[Aus dem hygienischen Institut zu Berlin.]

Die pathogenen Mikroorganismen des Speichels.

Von

Dr. D. Biondi.

(Hierzu Taf. I.)

Seit den Untersuchungen von Lannelongue und Raynaud haben die infectiösen oder toxischen Eigenschaften des menschlichen Speichels den Gegenstand verschiedener Studien gebildet. Es ist bekannt, dass die genannten Forscher nach der Einspritzung von Speichel eines an Hundswuth erkrankten Mannes bei Kaninchen dieselbe Krankheit hervorgerufen zu haben glaubten. Fernere Beobachtungen erwiesen aber diese Anschauung als falsch und lehrten uns, dass auch schon durch Injectionen vom Speichel gesunder Menschen, d. h. von Mundflüssigkeit, welche in normaler Weise von Mikroorganismen durchsetzt ist, bei Thieren manchmal infectiöse Erkrankungen herbeigeführt werden. Welche unter den vielen Mikroorganismen, die in der normalen Mundflüssigkeit vorhanden sind, pathogen wirken, mit welcher Häufigkeit diese Mikroorganismen gefunden werden, unter welchen Bedingungen sie ihren Einfluss geltend machen und für welche Thiere sie giftig sind, alle diese Fragen sind bis heute noch unerledigt und warten der Erörterung.

Die nachfolgende Arbeit stellt sich die Aufgabe, einigen dieser Fragen näher zu treten.

Von 50 verschiedenen gesunden und kranken Individuen habe ich Speichel gesammelt und denselben Thieren mit sterilisirten Spritzen theils subcutan, theils in die Körperhöhlen oder in die Blutgefäße injicirt. Die

Quantität des eingespritzten Speichels war eine verschiedene: je nach den Thieren, der Grösse und dem Alter derselben benutzte ich gewöhnlich Mengen von $\frac{1}{2}$ bis 2 ^{cem.}¹

Den Experimenten wurden in der Regel Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse unterzogen, nur in seltenen Fällen Hunde.

Nach der Einspritzung blieb die Mehrzahl der Thiere am Leben, und zwar bisweilen ohne, bisweilen mit vorübergehenden Krankheitserscheinungen, während andere nach einem sehr verschiedenen Zeitraum zu Grunde gingen. Wenige andere endlich zeigten nur locale Erscheinungen.

Von den gestorbenen Thieren wurde fast immer unmittelbar nach dem Tode die Section mit den nothwendigen Vorsichtsmaassregeln unternommen: nachdem zuerst durch rasch angefertigte Trockenpräparate die Anwesenheit der Bakterien im Blut und in den Organsäften festgestellt war, wurden die bekannten Züchtungsmethoden zur Anwendung gebracht, um die vorhandenen Mikroorganismen eventuell von einander zu sondern und rein zu erhalten. Gleichzeitig wurde, um festzustellen, ob das betreffende Thier in Folge einer Intoxication oder einer Infection gestorben war, mit einer Blutprobe ein neues gesundes Thier derselben Art geimpft. War es dann gelungen, den jeweilig wirksamen Mikroorganismus in Reincultur zu gewinnen, so wurden durch eine Reihe von einzelnen Untersuchungen neben seinen pathogenen Eigenschaften auch seine morphologischen und sonstigen biologischen Charaktere nach Möglichkeit festgestellt. Dasselbe gilt auch für den Fall, dass der Speicheleinspritzung nur locale Erscheinungen wie Geschwulstbildung, Eiterung etc. folgten.

Mit Hülfe dieses kurz angegebenen Verfahrens habe ich aus dem Speichel fünf verschiedene pathogene Mikroorganismen isolirt, die ich nach dem mikroskopischen Aussehen, ihrer Herkunft und der durch sie herbeigeführten Erkrankungsform, vorbehaltlich ihrer Identificirung mit schon bekannten Bakterienarten, vorläufig mit folgenden Namen belegt habe:

1. *Bacillus salivarius septicus*, 2. *Coccus salivarius septicus*,
3. *Micrococcus tetragenus*, 4. *Streptococcus septopyaemicus*,
5. *Staphylococcus salivarius pyogenes*.

¹ Der Speichel wurde gewöhnlich in den ersten Vormittagsstunden in sterilen Gläschen gesammelt. In dem Falle, dass die Mundhöhle zu trocken war, um die nöthige Speichelmenge abzugeben, wurde der Mund mit sterilisirtem Wasser ausgespült und dieses für die Einspritzung benutzt. Manchmal wurde auch mit sterilisirten Instrumenten der Zahnbelag oder der Inhalt cariöser Zähne abgeschabt und mit der Mundflüssigkeit vermischt.

Vor der Benutzung wurde die Reaction des Speichels oft geprüft.

Diese fünf Mikroorganismen unterscheiden sich, wie wir später sehen werden, nicht nur durch ihre morphologischen und biologischen Eigenschaften, sondern auch durch die klinischen Erscheinungen und die anatomischen Befunde, welche durch sie hervorgerufen werden. Infolgedessen müsste man streng genommen bei einem jeden dieser Mikroorganismen von einer bestimmten Krankheitsform sprechen. Doch empfiehlt es sich vielleicht, dieselben, um neue Bezeichnungen zu vermeiden, den altbekannten Kategorien septischer und septopyaemischer Affectionen einzureihen.

Für die zwei ersten Mikroorganismen wurde der Zusatz *septicus* gebraucht, um eine wirkliche Infection des Blutes ohne Intoxication und ohne Localisation zu bezeichnen. Bei diesen Mikroorganismen scheint es in der That, als ob der Tod nur durch die ausserordentliche Vermehrung der Mikroorganismen im Blute hervorgerufen wird; es scheinen weder Intoxicationsvorgänge noch localisirte Herde vorhanden zu sein.

Bei dem vierten Mikroorganismus ist der Zusatz *septo-pyaemicus* angewendet worden, weil in bestimmten Fällen neben der Vermehrung des Mikroorganismus im Blute auch örtliche eitrige Herde sich vorfinden.

Der Name des fünften Mikroorganismus endlich bedarf keiner Erläuterung, da derselbe mit den bekannten Eiterstaphylokokken die Eigenschaft gemein hat, locale Abscedirungen hervorzurufen.

I. *Bacillus salivarius septicus*.

Dieser Mikroorganismus ist derjenige, welcher am häufigsten im Speichel von gesunden und kranken Individuen vorkommt. Schon im Anfang meiner Untersuchungen, October 1885, fiel mir dieser *Bacillus* auf; später habe ich ihn noch neunmal im Speichel angetroffen. Bei 50 untersuchten Speicheln beobachtete ich ihn zehnmal (in 20 Procent aller Fälle), während sich die sämmtlichen übrigen in einem viel geringeren Procentsatz fanden.

Von den zehn Individuen waren drei an Pneumonie erkrankt, während die übrigen ganz gesund waren. Aus vergleichenden Untersuchungen habe ich die Ueberzeugung gewonnen, dass derselbe am zahlreichsten in den ersten Vormittagsstunden und im nüchternen Zustand vorhanden war, und dass dabei der Speichel auch eine leicht saure Reaction zeigte. Dann wirkt der Speichel entschieden am giftigsten, und zwar schon in kleiner Menge, während die Mundflüssigkeit der Nachmittagsstunden (die immer schwach alkalisch ist) nur in grosser Menge denselben pathogenen Effect hervorbringt.

Krankheitsbild: Mäuse und Kaninchen, denen $\frac{1}{2}$ bis 1^{ccm} solchen Speichels injicirt war, gingen gewöhnlich im Laufe von 24 bis 48 bis 72 Stunden zu Grunde. Derselbe Ausgang wurde erreicht, wenn von dem Blute, dem Speichel oder den Organsäften des verstorbenen Thieres andere derselben Species mit einigen Tropfen geimpft wurden.

Bei diesen Thieren trat unter Temperaturerhöhung (1 bis 1.5°) der Tod ein, manchmal unter wiederholten Krämpfen, zuweilen auch nach einem langdauernden Koma. Die Thiere blieben meist 24 bis 26 Stunden, ohne Nahrung zu sich zu nehmen und ohne sich zu bewegen, in tiefem Schlaf. Die Temperatur ging während dieser letzteren Erscheinung auf 35° herunter, die Respirationsbewegungen waren sehr langsam und tief — oft wurden bei Kaninchen blutige Durchfälle beobachtet. Die Mäuse zeigten ausser den genannten Symptomen constant ein charakteristisches Aussehen der Augen. Je mehr die Krankheit fortschritt, desto mehr sammelte sich um die Augen herum eine grosse Quantität von weisslichem Schleim, der schliesslich die Augen ganz verklebte.

Nicht selten aber zeigte das klinische Bild bei Kaninchen bedeutende Abweichungen. Die Thiere gingen, besonders wenn sie sehr gross und kräftig waren, oder wenn das Injectionsmaterial nur in geringer Quantität verwendet wurde, oder wenn es nicht sehr virulent war, statt nach 1 bis 3 Tagen erst nach 20 bis 30 zu Grunde. Während dieses langen Zeitraumes trat Abmagerung, Ausfall der Haare und allgemeine Erschlaffung ein. Schliesslich fielen die Thiere bis zum Skelett ab. — Diese zweite klinische Form, welche auch nach Impfung von Reinculturen desselben Bacillus ab und zu beobachtet wurde, entsprach einem anderen anatomischen Befunde, hier waren im Blute und den Organsäften keine Mikroorganismen vorhanden, sondern nur Detritus.

Dieser letztere klinische Verlauf und anatomische Befund kann wohl als eine subacute Form von Septicaemie bezeichnet werden, um ihn zu differenziren von der ersten Form, die zweifelsohne als eine acute Septicaemie gelten kann.

Pathologischer Befund. Die bald nach dem Tode des Kaninchens gemachte Section zeigt an der Infectionsstelle sowohl bei Injection von Speichel als von Reincultur oder Blut reichliches fibrinöses Exsudat, welches die Infectionsstelle mehrere Centimeter breit umgiebt, sowie oedematöse Infiltration des Unterhautzellgewebes und der benachbarten Muskelschichten. Die Infiltration ist manchmal am Bauch und Rücken eine so ausgedehnte, dass die Thiere beträchtlich geschwollen erscheinen. Nach Abtragung dieser Partien sieht man eine sehr deutliche Gefässinjection

und zwischen den Gefässen zahlreiche Hämorrhagien von verschiedener Grösse, welche das ganze Bild zu einem sehr bunten gestalten. Die Darmschlingen findet man beträchtlich aufgetrieben, und frei in der Bauchhöhle oft eine geringe Menge serösen Exsudats. Die subperitonealen Gefässe sowohl des visceralen wie des parietalen Blattes sind stark injicirt. Auch hier machen sich Hämorrhagien zwischen den injicirten Gefässen bemerkbar, welche übrigens auch in der Pleura- und Pericardialhöhle vorhanden sind. Die Blase ist beträchtlich ausgedehnt, mit Harn überfüllt; in dem letzteren Schleim und Eiterflocken. Die parenchymatösen Organe sind stark vergrössert, hart und rothbraun gefärbt. Am eclatantesten zeigt dies die Milz. Dieses Organ ist bis auf das 2- bis 3fache geschwollen, rothbraun und von elastischer Consistenz. Die Kapsel ist gespannt, durchsichtig, so dass man durch dieselbe viele radiär verbreitete subcapsuläre Hämorrhagien sehen kann. Die Schnittfläche zeigt ein körniges, dunkelrothes Aussehen; auf Druck entleert sich kein Blut. Die Malpighi'schen Körperchen contrastiren mit ihrer blassen Färbung gegen die dunkle Pulpa. Mikroskopisch findet man kleinere und grössere Hämorrhagien, necrotische Massen von hyalinem Aussehen in den venösen Bluträumen. Die Schnittfläche der Leber zeigt eine distincte Venenzeichnung. Mikroskopisch erscheinen die Leberzellen trübe und gleichmässig mit Fett infiltrirt. Die interlobulären Blutgefässe und die Gallengänge sind vergrössert, hyperaemisch, besonders in der Rindensubstanz. In allen diesen Organen, ebenso in den Lungen, der Muskelsubstanz u. s. w. finden sich nun, und zwar in ihrer Vertheilung streng auf die Blutgefässe, namentlich das capillare Gebiet beschränkt, Mikroorganismen, die bald paarweise (was das gewöhnliche ist), bald in Kettenform (jedoch nicht mehr als zu sechs oder acht zusammen), bald zu kleinen Häufchen angeordnet sind. Diese Häufchen nehmen niemals grössere Ausdehnung an; sie liegen hauptsächlich in den venösen Lacunen der Milz und an den Bifurcationsstellen der Gefässe; das letztere ist besonders in der Leber und den Nieren der Fall. In den Nieren gruppiren sich die Mikroorganismen um die Glomeruli herum und in den Gefässen des Bindegewebes, welches die Harncanälchen umgiebt, jedoch waren mikroskopisch niemals die Mikroorganismen innerhalb der Canälchen nachweisbar; in dem Blaseninhalte aber habe ich manchmal dieselben Mikroorganismen durch Züchtung nachgewiesen.

In der Pleurahöhle findet man ausser dem erwähnten serösen Exsudat und den subpleuralen Hämorrhagien nichts Besonderes. Die Lungen zeigen sich im Falle von subcutaner Impfung stets nur etwas hyperaemisch und oedematös. Das Herzblut ist gewöhnlich flüssig und blass, was für diese Infection charakteristisch zu sein scheint. Das Blut ist dünn und schmutzig-

grau, wie man leicht an dünnen Schichten zwischen zwei Glasplatten sehen kann.

Mikroskopisch kann man in dem Blute sowohl im gefärbten wie im ungefärbten Zustande schon mit starken Trockensystemen Mikroorganismen erkennen, die immer paarweise und stets zwischen, nie im Innern der Blutkörperchen liegen. Dasselbe Resultat giebt die mikroskopische Untersuchung der pleuralen und peritonealen Flüssigkeit, welche die besten mikroskopischen Bilder liefern.

Die Mäuse zeigten fast denselben anatomischen Befund: allgemeine Körperanschwellung, umfangreiches Unterhautödem, Hämorrhagien u. s. w. Im Blut und der Körperflüssigkeit sind dieselben Mikroorganismen vorhanden.

Die charakteristischen und constanten Befunde dieser Art von Infection sind also folgende: Oedem an der Infectionsstelle, Hämorrhagie um dieselbe und in den parenchymatösen Organen und serösen Höhlen, Milztumor und Mikroorganismen in dem Blute.

Es ist hier zu bemerken, dass diese constanten Befunde sich in verschiedener Deutlichkeit vorfinden je nach der Localität der Infectionsstelle. Im Falle directer Injection in die Ohrvenen waren die Veränderungen des Endocards und Pericards die hervortretendsten; wurde die Injection in die Pleurahöhle gemacht, so waren hier die Erscheinungen am ausgesprochensten; ausser den schon oben genannten Befunden wurden dann mitunter mehr oder weniger ausgedehnte Hepatisationen der Lungen beobachtet. Bei Injection in die Peritonealhöhle kam häufig Peritonitis zu Stande mit sero-fibrinösem Exsudat.

Nach alledem müssen wir sagen, dass dieser Mikroorganismus am intensivsten an der Infectionsstelle wirkt, ohne eine specielle Praedilection für dieses oder jenes Organ an den Tag zu legen. Zunächst vermehrt er sich an dem Orte seines Eintritts, gelangt dann auf dem Wege der Blut- und Lymphgefässe in den übrigen Körper, indem er sich in diesen Bahnen vermehrt, bis schliesslich der Tod erfolgt.

