an; während des zweiten Tages schiessen auf diesem blassen Ueberzuge bis stecknadelkopfgrosse weisse Wülstchen auf, die schnell zu einem einheitlichen weissen Rasen von mehr oder weniger grosser Ausdehnung verschmelzen. Schnitte durch die Kartoffel zeigen, dass die Cultur nun etwa 2^{mm} in die Tiefe des Nährbodens eindringt, und sich bis zu 2^{mm} über seine Oberfläche erhebt. Die Cultur ist alsdann vielfach gefaltet und gerunzelt und ähnelt der Gehirnoberfläche mit ihren Windungen oder den Gebirgswegen, wie sie auf einem Globus dargestellt werden. Der weisse Rasen erscheint am dritten Tage hier und dort wie grau bestäubt; nach 4 Tagen ist das Weiss ganz einem matten Grau gewichen. Der Rasen ist rings von einem 3 bis 4^{mm} breiten mattgelben Saum eingefasst. Erwähnt sei hier, dass zwei meiner Stämme immer mehr nachdunkelten, bis auch in der Tiefe ein kohlschwarzer Ton erreicht war.

Die mikroskopische Untersuchung ergiebt, dass der das erste Wachstum kennzeichnende fahle Ueberzug auf der Kartoffel aus langen, echt verzweigten homogenen Fäden, dem Mycel, besteht, deren Dicke 0.5 bis 0.6 μ beträgt; der kreibige Belag enthält Anfangs noch kürzere, stärker lichtbrechende Fäden, vorwiegend aber perlenschnurartig aufgereichte Sporenketten; letztere besitzen einen Durchmesser von 0.8 bis 1.0 μ . Mit dem Farbenwechsel von Weiss zu Grau verschwinden die Fäden an der Oberfläche ganz hinter den Sporen, während in der Tiefe das Mycel und ebenso der mattgelbe Saum in kürzere bacillen- und kokkenartige Stücke zerfällt.

Den besten Einblick in diese Vorgänge gewähren Schnitte durch Kartoffelstückchen, die in Alkohol gehärtet, in Paraffin eingebettet und mit Löffler's Methylenblau oder nach Gram gefärbt wurden (Taf. IX, Fig. 13). Die oberflächlich gelagerten Kartoffelzellen sind ganz durchwuchert von einem dichten Netz kürzerer und längerer horizontal verlaufender Fäden. Dieses Fadennetz sendet sowohl in die Tiefe als auch besonders in die Höhe vertikal gerichtete Fäden, letztere die weissen Lufthyphen, die im Schnitt schon durch Sporen ersetzt sind. Die in den Kartoffelzellen gelegenen Fäden halten die Gram'sche Farbe nicht so intensiv fest wie die frei sich erhebenden.

Bei höherer Temperatur als 55° geht das Wachsthum langsamer vor sich, oberhalb 60° hört es ganz auf. Ich versuchte nun, die gewonnenen Stämme auch bei niedrigeren Temperaturen zu züchten. Dies gelang anstandslos bei allen Stämmen bis herab zu 45° . Darunter verliefen Anfangs die Züchtungsversuche erfolglos und bei 6 von meinen 9 Stämmen blieb jedes Wachsthum aus. Bei den übrigen drei hingegen trat spärlich die oben beschriebene Entwicklung der Kartoffelcultur, wenn auch um 1 bis 2 Tage langsamer, bei 37° auf. Dieses anfänglich so langsame Wachsthum bei 37° ist auch der Grund, warum man bei Uebertragung von Erde auf Kartoffel bei 37° nicht zum Ziele gelangt, indem andere schneller wachsende Mikroorganismen den Nährboden in Anspruch nehmen. Von der 3. bis 4. Generation ab geht das Wachsthum bei 37° fast so schnell wie bei 55° vor sich. Auf Kartoffeln kommt dieser thermophile *Aktinomyces* unter 35° nicht fort.

Rohe Kartoffelscheiben überziehen sich bei 37° nach 2 Tagen mit einem zarten Flaum, der sich nicht weiter verändert; lebende Pflanzenzellen schliessen also für diese Art das Wachsthum nicht aus.

Auf Agar- oder Glycerin-Agar-Platten ohne Unterschied entwickeln sich innerhalb 24 bis 48 Stunden zahlreiche runde büschelförmige Colonieen von fahlgelblichem Aussehen, deren alsbald sich dunkler färbendes Centrum die nach allen Richtungen hin ausstrahlenden Fäden als hellerer Saum umgeben; nach 2 bis 3 Tagen ist die Colonie meist nahe dem Centrum von einem feucht glänzenden Tröpfchen bedeckt, das unter dem Mikroskop silbergrau erscheint. Die Grösse der Colonieen beträgt ca. 3^{mm} im Durchmesser; bei sehr reichlicher Aussaat fliessen sie zusammen.

Auf schräg erstarrtem Agar oder Glycerin-Agar entwickeln sich bei 55 bis 37° nach 1 bis 2 Tagen bei spärlicher Aussaat einige blassgelbe, 3 bis 4^{mm} grosse runde Colonieen, die im Centrum etwas vorgewölbt erscheinen, in den nächsten Tagen sich bis zu 1^{cm} Durchmesser vergrössern und von radiär angeordneten Falten durchzogen werden. Wird die Impf- fläche mit viel Material beschickt, so vereinigen sich die zahlreichen

kleineren Colonieen schnell zu einer zusammenhängenden, anfänglich noch ziemlich ebenen, später sich vielfach faltenden, sehr zähen Membran. Sporenbildung beobachtete ich auf Agar nur einmal ganz zu Beginn meiner Untersuchungen; später blieb sie stets aus.

Bei 22° verzögert sich das Wachsthum, so dass erst nach 8 Tagen spärliche stecknadelkopfgrosse Colonieen entstehen, die sich nicht mehr vergrössern.

Gewöhnung an diese untere Wachsthumsgrenze tritt nicht ein. Durch viele Generationen bei 22° fortgezüchtete Individuen sind noch unvermindert thermophil.

Auf Traubenzucker und Milchzuckeragar schiessen ebenfalls üppig runde zu einer zähen Membran zusammenfliessende Colonieen auf. Auf 2procentigem Traubenzucker-Agar tritt nach 2½ Monaten spärlich Sporenbildung ein; die Membran ist mit weissgrauem Puder hier und da bedeckt; ebenfalls auf 5procentigem Traubenzucker-Agar nach 3 bis 4 Wochen. Vergärung des Zuckers bleibt aus.

Auf schwach alkalischen Fruchtsäften wird reichliche Sporenbildung beobachtet.

Im Gelatinestich bilden sich nach 3 Tagen blassgelbliche, kleine runde Colonien; am reichlichsten nahe der Oberfläche, die allmählich muldenförmig einsinkt; nach der Tiefe zu wird das Wachsthum immer spärlicher, so dass die Figur des umgekehrt wachsenden Tannenbaumes entsteht. Nach ungefähr 6 Tagen beginnt die Verflüssigung, welche keinen hohen Grad erreicht.

Serum überzieht sich mit einer die Farbe des Nährbodens wiedergebenden faltigen Membran, die nach 8 bis 14 Tagen in das verflüssigte Medium einsinkt.

Bouillon stellt einen guten Nährboden dar, sofern sie nicht hoch geschichtet ist und somit guten Luftzutritt ermöglicht. Nach 24 Stunden entwickeln sich bei 55° blassgelbliche, zarte runde Flöckchen von deutlich strahligem Bau, die sich bis zu 2^{mm} Durchmesser noch vergrössern; sind nur wenige Flocken zur Entwicklung gekommen, so können sie die zwei- ja dreifache Grösse erreichen, wobei die strahlige Form makroskopisch besonders deutlich hervortritt; nicht ganz so ausgiebiges Wachsthum erfolgt bei 37°, während bei 22° wieder 6 Tage bis zur Bildung vereinzelter äusserst zarter Flocken verstreichen. Die Bouillon wird nicht getrübt. Sporenbildung tritt nur ein, wenn die B., in Petrischalen ausgegossen, im innigen Contact mit der Luft steht. (Vgl. unten die Beobachtungen am hängenden Tropfen.)

