[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)

Über die Bedeutung und das Vorkommen der Muchschen Granula.

Von

Privatdozent Dr. med. **D. O. Krylow,**
klinischem Assistenten der Kaiserl. militär-medizinischen Akademie zu St. Petersburg.

Im Jahre 1907 veröffentlichte Much seine interessanten Beobachtungen über eine nach Ziehl nicht färbbare, aber nach der modifizierten Gram-Methode darstellbare virulente Form des Tuberkelbacillus. Morphologisch tritt sie in zwei Formen auf, entweder in der Form eines teilweise granulierten Stäbchens oder in der Form von Granula, die bald vereinzelt, bald in unregelmäßigen Häufchen angeordnet sind. Diese letztere Form nannte Much die granuläre.

Die Muchschen Untersuchungen erregten großes Interesse, da das Fehlen von Tuberkelbazillen bei gewöhnlicher Färbung nach Ziehl schon lange bekannt war in Fällen, die klinisch deutlich das Bild der Tuberkulose boten oder diese Diagnose durch den positiven Ausfall des Tierversuches rechtfertigten. So kennen wir z. B. das Fehlen von Tuberkelbazillen im Eiter der kalten Abszesse, das intermittierende Verschwinden derselben aus dem Sputum der Phthisiker usw. Es ist daher nicht wunderbar, daß nach der Veröffentlichung der Muchschen Beobachtungen eine ganze Reihe von Arbeiten erschien, die sowohl die Nachprüfung der Muchschen Befunde, als auch die diagnostische Bedeutung der Muchschen Granula zum Gegenstande hatten. Zu diesem Zwecke wurden Organe tuberkulöser Tiere und Menschen, Sputum, Urin, Reinkulturen, kurz Ausgangsmaterial der verschiedensten Herkunft untersucht. Die

meisten Autoren (Michaelidès, Treuholz, Wirths, Weiss, Wehrauch, Wehrli und Knoll u. a.) konnten bestätigen, daß die von Much beschriebene Form in der Tat existiert. Darüber jedoch, ob sie ein gewisses Stadium der Entwicklung oder eine Degenerationsform des Tuberkelbacillus darstellt, gingen die Meinungen auseinander. v. Behring hält die Muchsche granuläre Form für ein durch bakteriolytische Einflüsse erzeugtes Zerfallsprodukt, Geipel für eine degenerative Form. Much selbst sieht in den von ihm beschriebenen Granula eine sehr resistente Entwicklungsform. Den Entwicklungsgang des Tuberkelbacillus stellt er sich so vor, daß im käsigen, von der Ernährung mehr oder weniger abgeschnittenen tuberkulösen Gewebe oder im tuberkulösen Eiter die Säurefestigkeit des Tuberkelbacillus beeinträchtigt wird, wobei der Bacillus in nur nach Gram darstellbare Körner zerfällt. Gelangen diese Körner auf irgend welche Weise wiederum in die Zirkulation oder in gesundes Gewebe, so entstehen aus ihnen nur nach Gram färbbare Stäbchen; hier werden diese mit Fettsäuresubstanz imprägniert und dadurch wieder säurefest.

An einer anderen Stelle (s. Vortrag vom 18. I. 1908) spricht sich Much dahin aus, daß der im Vergleich zu dem menschlichen Tuberkelbacillus virulentere Perlsuchtbacillus zum Schutze seiner Pathogenität eine säurefeste Hülle nicht nötig habe. Beim Vergleich dieser Annahme mit der weiter oben angeführten bezüglich des Entwicklungsganges des Tuberkelbacillus kann hier ein gewisser Widerspruch nicht entgehen: man müßte dann auch annehmen, daß beispielsweise der im Eiter des kalten Abszesses oder in der verkästen Drüse, d. h. unter ungünstigen Ernährungsbedingungen befindliche Bacillus in solchem Maße an Virulenz zunimmt, daß er eines Schutzes seiner pathogenen Eigenschaften nicht mehr bedarf und seine säurefeste Hülle als eine nunmehr überflüssige abwirft.