Der subacuten klinischen Form, die dieser Mikroorganismus hervorruft, entspricht wieder ein anderer pathologisch-anatomischer Befund. Starben die Thiere 15 bis 20 bis 30 Tage nach der Impfung, so war das Fettgewebe vollständig verschwunden, die acuten Veränderungen der Organe fehlten völlig, und es fanden sich nur Alterationen chronischer Natur. An der Impfstelle entweder eine kleine circumscripte Schwellung mit käsigem Inhalt oder ein kleines fibröses Knötchen, in wieder anderen Fällen gar nichts. Die inneren Organe anämisch, kein Milztumor: im

Gegentheil war die Milz meist verkleinert und wie die anderen Organe blutleer. Den Hauptbefund dieser subacuten Infection liefert das Blut. Im mikroskopischen Präparat fand sich nur ein Detritus mit relativ wenig noch erkennbaren Blutkörperchen und ohne Mikroorganismen. Bei genauer Untersuchung zeigt dieser Detritus sich zusammengesetzt aus vielen langgezogenen, ausserordentlich feinen Fäden und kleinen Körnchen. Culturversuche lieferten kein positives Resultat. Impfversuche mit diesem Blute hatten keinen Effect.

Morphologie. Der Mikroorganismus erscheint sowohl im Speichel als auch im Blut der Thiere als ein sehr kurzes, elliptisches Stäbchen mit etwas zugespitzten Enden und mit relativ dickerem Körper. Die Länge schwankt zwischen 1 bis 1.5μ , die grösste Dicke bis zu 0.6μ . Diese Dimensionen gelten für den frischen Zustand, während sich in mikroskopischen Präparaten je nach der verschiedenen Präparationsmethode kleine Differenzen finden. Im lebenden Zustande zeigen die Stäbchen keine besondere Farbe und brechen das Licht sehr wenig, sind aber von einem stark lichtbrechenden Hofe umgeben; eine eigene Bewegung besitzen sie nicht. Die Gruppierung dieser Mikroparasiten im thierischen Gewebe und in Flüssigkeiten ist charakteristisch. In Blut und Flüssigkeit erscheinen sie gewöhnlich paarweise, d. h. in Diplobacillenformen, die bald getrennte Höfe, bald einen gemeinschaftlichen Hof besitzen: im Gewebe hingegen sind sie bald paarweise, bald in kleinen Ketten, bald in ganz kleinen Häufchen anzutreffen, deren einzelne Elemente jedoch stets voneinander getrennt sind. Die Ketten im Gewebe bestehen stets aus paarweisen Gliedern, sind sehr kurz und zeigen nur seitliche Krümmungen, jedoch ohne Schleifenbildung, wie sie bei der Streptokokkenart vorkommt. Die Ketten sind mit Höfen versehen, die bald zwei, bald vier Zellen einschliessen. An gelungenen Präparaten sieht man in diesem letzteren Falle manchmal einen secundären Hof, der in dem primären enthalten ist. In Bouillonculturen zeigt sich dieser Mikroorganismus in längeren Ketten, deren Elemente in der Form etwas verändert sind: sie sind fast rundlich, zeigen keinen Hof und färben sich sehr ungleichmässig.

Wie andere Mikroorganismen vermehrt sich auch dieser durch Quertheilung und besitzt, wie es scheint, keine Dauerform.

In Bezug auf die Reaction gegen Färbungen ist zu sagen, dass er alle Anilinfarben ausgezeichnet annimmt. Am besten färben sich die in Alkohol oder Chromsäure gehärteten Gewebe oder die Trockenpräparate mit wässriger Lösung von Methyl- und Gentianaviolett. Auch die Gram'sche Methode lässt sich anwenden.

Leicht erreicht man eine gute Doppelfärbung, wenn die Schnitte zunächst mit Picrocarmin und dann mit einer Anilinwasser-Gentianaviolett-lösung behandelt werden. Innerhalb des deutlich roth gefärbten Gewebes treten dann die Mikroorganismen mit violetter Farbe hervor.¹

Trockenpräparate werden mit Eosin und Methylenblau gut doppelt gefärbt.² Die Parasiten werden intensiv blau, die Blutkörperchen roth. Die Hüllen sind bei dieser Methode vorzüglich zu sehen. Noch besser und constanter sowohl für Trocken- wie Schnittpräparate ist die Behandlung derselben mit der Gram'schen Methode und Nachfärbung mit Eosin.³ Diese Behandlungsmethode differenzirt nicht nur Gewebe und Bacillen, sondern auch die letzteren von ihren Kapseln. Der Bacillus erscheint intensiv violett, die Kapsel roth. Dies zeigt, dass der Hof aus einer protoplasmatischen Substanz besteht, die auf Eosin reagirt wie jedes Protoplasma.

Biologie: So leicht es gelingt, diesen Mikroorganismus im Körper der Versuchsthiere zur Vermehrung zu bringen und ihn hier nachzuweisen, so schwer ist eine Reinzüchtung auf den gewöhnlichen Nährböden, und die Erhaltung seiner pathogenen Eigenschaften unter künstlichen Bedingungen. Ueberträgt man ihn aus dem Thierkörper auf neutrale Fleischpeptongelatine, so gelingt es wohl, ihn zum Wachsthum zu veranlassen, doch ist eine Temperatur von mehr als 22° C. wesentliche Bedingung für seine Züchtung; bei niedrigeren Wärmegraden bleiben alle Culturversuche stets resultatlos.

Auf Gelatineplatten erscheint bei etwa 22 bis 24° die erste Spur der Entwicklung nach 4 bis 5 Tagen, doch schreitet sie nur bis zu sehr

¹ Die Schnitte kommen $\frac{1}{2}$ Stunde in Picrocarmin, werden dann in verdünntem Alkohol gewaschen, kommen darauf $\frac{1}{2}$ Stunde in Anilinwasser-Gentianaviolett-lösung, dann direct in die Gram'sche Jodlösung, Alkohol u. s. w.

² Deckglaspräparate: concentrirte alkoholische Eosinlösung 2 bis 3 Minuten, dann Absaugen mit Fliesspapier, concentrirte alkoholische Methylenblaulösung zwei Minuten, Abwaschen im Wasser u. s. w.

³ Das trockene und durch die Flamme gezogene Deckglaspräparat oder der in Alkohol aufbewahrte Schnitt kommen in eine Anilinwasser-Gentianaviolett-lösung für $\frac{3}{4}$ bis 1 Stunde (in ein mittelgrosses Uhrglas mit Anilinwasser filtrirt man 8 bis 10 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Lösung von Gentianaviolett) bei einer Temperatur von 25 bis 30° C. — Dann $1\frac{1}{2}$ Minute in Jodlösung, dann drei Mal hintereinander in neuen Alkohol (je 10 bis 15 Minuten), dann nach vollständiger Entfärbung eine Minute lang in concentrirte alkoholische Eosinlösung. Absaugen mit Fliesspapier, Nelkenöl, Canadabalsam. Eine solche Eosinlösung wird am leichtesten angefertigt, indem man in ein Uhrschälchen mit Alkohol eine Nadelspitze Eosinpulver bringt.

geringer Ausdehnung fort und erreicht in 6 bis 7 Tagen überhaupt ihr Ende. Auch bei günstigen Temperaturverhältnissen bleiben die Colonieen stets sehr klein; und selbst wenn sich gar keine fremden Colonieen dazwischen finden und sie in sehr grossen Entfernungen von einander liegen, so werden sie doch nicht grösser.¹ Auf durchsichtiger Nährgelatine liegen die kleinen kreisrunden Colonieen meist in der Tiefe und erscheinen mit einem opalescirenden Centrum und einer vollständig durchsichtigen glänzenden Peripherie. In ihrer Structur erscheinen sie wie aus feinmaschigem zickzackförmigen Netzwerk bestehend und mit scharf geschnittenem Contour versehen. In Stichculturen in Nährgelatine ist das Wachstum, wie Phot. I zeigt, ausserordentlich charakteristisch. Die Cultur erscheint hier als ein helles, dünnes, central äusserst zart und gleichmässig gebautes Band mit sehr feinen peripheren Punktirungen. Von Verflüssigung der Gelatine ist keine Rede. In Impfstichen ist das Wachstum üppiger in den tieferen Theilen der Gelatine als direct an der Oberfläche. Es scheint demnach, als ob der atmosphärische Sauerstoff für das Wachstum dieses Bacillus nicht unbedingt erforderlich ist. Uebrigens findet das Wachstum dieses Bacillus auch unter der Glimmerplatte statt; ferner beweisen die positiven Culturresultate in einer Wasserstoffatmosphäre, dass der Bacillus ebenso gut bei Luftabschluss wie bei Luftzutritt zu wachsen vermag.² — Auf neutralem Agar-Agar ist das Wachstum sowohl in Plattenculturen wie in Impfstichen und Impfstichen nachweisbar, jedoch nur dann, wenn der Bacillus direct aus dem Blute verimpft wurde. Sehr selten hingegen gelang die Uebertragung desselben von einer früheren Cultur. Auf der Oberfläche des Agar-Nährbodens sieht man einen feinen durchsichtigen Ueberzug, der sich aus kleinen thautropfenähnlichen Gebilden zusammensetzt. Etwas intensiver war das Wachstum auf Nährgelatine und Nähr-Agar mit einem Zusatz von zwei Procent Zucker. Besonders in Impfstichen nimmt das Wachstum dann beträchtliche Dimensionen an, ohne dass dabei Gasbildung stattfindet. In

¹ Bei Zimmertemperatur über 22° C. verhindert man die Verflüssigung der Nährgelatine, indem man statt 10procentiger 12 bis 14procentige Nährgelatine anwendet.

² Zu dem Zwecke, den Wasserstoff in dem infectirten Reagensglas circuliren zu lassen, verband ich dasselbe mit einem Kipp'schen Wasserstoffapparat. Das Reagensglas, in welchem die Gelatine nach der Esmarch'schen Methode in einer dünnen Schicht an der Wandung ausgebreitet war, war durch einen doppelt durchbohrten Kautschukstöpsel geschlossen, durch den zwei Glasröhren gingen. Die mit dem Wasserstoffapparat in Verbindung stehende Röhre ging beinahe bis auf den Boden, die andere mündete unter dem Stöpsel. Pfropf und Röhren waren vorher sterilisirt. Nachdem man den Wasserstoff eine Zeit hatte durch den Apparat streichen lassen, wurden die beiden Glasröhren, die durch kleine Gummischläuche verbunden waren, durch Quetschhähne nach aussen abgeschlossen.

einfach wässriger 1 procentiger Agar-Agarlösung ohne Pepton, Kochsalz und Bouillon kommt kein Wachsthum zu Stande, ebenso wenig in Gelatine, die mit Weizeninfus bereitet ist (100 Wasser, 10 Weizen, 10 Gelatine); Kartoffelculturen glücken nicht. Auf Blutserum sieht man 4 bis 5 Tage nach der Impfung kleine Colonieen von demselben Aussehen wie die auf der Gelatine; nur ist das Wachsthum hier etwas reichlicher als auf den anderen bisher erwähnten Nährböden. Unter denselben Temperaturbedingungen wächst der Bacillus auch in Bouillon, ohne sie zu trüben. Am Boden von alten Bouillonculturen sieht man nur ab und zu einen weisslichen Nebel, der aus Mikroorganismen besteht. Auch in sterilisirter Milch entwickelt sich unser Mikroorganismus, ohne seine pathogenen Eigenschaften zu verlieren.

In der Absicht, eine bessere Entwicklung dieses Mikroorganismus zu erzielen, habe ich im Laufe der Untersuchungen die Nährböden auf jede mögliche Art zu modificiren versucht, sowohl was ihre Zusammensetzung, als auch was ihre Reaction betrifft. Hierbei wurde festgestellt, dass der Bacillus — während er auf neutralen Nährböden kümmerlich gedeiht, während er ferner gar nicht auf solchen Nährsubstraten sich entwickelt, welche mehr als gewöhnlich alkalisch reagiren — auf sauren Nährböden relativ üppiger wächst.

Folgende Methode kam bei diesen Untersuchungen zur Anwendung. Der gewöhnlichen Nährgelatine, bez. dem gewöhnlichen Agar-Agar-Nährboden oder der Bouillon, welche Substanzen möglichst neutral reagirten, wurden, und zwar jedesmal auf genau 10^{ccm} dieser Substanzen, verschiedene Quantitäten titrirter Lösungen von Phosphorsäure, von Salzsäure und von Salpetersäure zugesetzt. Die H_3PO_4 wurde in 1.52 Proc. Lösung angewendet und zwar davon 1.5 bis 0.1^{ccm}; die HCl in 2.642 Proc. Lösung und zwar davon 1.0 bis 0.1^{ccm}; die HNO_3 in 3.5 Proc. Lösung und zwar davon 1.0 bis 0.1^{ccm}. Die so angesäuerten Nährsubstanzen wurden mit direct aus dem Thierkörper genommenen Material geimpft. Die Resultate dieser Culturversuche sind kurz folgende:

1. In angesäuertem festen Nährboden ist schon nach 24 Stunden die Entwicklung zu sehen, während Controlversuche mit neutralen Nährböden in 2 bis 3 Tagen noch keine Andeutung eines Wachstums zeigen.

2. Nach der vollständigen Entwicklung erscheint die Säurecultur breiter und undurchsichtiger als die Neutralcultur.

3. Von den drei angewandten Säuren hat sich am besten für das Wachsthum die H_3PO_4 erwiesen und zwar hat sich als günstiges Mischungsverhältnis das von 0.04 bis 0.12 Procent herausgestellt. Bei geringerem H_3PO_4 -Gehalt, z. B. 0.03 und 0.015 Procent hat sich kein Unterschied gezeigt zwischen der angesäuerten und der neutralen Gelatine. — Bei

stärkerem H_3PO_4 -Gehalt, z. B. 0.20 Procent zeigte sich kein Wachstum mehr.¹ Die HCl wirkt am besten, wenn sie in einem Mischungsverhältnisse von 0.052 bis 0.13 Procent angewandt wurde. Bei grösserem HCl -Gehalt verminderte sich die Entwicklung. Die HNO_3 wirkt am besten, wenn sie in einem Mischungsverhältnisse von 0.02 bis 0.10 Procent angewandt wurde. Bei grösserem HNO_3 -Gehalt findet Entwicklungshemmung statt.

4. Die Culturen auf diesen Nährböden behalten ihre Uebertragbarkeit und ihre Pathogenität. Das Photogramm Nr. I zeigt eine Cultur in der dritten Generation, welche regelmässig von sauren zu sauren Nährböden fortgesetzt wurde. Der Säuregehalt betrug 0.04 Procent H_3PO_4 . Ein Kaninchen, welches mit einer halben Spritze einer neun Tage alten Cultur in 0.04 Procent H_3PO_4 enthaltender Bouillon geimpft wurde, starb nach 48 Stunden.

Der weiter unten noch ausführlich behandelte Umstand, dass dieser Mikroorganismus seine pathogenen Eigenschaften relativ schnell verliert, sowie die zufällige Beobachtung, dass Culturen, die zu gleicher Zeit und mit demselben Material angestellt waren, ihre Uebertragbarkeit und ihre Pathogenität zu verschiedener Zeit einbüssten, je nachdem sie bei verschiedenen Temperaturen gehalten wurden, hat mich dazu geführt, systematische Bestimmungen darüber anzustellen, welchen Einfluss die Temperatur auf das Leben dieses Mikroorganismus ausübt.

Von einem Kaninchen, welches an der typischen Form der Infection gestorben war, entnahm ich unter den üblichen Cautelen je eine Platinöse Herzblut und impfte damit hintereinander 60 Reagensgläser mit frisch präparirter und vollkommen sterilisirter Bouillon. 20 davon wurden unmittelbar darauf in den Brütapparat, also in eine zwischen 35 und 37° C. schwankende Temperatur gebracht, 20 wurden in der Zimmertemperatur, welche während der Versuche zwischen 18 und 22° C. schwankte, 20 endlich in der Eisschranktemperatur, d. h. in einer Temperatur von 8 bis 10° gehalten.²

Am folgenden Tage wurde von jeder dieser drei Sorten ein Glas genommen und von diesem: 1. ein Röhrchen mit neutraler Gelatine inficirt; 2. ein mikroskopisches Präparat angefertigt; 3. einem Thiere eine subcutane Injection beigebracht. Dasselbe wurde in gleicher Weise an jedem folgenden Tage wiederholt.