Milch bei 37° verändert sich zunächst nicht; nach 2 Tagen bildet sich an der Oberfläche eine zähe orangegelbe Kruste, wie alle Culturen, lange

Fäden enthaltend; nach 4 bis 5 Tagen beginnt die Coagulation. Die Reaction Anfangs amphoter, wird nach 8 Tagen schwach sauer; 1^{ccm} der filtrirten Milch braucht 0.25 bis 0.6^{ccm} $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge zur Neutralisation. Ob die Coagulation durch Säurebildung oder Labfermentwirkung zu Stande kommt, möchte ich nicht entscheiden. Wahrscheinlicher ist allerdings das letztere, obwohl keimarme Milch, die mit einem geringeren oder gleich grossen Quantum durch *A. thermophilus* coagulirter, neutralisirter Milch gemischt wird, erst gleichzeitig mit einer Controlprobe nach 12 bis 15 Stunden bei 37° gerinnt und nicht binnen kurzer Zeit, wie man es bei Gegenwart eines Labfermentes voraussetzen müsste.

Die Culturen besitzen einen deutlich fruchtätherähnlichen Geruch, welcher mit dem Auftreten der Sporenbildung einem uncharakteristischen moderigen Geruch weicht.

Weder Sporen noch Fäden sind für Meerschweinchen und Kaninchen, subcutan, intraperitoneal und intravenös eingespritzt, pathogen.

Die beschriebene Art gewann ich auch öfters nach dem Beyerinck'schen Verfahren (sorgfältige Reinigung der Wurzeloberfläche und Zerstossen der Pflanzenzellen im sterilen Mörser), bei 55° aus den Wurzeln der Kohlrüben. Zwei Mal wurde sie auf Platten gefunden, die mit Borken von Favuskranken besät waren. Möglicher Weise handelt es sich dabei um Luftverunreinigungen.

Kurz gefasst eignen also dem *A. thermophilus* folgende Merkmale:

Wachsthum absolut aërob in den Temperaturgrenzen

von 22 bis 60° C.

Temperaturoptimum 50 bis 55° C.

Langsame Verflüssigung der Gelatine.

Langsame Coagulation der Milch.

Sporenbildung auf Kartoffeln und zuckerhaltigen Nährböden.

Färbbarkeit mit Anilinfarben, nach Gram und

Säure- und Alkoholfestigkeit der Sporen (vgl. unten).

Es erübrigt noch, die Frage zu beantworten, ob diese Art mit einer der beschriebenen Aktinomycceten identisch ist. Dies ist für die Arten von Kedzior, Sames und Tsiklinsky, Nr. 2, nach der oben gegebenen Uebersicht ohne weiteres zu verneinen. Tsiklinsky, Nr. 1, steht unserem *thermophilus* jedenfalls sehr nahe. Globig endlich giebt leider keine genaue Beschreibung seines aus Gartenerde gezüchteten thermophilen Aktinomyces. Gleichwohl möchte ich annehmen, dass meine Stämme, soweit sie bei Temperaturen unterhalb 45 nicht wuchsen, mit Globig's Art identisch sind.

Meine Untersuchungen zeigen, dass ausserdem in der Erde eine Abart häufig verbreitet ist, die nicht an so enge Temperaturgrenzen gebunden ist.

In der folgenden Tabelle gebe ich eine Uebersicht über die Hauptmerkmale von sieben anderen genau von mir studirten Aktinomyceten, wobei ich thunlichst ihre Beschreibung in der Litteratur hinzuziehe.

A. 1 bis 7 haben in morphologischer und grossentheils auch biologischer Beziehung viele Aehnlichkeit: die ursprünglich langen verzweigten Fäden zerfallen allmählich in kürzere Elemente, und unter später zu besprechenden Bedingungen tritt Sporenbildung ein.

Ihre Eigenschaften haben sich im allgemeinen constant erwiesen; die aus der Tabelle hervorgehenden Unterschiede mögen auf der langen künstlichen Züchtung beruhen. Häufig fand ich in der Litteratur das Aussehen der Culturen „weiss, weisslich“ benannt, wofür ich die Bezeichnung grau oder blass-fahlgelblich richtiger hielt, auch um einer Verwechslung mit dem meist weissen Sporenbelag vorzubeugen.

Eine gewisse Sonderstellung beansprucht der *Act. farcinicus* auf Grund seines grossen Formenreichthums, worauf ich unten zurückkomme.

Ehe ich mich zur Biologie der Aktinomyceten wende, muss ich hervorheben, dass ich unter „Fragmenten“ (Fragmentationsssporen Neukirch's und Levy's) die längeren und kürzeren Zerfallsstücke des Mycel verstehe, die gleich wie die Sporen selbst wieder auskeimen können. Die Elemente des kreidigen Belags nenne ich „Sporen“, absichtlich nicht „Oidiensporen“ (Neukirch, Levy), schon weil letzterer Name bei *A. farcinicus* auch für die Fragmente passen würde.

Das Studium der Entwicklung der Aktinomyceten macht die genaue Beobachtung zweier Vorgänge nothwendig: das Auskeimen der Sporen zu Fäden und den Zerfall der Fäden in Sporenketten. Ich stellte die Untersuchung im hängenden Bouillontropfen bei 37° mit Sporenmaterial an, welches 8 bis 14 Tage alten Kartoffelculturen der Arten 1 und 2, meistens aber vom *Thermophilus* entnommen wurde. Die Sporen, häufig in zierlichen Ketten angeordnet, sind rund, stark lichtbrechend und beim *A. thermophilus* 0.8 bis 1.0 μ gross (Taf. IX, Fig. 1). In der Auskeimung zu Fäden macht sich eine gewisse zeitliche Unregelmässigkeit geltend, für die wohl das Alter der jeweilig zur Beobachtung genommenen Sporen verantwortlich gemacht werden muss. Während der ersten 6 Stunden tritt keine Veränderung an den Sporen auf; bald darauf bis spätestens nach 36 Stunden vergrössern sie sich etwas, verlieren ihre Lichtbrechung und nehmen eine mehr längliche Form an; die Verlängerung schreitet meist

Tabellarische

	Fundort	Temperaturbreite	Luftbedürfniss	Geruch der Culturen	Dicke der Fäden	Farbbarkeit	Säurefestigkeit	Wachsthum auf Agarplatten	Agarröhrchen
1. A. thermophilus.	Erde, Wurzeloberfläche.	22—60°.	Aërob.	Frucht-äthergeruch. Mit Beginn der Sporenbildg. moderiger Geruch.	0.5 bis 0.6 μ	Die Sporen sind säurefest. Bei den 3 verschiedenen Varietät. theils schwaches, theils üppiges Wachsthum. Die Colonieen bedeck. sich m. weissen Krust. Bei 2 Var. Oeltropfen. Wie beim A. thermophilus. Aber nach 6—8 Tagen weisser Belag (Sporenbildg). Colonieen warzenartig 1.2 ^{mm} hoch, dicht neben einand. gelagert von matt-kreide-weisser Farbe. Mattgraugelbliche 2—3 ^{mm} grosse Colon. mit dunklerem Centrum und strahliger Peripherie. Nach 8—14 Tagen zarter weisser Sporenbelag.	Die Sporen sind säurefest.	Blass graugelbliche zähe, 1—3 ^{mm} messende, strahlig gebaute Colonieen. Unter dem Mikroskop silbergrauglänzend. Tröpfchen. Keine Sporenbildung.	Die einz. Colon. fliessen schnell zu einer zähen, schwer zer-reisslich. Membran zusamm., die sich vielf. faltet. Keine Sporenbildg. Auf 5 Procent Zuckeragar n. 2—3 Mon. spärli. Sporenbildg.
2. A. albus. a) Almquist (16).	3 Stämme aus alten Culturen, Ventrikel-flüssigkeit u. Wasserleitungen.	Zimmer-temperatur — +35°.	Desgl.		0.3 bis 0.5 μ		Nicht säurefest.	Bei den 3 verschiedenen Varietät. theils schwaches, theils üppiges Wachsthum. Die Colonieen bedeck. sich m. weissen Krust. Bei 2 Var. Oeltropfen.	
b) 1903/04.	Auf alten Culturen als Luftverunreinigung gefunden.	8—40°.	Desgl.	Mit Beginn der Sporenbildg. moderiger Geruch.	0.5 μ		Nicht säurefest.	Wie beim A. thermophilus. Aber nach 6—8 Tagen weisser Belag (Sporenbildg).	Sehr stark gerunzelte Membran, die sich vom oberen Rande her mit Spor. bedeckt, bis die ganze Oberfl. kreidig aussieht.
3. A. odoriferus. a) Rullmann (14).	Eine Fehlbodenprobe.	8—21° Optimum. Ueber 35° kein Wachsth.	Desgl.	Ausgesprochen erdiger Geruch.	knapp 1.0 μ			Colonieen warzenartig 1.2 ^{mm} hoch, dicht neben einand. gelagert von matt-kreide-weisser Farbe.	
b) 1903/04.	Kräl.	8—21° Optimum. Ueber 35° kein Wachsth.	Desgl.	Desgl.	0.5 bis 0.6 μ	Sämmtliche Stämme färben sich mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen, wobei die Sporen eine gefärbte periphere Zone erkennen lassen. Sämmtliche Stämme halten die Gram'sche Farbe auch nach langdauernder Einwirkung des Alkohols fest.		Desgl.	Stark gerunzelte, zähe Membran, die nach 8—14 Tagen weiss bestäubt erscheint (Sporenbildung).