Liebermeister hält die nach Gram färbbaren Granula für einen normalen Bestandteil des Tuberkelbacillus. Und in der Tat zeigen seine Untersuchungen, daß das, was bei den Ziehlschen Präparaten in Form solider Stäbchen, unter denen nur wenige granuliert sind, beobachtet wird, bei den Gramschen Präparaten durchweg aus bald vereinzelt, bald reihenweise liegenden Körnern besteht. Bei kombinierter Färbung mit Fuchsin und Methylviolett sind rote Bazillen mit violetten Körnchen sichtbar (Wehrli und Knoll, Weiss u. a.). Übrigens haben bereits i. J. 1886 Lutz und Unna die modifizierte Gram-Methode zur Färbung von Tuberkel- und Leprabazillen angewandt und dabei gefunden, daß jeder säurefeste Bacillus bei derartiger Behandlung sich in Form reihenweise angeordneter Granula darstellt. Ferner hat — worauf Caan die Aufmerksamkeit gelenkt hat — im Jahre 1889 Herman bei Anwendung

einer Farbmischung von 1 prozentiger Ammonium-Karbonatlösung in destilliertem Wasser und 3 prozentiger Krystallviolettlösung in 95 prozent. Methylalkohol das Vorhandensein von teilweise granulierten Tuberkelbazillen in einem Falle von kongenitaler Tuberkulose beim Kalb nachgewiesen, wo das Resultat der Untersuchung bei gewöhnlicher Färbung negativ war.

Die Ansichten über die diagnostische Bedeutung der Muchschen Form gehen gleichfalls auseinander. Aus leicht begreiflichen Gründen wurde der Muchschen Form in erster Linie Wert beigelegt insofern, als sie im Sputum, wo die Ziehlsche Methode versagt, nachgewiesen werden kann. Dabei haben sich die Mehrzahl der Autoren in dem Sinne ausgesprochen, daß die einzelnen Granula eine diagnostische Bedeutung nicht haben können; denn man kann sie leicht mit Farbstoffniederschlägen, Partikelchen des Pigments, Detritus oder Kokken verwechseln (Schottmüller, Wolff, Eisenberg, Dold u. a.). Eine Vorbehandlung des Sputums mit Antiformin (Weihrauch) beseitigt diese Möglichkeit der Verwechslung nicht vollständig. Im Gegensatz zu den genannten Autoren nimmt Schulz an, daß es bei einiger Übung nicht schwierig ist, die granuläre Form des Tuberkelbacillus von Kokken, Farbstoffniederschlägen und dergleichen zu unterscheiden. Liebermeister hält nicht die einzelnen Granula, die sich von den anderen Bestandteilen des Präparates nur schwer unterscheiden lassen, für beweisend, vielmehr nur die kettenartig in Stäbchenform angeordneten Körner. Weiter findet er, daß dort, wo neben Tuberkelbazillen andere grampositive Mikroorganismen vorhanden sein können, d. h. im Sputum oder in alten Zerfallsherden, die Färbung nach Gram zum Beweise der Anwesenheit von Tuberkelbazillen nicht angewandt werden kann.

Aus denselben Gründen ist diese Methode zu dem erwähnten Zwecke bei Untersuchung von Kot und dergleichen nicht geeignet. Nach Schottmüller kann aber die Gram-Methode gute Dienste leisten bei der Untersuchung von Flüssigkeiten der Körperhöhlen (pleuritischen Exsudaten, Spinalflüssigkeit und Harn).

Auch die chemische Natur der nach Gram färbbaren Granula der Tuberkelbazillen ist noch nicht geklärt. Much äußerte sich in vorsichtiger Weise dahin, daß der Tuberkelbacillus offenbar aus zwei verschiedenen Substanzen bestehe, von denen eine nach Ziehl, die andere nach Gram darstellbar sei. Wirths hat auf Grund seiner und der Deyckeschen Untersuchungen — und ihm schloß sich hierin Weiss an — sich dahin geäußert, daß die nach Gram färbbaren Granula aus Eiweißsubstanzen bestehen, während der Bazillenleib der Gruppe der Fette oder Wachse zuzurechnen sei.

Aus dieser kurzen Literaturübersicht geht hervor, daß über die nach Gram färbbaren Granula des Tuberkelbacillus noch nicht das letzte Wort gesprochen ist. Im besonderen muß bezüglich der Muchschen granulären Form bemerkt werden, daß es nicht einmal allen Autoren, die in dieser Richtung gearbeitet haben, gelungen ist, dieselbe zu konstatieren (Dold), was übrigens aller Wahrscheinlichkeit nach von Besonderheiten des untersuchten Materials abhing. Zur weiteren Klärung dieser für die praktische Tuberkulosedagnostik wichtigen Frage nahm ich den mir im Königl. Institut für Infektionskrankheiten gemachten Vorschlag, hierüber Untersuchungen anzustellen, gern an.