¹ In Gelatine- H_3PO_4 -Culturen, besonders bei etwas stärkerem H_3PO_4 -Gehalt sieht man um den Impfstich herum häufig eine hellere Zone wie eine Rauchwolke; diese enthält jedoch keine Mikroorganismen, sondern besteht aus Krystallen.

² Diese Temperatur wurde mit einem Minimum- und Maximum-Thermometer festgestellt.

Da die Bakterien in mikroskopischen Präparaten aus den Bouillon-culturen schwer zu erkennen sind wegen der sich mitfärbenden Bouillon-niederschläge, so wurden die Präparate stets nach der Gram'schen Methode behandelt, um die Mikroorganismen besser hervortreten zu lassen und so ihre Gegenwart mit Sicherheit nachzuweisen.

Die Gelatineculturen wurden so angelegt, dass stets dieselbe Menge (eine kleine Platinöse) in die vorher verflüssigte Gelatine eingebracht und die letztere dann gehörig geschüttelt wurde. So vertheilten sich die Keime gleichmässig in der Gelatine und wurden in dieser Lage beim Erstarren fixirt; dadurch war es möglich, nach der Entwicklung der Culturen die Menge der zur Entwicklung gelangten Keime ungefähr zu schätzen. Diese Gelatineculturen wurden sämmtlich bei Zimmertemperatur gehalten.

Den subcutanen Injectionen wurden täglich drei Kaninchen unterzogen, die gesund und von nahezu gleicher Grösse waren. Diesen wurden unter die Haut des Rückens jedesmal 0.2^{ccm} der Bouilloncultur, und zwar mit drei verschiedenen vorher sterilisirten Spritzen eingespritzt. Nur mittelgrosse, robuste Kaninchen wurden benutzt, weil kleine Kaninchen wegen ihrer Empfindlichkeit leicht zu Fehlern Veranlassung geben.

Schon in den ersten Tagen zeigten sich in den bei den verschiedenen Temperaturen gehaltenen Bouillonculturen Unterschiede für das blosse Auge. Diejenigen, die bei 35° gehalten waren, zeigten eine weissliche Färbung und leichte Trübung, während die zwei anderen Sorten keine Spur von Trübung aufwiesen und die leichte Hämoglobinfärbung behalten hatten, welche der Bouillon durch die Versetzung mit dem Blute mitgetheilt worden war. Diese letztere Färbung, ohne Trübung, zeigten auch nach 20 Tagen die Eisschrankröhrchen; während an den Zimmerröhrchen vom 3. bis 4. Tage ab eine schrittweise zunehmende Trübung und weissliche Verfärbung sich bemerkbar machte.

Die Eisschrankröhrchen boten während der ganzen Versuchszeit ein leichtes röthliches Sediment dar; bei den übrigen war das Sediment weisslich gefärbt. Schon diese makroskopische Beobachtung machte es wahrscheinlich, dass die Entwicklung der Mikroparasiten nur in den Zimmer- und Brütöfenröhrchen stattgefunden hatte.

Die mikroskopischen Präparate der Brütöfenculturen zeigten schon vom 2. Tage an die Gegenwart von zahlreichen Mikroorganismen, die sich gut färbten und ein charakteristisches Aussehen darboten. Nach 4 bis 10 Tagen traten Kettenbildungen auf, deren einzelne Glieder schon unregelmässige Gestaltungen anzunehmen und sich schwerer zu färben begannen. In den folgenden Tagen wurden die regelmässigen Bacillenformen immer seltener; vom 20. Tage ab wurden sie fast vollständig vermisst. — Die mikroskopischen Präparate der Zimmerröhrchen zeigten (im Einklange mit

der fortschreitenden Trübung der Culturen) vom 4. bis 5. Tage an eine zunehmende Anzahl von sehr charakteristischen Bacillen. Von dieser Zeit waren die in den Culturen gefundenen Mengen nicht zu vergleichen mit denjenigen, die in den Brütöfenröhrchen schon vom 2. Tage an auftraten. Die charakteristischen Formen wurden in den Zimmeröhrchen bis zum 20. Tage gefunden; spätere Versuche lehrten, dass dieselben erst vom 30. bis 35. Tage verschwinden. — In den Eisschrankröhrchen verhielten sich die Dinge ganz anders. Hier fand man nur in den ersten Tagen in den mikroskopischen Präparaten sehr spärliche Mikroorganismen, die vielleicht dieselben waren, die mit dem Blut hineingebracht worden waren.

Gleichen Schritt mit den mikroskopischen Resultaten hielten die Ergebnisse der Gelatineculturen. Hier beobachtete man nach der Infection der Gelatine die zahlreichste Entwicklung in denjenigen Röhrchen, die von den 2- bis 5 tägigen Brütöfenculturen stammten. Diese Gelatine-röhrchen zeigten Myriaden von den kleinsten punktförmigen Colonieen, die sich wegen ihres ansserordentlich dichten Zusammenstehens nicht weiter entwickeln konnten. Die über 4 bis 5 Tagen alten Brütöfenröhrchen lieferten Gelatineculturen, die je mit zunehmendem Alter der Bouillon-cultur eine fortschreitende Verminderung der Anzahl der Colonieen darboten. Nach 15 bis 20 Tagen angestellte Gelatineculturen zeigten nur wenige zerstreute Colonieen. Nach 20 Tagen lieferten die Brüt-schrank-Bouillonculturen in der Regel keine Colonieen in der Gelatine mehr. — Die von den Zimmerbouillonculturen abstammenden Gelatineröhrchen zeigten die zahlreichste Entwicklung, wenn die Bouillonculturen 5 bis 15 Tage alt waren. Auch hier wurde bei Anwendung älterer Bouillonculturen eine allmähliche Verminderung der Colonieen in der Gelatine beobachtet. Bei den Versuchen mit über 30 Tage alten Bouillonculturen erhielt man nur spärliche Colonieen. — Die Gelatineröhrchen, die mit den Eisschrank-bouillonröhrchen infectirt wurden, blieben ausnahmslos steril. In gleicher Weise verhielten sich die Thierversuche, die mit der Eisschrankbouillon angestellt wurden. Nur in einem einzigen Falle starb ein Kaninchen, dem eine dreitägige Eisschrankbouillon injicirt worden war. Die anderen Thiere zeigten keinerlei Krankheitserscheinungen. Diese Ergebnisse in Zusammenhang mit dem mikroskopischen Befund und den Gelatineculturs- versuchen bringen uns dazu, anzunehmen, dass dieser Mikroorganismus die niedrige Temperatur sehr schlecht verträgt, obwohl er dabei nicht rasch zu Grunde geht; denn wenn man ein solches, etwa 3 Tage altes Eisschrankröhrchen in den Brütöfen bringt, so kommt dort eine Entwicklung zu Stande, und Infectionsversuche mit diesem Material geben positive Resultate. Ist dagegen das Bouillonröhrchen bereits 15 bis 17 Tage im Eisschrank geblieben, so bleibt es auch, wenn man es in den Brütapparat

bringt, ohne Entwicklung, und Infectionsversuche an Thieren, mit diesen Culturen angestellt, fallen negativ aus. Es scheint hiernach, dass diese Keime durch niedrige Temperatur zuerst in ihrer Entwicklung eine solche Hemmung erleiden, dass sie nicht mehr fähig sind, auf künstlichem Nährboden bei Zimmertemperatur sich zu vermehren, dass sie jedoch weiterhin bestimmt zu Grunde gehen.

Die Thiere, welche in der oben ausgeführten Weise mit Brütouillon inficirt wurden, starben ausnahmslos unter den typischen Erscheinungen der echten Infection nach 24 bis 48 Stunden, wenn die Röhren 2 bis 8 Tage alt waren, d. h. in üppigster Entwicklung standen. Aeltere Röhren zeigten schwächere und inconstante Wirkung. Oft blieben die Thiere hier am Leben.

Ungefähr dieselbe Abstufung, betreffend den Effect der Thierversuche, habe ich an den Zimmerbouillonculturen beobachtet. 4 bis 15 Tage alte Zimmerröhren riefen constant den Tod des Thieres hervor mit typischer acuter Infection, während die Injection älterer Zimmerculturen bald negatives Resultat, bald eine subacute Infection veranlasste. Wiederholt mit 30 tägiger Bouillon geimpfte Thiere blieben am Leben. — Der Kürze wegen wählen wir aus der langen Reihe von Experimenten, die wir bei diesem Theile unserer Arbeit angestellt haben, nur diejenigen aus, welche zeigen, innerhalb welcher Zeitgrenzen der bei einer bestimmten Temperatur gehaltene Bacillus noch wirksam ist.

Experimente mit den bei Brütouillontemperatur gehaltenen Bouillon-culturen.

10./6. 86. Grosses robustes Kaninchen. 0.2 ccm Bouillonculture, zwei Tage alt. Injection unter die Rückenhaut. Tod in der Nacht zwischen 3. und 4./6. — Ebenso waren die Resultate von Experimenten, die in den folgenden Tagen angestellt wurden.

10./6. 86. Gesundes kräftiges Kaninchen. 0.2 ccm zehn Tage alter Bouillonculture unter die Rückenhaut. 11. und 12./6. Kaninchen sehr matt. Temperatur 40.5°C. Das Futter wird nicht berührt. 13./6. das Thier sehr schwer krank, bleibt soporös in einem Winkel des Käfigs. Tod in der Nacht zwischen 13. und 14./6. — Der Tod erfolgte in diesem Falle nach vier Tagen, während er gewöhnlich in 48 Stunden eintritt. In den nachfolgenden zwischen dem 10. und 18./6. mit immer älteren Bouillonculturen angestellten Thierversuchen zeigte sich eine allmähliche Zunahme der Krankheitsdauer. Gleichzeitig traten dabei kleine Unterschiede auf: Einzelne Thiere überstanden die Infection, andere starben. Dass die Thiere nicht immer in präziser Weise auf die Infectionsversuche reagierten, kann wohl von verschiedenen Ursachen abhängen, unter denen gewiss nicht die letzte die verschiedene individuelle Resistenz der Thiere ist.

18./6. 86. Kräftiges, vorher nicht zu Versuchen benutztes Kaninchen. 0·2^{cem} 18 tägige Bouilloncultur unter die Rückenhaut. 13./6. Temperatur 39° C. Das Thier im Uebrigen ganz gesund. 20./6. Temperatur 39° C. Thier gesund. An den folgenden Tagen frisst das Thier und zeigt sich vollständig gesund.

Die letzten Experimente dieser Reihe brachten weder den Tod noch Krankheitserscheinungen bei den Thieren hervor. Selbstverständlich war die injicirte Quantität der Bouilloncultur immer dieselbe.

Experimente mit bei Zimmertemperatur gehaltenen Bouillonculturen.

2./6. 86. Kräftiges, früher nicht zu anderen Versuchen benutztes Kaninchen. 0·2^{cem} 2 tägige Cultur unter die Rückenhaut. — 3., 4., 5./6. das Thier wird zunehmend matter, fiebert. 7./6. Tod. In diesem Fall ist der Tod später eingetreten als gewöhnlich, weil die ursprünglich in die Bouillon eingebrachten Keime sich wahrscheinlich noch nicht vermehrt hatten.

4./6. 86. Kräftiges, gesundes Kaninchen. Injection 4 tägiger Cultur wie oben. Tod des Thieres in der Nacht zwischen dem 6. und 7./6. Der Sectionsbefund bestätigt die typische Infectionsform mit Milztumor und Bacillengehalt des Blutes. Fast ganz gleich sind die Erfolge der nächsten Experimente, bis die Cultur das Alter von 15 Tagen erreicht hatte. Alle Thiere starben. — Bei den Versuchen mit über 15 Tage alten Bouillonculturen beobachtete man nur ausnahmsweise den Tod der Versuchsthier.

Da wir gesehen haben, dass die 20 Bouillonröhrchen nicht genügten, um die Grenze der Uebertragbarkeit und Virulenz des Bacillus bei Zimmertemperatur zu bestimmen, so setzte ich am 19./6. mit dem Blute eines an der typischen Infection gestorbenen Kaninchens nochmals 30 Bouillonculturen bei Zimmertemperatur an. Mit diesen wurde natürlich erst dann zu experimentiren begonnen, als sie das Alter von 20 Tagen erreicht hatten.

10./7. 86. Gesundes, kräftiges Kaninchen. 21 tägige Cultur. 0·2^{cem} unter die Rückenhaut. 11./7. Temperatur 39° C. Nahrung wird verweigert. 12., 13., 14./7. erholt sich das Thier langsam.

20./7. 86. Kaninchen kräftig und gesund. Infection wie oben mit einer 31 tägigen Cultur. In den nächsten Tagen ist das Thier matt, später erholt es sich und bleibt gesund. Die nachfolgenden Experimente geben stets dieselben Resultate wie das vorhergehende.

Experimente mit Eisschrankbouillonculturen.

2./6. 86. Kräftiges, gesundes Kaninchen. 2 tägige Cultur. Infection wie oben. In den nächsten und späteren Tagen zeigt das Thier keinerlei Krankheitserscheinungen.

Die folgenden Versuche ergeben dasselbe Resultat, mit Ausnahme eines mit einer 3 tägigen Cultur inficirten Kaninchens; es wurden wegen des negativen Erfolges nur sechs Versuche im Ganzen angestellt.

Ein Kaninchen, mit 2^{cem} einer 6 tägigen solchen Cultur inficirt, blieb am Leben.

Experimente mit Bouillonculturen, welche einige Tage im Eisschrank gestanden hatten und dann in den Brütöfen gebracht worden waren.

11./6. 86. Gesundes Kaninchen. Cultur sechs Tage bei 8°. Darauf zwei Tage bei 35 bis 37°. Infection wie oben. Das Thier stirbt nach drei Tagen. Von demselben Erfolg begleitet waren die Experimente, bei denen Culturen zur Anwendung kamen, die zuerst nicht länger als 15 Tage im Eisschrank gestanden hatten. Bei Culturen, die länger dort verweilt hatten, trat im Brütöfen keine Trübung mehr ein, und auch für Thiere waren sie unwirksam.

Aus Untersuchungen, die wir über das Wachsthum des *Bacillus salivarius septicus* bisher angestellt haben, geht Folgendes hervor:

1. Dass dieser Mikroorganismus am besten im Körper der empfänglichen Thiere (Kaninchen, Mäuse) gedeiht.
2. Dass derselbe auf gewöhnlichen neutralen Nährböden nur kümmerlich wächst.
3. Dass von den neutralen Nährböden die Fleischbouillon, das Blutserum und die Nährgelatine mit einem 2procentigen Zuckerzusatz am geeignetsten sind.
4. Dass besonders günstig für sein Wachsthum leicht angesäuerte Nährsubstrate sind.
5. Dass derselbe sich am schnellsten bei einer Temperatur von 35 bis 37° entwickelt.
6. Dass bei einer Temperatur von 20 bis 22° die Entwicklung erst am 4. bis 5. Tage beginnt.
7. Dass bei einer Temperatur von 10° keine Entwicklung stattfindet.
8. Dass bei einer Temperatur von 35 bis 37° (in Bouillon) die Bacillen noch nach 15 bis 20 Tagen übertragbar sind.
9. Dass bei einer Temperatur von 20 bis 22° die Uebertragbarkeit noch bei älteren Culturen (wieder Bouillon) möglich ist.
10. Dass bei einer Temperatur von 8 bis 9° die Cultur keine Uebertragbarkeit besitzt, selbst wenn das damit inficirte Gelatineröhrchen in Zimmertemperatur aufbewahrt wird.
11. Dass bei einer Temperatur von 35 bis 37° die Virulenz am stärksten bei 2 bis 8 Tage alten Culturen ist.
12. Dass bei einer Temperatur von 20 bis 22° die Virulenz ihr Maximum besitzt, wenn das Alter der Cultur 4 bis 15 Tage beträgt.
13. Dass bei den letztgenannten Temperaturen zuerst die Virulenz und dann die Uebertragbarkeit aufhört.
14. Dass bei Temperaturen von 35 bis 37° und von 20 bis 22° man einfache Abschwächung der Cultur durch das Alter erreichen kann.