Uebersicht.

Gelatine (Stich)	Serum (constant)	K a r t o f f e l	B o u i l l o n	M i l c h	Bierwürz- gelatine	Thierversuch
Zarte büschel- förmige Co- lonieen, nach der Tiefe zu immer mehr abnehmend. Umgekehrte Tannenbaum- figur. Lang- same Ver- flüssigung.	Faltige Membran, welch. nach 8-14 Tagen in das ver- flüssigte Nähr- medium einsinkt.	Fahle Haut, auf der alsbald weisse Knöt- chen aufschliessen (Sporen), die bald grau werden; zuletzt ein grosser grauer, in der Tiefe schwarzer Rasen mit fahlem Saum. Auf roher Kartoffel feiner weisser Sporen- belag.	In der klar blei- benden B. ent- wickeln sich blassgelbl. runde Flocken, deren Zahl im umge- kehrten Verhält- niss zu ihrer Grösse steht. (Meist 1-1½ ^{mm} .)	Zähe orange- gelbe Kruste an der Ober- fläche. Nach 4-5 Tagen Coagulation.	als Hyphomyceten, schlechter als den H. (Verf.) auf gew. Gelatine.	Sporen und Mycel sind subcutan, intraperiton. u. intravenös eingespritzt für Meer- schweinchen u. Kaninchen nicht virulent.
Wachsthum an der Ober- fläche u. längs dem Stich. Bei 2 Var. allmäh- liche Ver- flüssigung. Die Oberfläche bedecktsich m. weissen Krust. (Sporen).			Es bilden sich rasch Flocken, die bis zu 1 ^{cm} Grösse erreichen. B. bleibt klar.			
Anfangs wie beim thermo- philus. Dann schnelle Ver- flüssigung. Die an der Ober- flächenschwim- menden Co- lonieen werd. kreidig be- weiss durch Sporenbildg.	Falt. Mem- branauf der schon nach 2 Tag. vom ob. Rand. d. Sporenbdg. beg., bis oft d. gnz. Cult. kreidig be- legt ersch. Keine Ver- flüssigung.	Sehr reichlich. Wachs- thum, Anfangs wie beim thermophilus; dann kreideweisser, später schmutzig- weisser Sporenbelag. Zartes Wachsth. auch auf roher Kartoffel.	Die Flocken wer- den bis zu 0.75 ^{cm} gross. B. bleibt klar.	Citronengelbe Oberflächen- haut, auf der sich am Rande des Glases Sporen bilden. Coagulation nach 7 bis 8 Tagen.		Wie beim A. thermo- philus.
Anf. Gel. Platt. haarbüschel- förmige Co- lonieen, welch. nach 2 bis 4 Wochen ver- flüssigen.	Zusammen- fließende Colonieen mit weisser Auf- lagerung.	Die einzelnen Colonieen sind nicht getrennt von einander und haben eine weisse Auflage- rung.	Wachsth. findet statt; keine näher. Angaben.		Auf Bierwürzgelatine ist das Wachsthum bei allen Stämmen, im Gegensatz zu den Hyphomyceten, schlechter als den H. (Verf.) auf gew. Gelatine.	
Die Umgeb. des Einstich. sinkt rasch mulden- förmig ein. Grauweissl. Colonieen i. der Mulde, nach d. Tiefe zu immer spärlich. Nach 14 Tagen Ver- flüssigung.	Zusammen- hängende Membran, welche all- mählich in dem ver- flüssigten Serum ein- sinkt. Am ober. Rande Sporenbdg.	Die Kartoffel ist nach 1 Tage von einem an- Farbe von ihr kaum unterscheidbar. Mycel überzogen, welches sich allmählich dunkler färbt. Nach einigen Tagen weisser Sporen- belag.	Sehr zarte Flock., die in der Peri- pherie im durch- fallenden Lichte blassbläulich er- scheinen. B. bleibt klar.	An der Ober- fläche blass- gelbliche schmierige Kruste. An eintrocknen- den Stellen Sporenbildg. Coagulation nach 6 bis 8 Tagen.		Wie beim A. thermo- philus.

	Fundort	Temperaturbreite	Luftbedürfniss	Geruch der Culturen	Dicke der Fäden	Farbbarkeit	Säurefestigkeit	Wachsthum auf Agarplatten	Agarröhrchen
4. A. asteroid. a) Eppinger (17).	Exsudat einer Meningitis cerebrospinalis.	Zimmer-temperatur bis +40°.	Aërob.		0.2 μ Eigenbewegung.			Runde, scharf conturirte, mattweisse Pünktchen mit schmalen blasseren Saum	Weissl. Wäzchen, die nach der Fläche zu immer grösser werden, sich stark runz. u. ein. ockerfarb. Ton annehm.
b) 1903/04.	Kräl.	Zimmer-temperatur — +40°.	Desgl.		0.4 μ		Theilweise säurefest.	Punktförmig kleine, mattgelbliche Colonien mit schmalen blassen Saum. Nach einigen Tagen erscheinen immer mehr Colonien roth betüpfelt. Keine Sporenbildung.	Die Wäzchen flies. schnell zu ein. Membr. zusam., diebes. auf Zuckeragar ein. tief ockerfarb. Ton annimmt u. dann weicher wird. Hier u. da am o. Rand. weiss. Sporenbelag. Der Farbst. ist m. Chloroform u. Aether nicht ausziehbar.
5. A. madurae. a) Vincent (18), Babes (19).	Knötchen d. Madurafusses.	+4—40°.	Desgl.		1.0 bis 1.5 μ (Vincent) 0.4 bis 0.5 μ (Babes).				Runde, hervorragende, glas. weissgbl. Col., die sich oft spät. rosa farb.
b) 1903/04.	Kräl.	Zimmer-temperatur — +40°.	Desgl.		0.4 bis 0.5 μ		Nicht säurefest.	Langsam entwickeln sich einige grauweissliche, stark prominirend. Colon., die sehr festhaft. Durchm. 2-4 mm. Keine Sporenbildg.	Wenige stark üb. das Niveau sich erhebend. grauweisslich. Wülste, deren Centr. allmähl. einsinkt. Rosa-färbung tritt nicht ein. Kein. Sporenbildg.
6. A. hominis. a) Berestnew (20, 21.) b) 1903/04.	Kräl.	Zimmer-temperatur — +40°.	Desgl.	Stark modig-schimmelig. Geruch.	0.7 bis 1.0 μ	Sämmtliche Stämme färben sich mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen, wobei die Sporen eine gefärbte periphere Zone erkennen lassen. Sämmtliche Stämme halten die Gram'sche Farbe auch nach langdauernder Einwirkung des Alkohols fest.	Nicht säurefest.	Grosse, grau-gelbliche Colonien bis zu 1 cm Durchm. erreichend. Tröpfchen. Nach 4 bis 5 Tagen tritt weiss. Sporenbelag, meist concentr. der Peripherie in Discusf. auf.	Die zahlreich. runden Colon. vereinigen sich rasch z. ein. gekörnt aussen. Membran, die n. 3-4 Tag. ein. mattgrau-blau. feucht. Glanz annimmt. Nach ca. 6 Tag. v. ob. Rande beginn. w. Sporenbelg.