Als Material für meine Untersuchungen, die ich auf Anregung und unter Beihilfe des Hrn. Stabsarztes Dr. Möllers ausgeführt habe, dienten mir Reinkulturen der Tuberkelbazillen sowohl vom Typus humanus als auch vom Typus bovinus, die auf Glycerinbouillon verschieden lange Zeit bis zu 3 Monaten gewachsen waren, ferner getrocknete Bazillen verschiedenen Alters, bis zu 10jährigen einschließlich, durch Alkohol und Erwärmen abgetötete Tuberkelbazillen, verschiedene säurefeste Bazillen (Agarkulturen), Organe tuberkulöser Tiere (Meerschweinchen und Kaninchen), Sputum Lungenkranker, auf verschiedene Weise entfettete Tuberkelbazillen, ferner aus ihnen extrahierte Fette bzw. Wachsarten.

Was die Methodik anbetrifft, so möchte ich kurz erwähnen, daß ich folgende beiden Färbemethoden anwandte:

Gram-Methode II.

Methylviolett B. N., 10^{cem} gesättigte alkoholische Lösung in 100^{cem} 2prozent. Karbolwasser (Aufkochen über der Flamme oder 24 bis 48 Stunden bei 37°).

Jodjodkaliumlösung	1—5 Minuten,
5 prozent. Salpetersäure	1 Minute,
3 prozent. Salzsäure	10 Sekunden,
Acetonalkohol (aa).	

Gram-Methode III.

Methylviolett B. N. (Lösung wie oben), Aufkochen oder längere Zeit bei 37°, Jodkalium-Wasserstoffsuperoxydlösung (5^{grm} Jodkalium, 100^{cem} 2prozent. H₂O₂) bis 2 Minuten, Alkohol absolut.

Einen Unterschied zwischen beiden Methoden konnte ich nicht wahrnehmen. Für die Kontrastfärbung benutzte ich bei der Ziehlschen Methode Methylenblau, bei der modifizierten Gram-Methode Bismarckbraun; bei Untersuchung von Reinkulturen wurde eine Gegenfärbung nicht immer gemacht. Stets wandte ich neben der Ziehlschen und der modifizierten Gram-Methode eine kombinierte Färbung mit einer Mischung von Karbolfuchsin (3 Teile) und Karbolmethylviolett B. N. (1 Teil) nach Weiss an. Die Karbolmethylviolettlösung wurde stets unmittelbar vor der Färbung hergestellt. Alle Farbstofflösungen wurden vor dem Gebrauch filtriert.

Bei Untersuchung von Tuberkelbazillenkulturen beider Typen, von getrockneten Bazillen verschiedenen Alters, sowie von durch Erwärmen oder durch Alkohol abgetöteten Tuberkelbazillen erhielt ich immer ein und dasselbe Bild. In den Ziehlschen Präparaten zeigt sich das Gesichtsfeld mit soliden roten Stäbchen besät, und nur ausnahmsweise findet man granuläre Bazillen. Dagegen sind in den Gram-Präparaten solide Stäbchen nur ausnahmsweise darstellbar, während die Mehrzahl der Bazillen sich aus reihenweise in Stäbchenform angeordneten Körnchen zusammensetzt. Diese liegen entweder frei oder sie sind miteinander durch die kaum bemerkbare hellviolette oder hellgraue Substanz des Bazillenleibes verbunden. Bei einzeitiger Doppelfärbung mit Fuchsin und Methylviolett erhält man sehr gute Bilder: die violetten Körner liegen innerhalb der hellrosa gefärbten Bazillen. Die Körnerzahl in einem Bacillus schwankt zwischen 1 und 5; nur selten finden sich mehr. Die Richtung der Körnerlagerung zeigt nicht immer die Lage der Bazillen an: ich hatte Gelegenheit bei Doppelfärbung zu sehen, wie 2 oder 3 parallel und dicht beieinander liegende Bazillen nur je ein Granulum aufwiesen, das sich bei jedem Bacillus an dem gleichen Ende befand.

Zur Doppelfärbung nahm ich nach Weiss 3 Teile Karbolfuchsin und 1 Teil Karbolmethylviolett, goß diese Mischung durch ein Filter auf das Präparat und hielt es 3 Minuten über die Flamme, ohne es jedoch zum Kochen zu bringen. Weiter folgte die Jodierung usw., mit einem Wort die Behandlung nach der modifizierten Gram-Methode II oder III. Die Granula erwiesen sich hierbei dunkelviolett, wie bei gewöhnlicher modifizierter Gram-Methode, der Bazillenleib dagegen hellrot, und zwar bedeutend heller als bei der Ziehlschen Färbung. Dieser letztere Umstand bedarf einer Erläuterung.

Man muß annehmen, daß die Granula sowohl zu Methylviolett, als auch zu jodierter Verbindung dieses Pararosanilins eine sehr große Affinität haben, zu Fuchsin dagegen überhaupt keine oder nur eine sehr geringe.