15. Dass diese Abschwächung durch die Controlle der Uebertragbarkeit und des Thierexperimentes sich nachweisen lässt. Während man vorher regelmässig gesunde Thiere mit 0.2^{cem} tödtete, brauchte man nachher, um denselben Effect zu erreichen, 1, auch 2^{cem} derselben Cultur.

16. Dass bei einer Temperatur von 8 bis 9° die Culturen gar keine Virulenz besitzen.

17. Dass diese Culturen die Virulenz wiedererlangen, wenn sie nach einem mehrtägigen Aufenthalte im Eisschrank für 2 bis 3 Tage in den Brütöfen gebracht werden.

18. Dass durch die letztere niedrige Temperatur zuerst Entwicklungshemmung, dann der Tod der Keime bewirkt wird.

Der infectiöse Charakter des Bacillus tritt am entschiedensten dann zu Tage, wenn er durch unmittelbare Ueberimpfung von Thier zu Thier übertragen wird. Ein einziges Tröpfchen Kaninchenblut genügt, um ein anderes Thier im Laufe von 48 Stunden zu tödten. Die gleiche Höhe der Virulenz besitzt der Mikroorganismus für Kaninchen, wenn er aus dem Mäusekörper entnommen ist. Die Meerschweinchen hingegen wie die Hunde verhalten sich vollständig refractär. Meerschweinchen wurden 5 bis 10^{cem} einer jungen Bouilloncultur unter die Haut gespritzt, ohne dass der Tod eintrat. Mit demselben Erfolge wurden ihnen grosse Mengen vom Blute inficirter Kaninchen subcutan beigebracht. Während die Pathogenität dieses Bacillus bei der Uebertragung von Thier auf Thier eine grosse ist, ist dieselbe bedeutend geringer, wenn die Impfung von der künstlichen Cultur auf die Thiere vorgenommen wird. Um bei einem mittelgrossen Kaninchen die Infection von einer Bouilloncultur aus hervorzurufen, braucht man wenigstens 0.2^{cem} derselben. Bei sehr alten Culturen genügt diese Quantität nicht; bei 15 bis 20 Tage alter braucht man 1^{cem}.

Als wirksame Abschwächungsmittel haben sich der Durchgang des Mikroorganismus durch den Körper eines refractären Thieres und Temperaturen über 40° C. erwiesen.

Zu dem ersten Zweck wurden Meerschweinchen virulente Bouillonculturen in der beträchtlichen Quantität von 2 bis 3^{cem} injicirt; nach verschiedener Zeit wurden dann Blutproben, gewöhnlich aus der Femoral- oder Jugularvene entnommen, und mikroskopische Präparate und Culturen angefertigt und parallel mit letzteren Kaninchen geimpft. In der grossen Mehrzahl der Fälle konnte man die Bacillen mikroskopisch nach 1 bis 1½ Stunden nachweisen. Während dieser Zeit wurden Kaninchen wiederholt mit dem Meerschweinchenblut geimpft. Sowohl die Quantität des

geimpften Blutes, wie auch die Zeit zwischen der Infection des Meerschweinchens und der Entnahme der Probe wurden in der mannichfachsten Weise variirt. Der Erfolg der Kaninchenimpfung aber war stets negativ; die Kaninchen, auch mit grossen Blutmengen geimpft, blieben ausnahmslos am Leben. Dieses Resultat, welches durch eine sehr grosse Versuchsreihe sicher gestellt ist, giebt die Wahrscheinlichkeit, dass dieser Mikroorganismus innerhalb des Meerschweinchenkörpers eine Abschwächung erleidet.

Bei Gelegenheit dieser Untersuchungen suchte ich auch zu erfahren, bis zu welcher Zeit der Bacillus im Blute derjenigen Thiere, die sich gegen die Infection refractär erwiesen hatten, zu finden sei. Wie gesagt, konnte man im Blut des Meerschweinchens schon nach einer Stunde durch mikroskopische Präparate das Vorhandensein der Bacillen nachweisen. Nach dieser Zeit fand sich in der Mehrzahl der Fälle eine fortschreitende Verminderung der Bacillen bis zum vollständigen Verschwinden nach 4 bis 5 Stunden. Auch nach dieser Zeit aber und noch später konnte man, obwohl sich im Blute keine Bacillen mehr beobachten liessen, bei der Section des Thieres innerhalb der parenchymatösen Organe noch vereinzelte Bacillen nachweisen.¹

Im Laufe dieser Studien richtete ich besondere Aufmerksamkeit auf die Lage der Mikroorganismen innerhalb des Blutes der Meerschweinchen in der Absicht, möglicherweise die Untersuchungen von Metschnikoff (2) zu bestätigen. Bekanntlich will dieser Beobachter gefunden haben, dass die Mehrzahl der pathogenen Mikroorganismen sich innerhalb der weissen Blutkörperchen befindet, wenn sie auf refractäre Thiere verimpft werden; während im Falle der Verimpfung auf empfängliche Thiere die Mikroorganismen sich frei im Plasma bewegen. Der vorher bei Kaninchen und Mäusen erwähnte Befund bestätigt insofern die Metschnikoff'sche Ansicht, als bei diesen Thieren die Bacillen sich stets im Plasma vorfinden. Ganz ebenso aber verhält sich die Sache bei den refractären Meerschweinchen; und es ist mir nicht gelungen, hier die in Rede stehenden Mikroorganismen innerhalb der farblosen Blutkörperchen nachzuweisen.

Bei den Untersuchungen, welche zu dem Zwecke angestellt wurden, die Abschwächung der Virulenz durch höhere Temperatur zu ermitteln, wurde mit Temperaturen von 41°, 42° und 43° C. experimentirt. Um

¹ Um sich von dem Hauptgegenstande dieser Arbeit nicht zu entfernen, war es nicht möglich, analog den Wyssokowitsch'schen Arbeiten (s. *diese Zeitschrift*. Bd. I. Hft. I. S. 145) diese Versuche weiter auszudehnen, insbesondere nicht exact zu bestimmen, wie lange Zeit die Organismen innerhalb der parenchymatösen Organe der refractären Thiere noch zu finden sind, und in welcher Weise sie sich in den verschiedenen Organen vertheilen.

der Schwierigkeit aus dem Wege zu gehen, welche darin besteht, dass dieser Mikroorganismus sich auf künstlichen Nährböden nach kurzer Zeit des Bestehens der Culturen nur noch äusserst schwer vermehrt, wurde nur mit jungen, 48 Stunden alten Bouillonculturen gearbeitet, die direct aus Thierblut herrührten und darauf unmittelbar in eine Temperatur von 35° gebracht worden waren, um die Entwicklung zu begünstigen. Um möglichst genaue Resultate zu erhalten, wurde nur eine Species von Thieren benutzt, und zwar Mäuse; diesen wurde stets dieselbe Quantität der Bouilloncultur¹ und zwar 0.1^{ccm} eingespritzt.

Solche Bouillonculturen wurden im Thermostaten bei einer bestimmten Temperatur gelassen. Aus dem Thermostaten wurde dann nach der betreffenden Zeit jedes Mal ein Probirröhrchen entnommen und mit seinem Inhalte ein Thier und eine Röhre mit neutraler Gelatine geimpft. Indem man so die Gelatineimpfung neben den Thierversuch stellte, vermied man den so häufig begangenen Irrthum „Abschwächung“ und „Absterben“ zu verwechseln. Vom Absterben konnte man natürlich nur dann reden, wenn sowohl der Thierversuch als die Gelatineimpfung negativ ausfiel. In den zweifelhaften Fällen, wo man der Ansicht sein konnte, dass möglicherweise die höhere Temperatur auf die weitere Uebertragbarkeit auf künstlichen Nährboden schon hemmend einwirkte, wurden, um sicher zu entscheiden, ob es sich hier um eine blosse Abschwächung oder um ein wirkliches Absterben handelte, grössere Quantitäten desselben Materials auf Thiere verimpft. Selbstverständlich konnte man, wenn das Thier zu Grunde ging, während es vorher auf eine kleinere Quantität des infectiösen Materials nicht reagirt hatte, nur von Abschwächung, nicht von einem Absterben der Mikroorganismen reden. Ab und zu wurden im Laufe dieser Untersuchungen auch Controlimpfungen an Thieren und auf Gelatine gemacht mit gleich alter Bouilloncultur, die man nicht bei der höheren Temperatur, sondern bei gewöhnlicher Brütofentemperatur gehalten hatte.

Bei 41° zeigten die Bouillonculturen nach Verlauf von 24, 48 und 72 Stunden gar keine Verminderung ihrer Virulenz. Drei Mäuse, welche je in einem dieser drei Zeiträume geimpft wurden, starben. Erst wenn die Culturen 80 bis 90 Stunden bei 41° gestanden hatten, wurde beginnende Abschwächung bemerkt. (Von zwei Mäusen starb die eine, die andere blieb am Leben). Nach fünf Tagen war die Impfung auf Thiere ohne Erfolg. In diesem Falle findet auch bei der Uebertragung auf Ge-

¹ Sowohl in diesen wie in allen anderen Impfversuchen mit Bouilloncultur wurde die Bouillon vorher stets umgeschüttelt, weil die Mikroorganismen sich in Form eines Sediments zu Boden senken.

latine keine merkliche Entwicklung mehr statt. Impfte man die Mäuse aber, anstatt mit 0.2, mit 0.5^{cem}, so gingen sie zu Grunde.

Bei der Temperatur von 42° verminderte sich die Virulenz schon nach 24 bis 36 Stunden. Zwei nach diesem Zeitraume geimpfte Mäuse zeigten mässige Krankheitserscheinungen, blieben aber am Leben. Bei 43° genügten schon zwei Stunden, um die schädliche Einwirkung dieser Temperatur auf die Virulenz darzuthun. Nach 4 bis 5 Stunden hatten sowohl Thierimpfungen wie Uebertragungen auf Gelatine keinen Erfolg mehr. Nach 6 bis 10 Stunden vertragen die Thiere die Impfung selbst grösserer Quantität (0.5^{cem}) ohne Krankheitserscheinungen. Bei 50° war schon nach fünf Minuten ein wirkliches Absterben der Cultur eingetreten.

Nachdem so festgestellt war, welche Zeit und welche Temperatur im Stande ist, die Virulenz des Mikroorganismus abzuschwächen oder zu vernichten, wurde untersucht, welche Temperatur im Stande ist, die Entwicklung von frisch aus Blut angestellten Agar-Agarculturen zu verhindern.

Bei 39.5° findet noch Entwicklung statt; dasselbe beobachtet man in Bouillonculturen. Bei 41° geht die Entwicklung sehr langsam vor sich; bei 42 und 43° merkt man auch nach mehreren Tagen gar keine Entwicklung. Sicher also erhält man Abschwächung der Virulenz der Culturen dieses Bacillus: 1. mit dem höheren Alter der Cultur; 2. durch 4 tägige Einwirkung einer Temperatur von 41°; 3. durch eine 2 tägige Einwirkung einer Temperatur von 42°; 4. durch eine 2 stündige Temperatur von 43°. Bei höherer Temperatur findet keine Abschwächung, sondern wirkliches Absterben statt.

Der Bacillus salivarius septicus ist ausserordentlich empfindlich gegen das Eintrocknen. 4^{cm} lange Seidenfäden, die vorher in kochendem Wasserdampf sterilisirt waren, wurden mit einer jungen Bouilloncultur dieses Bacillus imprägnirt. Darauf wurden sie in sterilisirten Gläschchen getrocknet und zwar bei einer Temperatur von 18 bis 35° C. Nach verschiedener Zeit wurden sie dann in Nährgelatine eingelegt. Bei diesen Experimenten, welche nach 24, 48, 72, 96 u. s. w. Stunden wiederholt wurden, beobachtete man niemals ein Wachsthum in Gelatine. Nur in einem einzigen Reagensglase zeigte sich bei einem Seidenfaden eine Andeutung von Wachsthum. Dieser Seidenfaden war bei 18° C. 24 Stunden getrocknet. Kaninchen, denen derartige Fäden, mitunter in sehr grosser Menge, unter die Haut geschoben wurden, blieben vollständig gesund.

Im Laufe dieser Versuche wurde an Thieren, die mehrfachen Infectionen mit Reinculturen des Bacillus unterworfen wurden, die zufällige Beobachtung gemacht, dass sich die Thiere gegen virulente Impfungen resistent verhielten, wenn sie vorher mit abgeschwächtem Materiale bereits inficirt worden waren. Vor allem wurde bei den Untersuchungen, die angestellt waren, um das Maximum und das Minimum der Temperatur für den Bacillus zu ermitteln, wie auch bei den Abschwächungsexperimenten, regelmässig bemerkt, dass Kaninchen, die vorher mit abgeschwächter Cultur geimpft worden waren, darauf ungestraft die Infection mit dem virulentesten Materiale vertrugen, z. B. mit Blut von einem an der acuten Infection gestorbenen Kaninchen.

Infolge dessen wurde eine Reihe von vergleichenden Untersuchungen angestellt, um die Bedingungen festzustellen, unter denen eine virulente Cultur sich in eine abgeschwächte umwandelt, die im Stande ist, das Thier vor den Folgen einer späteren völlig virulenten Infection zu bewahren.

Zu dem Zwecke wurden kräftige Thiere angewendet und Bouillon-culturen, die verschieden lange Zeit bei Bluttemperatur gehalten worden waren. Dieselben zeigten, wie oben erwähnt, schon nach 20 Tagen, in der Quantität von 0.2^{cem} injicirt, keine Spur von Virulenz mehr; und später, nach 25 bis 30 Tagen, waren sie auch in der Quantität von 0.5 bis 1^{cem} nicht mehr wirksam. In diesem letzteren Falle beobachtete man an den Thieren nur vorübergehende Krankheitserscheinungen, bestehend in Verweigerung der Nahrung, höherer Temperatur, allgemeiner Mattigkeit u. s. w.; nach 6 bis 8 Tagen war gewöhnlich alles wieder normal, das Thier befand sich wohl wie vor dem Versuche. Liess man nun auf dieses Thier virulente Culturen einwirken, die man direct aus dem Körper eines anderen Thieres entnommen hatte, so zeigten sich die Thiere hingegen regelmässig unempfindlich. Es tritt keine Spur von Krankheitserscheinungen auf, während Controlkaninchen, die mit derselben Quantität desselben Blutes geimpft wurden, nach 24 bis 48 Stunden unter den typischen Formen der Infection zu Grunde gingen. Die vorher mit der abgeschwächten Cultur geimpften Thiere zeigten sich besonders dann vollständig immun gegen die Infection mit dem virulenten Material, wenn 15 bis 20 Tage zwischen der ersten und der zweiten Impfung lagen, d. h. wenn das Thier von der ersten Erkrankung vollständig hergestellt war.

Dieselbe Immunität der vorher mit dem abgeschwächten Stoff geimpften Kaninchen zeigte sich, wenn dieselben mit zwei und mehr Cubikcentimeter Speichel inficirt wurden, in welchem sich dieser Bacillus normaler Weise vorfand.