Gelatine (Stich)	Serum (constant)	K a r t o f f e l	B o u i l l o n	M i l c h	Bierwür- gelatine	Thierversuch
Kaum Tiefen- wachsthum. Am Eingange des Stichcanal. entwick. sich die Colonieen. Keine Ver- flüssigung. Wachsthum nimmt nach der Tiefe zu schnell ab. Die Oberfl. sinkt trichterförm. ein. Keine Ver- flüssigung. Die Cultur. färben sich allmähl. ocker gelb. Am oberen Rande spärl. weisser Sporenbelag.	Derbe, hautartige, wenig er- höhte Cult. von weisser Farbe, die sich immer mehr runz.	Dem Impfstrich ent- lang warzige, nach E. fast schneeweisse, nach Verf. blassgelbliche Bildungen, die sich zu einem erhöhten schma- len Rasen vereinigen, welcher nach 2 Tagen sich ziegelroth färbt und vielfach faltet. Ein äusserst zarter weisser Sporenüberzug tritt nach E. nach 14 Tagen bis 3 Wochen, nach Verf. schon etwas früher auf.	Nach 36-48 Stdn. finden sich an der Oberfläche winzige weisse Körnchen, durch ein scheinbares Häutchen zu- sammengehalt. Sie vergrössern sich zu schüssel- förmigen Scheib- chen und sinken dann zu Boden. Verf. sah die Flocken auch in der Tiefe ent- stehen noch vor Auftreten des Oberflächen- häutchens, auf welchem sich später Sporen bilden. B. bleibt klar.	Auf der Ober- fläche gelbe Kruste. Keine Coagu- lation.	Auf Bierwürzelatine ist das Wachsthum bei allen Stämmen, im Gegensatz zu den Hyphomyceten, schlechter als auf gew. Gelatine. (Verf.)	Erregt beim Kaninchen und Meer- schweinchen eine Pseudo- tuberculose.
Längs der Oberfläche u. dem Einstich eine spärl. weisse Cultur.	Nach Babes kein Wachs- thum.	Nach B. erbsengr. zu- nächst blasig sehr bald einfall., fest haft. Col. von blassgrauer oder grauröthlicher Farbe.	Spärl. u. langsam wachs. Körnch. v. grauweissl. Farb., die s. zu Bod. setz. B. bleibt klar.	Nach Babes wird die Milch nicht coagulirt.		Impfversuche bei den ver- schiedensten Thieren negativ.
Wachsth. sehr spärl. In d. Umgeb. des Einstiches sich eine einige blass- gelbliche, punkt förmige Colonieen. Keine Ver- flüssigung.	Sehr guter Nährboden. Es bildet sich eine sehr zähe und stark gerunzelte Membran. Keine Ver- flüssigung.	Nach 3-4 Tagen ent- wickeln sich am besten auf Glyc.-Kart. wenige stark emporrag., zähe blassgrauröthl. Wülste, die spät zusammenfall. u. schrumpfen. Keine Sporenbild. Diese find. nur auf der Oberfläche von Heuinfusen statt.	Nach mehreren Tagen bilden sich einige bis erbsen- grosse, wulstige, eingekerbte Scheiben von blassgelblicher Farbe. B. bleibt klar.	An der Ober- fläche der Milch bildet sich allmäh- lich eine gelb- liche Kruste. Nach 3 Woch. Coagulation.		
Wachsthum nimmt nach der Tiefe zu immer mehr ab, die Oberfl. sinkt Anfangs muldenf. ein, Serum ein- dann Verflüss. Die oben am Glase haftend. Colonieen bilden reichl. Sporen (weiss).	Schnell bil- det sich ein zusammen- häng. Mem- bran, die in das verflüss. Serum ein- sinkt. Auf den d. Glas- wand an- haft. Mem- branresten Sporenbild.	Auf Kartoffel und Glycerin-Kartoffel kein Wachsthum.	Massenhaft zarte Flocken von 2-5 mm Durchm. B. bleibt klar.	Die Oberfläche überzieht sich mit einer gelben Haut, auf d. Sporen- bildung ein- tritt. Nach 8-14 Tagen Coagulation.		

	Fundort	Temperaturbreite	Luftbedürfniss	Geruch der Culturen	Dicke der Fäden	Färbbarkeit	Säurefestigkeit	Wachsthum auf Agarplatten	Agarröhrchen
7. A. hominis. a) Affanassjew (22).	Aus aktinomykotisch. Bildungen beim Menschen.		Aërob üppiger als anaërob.						Wachsthum in Form von Colonieen u. Körnern bezw. Drusen, welche verkreiden (Sporenbildung).
b) 1903/04.	Kräl.	Zimmer- temperatur - + 40°.	Aërob. üppiger als anaërob.		0.2 bis 0.3 μ	Sämd. Stämme färben sich mit den gebräuchl. Anilinfarbstoff., wobei die Sporen eine gefärbte periph. u. eine ungefärbte centr. Zone erkennen lassen. Sämmtl. Stämme halten die Gram'sche Farbe auch nach langdauernder Einwirkung des Alkohols fest.	Nicht säure- fest.	Das compacte Centr. d. graugelbl. 2-3 mm grossen Colon. ist von einer im durchfallend. Lichte bläulich schimmernd. peripheren Zone umgeb.	Nach 2 Tagen mässig viele blassgelbl. sehr zähe Wülste m. centr. Delle u. Grösse 0.5 bis 0.75 cm. Bei reichl. Impfg. bildet sich eine stark zerklüft. Masse. Keine Sporenbildg.
8. A. farcinicus. a) Nocard (23).	Aus Eiter u. Organstücken ein. farcin. kranken Ochsen.	30-40°.			0.25 μ	Färbt sich nur nach Gram-Weigert.			Klein., vorspr., opake Wülste, am Rand. dick. v. gelbweissl. Farbe, matt staubartig, welch. spät, zu ein. dick. gefalt. Membr. zusammenfliess. Auf alt. Cult. Spor.
b) 1903/04.	Kräl.	Zimmer- temperatur - + 40°.	Aërob.		0.5 μ	Färbt sich auch bei gründlicher Entfärbung nach Gram.	Theilweise säure- fest.	Die Agarplattencolon. sind sehr zart und Anfangs nur als ganz feine, blasse Pünktchen m. blosssem Auge wahrzunehmen., erreichen allmählich aber die Grösse der Eppinger'schen u. zeigen den typischen strahligen Bau.	Anf. entw. sich stets einz. blass gelbl. promin. Wucher., die isol. blieb., od. zu ein. weich., bröcklig., unregelmäss. gef., Tuberkelbac. Col. sehr ähnl. Masse zusamm. flossen. Mikr. Stäbchenform. In spät. Gener. trat. daneb. od. auch ganz allein runde, punktf., allm. rosaroth sich farb. Col. auf, die mikroskop. Kokkenform. enthielten (keine Sporen).

Gelatine (Stich)	Serum (constant)	K a r t o f f e l	B o u i l l o n	M i l c h	Bierwürz- gelatine	Thierversuch
	Wie auf Agar.					Meer- schweinchen, intraperiton. geimpft, gehen an Aktinomykose zu Grunde.
In der Um- gebung des Einstich. ent- wickeln sich isolirt einige blassgelblich. Colonieen. Langsame Verflüssigung.	Wie auf Agar. Keine Ver- flüssigung.	Langsam gelangen einige gelbbraunliche Warzen zur Entwick- lung, die sich immer dunkler bis grau- schwarz färben. Nach 12—14 Tagen sind die hoch emporragenden Wülste an ihrer höch- sten Stelle grauweiss gesprenkelt. (Sporen- bildung.)	Die blassgelben Flocken sehen recht derb und compact aus. B. bleibt klar.	Wachsthum ohne Verände- rung der Milch.		
	Lang- sames Wachs- thum, sonst wie auf Agar.	Schnelles Wachsthum in Form kleiner bröcke- liger Massen, die stark vorspringen, trocken u. von blassgelblicher Farbe erscheinen. Der Rand erhebt sich über das Substrat.	Unregelmässige weissl. Haut., die grösstentheils zu Bod. sink., währ. einige an der Oberfl. bleib., wo sie sich zu einem schmutziggrauen Häutchen ausbreit., welch. sich nicht befeuchten lässt.	Wachsthum ohne Verände- rung der Milch.		Intra- peritoneale u. intravenöse Injection er- zeugt beim Meerschwein- chen eine Pseudo- tuberculose.
Wachsthum dem Strich entlang. Um- gekehrte Tannenbaum- figur. Keine Verflüssigung.	Wie auf Agar. Keine Ver- flüssigung.	Schnell schiessen grau- gelbe Wärzchen auf, welche zu einer weich., bröckeligen Masse confluiren. Meist Stäb- chenformen. In später. Generationen wurden die Granulationen härter u. nahmen einen rosafarbenen Ton an. Mikroskop. „Kokken- formen.“ Diese Cul- turen erscheinen nach geraumer Zeit durch Austrocknung grau- weiss. Doch fehlen stark lichtbrechende, resistente Spor n.	Feine, zarte blass- gelbliche Flock., die meist am Boden zu einem kleinen Ballen zusammenback. Nach 2—3 Tagen an d. Oberfläche zarte Haut, Stäbchenformen. B. bleibt klar. In späteren Ge- nerationen trübt sich die B. bei reichlich. Impfg. und enthält nun „kokkenartige“ Elemente in Uebersahl (keine Sporen).	Wachsthum ohne Verände- rung der Milch. An der Ober- fläche gelbe Haut.	Auf Bierwürzgelatine ist das Wachsthum bei allen Stämmen, im Gegensatz zu den Hyphomyceten, schlechter als auf gew. Gelatine. (Verf.)	