Der Bazillenleib hat gleichfalls eine große Affinität zu Methylviolett, und zwar eine größere als zu Fuchsin, so daß bei Färbung mit einer Mischung von Fuchsin und Methylviolett der letztere Farbstoff vom Bazillenleib in bedeutend größerer Quantität aufgenommen wird als der erstere. Die jodierte Verbindung von Methylviolett wird dagegen vom Bazillenleib überhaupt nicht festgehalten im Gegensatz zu den Granula, die dies in sehr hohem Maße tun. Infolgedessen erscheinen nach der Jodierung die Granula dunkelviolet, der Bazillenleib aber schwach rosa gefärbt.

Dieses Bild läßt sich durch eine Verdünnung des Fuchsin nicht erklären; denn dann müßten die Granula bei Doppelfärbung des Präparates mit Fuchsin und Methylviolett schwächer gefärbt sein als bei einer Färbung mit Methylviolett allein nach der modifizierten Gram-Methode. Im ersteren Falle ist ja das Methylviolett 4 mal verdünnt. Tatsächlich erscheinen aber, wie oben ausgeführt ist, die Granula bei Färbung mit der Weisschen Mischung durchaus nicht schwächer gefärbt als bei Färbung mit Methylviolett allein nach der Gram-Methode II oder III.

Wenn man das Präparat nach der Doppelfärbung auf gewöhnlichem Wege nach Ziehl umfärbt, erhält man dasselbe Bild wie bei dem gewöhnlichen Ziehlschen Präparat: sichtbar sind allein die gut gefärbten roten Bazillen, während die violette Granulierung verschwindet bzw. verdeckt ist.

Hieraus ergibt sich mit Sicherheit, daß sich der Unterschied in der Färbung nicht durch Verdünnung, sondern durch verschiedene Affinität des Bazillenleibes und der Granula zu Fuchsin und Methylviolett einerseits und zu der jodierten Verbindung des letzteren anderseits erklärt; es müssen daher in den nach Gram färbbaren Granula und dem nach Ziehl färbbaren Bazillenleib verschiedene chemische Stoffe enthalten sein.

Bei Färbung nach der modifizierten Gram-Methode erscheinen nicht nur die Tuberkelbazillen granuliert, es kommt vielmehr diese Eigenschaft, worauf schon früher Lutz und Unna hingewiesen haben, offenbar allen säurefesten Bakterien zu. Ich untersuchte Agarkulturen des *Timotheebacillus*, des *Grasbacillus* und des *Milchbacillus* und erhielt ebensolche Bilder, wie bei der Untersuchung der Tuberkelbazillen: bei Färbung nach Ziehl rote Bazillen, bisweilen mit einem endständigen oder in der Mitte liegenden Granulum; bei Färbung mit der Weisschen Mischung hellrote Bazillen mit violetten Granula.

Ein etwas anderes Bild zeigen ganz junge Tuberkulosekulturen (2 bis 7 tägige) oder auch ältere, wenn man zur Untersuchung den auf flüssigem Nährboden am äußersten Rande befindlichen, sich als dünnes Häutchen darstellenden (d. h. den jüngsten) Teil entnimmt. Ich möchte an dieser Stelle noch bemerken, daß die Tuberkelbazillenkulturen vom Typus *bovinus* sich für diese Zwecke wenig eignen, da sie im Vergleich zum Typus

humanus langsamer wachsen und ein für das unbewaffnete Auge kaum bemerkbares Häutchen an der Peripherie haben.

Die erste Besonderheit der jungen Kulturen besteht darin, daß sie im Vergleich zu den ausgewachsenen weniger säurefest sind und sich überhaupt schlecht färben. Wenn man also das Ziehlsche Präparat mit Methylenblau färbt (Gegenfärbung), so zeigt sich, daß neben den roten in jedem Gesichtsfelde eine Menge blauer, jedoch sehr schwach gefärbter Stäbchen sichtbar ist. Besser färben sich diese Stäbchen mit Bismarckbraun, wie dies auf den Gram-Präparaten, die zur Kontrastfärbung mit diesem letzteren Farbstoff gefärbt sind, zu sehen ist.

Als zweite Besonderheit der jungen Kulturen stellt sich der Polymorphismus des Tuberkelbacillus dar. Der letztere hat bei der Färbung nach Ziehl eine ziemlich mannigfache Form: bald sind Stäbchen von gewöhnlicher Länge, bald Splitter sichtbar; ein anderes Mal findet man Stäbchen mit keulenförmiger Verdickung an einem Ende (ein Granulum enthaltend) und einer Verdünnung an ihrem anderen Ende, wobei der ganze Bacillus gekrümmt erscheint (Kommaform); bald befindet sich die das Granulum enthaltende Verdickung gerade in der Mitte (Spindelform); ebenso kommen auch Stäbchen vor mit zwei Granula, je eines an jedem Ende, wobei das eine gewöhnlich größer ist als das andere. Auch mehr als zwei Granula finden sich in einem Stäbchen. Die Granula erscheinen bei Ziehlscher Färbung meist gesättigt rot, während der übrige Teil des Bacillus nur eine schwache Färbung aufweist.