Diese oft und zwar stets mit denselben Resultaten wiederholten Versuche führen uns zu dem Schlusse, dass der Bacillus auf den künstlichen Nährböden (Bouillon) nach Verlauf von 20 Tagen eine spontane Abschwächung in seiner Virulenz erfährt, und ferner, dass diese Culturen als wahre Vaccine wirken, die die damit inficirten Thiere vor der Wirkung einer schweren Infection derselben Art schützt.

Desinfectionsversuche. Aus den vorhergehenden Versuchen, betreffend die Abschwächung und die Widerstandsfähigkeit, welche dieser Mikroorganismus gegen verschiedene Temperaturen zeigt, hat sich ergeben, dass derselbe bei einer Temperatur von 8° nach 15 Tagen abgestorben ist, dass eine Temperatur von 43° hingegen in 6 Stunden denselben Effect sicher hervorruft. Was die Einwirkung der Carbolsäure und des Sublimats auf die Lebenseigenschaften dieses Bacillus betrifft, so wurden die Versuche in folgender Weise angeordnet: Von 10^{cem} einer 48 stündigen gut entwickelten (Brütofen) Bouilloncultur wurde jedes Mal 1^{cem} entnommen und mit 49^{cem} der zu prüfenden Desinfectionsflüssigkeit gemischt. Die Carbolsäure kam in 2 und 3 Procent ihrer Lösung zur Anwendung, während von Sublimat eine 1 pro Mille Lösung verwendet wurde. Diese Lösungen wurden mit der Cultur in dem obigen Verhältnisse tüchtig geschüttelt, um eine innige Vermischung der Keime mit dem Desinficiens zu erreichen, darauf wurden nach verschiedener Zeit mit der sterilisirten Platinnadel in der gewöhnlichen Weise Gelatinröhrchen geimpft. Es ergaben sich folgende Resultate: Bei einer 2 procentigen Carbolsäurelösung genügte eine Einwirkung von 50 Secunden nicht, um die Keime entwickelungsunfähig zu machen; dieselbe Carbolsäure- und Sublimatlösung 2 bis 3 Minuten angewandt, zerstören jedoch den Mikroorganismus vollständig.

Dasselbe erreicht man mit einer 3 procentigen Carbolsäurelösung schon in einer Minute.

Unter den gasförmigen Desinficientien hat sich die Kohlensäure sehr wirksam gezeigt. Auf eine nach der Esmarch'schen Methode angefertigte, mit den Keimen inficirte Gelatinecultur liess man während 24 Stunden einen Kohlensäurestrom einwirken. Nach dieser Einwirkung blieb die inficirte Gelatine vollständig steril.

Litteratur: Wie es scheint, haben verschiedene Beobachter analoge Bacterienformen im Speichel, im Sputum pneumonischer und anderweitiger Kranker, endlich auch in der cerebro-spinalen Flüssigkeit bei Meningitis epidemica festgestellt. Im Speichel haben zunächst Pasteur (3), dann

Sternberg (4) und A. Fränkel (5) ähnliche Mikroorganismen gefunden. Auch sprechen die Zeichnungen von Miller (6) dafür, dass er gleiche Formen in der Mundflüssigkeit bemerkt hat. Nach Injection von Speichel eines an Hundswuth erkrankten Kindes sah Pasteur bei Kaninchen den Tod in 36 Stunden eintreten. Bei der Uebertragung von Kaninchen zu Kaninchen fand sich stets Wiederholung derselben Erkrankung, welche sich als eine Septicämie (*maladie nouvelle*) darstellte. Im Blute fand sich ein Mikroorganismus, den Pasteur als ein kurzes Stäbchen mit einer Hülle und einer mittleren Einschnürung beschreibt. Die Züchtung desselben gelang in Bouillonculturen; hierbei nahm das Stäbchen eine etwas rundliche Form an und ordnete sich zu kleinen Ketten.

Wahrscheinlich dieselbe Kaninchensepticämie erzielte Sternberg durch Injection von seinem Speichel und dem von anderen gesunden Individuen. In dem Blut der inficirten Kaninchen sah derselbe einen Mikroorganismus, den er zwar im Gegensatz zu Pasteur als *Coccus* (*Micrococcus Pasteurii*) bezeichnet, der aber, nach den photographischen Abbildungen zu urtheilen, mit dem Pasteur'schen Mikroben und mit dem von mir als *Bacillus salivarius septicus* bezeichneten wohl identisch ist. Nach Sternberg soll die von ihm gefundene Bacterienart auf Gelatine ebenso wie die Friedländer'schen Pneumoniebakterien wachsen. Wie es scheint, ist es jedoch Sternberg wegen der Schwierigkeit der Züchtung dieses Mikroorganismus nicht gelungen, die biologischen Eigenschaften desselben näher zu studiren. Vielleicht hat Sternberg nicht diejenige Bacterienart gezüchtet, welche er gesehen hat, und welche ich selbst später bei Gelegenheit seines Aufenthaltes in Berlin in seinem Speichel gefunden habe. Diese letztere stimmte in allen Eigenschaften mit dem *Bacillus salivarius septicus* überein.

In einer späteren Arbeit will Sternberg denselben *Micrococcus Pasteurii* bei Pneumonie gefunden haben, spricht sich aber über die ätiologische Bedeutung nicht weiter aus.

Bei Pneumonie haben ähnliche Formen Salvioli, Zäslein (7), Griffini, Cambria, Talomon (8), A. Fränkel und Wechselbaum (9) gesehen; bei Meningitis epidemica Foa und Uffreduzzi (10). Da man aber aus dem mikroskopischen Aussehen einer Bacterienart allein nur in den wenigsten Fällen ein sicheres Urtheil über ihre weitere Bedeutung abgeben darf, so sind wir vorläufig nicht berechtigt, die verschiedenen beobachteten Spaltpilze ohne Weiteres zu identificiren. Hierzu wäre es vor allem nöthig, sämmtliche biologischen Eigenschaften aller dieser Mikroben zu bestimmen, was bis jetzt nur theilweise geschehen ist.

Salvioli und Zäslein haben es wohl mit einem anderen Mikroorganismus zu thun gehabt; ihnen gelangen Züchtungen auf Kartoffeln

bei Zimmertemperatur, Bouillonculturen trübten sich sehr stark, und es bildeten sich hier grosse Flocken; ausserdem sprechen diese Autoren von einer Beweglichkeit ihres Mikroorganismus. Von diesen Dingen konnte ich bei meinen Untersuchungen nichts constatiren.

Der von A. Fränkel aus Pneumonie-Sputum, Gewebesaft pneumonisch veränderter Lungen und pleuritischen Exsudat, später auch aus der entzündlichen Flüssigkeit bei Meningitis cerebro-spinalis und aus dem Speichel gezüchtete, von dem Friedländer'schen erheblich differente Mikroorganismus bietet sehr viele Aehnlichkeit mit meinem Bacillus dar; jedoch unterscheidet er sich von demselben durch die ihm von Fränkel zugeschriebene Pathogenität für Meerschweinchen, die sich, wie ich hier nochmals ausdrücklich betonen will, gegen den Bacillus salivarius septicus vollständig refractär verhalten.

In Bezug auf den von Foa und Uffreduzzi bei Meningitis epidemica gefundenen Mikroorganismus kann man über die Identität desselben mit unserem Bacillus nichts Bestimmtes sagen. Die Verfasser haben in zwei kurzen vorläufigen Mittheilungen nur das Vorkommen desselben bei Meningitis festgestellt. Vielleicht werden die Autoren in einer demnächst zu veröffentlichenden Arbeit die biologischen Eigenschaften ihres Meningococcus näher beschreiben und so ermöglichen, die beiden nach ihrer Herkunft so verschiedenen Mikroorganismen noch weiter zu differenciren.

Allerdings habe ich sowohl mit A. Fränkel als mit Uffreduzzi Culturen ihrer Mikroorganismen gegen solche meines Bacillus ausgetauscht. Gern hätte ich dieselben in ausführlicher Weise in ihren gesammten biologischen Eigenschaften mit meinen Culturen verglichen, jedoch Zeit und Gelegenheit haben mir dazu gefehlt. Ich kann nur soviel sagen, dass die groben Eigenschaften des Wachstums und das Verhalten der Mikroorganismen gegen alle Farbflüssigkeiten sich als völlig übereinstimmend erwiesen.

II. Coccus salivarius septicus.

Dieser Mikroorganismus wurde im Verlaufe dieser Studien nur ein einziges Mal in dem Speichel einer Kranken gefunden, die an schwerer puerperaler Septicämie litt. Als ich diesen Speichel Mäusen, Meerschweinchen, Kaninchen unter die Haut brachte, gingen alle diese Thiere nach 4 bis 6 Tagen zu Grunde; im Blute fand sich eine Unzahl Kokken, und gingen die mit diesem Blute inficirten Thiere in gleicher Weise zu Grunde.

Der einzige und constante anatomische Befund, den alle diese Thiere darboten, bestand in der Anwesenheit der Kokken im Blute und in den Geweben; ausserdem zeigte sich in den parenchymatösen Organen keine

weitere Veränderung von Bedeutung. Im Blute findet sich, wie Photogramm Nr. IIa zeigt, dieser Coccus isolirt oder zu kleinen Gruppen angeordnet; in den Geweben hingegen bildet er constant dicke Haufen, besonders in den Gefässbifurcationen. Namentlich in doppelt gefärbten Leberschnitten sieht man inmitten des rothgefärbten Grundgewebes in den Gefässen ausgedehnte Anhäufungen dieser Mikroorganismen, die an der violetten Färbung, welche sie angenommen haben, auch schon bei sehr schwacher Vergrösserung erkannt werden können. Das Photogramm Nr. IIb zeigt bei 500 facher Vergrösserung einen solchen Haufen in dem Leberparenchym. Hier wie in den anderen Organen ist bemerkenswerth, dass man keine Spur von entzündlichen Erscheinungen um diese Kokken-Ansammlungen herum findet. Ausser der passiven Circulationsstauung, die hier und da durch die Verstopfung der Gefässe herbeigeführt wurde, findet man weder Anhäufung von Rundzellen noch andere entzündliche Erscheinungen. Dieser anatomische Befund in Verbindung mit der Abwesenheit von localisirten Herden in den Organen rechtfertigt die Auffassung, dass dieser Mikroorganismus im Gegensatz zu dem *Bacillus salivarius septicus* keine phlogogenen Eigenschaften besitzt, sondern dass er den Tod einzig und allein dadurch herbeiführt, dass er sich im Körper des Thieres in ausserordentlicher Weise vermehrt.

Dieser Coccus färbt sich in gleicher Weise im Blute als auch aus Culturen entnommen mit allen Anilinfarben gleichmässig gut, ohne eine besondere Prädilection für eine derselben zu zeigen. Auch bei der Behandlung der Präparate mit Jodlösung wird er nicht entfärbt. Unter dem Mikroskop erscheint er im Allgemeinen vollkommen rund; nur im Zustande sehr lebhafter Theilung lässt er leichte seitliche Ausbuchtungen erkennen, nimmt hier auch zuweilen eine leicht ovale Form an. In den bereits erwähnten Haufen sind die einzelnen Kokken zu einer regelmässigen Mosaik aneinandergeordnet.

Mit der gewöhnlichen Methode der Reinzüchtung auf festem Nährboden gelingt es leicht, diesen Micrococcus aus dem Blute der Thiere zu isoliren. Er vermehrt sich ausserordentlich reichlich auf Agar-Agar, in Gelatine, auf der Oberfläche von Blutserum und in Bouillon; kümmerlich hingegen ist das Wachsthum auf Kartoffeln, in Weizengelatine und in Milch. Niemals werden die festen Nährböden verflüssigt. Unter allen Nährböden giebt die gewöhnliche Nährgelatine die charakteristischste Cultur dieses Coccus. Die einzelne Colonie in der Tiefe der Platten ist kreisrund und von weissgrauer, bisweilen leicht in's Schwärzliche gehender Farbe. Stiehculturen (s. Photogr. Nr. II) sind vollkommen weiss; sie bestehen aus vielen punktförmigen isolirten Colonieen mit gut abgegrenzten Conturen; dieselben geben dem Impfstich im ganzen ein körniges Aus-

sehen. In den Stiehculturen zeigt sich wie beim *Bacillus salivarius septicus* an der Oberfläche keine Tendenz zum Wachsthum. Bouillon, die mit diesem *Micrococcus* infectirt wird, wird durch die Entwicklung desselben stark getrübt.

Was die Temperaturbedingungen angeht, so zeigt dieser Coccus ein sehr lebhaftes Wachsthum bei Bluttemperatur; aber auch bei Zimmertemperatur (18 bis 20°) findet Wachsthum, natürlich in geringerer Weise, statt.

Wenn man diesen *Micrococcus* aus Gelatine-Reinculturen nach passender Verdünnung mit Kochsalzlösung in den Körper der Thiere überträgt, so bringt dies denselben Effect zu Stande wie die Einimpfung des Blutes; nur ist hier zu bemerken, dass man, um die oben beschriebene Form der Septicämie mit Reinculturen hervorzurufen, eine viel beträchtlichere Quantität des Materiales braucht. Wenn im Falle der Infection mit Thierblut 1 bis 2 Tropfen genügen, so braucht man von einer Reincultur eine sehr reichliche Aufschwemmung derselben in Wasser, um das Gleiche zu erzielen. Gewöhnlich muss man 4 bis 6 Gelatineculturen in 1^{cem} sterilisirten Wassers aufschwemmen. Vielleicht handelt es sich auch bei dieser Bacterienart um eine Abnahme der Virulenz in der Gelatine-cultur, und es bedarf möglicherweise für die Erhaltung der pathogenen Eigenschaften besonderer Bedingungen, die wir mit unseren heutigen künstlichen Mitteln der Reinzüchtung im Gegensatz zum Thierkörper nicht vollständig erfüllen können.

Dieser Coccus hat mit dem vorhergehenden *Bacillus* einige Eigenschaften gemein; ich halte es daher nicht für überflüssig, auf die Punkte hinzuweisen, in welchen diese beiden im Speichel vorkommenden Mikroorganismen übereinstimmen, bzw. auseinandergehen:

a) Der erste ist von ovaler Form und mit einem Hof versehen; der zweite hat keinen Hof, ist rund und besitzt nur im Zustande der Theilung Ausbuchtungen.

b) Der erste findet sich in den Geweben meist in kleinen Gruppen, zu Ketten oder zu Diplobacillen vereinigt, während der zweite immer in Haufen erscheint, deren einzelne Glieder sich fast berühren.

c) Der erste führt schwere entzündliche Störungen herbei, während der zweite keine solchen Veränderungen verursacht.

d) Der erste ist pathogen für Kaninchen und Mäuse, nicht pathogen dagegen für Meerschweinchen; der zweite ist für diese drei Thierarten in gleicher Weise pathogen, und macht es keinen Unterschied, ob ein Meerschweinchen mit dem Speichel direct geimpft wird oder die Uebertragung von Thier zu Thier erfolgte.

e) Die mit dem ersten *Bacillus* geimpften Kaninchen sterben nach längstens drei Tagen; die mit dem *Coccus* geimpften können auch noch nach 6 Tagen zu Grunde gehen.

f) Bouillon wird durch das Wachsthum des ersten Mikroorganismus nicht getrübt, während der zweite eine deutliche Trübung bewirkt.

g) In Impfstichen in Gelatine wächst der erste in Form eines transparenten Bandes, während der zweite ein ausgesprochen körniges Wachsthum und weisse Farbe zeigt.

Hier ist übrigens zu bemerken, dass diese beiden Mikroorganismen in Impfstichen in Gelatine sich in ihrer Entwicklung gegenseitig nicht hindern; sie können sich nebeneinander auf demselben Nährboden entwickeln.

Sind in Mischculturen wenige Keime des *Coccus septicus* mit vielen des *Bacillus* vereinigt, so treten zwischen den vielen feinen Colonieen dieses *Bacillus* die Colonieen des *Coccus* auf den ersten Blick durch ihr weisses Colorit und ihre runde Gestalt und Grösse besonders deutlich hervor.