nach einer Richtung vor (Taf. IX, Fig. 2), doch kommt auch ein Auswachsen nach zwei entgegengesetzten Richtungen (Taf. IX, Fig. 3a) oder im rechten Winkel (Taf. IX, Fig. 3b) vor. Ueberreste einer die Spore umgebenden Membran sind nicht zu finden, auch ist der Keimling nicht gegen die Spore abgesetzt, sondern geht unvermittelt sich verjüngend aus derselben hervor, hat eine Dicke von 0.5 bis 0.6 μ (thermophilus) und wächst nun schnell in die Länge. Nach 12 Stunden beginnt die erste Verzweigung in der Nähe der Mutterspore und gerade diese ist mitunter echt dichotomisch (Taf. IX, Fig. 4). Der Faden bildet in seinem Verlaufe mehrfache Krümmungen, an welchen mit Vorliebe die Zweiganlagen höherer Ordnung auftreten (Taf. IX, Figg. 6, 7, 9). An diesen Stellen sieht man einen dunklen Punkt, der sich allmählich vorbuchtet und nach 1 bis 1½ Stunden als senkrecht zur Mutteraxe gerichteter Seitenzweig erkennbar wird; seine ursprünglich senkrechte Richtung giebt er später auf, um auch einen gekrümmten Verlauf einzuschlagen. Dergestalt wächst eine Spore während 24 Stunden zu einem Pflänzchen mit Zweigen 2. bis 4. und höherer Ordnung (Taf. IX, Figg. 7, 9). In den Anfangsstadien ist die Auskeimungsstelle der Mutterspore noch deutlich zu erkennen an ihrer bauchigen Vortreibung (Taf. IX, Figg. 3, 5, 6), die aber allmählich verschwindet. Die Fäden sind homogen und lassen keinen besonderen Inhalt erkennen; der Vegetationspunkt erscheint oft wie knopfförmig angeschwollen und dunkel, was durch das Wachsthum in höhere oder tiefere Gesichtsfeld-ebenen bedingt wird (Taf. IX, Figg. 2, 6).

Da ein wesentlicher Factor für die Sporenbildung der reichliche Luftzutritt ist, so lässt sich von vornherein annehmen, dass sie nur in den tiefsten, der Luft benachbarten Schichten des hängenden Tropfens zu beobachten sei und so ist es auch. Nach 24 bis 48 Stunden nehmen einzelne Seitenzweige an Dicke etwas zu (Taf. IX, Fig. 8b) und werden stärker lichtbrechend, eine Stunde später ist derselbe Zweig in seiner ganzen Länge beiderseits vielfach eingekerbt, im Innern aber sind keine Veränderungen wahrzunehmen (Taf. IX, Fig. 8c), nach einer weiteren halben Stunde ist die Einschnürung vollendet und der Sporenmutterfaden hat sich in eine Reihe gleich grosser, runder, stark lichtbrechender Sporen verwandelt (Fig. 8d), die nur des geringsten Anstosses bedürfen, um ihren Verband aufzugeben und einzeln oder in kleinen Schnüren frei zu werden, ohne dabei Eigenbewegung zu zeigen. An den von der Luft entfernter liegenden Fäden tritt keine Sporenbildung, sondern später Fragmentation ein, auf die ich unten zurückkomme.

Von diesem Verhalten weicht die Sporenbildung beim *Aktinomyces* hom. Berestnew insoweit ab, als der sehr stark lichtbrechende Faden nicht in runde, sondern Anfangs längsovale Glieder mit etwas abgestumpften

Enden zerfällt, die sich aber durch ihre starke Lichtbrechung und grössere Dicke von kleinen Fragmenten deutlich unterscheiden und auch nach einigen Tagen eine mehr runde Form gewinnen.

Die Sporennatur der die Luftfäden bildenden Elemente ist schon häufig durch ihre Toleranz gegen Temperaturen erwiesen worden, welche die vegetativen Fäden abtödteten; diese wurden bei den daraufhin untersuchten Arten bei 60 bis 65° vernichtet; dies kann ich auf Grund eigener Versuche für *A. thermophilus* und *albus* bestätigen:

Stücke von Membranen werden mit Glaspulver im sterilen Mörser so fein zerrieben, dass das Mycel in ganz kurze Stücke zerfällt, die in Bouillon wieder zu typischen Flöckchen auswachsen. Werden sie in der Bouillon aber 5 Minuten auf 65° erhitzt, so bleibt dieselbe steril. Das gleiche gilt für das unversehrte Mycel.

Die Sporen sind, in flüssigen Medien erhitzt, erheblich resistenter, als die Fäden und die Fragmente; nach einstündiger Erwärmung auf 70° verzögert sich das Wachstum um einen Tag; nach 10 Minuten sind sie durch Wärme von 75° ganz vernichtet (*A. thermophilus*, *albus*).

Wenn Neukirch im Gegensatz zu allen anderen Beobachtern den Fragmenten grössere Resistenz als den Fäden und den echten Sporen zuschreibt, so kann das seinen Grund nur im Folgenden haben: entweder verhält sich sein *A. Ochroleucus* gerade umgekehrt wie alle anderen Aktinomycceten, und das ist unwahrscheinlich; oder er verwechselt gerade die von ihm sogenannten „Fragmentationssporen“ mit den „Oidiensporen“; denn diese letzteren kommen gerade an der Oberfläche der Bouillon viel häufiger vor (vgl. oben A. Eppinger) als in der Tiefe, wohin er sie verlegt und wo sie nach Sauvageau und Radais, Lachner Sandoval (24) u. A. Ausnahme ist; und umgekehrt kann man Fragmentation in der Tiefe der Bouillon am besten beobachten. Hat man einen so vielgestaltigen und an Uebergangsformen reichen Stamm vor sich wie den *A. farcinicus*, so ist eine solche Verwechslung sehr leicht möglich, und nur genaues Studium der Morphologie und Biologie ermöglicht die Entscheidung, ob es sich um Sporen oder Fragmente handelt. Ich komme hierauf in dem Abschnitte über Fragmentation zurück. Am besten nimmt man immer, wo es darauf ankommt, Fragmente und Sporen gesondert zu erhalten, verschieden alte Kartoffel- oder Agarculturen, wo jede Verwechslung ausgeschlossen ist.

Viel grösser ist der Unterschied in der Resistenz zwischen Fäden und Sporen bei Anwendung trockener Hitze. Erstere gehen durch das Austrocknen bei Zimmertemperatur im Exsiccator zu Grunde, während die Sporen in ihrer Lebensfähigkeit nicht im mindesten angegriffen werden;

sie vertragen getrocknet viel höhere Temperaturen: bei 100° sterben die Thermophilussporen erst nach 4½ stündiger Erhitzung ab; absolute Sterilisation tritt erst bei 130° nach 5 Minuten ein.

Die Culturen bleiben, Monate lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt, lebensfähig.

Bei Luftabschluss gedeiht von allen Stämmen nur der *A. hom. Affanassjew*.