In den Gramschen Präparaten ist dieser Polymorphismus ebenfalls deutlich sichtbar. Hier ist das Bild im allgemeinen das gleiche, wie in den Ziehlschen Präparaten; nur ist die Granulierung eine reichere. Es sind hier ebenfalls solide (violette) Stäbchen von verschiedener Länge, Splitter, verschieden große, bald reihenweise, bald vereinzelt liegende Granula sichtbar. Hier und da liegen die Granula sehr dicht, perlen-schnurartig. Bei Kontrastfärbung mit Bismarckbraun treten viele hellbraune Stäbchen hervor, von denen einige feinste violette Granula enthalten. Weiter zeigt sich, daß einige bis dahin splitterförmige Bazillen jetzt länger erscheinen, da auch jener Teil des Bazillenleibes sichtbar wird, der ohne Kontrastfärbung nicht zu sehen war. Der violett gefärbte Bazillenteil liegt entweder in dessen Mitte oder an einem seiner Enden. Im letzteren Falle besteht der Bacillus gleichsam aus zwei Hälften: einer violetten und einer braunen.

Bei Färbung mit der Weisssschen Mischung erhält man ein Bild, das sich von dem bei der modifizierten Gramfärbung wenig unterscheidet, da hier die Färbung mit Fuchsin oft gar nicht hervortritt. Dieses ist auch selbstverständlich, wenn man das Fehlen der Säurefestigkeit bei

jungen Tuberkelbazillen und die größere Affinität der Tuberkelbazillen zu Pararosanilin überhaupt in Betracht zieht.

Wenn man ein mit der Weisssschen Mischung gefärbtes Präparat außerdem noch mit Bismarckbraun färbt, so erhält man ein völlig gleiches Bild wie bei der Färbung mit der modifizierten Gram-Methode mit nachträglicher Färbung mit Bismarckbraun. Hier lassen sich gleichfalls hellbraune Bazillen mit violetten Granula von verschiedener Größe konstatieren.

Diese Beobachtungen an jungen Kulturen berechtigen zu folgenden Schlußfolgerungen:

Erstens: Sehr junge Tuberkelbazillen färben sich weder nach Ziehl, noch nach Gram, worauf das Vorhandensein einer beträchtlichen Menge von Bazillen hindeutet, die im Ziehlschen bzw. Gramschen Präparate die Nachfärbung mit Methylenblau und Bismarckbraun annehmen.

Zweitens zeigt sich die grampositive Substanz im Tuberkelbacillus früher als die säurefeste; hierauf kann man aus der Anwesenheit brauner Bazillen mit violetten Granula in den Weisssschen Präparaten bei Kontrastfärbung mit Bismarckbraun und aus dem beständigen Fehlen der soliden rot gefärbten, aber keine violetten Granula enthaltenden Bazillen schließen.

Wie weiter oben ausgeführt ist, stellt sich die grampositive Substanz der reifen Tuberkelbazillen fast ausschließlich in Körnerform dar, während sie bei den jungen Bazillen ein verschiedenes Aussehen hat: bald hat sie die Form von kleinen oder großen Granula, bald ist ein mehr oder weniger großer Teil des Bacillus oder der ganze Bacillus grampositiv gefärbt. In dieser Hinsicht besteht zwischen der grampositiven und der säurefesten Substanz ein großer Unterschied: die letztere bedingt, daß bei jungen Bazillen entweder die Granula oder ein größerer oder kleinerer Teil des Bacillus mit Fuchsin intensiv gefärbt erscheinen, während der übrige Teil des Bacillus mit Fuchsin nur sehr schwach gefärbt wird; verhältnismäßig wenige Bacillen nehmen in ihrer ganzen Länge eine gute Fuchsinfärbung an. Reife Bazillen erscheinen dagegen im allgemeinen gut und gleichmäßig gefärbt.

Somit neigt je nach dem Reifestadium des Tuberkelbacillus seine säurefeste Substanz mehr und mehr zur diffusen Verbreitung, während die grampositive sich in Granula konzentriert.