Wird ein Kaninchen mit einer Aufschwemmung beider Bacterienarten unter die Haut geimpft, so vermehrt sich bloss der *Bacillus salivarius septicus*, führt den Tod des Thieres herbei und findet sich in Reincultur im Blut, während der zweite weder mikroskopisch noch durch Plattenculturen nachweisbar ist.

III. *Micrococcus tetragenus*.

Bei 50 untersuchten Personen fand ich diesen Mikroorganismus drei Mal im Speichel. Zwei dieser Personen waren vollkommen gesund, nur zeigte die eine mehrere cariöse Zähne; die dritte litt an typischem Erysipel des Larynx nach der Massei'schen Auffassung. Bei den beiden ersten wurde die Anwesenheit des *Tetragenus* im Speichel durch das Ergebniss der Thierversuche constatirt, in dem Speichel des an Larynxerysipel Erkrankten dagegen wurden schon mikroskopisch in Mitten einer grossen Menge von langen Streptokokkenketten kleine spärliche Haufen von *Tetragenus*-Mikrokokken gefunden.

Mit dem Speichel dieses Kranken, der neben Streptokokken auch den *Micrococcus tetragenus* enthielt, wurden je ein Kaninchen, Meerschweinchen und Maus geimpft; sämtliche Thiere erlagen dieser Infection und zwar unter zwei verschiedenen Krankheitsformen. Während nämlich das Kaninchen erst nach 13 Tagen in Folge der Wirkung des *Streptococcus* zu Grunde ging, starben das Meerschweinchen und die Maus nach 8, bezw.

4 Tagen in Folge der Vermehrung des Tetragenus. Diese Beobachtung ist bemerkenswerth, nicht nur weil sie zeigt, dass im Speichel gleichzeitig mehrere pathogene Mikroorganismen vorhanden sein können, sondern auch weil daraus hervorgeht, dass jeder dieser Mikroorganismen, auch wenn er mit anderen zusammen in denselben Thierkörper gelangt, die ihm eigenthümliche Krankheitsform erzeugt, falls überhaupt der betreffende Thierorganismus für die Infection mit einer dieser Bacterienarten empfänglich ist.

In Folge der Injection dieses Speichels gingen, wie gesagt, Mäuse und Meerschweinchen nach Verlauf von 4 bis 8 Tagen zu Grunde. An der Impfstelle zeigte sich äusserlich keine bemerkenswerthe Veränderung. Die Thiere blieben während der ersten Tage vollkommen munter, später wurden sie hinfällig, schwach, blieben unbeweglich und verloren ihre Fresslust. Alle diese Symptome nahmen progressiv bis zum Tode zu. In den letzten Stunden blieben die Thiere fast paralytisch auf Brust und Unterleib mit ausgestreckten Extremitäten liegen, während der Kopf bisweilen ungeordnete hin- und herwackelnde Bewegungen ausführte. Stuess man in diesem Zustande die Thiere an, so waren sie nicht mehr fähig, sich zu bewegen. Vom 3. bis 8. Tage konnte man bei Meerschweinchen auch eine beträchtliche Erhöhung der Temperatur constatiren, während in den letzten Stunden die Temperatur dagegen wieder abnahm. Bei Mäusen zeigte sich oft auch die eigenthümliche schleimige Secretion der Augen, welche bei vielen Infectionskrankheiten dieser Thiere beobachtet werden kann.

Der anatomische Befund liess bei oberflächlicher Prüfung weder an der Infectionsstelle noch in den inneren Organen eine Localisation des Krankheitsprocesses erkennen. Nur in einem einzigen Falle, bei Infection eines kräftigen Meerschweinchens mit grossen Mengen (4 Oesen), welche aus einer Reincultur stammten, fand ich an der Impfstelle in dem Unterhautbindegewebe eine weissliche gelatinöse Masse, die lebhaft an die speckigen Massen des Granuloma bei chronischer Arthritis erinnerte.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich in dieser Masse, welche eine zähe, fadenziehende, schleimige Beschaffenheit hatte und viele lymphoide Elemente enthielt, reichliche Haufen von Tetragenus-Mikrokokken. Von den inneren Organen waren nur die Milz und die Leber stark vergrössert und rothbraun gefärbt. In dem so gefärbten Milzgewebe traten runde, weissliche Herde von verschiedener Grösse und dem Aussehen von Abscessen hervor. Die Capsel erschien glatt und durchscheinend wie in der Norm, wenngleich durch die Schwellung des Organs sehr ausgedehnt. Die Lungen waren gewöhnlich hyperämisch, aber lufthaltig, zeigten nur ab und zu lobuläre Infiltrationen. In dem Pleuralraum war nur selten

serösblutiges Exsudat zu finden. Das Peritoneum, meist normal, zeigte in einem Falle beträchtlichere Gefässinjection seines parietalen Blattes.

Im Blute und in den Organsäften der der Infection erlegenen Thiere, sowohl in Deckglaspräparaten als auch in Schnitten, wurden ausserordentlich viele dieser Kokken gefunden. Dagegen zeigten sich bei Blutuntersuchungen, die während der ersten 2 bis 3 Krankheitstage angestellt wurden, nur selten Tetragenuskokken; mit dem Fortschreiten des Krankheitsprocesses jedoch trat eine äusserst reiche Vermehrung derselben ein, so dass dann das mikroskopische Präparat fast ganz damit erfüllt war. In den verschiedenen Organen scheinen sich diese Mikrokokken in verschiedener Menge zu vertheilen. Constant und sehr reichlich wurden sie in der Lunge gefunden. In doppelt gefärbten Präparaten zeigten sich die interalveolären Capillaren gestopft voll von diesen Kokken, welche übrigens hier besser als irgend anderswo ihre charakteristische Form und ihre Kapsel bewahren. Vielleicht hängt die massenhafte Ablagerung dieses *Micrococcus* in der Lunge und seine ausserordentliche Vermehrung dasselbst mit seinem grossen Sauerstoffbedürfniss zusammen. Die wenigen Exemplare, die zuerst in den Lungenkreislauf gelangen, vermehren sich an Ort und Stelle in rapider Weise bis zur vollständigen Verstopfung der Capillaren.

Ausser in den Lungen finden sie sich noch besonders zahlreich in der Milz, den Nieren und der Leber. In der Milz treten sie in reichlicher Menge in der Umgebung der Malpighi'schen Körperchen und innerhalb der venösen Gefässfurchen auf; in den Nieren in der Binde substanz, welche aus diesem Grunde hyperämisch erscheint. Hier sind die Mikrokokken besonders angehäuft in der Umgebung der Glomeruli und innerhalb derselben. In der Leber finden sie sich den anderen Organen gegenüber weniger zahlreich und meist zerstreut. Wie man aus den Photogrammen Nr. III, *a*, *b*, *c*, *d*, sieht, liegen die Mikrokokken sowohl frei im Blut als im Innern der Gewebe, gewöhnlich in Gruppen zu vier, einer neben dem andern, wie die Augen eines Würfels. Jedes einzelne Element besitzt eine vollkommen runde Form und hat eine Ausdehnung von 0.90 bis 1.50 μ , während jede Gruppe mit der Kapsel etwa den Raum eines rothen Blutkörperchens einnimmt. Die vier zu einer Gruppe gehörigen Elemente stehen meistens gleichweit aus einander und zeigen, wenn sie vollständig entwickelt sind, dieselbe Form und Grösse. Sie sind umgeben von einem gemeinsamen hellen Hof, der immer deutlich zu sehen ist und sich mit den gebräuchlichen Anilinfarben nicht färbt.

Diese Kapsel findet sich auch bei der Zoogloeabildung dieses *Micrococcus* im Innern der Organe. Die Kokken vermehren sich durch Spal-

tung: zuerst entfernen sich bald in longitudinaler, bald in transversaler Richtung die beiden Paare von einander und begeben sich an die beiden Seiten der Kapsel. Dort nehmen auf jeder Seite die beiden isolirten Elemente grössere Proportionen an und beginnen sich zu theilen. In diesem Stadium kann man mitunter sehen, wie die beiden Glieder der primitiven Gruppe sich von einander entfernen und wie die Kokken ihre runde Form verlieren, etwas unregelmässige Gestalt annehmen und wie dann im Innern der primären Kapsel eine secundäre sichtbar wird, welche die Theilung der zwei Paare vervollständigt. Ein anderes Mal treten die einzelnen in Theilung begriffenen Kokken aus der primären Kapsel heraus und bleiben dicht neben derselben liegen. Ausser der eben beschriebenen charakteristischen Art der Theilung kann man die Kokken nicht selten in Gruppen zu dreien angeordnet sehen und in diesem Falle beobachten, dass das dritte Element dicker als die beiden anderen und in der Theilung begriffen ist. Bei Blutuntersuchungen sieht es bisweilen so aus, als ob die Mikrokokken in den weissen Blutkörperchen lägen; es handelt sich jedoch in diesem Falle nicht um ein wirkliches Eindringen derselben in den Zelleib der weissen Blutkörperchen, sondern nur um einfache Auflagerung auf dieselben.

Sowohl in Deckglaspräparaten wie in Organschnitten, sei es, dass dieselben mit Alkohol oder mit Chromsäurelösung behandelt waren, färben sich diese Mikrokokken in ausgezeichneter und gleichmässiger Weise mit allen Anilinfarben. Man kann sagen, dass sie am geeignetsten sind, musterhafte mikroskopische Praeparate zu liefern. Mit der Gram'schen Methode färben sie sich sehr distinct, ohne dass die Jodlösung auf die Kapseln schädlich einwirkt. Mit dieser Färbungsmethode behandelt, zeigen sich die Mikrokokken auch verhältnissmässig am grössten. Nach oder vor der Entfärbung mit der Jodlösung kann man Doppelfärbung an Schnitten erhalten, indem man das Gewebe entweder mit Bismarckbraun oder mit Pierocarmin oder mit Eosin färbt. Ausgezeichnete Doppelfärbungen von Deckglaspräparaten erhält man mit Methylenblau nach vorhergehender Eosinfärbung.

Im Blute der Thiere, welche nach der Injection des Speichels durch die Wirkung dieses Micrococcus zu Grunde gegangen sind, findet man denselben fast stets in Reincultur.

Dieser Micrococcus lässt sich auf allen bisher bekannten künstlichen Nährböden und bei gewöhnlicher Temperatur cultiviren. Ausgezeichnet vermehrt er sich auf Nährgelatine, die mit Fleischbouillon präparirt ist, ohne dieselbe zu verflüssigen, er wächst auf Agar-Agar, auf der Oberfläche von Blutserum, von Kartoffeln, in Bouillon und in Milch, in welcher er keine flockige Fällung, wie verschiedene andere Mikroorganismen, bewirkt.

Auf allen diesen Nährböden verlor er bei meinen Untersuchungen auch nach 18 bis 20 Wochen seine Pathogenität und seine Uebertragbarkeit noch nicht.¹ Auf der Oberfläche von Agar, Blutserum und Kartoffeln tritt das Wachsthum in Form einer dicken, feuchten, weisslichen Masse auf. Die Colonie dieses Coccus stellt sich bald rund, bald oval und von milchweisser Farbe dar. In Impfstichen in Gelatineröhrchen sieht die Colonie vollständig nagelförmig aus, sie breitet sich namentlich an der Oberfläche aus, wo sich auch die erste Entwicklung der jungen Cultur zeigt. Die nagelförmige Kuppe wird allmählich dicker, bis sie in alten, nicht ausgetrockneten Culturen die Dicke von 1 bis 2^{mm} erreicht. In der Tiefe der Gelatine wächst die Cultur in gleicher Weise bald in feinkörniger Gestalt, bald in groben massigen Kugeln. In sehr alten Culturen nimmt die Gelatine in ihren oberflächlichen, von dem Wachsthum nicht ergriffenen Schichten ein milchig-opakes Aussehen an. In Bouillonculturen bildet sich oft ein mehrere Millimeter hoher weisslicher Bodensatz. Mikroskopische Präparate von dieser wie von allen Reinculturen auf künstlichen Nährböden zeigen diese Kokken ohne Kapsel.

Der *Micrococcus tetragenus* vom Thiere oder irgend welcher Cultur auf Meerschweinchen und Mäuse übertragen, tödtet dieselben unter den klinischen Symptomen und mit den anatomischen Läsionen, die oben geschildert wurden. Das Alter der Cultur hat keinen Einfluss auf die Pathogenität; alte Culturen, die nicht sehr ausgetrocknet sind, zeigen sich in gleicher Weise virulent wie solche, die erst vor wenigen Tagen angelegt worden. Während sie aber in dieser Weise pathogen auf Meerschweinchen und Mäuse wirken, verhalten sich Kaninchen und Hunde vollständig refractär dagegen. Dieselben können enorme Mengen vertragen, ohne irgend welche Störungen zu erleiden.

Wie ich aus einer kurzen Bemerkung von Gaffky (11) in der Arbeit „Ueber antiseptische Eigenschaften des in der Esmarch'schen Klinik als Verbandmittel benutzten Torfmulls“ ersehe, hat Koch schon 1881 diesen *Micrococcus tetragenus* aus dem Caverneninhalte der Phthisiker isolirt. Dieser *Micrococcus* wurde von Koch als pathogen für Meerschweinchen und Mäuse gefunden. Vergleichende Versuche zwischen diesem von Koch isolirten und im hygienischen Institut zu Berlin fortgezüchteten *Micrococcus* und dem von mir aus dem Speichel isolirten haben keine Unterschiede ergeben. Es ist demnach anzunehmen, dass sie identisch

¹ Im hygienischen Institut befinden sich Culturen dieses selben *Micrococcus tetragenus*, welche fast vier Jahre lang ausserhalb des Thierkörpers in Nährgelatine cultivirt sind und ihre ursprünglichen Eigenschaften, namentlich auch ihre Virulenz, vollständig bewahrt haben.

sind, und dass sie vielleicht in die Lungencavernen aus der Mundflüssigkeit gelangen, in der sie, wie meine Untersuchungen zeigen, zuweilen vorkommen.

IV. *Streptococcus septo-pyaemicus*.

Im Laufe dieser Untersuchungen habe ich diesen Mikroorganismus drei Mal im Speichel getroffen. In allen drei Fällen handelte es sich um kranke Individuen, deren eines mit Angina phlegmonosa, zwei mit primärem Larynxerysipel.¹

Die mikroskopischen Präparate, welche wie gewöhnlich vor dem Thierversuche angefertigt wurden, zeigten zahlreiche, lange Streptokokkenketten, die in zwei Fällen im Speichel fast in Reincultur auftraten, während sie in dem dritten Falle gemeinschaftlich mit dem Tetragerus gefunden wurden.

In der Menge von $\frac{1}{2}$ bis 1 ^{cem} unter die Haut der Thiere gebracht, zeigte sich dieser Speichel pathogen für Meerschweinchen, Kaninchen und Mäuse, obwohl nicht constant. Auch wurden oft zwei verschiedene Krankheitsformen durch denselben herbeigeführt.

Kaninchen gingen öfter unter der Form der chronischen Septicämie mit Temperaturerhöhung, allgemeiner Erschlaffung, allmählicher Abmagerung u. s. w. nach 15 bis 20 Tagen zu Grunde. An der Infektionsstelle fand sich gewöhnlich nichts Bemerkenswerthes, manchmal nur circumscribte Infiltration mit eitrigem Centrum; die inneren Organe zeigten hochgradige Anämie; das Blut und die Organsäfte wiesen spärliche Kokken, die gewöhnlich in kleinen Ketten angeordnet waren, auf. Versuche der Uebertragung des Blutes der erkrankten Thiere auf Kaninchen blieben resultatlos. Bei Meerschweinchen und Mäusen, denen die Speichelimpfung unter die Haut gemacht worden war, zeigte sich an der Impfstelle Eiterung, die die Tendenz hatte, sich in dem Unterhautbinde- und Muskelgewebe weiter zu verbreiten. Meerschweinchen überstanden diese Eiterung oft und blieben am Leben; Mäuse starben gewöhnlich.