Unter welchen Bedingungen erfolgt nun Sporenbildung? Sehe ich davon ab, dass einzelne Arten (*A. thermophilus*, *Madurae*, *hom. Affanassjew*) vegetabilische Nährböden dazu beanspruchen, so genügen im Allgemeinen die gewöhnlichen, festen Nährböden, sofern nur die Culturen im Contact mit der Luft stehen und allmählich austrocknen. Schon Vincent sagt: „la formation des spores du Pied de Madura se fait surtout comme celle des autres espèces de *Streptothrix* dans les points, que sont en contact avec l'air.“ Sporenbildung ist nach ihm, Kruse und Lachner-Sandoval in der Tiefe von flüssigen Nährlösungen die Ausnahme. Ich selbst sah Sporen in Bouillon nur bei Flocken, die oben am Glasrande hafteten, wenn sich ein Oberflächenhäutchen bildete, oder wenn die Bouillon in Petrischalen ausgegossen wurde, also immer bei inniger Berührung mit der Luft. Darnach ist die Behauptung Levy's (25), die „Oidiensporen“ dienten nur dazu, die Art in ganz untergetauchten Zustand zu erhalten, um so unverständlicher, als sein eigener Schüler Lachner bestätigt, dass langsame Austrocknung die Sporenbildung begünstige und als die von ihm citirten, mit meinen Resultaten übereinstimmenden Resistenzversuche von Vincent und Domec (27) sich ebenfalls auf Sporen beziehen, die an der Oberfläche der Nährböden gewachsen sind. Auch hier scheint mir, wie bei Neukirch, eine Verwechselung der „Fragmentationssporen“ mit den „Oidiensporen“ vorzuliegen.

Die Beobachtung Lachner's, dass *A. albidoflavus* auf alkalischen Fruchtsäften gut Sporen bildet, veranlasste mich, den Einfluss von Säure, Alkali und Zucker bzw. Kohlehydraten auf die Sporenbildung zu studiren.

Wenngleich nun dieselbe auf der schwach sauren Kartoffel fast durchweg sehr üppig ist, so genügt doch ein Zusatz von einigen Tropfen ganz schwacher Säuren, um jegliches Wachsthum und somit auch Sporulation zu verhindern; dagegen bleiben beide unbeeinträchtigt vom Zusatz einer 1 bis 5 procent. Kalilauge; noch höhere Grade der Alkalescenz schliessen das Wachsthum aus. Wirklich begünstigt wird die Sporenbildung aber erst durch den Kohlehydratgehalt des Nährbodens, sei er natürlich wie bei der Kartoffel, den Fruchtsäften oder den von *A. Madurae* bevorzugten vegetabilischen Infusen, oder sei er Bestandtheil des künstlichen Nährbodens. In letzterem Falle zeigen *A. albus*, Rullmann, *hominis* Berestnew besonders üppige

Sporenbildung, thermophilus wenigstens nach einigen Wochen manchmal spärlichen Sporenbelaag, der bei diesem Stamm auf Agar sonst fehlt. Luftzutritt, Trockenheit und Kohlehydratgehalt des Nährbodens befördern somit die Sporenbildung, welche ausnahmsweise auch in flüssigen Nährlösungen vorkommt.

Das grösste Interesse beim Studium der Aktinomycceten nimmt der von Sauvageau und Radais zuerst beschriebene Vorgang der Fragmentation in Anspruch, da er hauptsächlich die Veranlassung dazu giebt, den Tuberkel- und Diphtheriebacillus als nahe Verwandte den Aktinomycceten anzugliedern. Seit Klein (28) zum ersten Male echt verzweigte Fäden in Tuberkelbacillenculturen und ebenfalls bei Diphtheriebacillen beschrieben hat, sind diese Befunde sowie andere ähnlich zu deutende häufiger erhoben worden. Die einschlägigen Arbeiten sind in Levy's (26) Studie über die Aktinomyccesgruppe und die ihr verwandten Bakterien zusammengestellt und gewürdigt worden. Aus jüngster Zeit kommt dazu die Mittheilung Bertarelli's (29) über einen Aktinomycces-ähnlichen Befund in einem Tuberkelsputum.

Andererseits ist es bekannt, dass die Aktinomycceten schon nach wenigen Tagen in Fragmente, in älteren Culturen gar in „Stäbchen“, „Spirillen“, und „Kokken“ zerfallen. Für die oben betonte Verwandtschaft wäre es nun von Wichtigkeit festzustellen, ob Aktinomycceten unter verschiedenen Bedingungen einmal in Fadenform, das andere Mal nur als Stäbchen wachsen. Diese Beobachtung wurde zuerst von Wolff und Israel (30) gemacht, deren Aktinomycces auf Agar vielfach in seiner Entwicklung nicht über den kurzstäbigen Charakter herausging und sich in dieser Form vermehrte, wobei nur selten ein Auswachsen der Stäbchen zu Fäden erfolgte, während auf Eiern sich das typische Fadennetz entwickelte. Berestnew isolirte sodann aus der Lippengeschwulst eines Rindes einen „Coccobacillus“, der auf Agar und Bouillon in Form von kokkenartigen Gebilden und sehr kurzen unregelmässigen Stäbchen gedieh, auf rohem Eidotter aber und einem Bouilloneidottergemisch in Form von ziemlich langen Fäden mit Endanschwellungen und Verzweigungen wuchs. Aehnliche Befunde liegen von Aschoff (31), Bruns (32) u. A. vor.

Von meinen oben beschriebenen Arten gehört der *A. farcinicus* hierher, bei dem in ungefärbten und gefärbten Präparaten von Agar-, Kartoffel-, Bouillon- und Eiculturen in den ersten Generationen gerade und leicht gekrümmte Stäbchen, hier und da auch vereinzelt etwas längere Formen mit Verzweigung erschienen (Taf. IX, Fig. 11), während in späteren Generationen ganz oder grösstentheils „Kokken“ an ihre Stelle traten (siehe Tabelle.) Da diese „Kokken“, manchmal in Kettenform angeordnet, den Sporenzellen ähnelten, da ferner auf alten austrocknenden Culturen

manchmal ein zarter weisser Flaum auftrat, so drängte sich die Frage auf, ob es sich vielleicht um Sporen handeln könnte, die also hier auch in der Tiefe der sich trübenden Bouillon entstanden wären.

Diesbezüglich betone ich, dass diese runden Elemente stets schwach lichtbrechend sind, dass sie wie alle anderen Elemente aus den *A. farcinicus*-Culturen nach 5 Minuten bei 70° abgetödtet werden und auch die Austrocknung nicht überstehen, dass sie endlich mit den Anilinfarben sich ganz gleichmässig färben und nicht säurefest sind.

Somit können sie nicht als Sporen bezeichnet werden. Interessant ist, dass gerade hier der Zerfall in zahlreichste, kleinste Bruchstücke erfolgt, wo Sporenbildung fehlt.

Bei diesen mannigfachen Abweichungen vom Typ der übrigen Aktinomycceten bildet gleichwohl auch der *A. farcinicus* auf Platten die strahligen Colonieen, aus langen Fäden bestehend; ebenfalls kann man im hängenden Bouillontropfen die Entwicklung eines reich verzweigten Pflänzchens beobachten. Dieser Art eignet aber eine besonders grosse Zerreisslichkeit; sowie man mit der Platinnadel Material entnimmt, erhält man mehr oder weniger kurze Bruchstücke.

Deshalb erschien mir *A. farcinicus* besonders zum Studium der Fragmentation geeignet. Dabei ergiebt sich, dass die Fragmente wie die Sporen zu typischen Colonien auswachsen, deren Centrum nach 1 Tag knäuelartig verwickelt ist (Taf. IX, Fig. 9); nach allen Seiten hin strahlen die Fäden aus, die hier besonders viele kurze Seitenzweige haben. Die Fäden sind homogen und überall gleich stark lichtbrechend und weisen nirgends Querwände auf, die auf einen Verband von mehreren Zellen deuten würden. Ich halte daher eine solche Colonie für einzellig. Hier und dort treten in den Fäden feinste, kleine „Körnchen“ auf. Wie schon Neukirch hervorhob, sind sie besonders am Ende eines wachsenden Fadens (Taf. IX, Figg. 2, 6) oder, wo ein Seitenast sich bildet, zu sehen. Er legt deshalb die Deutung als Kerne nahe und will auch Kerntheilungen gesehen haben. Letzteres sowie eine besondere Färbung mit Kernfarbstoffen gelang mir nie, so dass ich diese „Körnchen“ im gefärbten Präparat nie wieder erkennen konnte. Ich halte aber ihre Deutung auf andere Weise für sehr einfach.