Bezüglich der chemischen Natur der säurefesten und grampositiven Substanz der Tuberkelbazillen ist noch keine Einigung unter den Autoren erzielt. Die Mehrzahl führt die säurefeste Substanz der Tuberkelbazillen auf Fette zurück. R. Koch schreibt die Säurefestigkeit den freien Fett-

säuren zu. Nach Fontes nehmen an dem Zustandekommen der Säurefestigkeit Eiweißkörper teil, nach Helbing chitinähnliche Stoffe; Aronson hält die säurefeste Substanz der Tuberkelbazillen für Wachs; Weiss dagegen hält diese Behauptung für irrig. Deycke führt die Säurefestigkeit auf die Fettsubstanz zurück. Er meint, daß die Muchschen Granula aus Eiweißkörpern und Neutralfett bestehen, während Wirths und Weiss sie nur für Eiweißkörper ansehen. Nach Aronson läßt sich die Substanz der grampositiven Granula mittelst derselben Flüssigkeit (Trichloräthylen) extrahieren, mit welcher auch die sogenannte säurefeste Substanz vollständig extrahiert werden kann.

Ich machte in dieser Beziehung einige Untersuchungen und benutzte dazu den reichen Vorrat an entfetteten Bazillen und an den aus den Tuberkelbazillen durch verschiedene Flüssigkeiten (Alkohol, Äther, Chloroform und einer salzsauren Alkol-Äthermischung nach Aronson) extrahierten sogenannten Fetten, die im Institut bei Gelegenheit von früheren Untersuchungen über die chemische Struktur der Tuberkelbazillen hergestellt waren.

Der kalte Alkohol entfettet offensichtlich am schlechtesten, besser siedender Alkohol, Äther und Chloroform; noch wirksamer erfolgt die Entfettung durch die salzsaure Alkohol-Äthermischung.

In den Ziehlschen Präparaten, die aus den erhaltenen Fettextrakten angefertigt wurden, sind in der Regel rote amorphe Massen sichtbar. Die Intensität der Färbung ist am schwächsten bei den durch kalten Alkohol extrahierten, am stärksten dagegen bei den durch die Aronsonsche Flüssigkeit erhaltenen Fetten.

In den Gramschen Präparaten sind dieselben Massen sichtbar, nur violett gefärbt. Die Intensität der Färbung geht parallel der bei den Ziehlschen Präparaten.

Bei Untersuchung der durch kalten Alkohol entfetteten Bazillen beobachtet man in den Ziehlschen Präparaten in ziemlich beträchtlicher Menge teilweise rot gefärbte Stäbchen, in den Gramschen Präparaten reihenweise angeordnete violettschwarze Granula.

Bei Untersuchung der durch andere Flüssigkeiten, besonders die Aronsonsche, entfetteten Bazillen sind weder rote Stäbchen noch Granula sichtbar, und die Präparate färben sich im allgemeinen weder nach Ziehl, noch nach Gram, sondern nur mit Methylenblau und Bismarckbraun (Gegenfärbung).

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich, daß die grampositiven Granula der Tuberkelbazillen sich in keinem Falle auf Eiweiß zurückführen lassen, da ihre Substanz durch dieselben Flüssigkeiten extrahiert wird, durch welche die Fette, aber nicht das Eiweiß der Bazillen extrahiert werden.

In den (z. B. nach Aronson) entfetteten Bazillen sind die Granula bei Anwendung der gewöhnlichen Gramfärbung schon nicht mehr sichtbar; man findet sie auch nicht in Präparaten aus den Extrakten der Bazillen, während sich diese Präparate nach der modifizierten Gram-Methode färben, wobei sie amorphe violette Massen bzw. eine grampositive Substanz erkennen lassen.

Es verdient Erwähnung, daß die zermahlenen Tuberkelbazillen sich nach meinen Untersuchungen ebenfalls weder nach Gram, noch nach Ziehl färben.

Zum Schluß noch einige Bemerkungen über die Resultate der Untersuchung des übrigen von mir benutzten Materials.

Von den Organen der tuberkulösen Tiere (zum größten Teil Meer-schweinchen und zum geringeren Kaninchen) entnahm ich zur Untersuchung die Milz, Leber, Lunge, doch hauptsächlich verkäste Drüsen (vornehmlich Leistendrüsen) und fertigte Ausstrichpräparate an.

Bei den Ziehlschen Präparaten erhielt ich ein verschiedenes Bild: bald waren gut gefärbte rote, teils granuliert Bazillen sichtbar, bald war die Färbung der letzteren sehr schwach, so daß die rote Farbe der Bazillen kaum wahrnehmbar war; in einigen Präparaten waren Tuberkelbazillen überhaupt nicht nachweisbar.

In den Gramschen Präparaten ließen sich entweder schattenhafte hellviolette Bazillen mit dunkelvioletten Granula oder nur letztere, bald vereinzelt, bald reihenweise angeordnet, oder solide violette Stäbchen oder auch keine Bazillen und Granula konstatieren.