Auch Infectionen mit Reinculturen dieser Bacterienart hatten die gleiche Wirkung. 0.2 bis 0.4 ^{cem} junger Bouillonreincultur in die Blutbahn injicirt, brachten regelmässig die oben geschilderte septicämische Form hervor. Ein Kaninchen, das in dieser Weise inficirt wurde, starb nach drei

¹ Das Material verdanke ich in dem einen Falle der Liebenswürdigkeit des Hrn. Dr. Blaschko, der mir dasselbe aus seiner Praxis in bereitwilliger Weise zur Verfügung stellte.

Tagen und zeigte Milztumor, Lungeninfarcte, Leberhyperämie und serös-blutiges Exsudat in der Pleuralhöhle, in dem sich die Kokken vorfanden. Ausserdem waren in den Nieren desselben Thieres kleine Herde vorhanden. Das Blut zeigte lange Ketten von Streptokokken, wie es im Photogr. IV a zu sehen ist.

Zwei Mal trat nach Injection der Reincultur in die Abdominalhöhle in gleicher Weise der Tod der Kaninchen ein. Noch constanter waren die Erfolge bei Injection von 1^{cem} frischer Bouilloncultur direct in die Muskelsubstanz; und zwar wurde diese Quantität in 4 bis 5 gleichen Theilen in verschiedene Muskeln injicirt (Glutaeen, Deltoideen). Nach 24 bis 48 Stunden documentirte sich an diesen verschiedenen Stellen beträchtliche und schmerzhaft Infiltration, die weiterhin die Neigung zeigte, in das Gewebe vorzudringen.

In dieser Weise geimpft, gingen die Thiere manchmal in etwa 15 Tagen zu Grunde, manchmal blieben sie auch am Leben (am häufigsten Meerschweinchen). Sowohl bei den Thieren, die am Leben blieben, als auch bei denen, die starben, wurde bei einem Einschnitte in die Impfstelle am 3. oder 4. Tage nach der Infection zwischen dem Muskelgewebe sehr starke Infiltration eines serös-eitrigen Exsudats gefunden; und es zeigte sich bei der mikroskopischen Untersuchung sowohl dieses Exsudats wie des benachbarten Gewebes die Anwesenheit einer grossen Anzahl von Kettenkokken. Reinculturen, sowohl aus dem Blut dieser Thiere wie auch dem erwähnten Exsudate, waren mit Hülfe der gebräuchlichen Plattenmethode leicht zu erhalten. In der Tiefe von Agar-Agarplatten, wo sich die Colonieen bei Bluttemperatur nach 48 Stunden entwickeln, sieht man ovaläre gelbgraue Colonieen mit grob ausgeschnittenen Rändern. Etwas langsamer wachsen die Colonieen in der Tiefe von Gelatine, wo übrigens nach 5 bis 6 Tagen diese Colonieen dieselbe Grösse und dasselbe charakteristische Aussehen erlangen. In Impfstichen in Gelatine erscheinen die Colonieen in der Form von feinen weissen Körnchen, die in der peripheren Partie etwas grösser sind als in der Mitte, wo die einzelnen Körnchen nur mit Loupenvergrösserung von einander unterschieden werden können. Das Wachsthum dieses Mikroorganismus in Bouillon erfolgt bei Bluttemperatur relativ rasch. Die Bouillon wird getrübt, und die mikroskopischen Präparate aus solchen Culturen zeigen die längsten Ketten mit vielen Windungen. Auf sterilisirten Kartoffelscheiben, die einzeln zwischen in einander gestellte Glasschälchen gebracht werden, wachsen diese Mikroorganismen ebenfalls. Die einzelnen Colonieen sind klein, abgeplattet und schmutzigweiss; sie erreichen nie grosse Ausdehnung. Auf Blutserum findet die Entwicklung ebenfalls statt, und die Colonieen bieten hier dasselbe Aussehen.

Mikroskopisch ist der Coccus vollständig rund und 0.7 bis 0.8 μ im Durchmesser haltend; die Kokken sind in langen Ketten angeordnet, jedoch sind die einzelnen Glieder der letzteren nicht ganz gleich gross. Regelmässig findet man in diesen Ketten paarige Gruppierung der Glieder.

Dieser Streptococcus, verglichen mit dem des Erysipels, der Phlegmone, der puerperalen Metritis, lässt keine Unterschiede erkennen. Identisch ist das Aussehen der Colonieen, gleich langsam die Entwicklung, ähnlich das Resultat der Thierversuche. Bei Thierinfectionen, die auf die mannigfaltigste Weise, wie oben beschrieben, ausgeführt wurden, beobachtet man dieselben inconstanten Resultate; es zeigten sich dabei keine Unterschiede zwischen den Streptokokken von verschiedener Herkunft, sondern nur Unterschiede nach der Art und Weise der Impfung. Auch die Impfung eines weissen Kaninchens an der Haut des Ohres mit dem beschriebenen Coccus, wie mit dem von Phlegmone und Metritis puerperalis lieferte ähnliche Ergebnisse wie die bekannten Impfungen mit dem Erysipelcoccus. Diese Versuche machte ich in der Weise, dass ich zuerst mit einer gewöhnlichen sterilisirten Nadel eine grössere Anzahl von langen Stichen, die parallel der Oberfläche der Haut durch die Epidermis verliefen, ausführte, so dass die Epidermis gewissermaassen eine Reihe von Tunnels enthielt, dass ich ferner in die so unterminirte Haut mit der Platinnadel Reincultur einbrachte. Das gesammte Ohr wurde darauf, um das Eintrocknen zu vermeiden, mit einer Kautschukkappe überzogen. Nach dieser Art der Impfung traten meistens echte erysipelatöse Formen auf, durch Röthung, locale Hitze, Oedem, Bildung kleiner Bläschen, Temperaturerhöhung des Körpers charakterisirt. In einzelnen Fällen kamen auch kleine localisirte Eiterungen zu Stande. In allen diesen Fällen blieben die Kaninchen am Leben.

V. *Staphylococcus salivarius pyogenes*.

Nicht selten folgt auf die subcutane Injection von Speichel locale Eiterung. Gewöhnlich sieht man dann 3 bis 4 Tage nach der Impfung, während die Thiere sich im Uebrigen vollkommen gesund befinden, eine allmählich zunehmende, locale, entzündliche Schwellung entstehen, welche sich in eine mehr oder weniger ausgedehnte, fluctuirende Stelle verwandelt. Die mikroskopische Prüfung des Inhaltes ergab constant Mikrokokken, welche nach ihrer charakteristischen Anordnung in kleine Trauben, die sie in der Regel zwischen den Eiterzellen bildeten, zu den Staphylokokken zu rechnen wären. Diese Annahme wurde durch die Culturen, welche in der Mehrzahl dieser Fälle angestellt wurden, bestätigt. Es gelang

nämlich meist, zwei Arten zu isoliren, welche sich ihrem ganzen Verhalten nach völlig identisch erwiesen mit den beiden Varietäten von Staphylokokken, welche zuerst von Rosenbach und später von Passet unterschieden worden sind als aureus und albus. Diese Identität zeigte sich sowohl in ihrem Verhalten gegen Gelatine, wie durch das charakteristische Pigment, welches sie im Contact mit dem Sauerstoff der Luft bilden, wie auch schliesslich durch den constanten Effect, den die Verimpfung dieser Reinculturen auf Thiere hervorbrachte, nämlich locale Eiterung.

Hier wurde also nichts anderes gefunden, als was B. Fränkel (12) durch Anstellung von Plattenculturen aus Speichel fand. Wie dieser Autor in seiner Arbeit über „Angina lacunaris und diphtherica“ angiebt, fand er in dem Speichel von Kranken mit chronisch-catarrhalischen Zuständen des Pharynx den *Staphylococcus pyogenes aureus* und albus, die er für analog denen von Rosenbach hält. Aus diesen von einander unabhängigen und sich in gewisser Weise gegenseitig ergänzenden Untersuchungen kann man den überdies vom chirurgischen Standpunkte aus nicht unwichtigen Schluss ziehen, dass die Eiterkokken in der Mundhöhle durchaus nicht selten vorkommen, und dass sie, obgleich mit vielen Mikroorganismen von ganz verschiedener Natur vermischt, in Thieren sich sofort vermehren und hier ihre eigene pathogene Wirkung entfalten.

Bei der mikroskopischen Untersuchung des Inhaltes des Abscesses von einem Meerschweinchen, welches mit dem Speichel eines an Angina scarlatinosa leidenden Kranken (von der Leyden'schen Klinik) subcutan geimpft war, hätte man dasselbe Resultat erwarten sollen; es gelang mir aber trotz aller aufgewendeten Mühe nicht, mikroskopisch einen bestimmten Mikroorganismus zu unterscheiden. Wie gewöhnlich bediente ich mich bei dieser Beobachtung des Oculars Nr. 0 und des Object. $\frac{1}{12}$ Leitz. Da aber die Abscessbildung unter der Rückenhaut des Thieres acut stattgefunden hatte, so musste man ein pathogenes Agens annehmen.

Um bei diesem negativen mikroskopischen Resultate über die Natur des Abscesses in's Klare zu kommen, wurde einem zweiten Meerschweinchen ein Tropfen des Abscessinhaltes, der während zweier Tage in einem sterilisirten Uhrschälchen aufbewahrt war, unter die Haut gebracht. Auf diesen Infectionsversuch folgte unter denselben Symptomen und nach derselben Zeitdauer ein Abscess mit den gleichen Charakteren. Auch hier lieferte die mikroskopische Prüfung zunächst ein negatives Resultat; bei stärkerer Vergrösserung jedoch ($\frac{1}{18}$) liessen sich ausserordentlich feine

Kokken unterscheiden, die nach ihrer Lagerung in Mitten der Eiterelemente und nach ihrem massenhaften Auftreten wohl als die Ursachen dieses Abscesses angesehen werden konnten. Die Beobachtungen der Präparate des vorhergehenden Abscesses mit starken Objectiven liess dann denselben Befund erkennen. Züchtungsversuche, welche in diesem zweiten Falle angestellt wurden, ergaben eine bis dahin unbekannte Micrococcusart, welche ich als *Staphylococcus salivarius pyogenes* bezeichnen möchte.

Sowohl bei der subcutanen Impfung eines Tropfens Eiter wie bei der Injection von Reinculturen bringt dieser Micrococcus constant folgende klinisch-anatomischen Erscheinungen hervor:

Ohne allgemeine Störungen erhebt sich 24 Stunden nach der Impfung in der Ebene der Impfstelle eine harte, bei Druck sehr schmerzhaft infiltrirte, welche in den nächsten Tagen an Ausdehnung zunimmt und halbkugelige Gestalt erreicht. Am vierten Tage zeigt sich meist im Centrum dieser Schwellung eine Elasticität, welche später allmählich gegen die Peripherie fortschreitet und immer deutlicher wird, bis nach 6 bis 7 Tagen die ursprüngliche Infiltration in eine heisse, fluctuirende, schmerzhaft Tasche umgewandelt ist. Diese hält sich auch während des weiteren Verlaufes meist circumscribirt und erreicht keine grössere Ausdehnung, als etwa die einer gewöhnlichen Mandel. Zwischen gesunder und kranker Haut zeigt sich stets eine deutliche Demarcationslinie, die durch einen peripheren, mitunter resistenteren Gewebstreifen repräsentirt ist. Die über der Geschwulst liegende Haut wird am 6. bis 7. Tage verdünnt und geröthet. Gewöhnlich bricht die Geschwulst von selbst auf, oder aber sie geht nach 1 bis 2 wöchentlichem Bestehen eine spontane Rückbildung ein, reducirt sich in ihrer Masse bis auf eine harte linsenförmige Infiltration, die oft noch nach Monaten an Ort und Stelle fühlbar ist. Es scheint, dass in diesen Fällen die Resistenz des Thieres das Uebergewicht über das Virus erlangt, welches seine Wirkung an Ort und Stelle entfaltet. Zu dieser Ansicht wird man geführt, da bei anderen Thieren dasselbe Material in derselben Quantität verimpft einen Tumor hervorbringt, welcher sich unaufhaltsam vergrössert, bis er nach aussen durchbricht.

Weder in dem Falle des Aufbruches, noch in dem der spontanen Rückbildung des Abscesses gingen die Thiere zu Grunde. Die Krankheit blieb von Anfang bis zu Ende local, ohne den gesammten Organismus in Mitleidenschaft zu ziehen.

Die Untersuchung des Inhaltes nahm ich gewöhnlich nach dem 8 Tage vor, d. h. nachdem deutliche Fluctuation und beträchtliche Ver-

dünnung der bedeckenden Haut eingetreten war. Vor der Eröffnung wurde die Operationsstelle abgeseift, rasirt, mit Sublimatlösung (1 ‰) und dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Das Messer wurde vorher in der Flamme sterilisirt.

Beim Einschnneiden entleerte sich regelmässig gelber, crèmeartiger Eiter ohne rothe Blutkörperchen und necrotische Fetzen.

Die mikroskopische Untersuchung der Trockenpräparate liess bei starker Vergrösserung zwischen den Eiterelementen zahlreiche kleine Kokken, wie oben ausgeführt, erkennen. Dieselben fanden sich je nach dem Alter des Abscesses in verschiedener Menge; sie lagen fast immer einzeln, weder zu Diplokokken noch zu Ketten, noch in Haufen vereinigt. Besser als mit jeder anderen Färbung gelang es, dieselben mit der Gram'schen Methode deutlich zu machen, und zwar ohne nachfolgende Gegenfärbung. Inmitten des vollständig entfärbten Grundes konnte man so die kleinen intensiv violett gefärbten Kokken leicht erkennen. In anderen Fällen wartete man die vollständige Erweichung der Geschwulst nicht ab, sondern tödtete das Thier und schnitt die ganze infiltrirte Stelle aus, um die Theile der histologischen Untersuchung zu unterziehen. Es zeigte sich dabei starke Injection der Gefässe des subcutanen Gewebes, Proliferation und Auswanderung von lymphoiden Zellen, in deren Mitte sich bei genauem Zusehen viele der ausserordentlich kleinen Kokken entdecken liessen. Dieselben waren nicht überall gleichmässig vertheilt; in der Mitte der schon erweichten Partien lagen sie einzeln und verhältnissmässig nur spärlich, während sie in den peripheren Theilen, innerhalb des frisch infiltrirten Gewebes, in grossen wolkenförmigen Massen erschienen.

Die Untersuchung des Blutes zeigte in keiner Periode der Krankheit die Gegenwart der in dem Abscess beschriebenen Kokken.

Die Kokken sind völlig rund und deutlich kleiner als die Mehrzahl der bis jetzt bekannten anderen Mikrokokken. Ihren Durchmesser konnte man an einigen Stellen besonders durchsichtiger Präparate, die aus dem Eiter oder auch aus dem Speichel stammten, annäherungsweise auf 0.30 bis 0.50 μ bestimmen.

Diese Beobachtung erinnert an eine analoge Beobachtung Koch's vom Jahre 1879 (17). Koch fand damals (bei progressiver Abscessbildung bei Kaninchen) ausserordentlich kleine Kokken, welche in dem Centrum der Eiterherde nicht zu sehen waren, in der Abscesswand dagegen sehr reichlich auftraten. Doch unterscheiden sich die Mikrokokken der progressiven Abscessbildung bei Kaninchen von den in Rede stehenden Mikrokokken wohl durch folgende Eigenschaften: Der erstere verursachte Eiterung, welche die Tendenz zeigt, sich immer weiter auszuweiten, während der zweite im Falle subcutaner Impfung seine Wir-

kung lediglich an Ort und Stelle entfaltet; der erstere producirt käsige Massen, der zweite nur Eiter von der Art des Eiters heisser Abscesse; der erstere tödtet die Kaninchen in 12 bis 15 Tagen nach vorhergegangener grosser allgemeiner Abmagerung, während bei dem zweiten dieser Ausgang nie vorkommt.