Diese „Körner“ sind fast stets am schärfsten sichtbar bei einer Einstellung des Tubus auf eine Ebene, die höher oder tiefer gelegen ist als die des eingestellten Mycels; sie sind daher nichts Anderes, als das in perspectivischer Verkürzung gesehene wachsende Mycel am Ende eines Fadens, welches sich, wie ich schon hervorhob, gern im Tropfen etwas nach oben oder unten umbiegt. Ebenso buchtet sich an der Bildungsstelle eines Seitenzweiges das Plasma etwas nach oben oder unten vor,

wodurch eine dickere, stärker brechende Schicht entsteht, welche als „Körnchen“ imponirt. Wird der Seitenzweig grösser, so folgt er dem Gesetz der Schwere und wächst in der Ebene des Mycel weiter, womit die „Körnchen“ verschwinden. Für diese Auffassung spricht auch, dass durchaus nicht bei jeder Seitenzweigung ein „Körnchen“ wahrgenommen wird, nämlich, regelmässig dann nicht, wenn das Wachsthum von vornherein in derselben Ebene seitlich von statten geht.

Ist nun die Farcinicusplattencolonie 24 bis 36 Stunden alt, so treten hier und dort schwächer lichtbrechende schmale Stellen im Verlauf der Fäden auf, welche wie unterbrochen aussehen. Bei der Kleinheit der Objecte drängt sich diese Erscheinung nicht ohne weiteres, sondern erst nach längerer Beobachtung bei verschiedener Tubuseinstellung auf, und zwar am deutlichsten nach Zusatz einiger Tropfen einer 10 procent. Zuckerlösung. Diese schwach lichtbrechenden Stellen entsprechen ungefärbten Zwischenräumen im gefärbten Präparat. Einen eigentlichen Zerfall des Plasmas in kurze Stücke konnte ich auf der Platte nicht beobachten. Hingegen wird dieser Vorgang schön durch einen Verdauungsversuch sichtbar. Eine kleine Flocke aus einer Bouilloncultur wird in den hängenden Tropfen einer Verdauungsflüssigkeit übertragen, zu welcher ich eine Lösung von je 1 Theil Salzsäure und Pepsin auf 100 Theile Wasser benutzte. Um das selbst in diesem Gemisch noch auftretende Wachsthum anderer Mikroorganismen zu verhüten, gebe man 1 Tropfen Chloroform in die Höhlung des Objectträgers. Hat diese Verdauungsflüssigkeit 12 bis 15 Stunden bei 37° eingewirkt, so sieht man die ursprünglich ununterbrochenen Fäden in viele kleine Stücke von Stäbchenform zerfallen (Taf. IX, Fig. 10). Gleichalte Colonieen, während derselben Zeit in Wasser suspendirt, zeigen diese Erscheinung nicht. Es gelang mir nicht, Uebergangsstufen zwischen dem unveränderten Mycel und der vollendeten Fragmentation zu Gesicht zu bekommen. *A. thermophilus* und *hominis* Berestnew, die ich gleichfalls der Verdauung unterwarf, zeigten keinen Zerfall. Im Allgemeinen gelingt die Beobachtung der Fragmentation erst im Präparat, welches mit den üblichen Anilinfarben oder nach Gram gefärbt wurde. So wechseln stark und schwach gefärbte Stücke mit ganz farblosen Lücken in Taf. IX, Fig. 12 ab, während gleichaltrige Colonieen im hängenden Tropfen nur ununterbrochene Fäden zeigen.

Auch plasmolytische Versuche, zu deren Ausführung ich 5 bis 10 procentige Lösungen von Kal. nitric., Kochsalz, Zucker, sowie Glycerin und 33 procentigen Alkohol anwandte, führten nur zu negativem Ergebnisse. Irgend welche Veränderungen konnte ich so wenig wie Herr Prof. Kruse wahrnehmen, ausgenommen etwa, dass die schwächer lichtbrechenden Lücken im Verlauf der Fäden nach Zuckerzusatz deutlicher hervortraten.

Ich stellte die plasmolytischen Versuche an, um mich von der Richtigkeit der Ausführungen Neukirch's¹ zu überzeugen, wobei ich genau seinen Untersuchungsgang befolgte. Eine Differenzirung in Aussenplasma und Innenplasma, ein Austreten stark lichtbrechender Substanz konnte ich trotz sorgfältigster Beobachtung nicht wahrnehmen. Ebenso entzogen sich auch Kerntheilungen meiner Beobachtung, abgesehen davon, dass ich die „Körnchen“, wie oben gezeigt, nicht für Kerne halte.

Woran liegt nun die Verschiedenheit zwischen Neukirch's und meinen Angaben? Ein Blick auf Neukirch's Figuren giebt darüber Aufschluss. Wer die Tafel besieht, ohne den Text zu kennen, muss glauben, dass es sich um echte Fadenpilze handle, da Formen wie die dort abgebildeten mit unseren bisher üblichen Vergrößerungen einfach bei Aktinomycceten nicht beobachtet werden. Neukirch erklärt ja auch, dass die Figuren nicht in einem bestimmten Maasstabe, sondern „nach den practischen Bedürfnissen“ gezeichnet seien. Eine solche Abweichung von der Regel, die Abbildungen in dem Maasstabe wiederzugeben, unter dem wir die Objecte mit unseren optischen Hilfsmitteln sehen, ist meines Erachtens eine starke Willkür und gewissermaassen ein Eingeständniss, dass die zu illustrirenden Beobachtungen bei natürlicher Vergrößerung nicht deutlich erkennbar sind. Da Neukirch's Objecte „ca. 1 μ breit“ sind, so ergiebt sich daraus für die meisten seiner Abbildungen eine Vergrößerung von 3000 bis 5000; soweit waren wir 1902 noch nicht gekommen und ob wir mit dem neuen Mikroskop von Siedentopf und Zsigmondy weiter kommen, ist fraglich. Wie Neukirch selbst zugeibt, sind seine Objecte auf der Grenze des Sichtbaren; gerade auf dieser Grenze halte ich es nicht für erlaubt, den Maasstab der wirklich erreichten Vergrößerung zu verlassen, weil solches Vorgehen die Ursache grober Täuschungen sein kann. (Man führe z. B. Neukirchs Fig. 30 auf die natürlich vergrösserte Fig. 22a zurück, so wird von Kerntheilungsfiguren nichts übrig bleiben.)

Indem ich zum Schlusse zur Erörterung der systematischen Stellung der Aktinomycceten übergehe, beginne ich mit ihrer neuerdings öfters hervorgehobenen Säurefestigkeit. Nach Nicolles (33) und Berestnew's ersten diesbezüglichen Hinweisen, wies Feistmantel (34) die Säure- und Alkoholfestigkeit des *A. farcin.* nach. Fuchs (35) stellte sodann systematische Untersuchungen an 14 Aktinomycceten an und erzielte dabei in 10 Fällen, wenn nicht mit allen gebräuchlichen, so doch nach der einen oder anderen Methode, positive Resultate, darunter bei *A. Eppingeri* und *A. farcinicus*, bei denen auch ich, mit Fuchs übereinstimmend, unter den

¹ l. c. S. 17—26.

grösstentheils entfärbten Fragmenten einen Bruchtheil von Stäbchen fand, die sich säure- und alkoholfest erwiesen, während die Sporen von *A. Epp.* die „Kokkenformen“ beim *A. farcinicus* stets entfärbt wurden. Die anderen von mir untersuchten *A.* sind nicht säurefest, mit Ausnahme des *A. thermophilus*, dessen Sporen exquisit säure- und alkoholfest sind, und somit eine Analogie mit den Bakteriensporen aufweisen, während das Mycel sich immer schnell entfärbt (Taf. IX, Fig. 14).

Wenn ich nun auch nicht, wie Fuchs, die Färbbarkeit nach allen früher für die Tuberkelbacillen für specifisch angesehenen Methoden als eine allgemeine Eigenschaft der Aktinomycceten ansehen möchte, so eignet sie doch jedenfalls manchen Arten und knüpft ein neues Band zwischen ihnen und dem Tuberculoseerreger.

Mac Callum (36) berichtet weiter von positiven Erfolgen mit der Neisser'schen Körnchenfärbung bei *Act. Eppingeri*. In Präparaten von 20 Stunden alten Blutserumculturen sah er in den gelb gefärbten Fäden schwarzblaue Körnchen. Ich erhielt solche Bilder bei keinem der acht Stämme.