In den Weisssschen Präparaten erhielt man verhältnismäßig selten hellrosa gefärbte Bazillen mit violetten Granula; gewöhnlich waren violette granuläre oder solide Bazillen sichtbar, während von einer Fuchsinfärbung überhaupt nichts nachweisbar war.

Bei Vergleichung der Ziehlschen Präparate mit den Gramschen ergibt sich folgendes: In einigen Präparaten ist die Zahl der Tuberkelbazillen annähernd die gleiche; häufiger jedoch sind die Gramschen Präparate reicher an Bazillen als die Ziehlschen. Nur in einem Falle wurde das Umgekehrte beobachtet. Bei einem Viertel aller untersuchten Organe (24) ergab die Gramsche Färbung ein positives Resultat, wo die Ziehlsche versagte; in zwei Fällen war es umgekehrt; in zwei Fällen endlich ergab sowohl die Gramsche wie auch die Ziehlsche Methode ein negatives Resultat. Hieraus folgt, daß die modifizierte Gram-Methode ohne Zweifel dort Dienste erweisen kann, wo die Ziehlsche ein positives Resultat vermissen läßt.

Ich möchte hinzufügen, daß ich nur das Vorhandensein reihenweise angeordneter Granula für einen positiven Befund bei der Untersuchung der Gramschen Präparate halte; denn vereinzelt liegende Granula lassen sich von eventuellen Farbstoffniederschlägen usw. nur schwer unterscheiden.

Erwähnt sei hier noch die Untersuchung des Eiters, welcher bei einem subkutan mit Tuberkelbazillen vom Typus humanus geimpften Kaninchen aus dem Impfabzess entnommen war. Bei der Sektion erwies sich das Tier frei von Tuberkulose, während im Inhalt des erwähnten Abszesses grampositive reihenweise, wie auch vereinzelt angeordnete Granula gefunden wurden; die Ziehlschen Präparate ergaben in diesem Falle ein negatives Resultat.

Bei Untersuchung des Sputums von 16 Lungenkranken erhielt ich in 5 Fällen ein sowohl nach Ziehl als auch nach Gram positives Ergebnis, wobei in diesen wie jenen Präparaten die Zahl der Bazillen annähernd gleich war. In 9 Fällen war das Resultat negativ nach Gram, wie auch nach Ziehl. In einem Falle wies das Ziehlsche Präparat einen größeren Bazillenreichtum auf als das Gramsche; in einem anderen Falle war es umgekehrt.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen lassen sich in folgender Weise zusammenfassen:

1. Junge Tuberkelbazillen färben sich weder nach Ziehl noch nach Gram.
2. Die grampositive Substanz des Tuberkelbacillus tritt während des Wachstums früher auf als die säurefeste.
3. Die grampositive Substanz hat die Neigung, sich in Granula zu konzentrieren, die säurefeste dagegen sich diffus über den Bazillenleib hin zu verbreiten.
4. Bei Färbung nach der modifizierten Gram-Methode zeigt es sich, daß nicht nur die Tuberkelbazillen, sondern auch andere säurefeste Bazillen aus Granula bestehen.
5. Nach ihrer chemischen Struktur gehören die grampositiven Granula der Tuberkelbazillen nicht zur Gruppe der Eiweißkörper.
6. Die von Much modifizierte Gram-Methode kann unter Umständen bei Färbung des Tuberkelbacillus ein positives Resultat dort geben, wo die Ziehlsche Methode versagt.

Literatur-Verzeichnis.

1. H. Aronson, Zur Biologie der Tuberkelbazillen. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1910. Nr. 35. S. 1617.
2. E. v. Behring, Beitrag zur Lehre von den Infektionswegen der Tuberkulose. *Tuberkulosis.* 1907. Vol. VI. p. 423.
3. A. Caan, Vergleichende Untersuchungen über neuere Methoden der Tuberkelpilzfärbung. *Centralblatt für Bakteriologie.* I. Abt. Orig. 1909. Bd. II.
4. G. Deycke, Zur Biochemie der Tuberkelbazillen. *Münch. med. Wochenschr.* 1910. Nr. 12.
5. G. Deycke u. H. Much, Untersuchungen über endobazilläre Eiweißkörper. *Med. Klinik.* 1908. Nr. 40.
6. H. Dold, Über neuere Methoden der Färbung des Tuberkelbacillus, mit besonderer Berücksichtigung ihrer differential-diagnostischen Bedeutung. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1911. Bd. XXXVI. S. 435.
7. P. Ehrlich, Beiträge zur Theorie der Bazillenfärbung. *Charité-Annalen.* Jahrg. XI. S. 123. — Zitiert nach H. Dold.
8. A. Fontes, Untersuchungen über die chemische Natur der den Tuberkelbazillen eigenen Fett- und Wachsarten und über das Phänomen der Säureresistenz. *Centralblatt für Bakteriologie.* Orig. 1909. Bd. II. S. 317.
9. S. Fuchs-Wolfring, Die Muchschen „Granula“ und die Carl Spenglerschen „Splitter“. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 1908. Bd. X. S. 175 bis 182.
10. Geipel, Über die granuläre Form des Tuberkelbacillus. *Münchener med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 22.
11. Hatano, Über kombinierte Färbungsmethoden für Tuberkelbazillen. *Berl. klin. Wochenschrift.* 1909. Nr. 37.

12. Helbing, Erklärungsversuch für die spezifische Färbbarkeit der Tuberkelbazillen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900.
13. R. Koch, Die Ätiologie der Tuberkulose. *Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. II. S. 12.
14. E. Leschke, Über die granuläre Form des Tuberkulosevirus. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1911. Bd. LIX. S. 366.
15. Liebermeister, Über die nach Ziehl nicht darstellbare Form des Tuberkelbacillus. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 28.
16. A. Lutz, Zur Morphologie usw. *Dermatologische Studien*, herausgegeben von P. Unna. Hamburg 1886. Hft. 1. — Zit. nach H. Dold.
17. N. A. Michaelidès, Über eine durch die Ziehlfärbung nicht darstellbare Form des Tuberkelbacillus. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 1907. Bd. VIII. S. 79.
18. H. Much, Über die granuläre, nach Ziehl nicht färbbare Form des Tuberkulosevirus. *Ebenda.* 1907. Bd. VIII. S. 85.
19. Derselbe, Über die nicht säurefesten Formen des Kochschen Tuberkelbacillus. *Ebenda.* 1907. Bd. VIII. S. 357.
20. Derselbe, Die nach Ziehl nicht darstellbaren Formen des Tuberkelbacillus. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1908. Nr. 14. S. 691.
21. Derselbe, Granula und Splitter. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 1908. Bd. XI. S. 67.
22. S. Rosenblatt, Vergleichende Untersuchungen über neuere Färbungsmethoden der Tuberkelbazillen nebst einem Beitrag zur Morphologie dieser Mikroorganismen. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. LVIII. S. 173.
23. Derselbe, Erwiderung auf die vorstehende (Leschkes) Arbeit. *Ebenda.* 1911. Bd. LIX.
24. Schottmüller, Über die klinische Bedeutung der nicht nach Ziehl, sondern nach Gram färbbaren Wuchsform des Tuberkulosevirus. *Münchener med. Wochenschrift.* 1908. Nr. 49. S. 2564.
25. E. Schulz, Über die granuläre Form des Tuberkulosevirus im Lungenauswurf. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 36.
26. C. Spengler, Über Splittersputa Tuberkulöser. *Diese Zeitschrift.* 1905. Bd. II. S. 541.
27. Derselbe, Neue Färbemethoden für Perlsucht- und Tuberkelbazillen und deren Differentialdiagnose. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1907. Nr. 9. S. 337.
28. Treuholz, Form of tubercle bazils, which cannot be coloured by Ziehl. *Medical Record.* 1908. Jan. 11. — Zit. nach Dold.
29. E. Wehrli und W. Knoll, Über die nach Much färbbare Form des Tuberkulosevirus. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 1909. Bd. XIV. S. 135.
30. Weihrach, Beitrag zur Färbung der Tuberkelbazillen und Granula im Sputum. *Zeitschrift für Tuberkulose.* 1909. Bd. XIV.
31. A. Weiss, Über den Gehalt käsig-kreidiger Lymphdrüsen an Tuberkelbazillen. *Münchener med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 9. S. 443.
32. Derselbe, Zur Morphologie des Tuberkulosevirus unter besonderer Berücksichtigung einer Doppelfärbung. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1909. Nr. 40.

33. M. Wirths, Über die Muchsche granuläre Form des Tuberkulosevirus. *Münchener med. Wochenschrift*. 1908. Nr. 32. S. 1687.
34. Derselbe, Die Muchschen „Granula“ und die Carl Spenglerschen „Splitter“. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose*. 1908. Bd. XI. S. 73.
35. P. Wolff, Über latentes Vorkommen der Muchschen Form des Tuberkelbacillus. *Münchener med. Wochenschrift*. 1909. Nr. 45. S. 2312.
36. F. Ziehl, Zur Lehre von den Tuberkelbazillen, insbesondere über deren Bedeutung für Diagnose und Prognose. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1883. Nr. 5. S. 62.
-