Man hat für pathogene Aktinomycceten die Bildung von Körnchen im Eiter, sowie von kugelförmigen Anhäufungen des Parasiten im Gewebe von sog. Drusen mit keulenförmigen Anschwellungen der peripheren Elemente für charakteristisch gehalten. Diese Anschauung lässt sich nach den Mittheilungen von Lignières und Spitz (37, 38) nicht aufrecht erhalten, welche als Erreger einer klinisch ganz der Aktinomykose gleichenden Rinderkrankheit einen echten gramnegativen Bacillus nachwiesen, der im Eiter derartige Drusen bildete. Hieraus folgt, dass Drusenbildung keine specifische Eigenschaft des Aktinomyccetenprotoplasmas ist, aber meines Erachtens noch nicht, dass alle grampositiven, echt verzweigten Mikroorganismen willkürlich zusammengestellt wären, wie Lignières und Spitz schliessen.

Die echte Verzweigung, die Art der Sporenbildung und auch das Aussehen der Culturen haben in letzter Zeit vielfach dazu geführt, die Aktinomycceten zu den Hyphomycceten zu rechnen. Hierzu möchte ich mich nicht entschliessen, da die doppelte Conturirung, die Scheidewände, der flüssige oder körnige Inhalt der Hyphomycceten bei ihnen noch nicht nachgewiesen sind, da ferner die Aktinomycceten auf der für Fadenpilze so günstigen Bierwürzelatine schlecht fortkommen.

Morphologisch und biologisch scheinen mir die Aktinomycceten vielmehr entsprechend der von Kruse schon früher vertretenen Anschauung eine Zwischenstufe zwischen den Fadenpilzen und den Spaltpilzen einzunehmen, wofür auch ihr Formenwechsel spricht. Manche Arten, darunter

vor allem die nicht virulenten, stehen den Fadenpilzen, manche, darunter besonders die in Stäbchenform wachsenden und die virulenten stehen den Spaltpilzen näher.

Hrn. Prof. Dr. Kruse, den ich die Anregung zu dieser Arbeit, sowie vielfache Rathschläge bei Ausführung der Untersuchungen verdanke, sage ich auch an dieser Stelle meinen tiefgefühlten Dank.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Neukirch, Ueber Strahlenpilze. *Diss.* Strassburg 1902.
2. Cohn, Untersuchungen über Bakterien. II. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen.* I. 1875.
3. Kruse, Die Streptothricheen in Flügge's *Mikroorganismen.* 1896.
4. Zopf, *Zur Morphologie der Spaltpflanzen.* Leipzig 1882.
5. De Toni u. Trevisan, *Schizomycetaceae in Saccardo Sylloge fungorum.* 1889. T. VIII.
6. Sauvageau u. Radais, Sur les genres Cladothrix etc. *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1892. T. VI.
7. Harz, Actinomyces bovis u. s. w. *Jahresbericht der Thierarzneischule zu München.* 1877—1878.
8. Gasperini wegen mangelnder Originale citirt nach Lachner (Litt.-Verz. Nr. 57, 58).
9. Globig, Ueber Bakterienwachsthum bei 50 bis 70°. *Diese Zeitschrift.* Bd. III. S. 303.
10. Kedzior, Ueber eine thermophile Cladothrix. *Archiv f. Hygiene.* Bd. XXVII.
11. Sames, Zur Kenntniss der bei höherer Temperatur wachsenden Bakterien und Streptothrixarten. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIII.
12. Tsiklinsky, Sur la flore microbienne thermophile du canal intestinal de l'homme. *Annales de l'Institut Pasteur.* T. XVII. p. 217.
13. Günther, *Einführung in das Studium der Bakteriologie.* 5. Aufl. 1898.
14. Rullmann, Cladothrix odorifera u. s. w. *Diss.* München 1895.
15. Beyerinck, Ueber Chinonbildung bei Streptothrix. *Centralblatt für Bakteriologie.* Abth. II. Bd. VI, 1.
16. Almquist, Untersuchungen über einige Bakteriengattungen mit Mycelien. *Diese Zeitschrift.* Bd. VIII.
17. Eppinger, Ueber eine neue pathogene Cladothrix u. s. w. *Ziegler's Beiträge.* Bd. IX.
18. Vincent, Le pied de Madura. *Annales de l'Institut Pasteur.* T. VIII.
19. Babes, Der Madurafuss. *Kolle-Wassermann's Handbuch.* 1903. Lfg. 15-16.

20. Berestnew, Ueber Pseudoaktinomykose. *Diese Zeitschrift*. Bd. XXIX.
 21. Derselbe, Die Aktinomykose und ihre Erreger. *Dissertation*. Moskau.
Citirt nach Nr. 20.
 22. Affanassjew, Ref. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. IV. S. 208.
 23. Nocard, Maladie des boeufs de la Guadeloupe. *Ann. de l'Inst. Pasteur*. T. II.
 24. Lachner-Sandoval, Ueber Strahlenpilze. *Diss.* Strassburg 1898.
 25. Levy, Die Wachstums- u. Dauerformen der Strahlenpilze u. s. w. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXIII.
 26. Derselbe, Ueber die Aktinomycesgruppe und die ihr verwandten Bakterien. *Ebenda*. Bd. XXVI.
 27. Domec, Contribution à l'étude de la Morphologie de l'Actinomyces. *Arch. de méd. expérimentale*. T. IV.
 28. Klein, Ein weiterer Beitrag zur Aetiologie der Diphtherie. *Centralblatt f. Bakteriologie*. Bd. VII.
 29. Bertarelli, Ueber einen ziemlich seltenen Tuberkelsputumbefund. *Ebenda*. Bd. XXXIV.
 30. Wolff u. Israel, Ueber Reinculturen des Aktinomyces und seine Uebertragbarkeit auf Thiere. *Virchow's Archiv*. Bd. CXXVI.
 31. Aschoff, Ein Fall von primärer Lungenaktinomykose. *Berliner klinische Wochenschrift*. 1895. Nr. 34—36.
 32. Bruns, Zur Morphologie des Aktinomyces. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXVI.
 33. Nicolle, Pratiques des colorations microbiennes. *Annales de l'Inst. Pasteur*. T. IX.
 34. Feistmantel, Säure- und Alkoholfestigkeit der Streptothrix farcinica u. s. w. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXI.
 35. Fuchs, Ueber Färbbarkeit der Streptothricheen nach Methoden der Tuberkelbacillenfärbung. *Ebenda*. Bd. XXXIII.
 36. Mac Callum, On the life history of Actinomyces asteroides. *Ebenda*. Bd. XXXI.
 37. Lignières u. Spitz, *Actinobacillose*. Buenos Aires 1902. Sep.-Abdr.
 38. Dieselben, Contribution à l'étude, à la classification et à la nomenclature des affection connues sous le nom d'actinomyose. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1904. Bd. XXXV. Nr. 3 u. 4.
-

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. IX.)

Vergrößerung der Figuren 1 bis 14: Leitz' Oel-Immersion $\frac{1}{12}$, Ocular 1.

-
- Fig. 1. Sporen von *A. thermophilus*.
Fig. 2. }
Fig. 3a. } Auskeimende Sporen von *A. thermophilus*.
Fig. 3b. }
Fig. 4. }
Fig. 5. } Verzweigung der jungen Keimlinge.
Fig. 6. }
Fig. 7. 24 Stunden alte Colonie des *A. thermophilus*.
Fig. 8a-d. Sporenbildung im hängenden Bouillontropfen (*A. thermophilus*).
Fig. 9. 24 Stunden alte Colonie des *A. farcinicus*.
Fig. 10. Zerfall des Mycels in Fragmente durch Verdauungsflüssigkeit beim *A. farcinicus*.
Fig. 11. Stäbchen und verzweigte Formen von einer 1 Tag alten *Farcinicus*-cultur auf Agar. (Gram'sche Färbung.)
Fig. 12. Colonie des *A. farcinicus* aus Bouillon, 36 Stunden alt, im Zerfall begriffen. (Gram'sche Färbung.)
Fig. 13. Schnitt durch eine Kartoffelcultur des *A. thermophilus* mit Sporenbildung an der Oberfläche. (Gram'sche Färbung.) Etwas schematisirt. Die beiden unteren Kartoffelzellen gehören einer seitlichen Partie des Präparates an.
Fig. 14. Färbung der Sporen vom *A. thermophilus* nach Ziehl-Neelsen.
-