Aus dem Inhalt dieser Abscesse erhält man sehr leicht den Micrococcus in Reincultur, indem man mit einem Tropfen Eiters die gewöhnlichen Platten anlegt. Auf der Gelatine zeigt sich bei Zimmertemperatur zuerst nach 2 bis 3 Tagen beginnendes Wachstum. Die einzelnen Colonieen, besonders wenn sie in einiger Entfernung von einander liegen, erreichen am 4. bis 6. Tage das Maximum ihrer Entwicklung und verflüssigen von dieser Zeit an langsam die umgebende Gelatine. Die zu dieser Zeit beobachteten Colonieen, und zwar sowohl die in der Tiefe wie auf der Oberfläche der Gelatine, erscheinen vollkommen rund, mit scharf begrenzten Rändern und von weisslich-opalisirender Farbe.

Eine lange Reihe durch viele Generationen hindurch fortgesetzter Culturversuche hat mir gezeigt, dass dieser Micrococcus auf der grösseren Zahl der künstlichen Nährböden wächst und sich lebend erhält. Auf Milch, Bouillon, auf der Oberfläche von Serum, auf Agar, auf Fleischwasser- und Weizeninfusgelatine kann man seine Vermehrung beobachten. Auf der Oberfläche von Kartoffeln wie von Weizengelatine ist freilich sein Wachstum kümmerlich und kaum sichtbar. Wie die gewöhnliche Gelatine, so verflüssigt sich auch die Weizengelatine unter dem Einflusse seiner fortschreitenden Entwicklung. Die Milch wird durch ihn in grossen Flocken gefällt; Bouillon wird im Brütapparat schon nach den ersten zwei Stunden getrübt. Später findet man am Boden des Röhrchens eine sehr dichte weissliche Ablagerung, die durch das Wachstum des Micrococcus hervorgebracht ist.

Besonders charakteristisch sind für diesen Micrococcus die Culturen in Impfstichen in Gelatine und auf der Oberfläche von Agar und von Blutserum.

In Stichculturen in Nährgelatineröhrchen, die bei einer Temperatur von 12° bis 14° gehalten werden, beginnt nach dem 4. Tage das Wachstum längs der Impfstiche. Dasselbe erscheint zuerst an der Oberfläche und schreitet dann allmählich in die Tiefe vor, bis es den ganzen Impfstich ausfüllt. Nach dem 8. Tage ungefähr nimmt die Cultur in der Gelatine die Form eines Trichters mit weiter Oeffnung an der Oberfläche an, der sich nach unten allmählich in eine Spitze auszieht. In dieser Periode beginnt bei Sommerzimmertemperatur eine Verflüssigung der Gelatine, die in den folgenden Tagen langsam weiter geht und sich auf die ganze Länge des Impfstiches ausdehnt. Später bemerkt man, besonders

wenn die Gelatine vollkommen durchsichtig ist, dass der ganze verflüssigte Theil der Cultur wie leicht trübes Wasser erscheint, das man mit einigen Tropfen Milch versetzt hat. Der verflüssigte Theil der Gelatinecultur enthält auch kleine weisse, manchmal glänzende Körnchen wie Fetttröpfchen, die sich in reichen Mengen an der Spitze des Trichters ansammeln (s. Photogr. V). Auf der Oberfläche der verflüssigten Gelatine bemerkt man in dieser Periode ausserdem ein weissliches Häutchen, das dem Platindraht als schleimige, fadenziehende Masse folgt, besonders wenn die Cultur nicht sehr alt ist. Dies ist ein Characteristicum für diesen Micrococcus, welches ich sowohl an den Culturen aus dem Speichel des Kranken mit der scarlatinösen Angina, wie fernerhin in vielen Generationen des aus den Abscessen gewonnenen Coccus constatirt habe.

Das Photogr. V zeigt eine Cultur dieses Coccus, 25 Tage alt in der Periode der Trichterbildung und der Gelatine-Verflüssigung.

Auf der Oberfläche von Blutserum wächst die Cultur mit derselben weisslich-opalisirenden Farbe, wie wir sie für die Colonieen auf Gelatineplatten beschrieben haben. Man muss jedoch bemerken, dass auf der Oberfläche des Serums das Wachsthum dieses Coccus lange nicht so üppig ist, wie auf der Oberfläche von Agar. Im Falle, dass die Keime auf der Oberfläche von Blutserum zerstreut liegen, sieht man runde, platte, weissliche Colonieen, mit einem dichteren und über die Peripherie erhabenen Centrum.

Auf Agar-Agar, besonders auf schräg erstarrtem, ist das Wachsthum rapide und zeigt einen bemerkenswerthen Farbenwechsel. Bei derartigen Culturen zeigt sich schon nach 24 Stunden bei Bluttemperatur auf der Oberfläche des Agar eine dichte Ablagerung längs des Impfstiches, welche etwa $\frac{1}{2}$ bis 1 cm breit ist. Das weisse, leicht opalisirende Colorit dieses Micrococcus auf Gelatineculturen wird auf der Oberfläche von Agar-Agar vollständig vermisst. Hier nimmt die Cultur eine orange-gelbe Farbe im Centrum und eine weissliche in der Peripherie an. Das gelbe Colorit des Centrums ist lange nicht so intensiv wie das des Staphylococcus pyogenes aureus. Impft man eine solche Agarcultur in Gelatine über, so erhält die sich hier entwickelnde Cultur das oben erwähnte weisslich-opalisirende Aussehen.¹ Mikroskopische Präparate aller dieser Culturen zeigen denselben kleinen Coccus, welcher sich jedoch bisweilen etwas grösser darstellt, besonders wenn er in Theilung begriffen ist, und wenn ihm der Nährboden zusagt.

¹ Bei den Culturen auf der Oberfläche von Agar-Agar ist noch bemerkenswerth, dass dieselben, besonders wenn sie etwas älter werden, Bildung von langen nadelförmigen Krystallen zeigen, welche sich von der Oberfläche des Nährbodens in die Masse desselben hineinerstrecken.

Ausserdem scheint aber auch die mikroskopische Präparationsmethode Einfluss auf die Grösse dieses Coccus zu haben. Von der charakteristischen, oben beschriebenen Grösse findet er sich gewöhnlich im Innern der Abscesse. Das Photogr. Nr. Va zeigt einen Haufen dieses Coccus in Abscessen bei 500 maliger Vergrösserung.

Dieser Coccus erzeugt, gleichgültig ob aus alten, durch viele Generationen fortgepflanzten Culturen in geringster Menge, oder aus einem Abscess in der Menge von $\frac{1}{10}$ Tropfen Eiters einem Thier unter die Haut gebracht, stets denselben Effect; immer sind Krankheitsverlauf und anatomische Natur dieselben. Alle Thiere, welche mit diesem Micrococcus geimpft werden, haben darauf durch Abscessbildung an der Impfstelle reagirt. Bei Mäusen, Meerschweinchen, Hunden und Kaninchen zeigte sich bei der subcutanen Impfung locale, abgegrenzte Eiterung. Auch die sehr dicke und resistente Haut der Hunde verdünnte sich bis zum spontanen Durchbruch und zur Entleerung des Eiters.

Bei der Impfung in die vordere Augenkammer zeigte sich nach den ersten 24 Stunden beträchtliche Gefässinjection, dann reichliches, freies Hypopion und spontane Perforation der Cornea; auch bei dieser Impfwaise wurde der Tod der Thiere niemals beobachtet.

Bei der Injection in das Cavum abdominale von Meerschweinchen fand, wenn die injicirte Menge sehr klein war, Absorption derselben statt, ohne dass locale oder allgemeine Krankheitserscheinungen auftraten. Im Falle sehr reichlicher Injection (0.2 bis 0.4 ^{ccm} einer dicken Aufschwemmung von Reincultur des Coccus) in die Bauchhöhle stellte sich Peritonitis ein, und der Micrococcus wurde im Blute des Thieres gefunden. In derselben Quantität in die Jugularvene von Meerschweinchen eingebracht bewirkte der Micrococcus Allgemein-Infection und Tod des Thieres meist nach 8 bis 10 Tagen. In diesem Falle waren neben dem Vorhandensein der Kokken im Blut in den Organen, besonders in den Nieren deutliche kleine entzündliche und hämorrhagische Herde vorhanden.

In der Erwägung, dass die Kleinheit dieses Micrococcus eine sichere Unterscheidung von den gewöhnlichen Eiterkokken nicht unbedingt ermöglichte, haben wir noch andere wichtige Punkte, welche zu einer Differenzirung von *Staphylococcus pyogenes aureus* und *albus* verhelfen können, festzustellen gesucht. Den Citreus von Passet habe ich deshalb nicht mit in die Versuchsreihe hineingezogen, weil er sich durch seine charakteristische Farbe schon hinreichend kennzeichnet.

Es haben sich in dieser Hinsicht folgende Thatsachen ergeben:

1. Der *Staphylococcus salivarius pyogenes* verflüssigt die Gelatine sehr viel langsamer als der *aureus* und *albus*. In Culturen, die zu gleicher Zeit und von Culturen gleichen Alters der drei Kokken-

arten angestellt wurden (und zwar in Probirrröhrchen, die Gelatine von denselben Präparationen enthielten, und die alle bei einer Temperatur von 10° bis 14° gehalten wurden) zeigten sich die ersten Spuren der Verflüssigung der Gelatine bei dem *Staphylococcus salivarius* nach 20 Tagen, während der *Aureus* zu dieser Zeit die Gelatine bereits vollständig, der *Albus* bis etwa zur Hälfte verflüssigt hatte. Bei einem anderen analogen Versuche zeigte es sich, dass der *Aureus* schon nach einer Woche die ganze Gelatine verflüssigt hatte, während der *Albus* dazu einen Monat und acht Tage brauchte; der *Staphylococcus salivarius pyogenes* hatte nach derselben Zeit noch nicht den dritten Theil der Gelatine aufgelöst.

2. Auf der Oberfläche von Agar erschienen Reinculturen des *Aureus* intensiv orangegegelb, die des *Albus* schneeweiss, die des beschriebenen *Coccus* hingegen goldgelb-weisslich.

3. Auf der Oberfläche der Gelatinecultuur bildet der *Staphylococcus salivarius pyogenes* sehr oft ein Häutchen, was bei den beiden anderen nicht der Fall ist.

4. Auch in Abscesseiter ordnet sich der *Aureus* und *Albus* in traubenförmigen Haufen, während der *Staphylococcus salivarius pyogenes* sich stets isolirt in Mitte des Kerndetritus und der Eiterkörperchen vorfindet und Zooglöaform allein in der peripheren Zone annimmt.

Unter den übrigen biologischen Eigenschaften dieses Mikroorganismus verdienen folgende hervorgehoben zu werden:

Zunächst die grosse Haltbarkeit der Culturen: Selbst nach sechs Monaten noch bringt die Ueberimpfung einer Agarcultur auf Gelatine das typische Wachsthum, die Thierinfection typische Abscesse hervor. — Grosse Resistenz zeigt auch der *Coccus* gegen niedrige Temperaturen. Im Eisschrank bei 8° bis 9° findet noch eine, freilich sehr langsame Entwicklung statt, und man kann die Culturen hier Monate lang aufbewahren, ohne dass sie an Wirksamkeit verlieren. Bei der Uebertragung einer drei Monate lang bei 8° bis 9° aufbewahrten Cultur auf frische Gelatine wurde anfänglich eine sehr langsame und kümmerliche Entwicklung beobachtet. Bei fortgesetzter Ueberimpfung auf immer neue Gelatine trat jedoch allmählich das frühere energische Wachsthumsvermögen wieder hervor. — Auch bei Temperaturen über 40° bewahren die Culturen für lange Zeit ihre Uebertragbarkeit und Virulenz. Eine Temperatur von 43° freilich vernichtet bei 4tägiger Einwirkung das Leben dieses *Micrococcus* vollständig. — Ziemlich resistent ist dieser *Micrococcus* gegen Eintrocknen.

2^{cm} lange Seidenfäden, die vorher in kochendem Wasser sterilisirt und dann mit junger virulenter Cultur imprägnirt waren, erwiesen sich nach 22 tägigem Aufbewahren bei Zimmertemperatur (17°, 18°) noch pathogen. Erst nach längerer Zeit gaben sowohl Uebertragungsversuche auf Gelatine wie Thierexperimente zweifelhafte und inconstante Resultate. — Desinfectionsversuche wurden mit Sublimatlösung 1:1000, sowie mit Carbolsäurelösung 1 und 3 Procent unternommen. Nach 2 bis 3 Minuten langer Einwirkung einer 1 procentigen Carbolsäurelösung sind diese Kokken noch entwicklungsfähig, während sie schon nach einer Minute langer Einwirkung der 3 procentigen Carbolsäurelösung abgestorben sind.

Auch mit der 1⁰/₁₀₀ Sublimatlösung erreicht man vollständige Vernichtung der Entwicklungsfähigkeit nach einer Minute langer Einwirkung.

Durch diese wenigen Untersuchungen glaube ich keineswegs alle die im Speichel vorkommenden pathogenen Mikroorganismen festgestellt und näher erforscht zu haben; immerhin bietet meine Arbeit wohl einen Beitrag zu diesem Gegenstande.

Vielleicht wird es späteren Studien gelingen, noch andere pathogene Mikroorganismen im Speichel aufzufinden. Einmal kann schon die beschränkte Zahl der Speichelproben, welche mir zur Verfügung standen, die Veranlassung sein, dass mir dieser oder jener pathogene Mikroorganismus, den die menschliche Mundflüssigkeit zu beherbergen vermag, entgangen ist; und dann wird auch eine Ausdehnung der Thierversuche, d. h. die Benutzung von anderen Thierarten wohl noch zur Entdeckung solcher pathogener Bakterien führen, für welche die fast ausschliesslich angewandten Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen nicht empfänglich sind. Vielleicht führt auch der Weg, die Mikroorganismen des Speichels zuerst durch die Plattenmethode zu isoliren und dann die so reingezüchteten auf Thiere zu übertragen, in dieser Beziehung noch zu weiteren Ergebnissen; denn man vermeidet es dann, viele verschiedenartige Mikroorganismen zu gleicher Zeit unter die Haut zu bringen. Wir sind uns wohl bewusst, durch unser Verfahren vielleicht von verschiedenen im Speichel vorhandenen pathogenen Mikroorganismen jedesmal diesem oder jenem den Weg besonders leicht gemacht und ihn so bevorzugt zu haben, dass er die anderen überflügelte und letztere unserer Untersuchung entgingen. Zu weiteren positiven Resultaten wird man ohne Zweifel gelangen, wenn man den Speichel von verschiedenartigen Kranken untersucht, und wenn man die aus diesem reingezüchteten Mikroorganismen in die Blutbahn, nicht in das Unterhautbindegewebe bringt.

Ist dieses Capitel erst einmal eingehend genug erforscht, so erweitern sich unsere Kenntnisse nicht nur beziehentlich der pathogenen Mikroorganismen überhaupt, sondern man wird auch allen jenen Infectionen, welche sich den Bissverletzungen oder den blutigen Operationen in der Mundhöhle oft anschliessen, ein viel grösseres Verständniss entgegenbringen.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, dem Hrn. Prof. Koch meinen herzlichen Dank zu sagen für die vielfachen Belehrungen, die er mir während meiner bacteriologischen Studien zu Theil werden liess. Ferner danke ich allen Herren Assistenten des Hrn. Prof. Koch, besonders den Herren DDr. C. Fränkel und Plagge, für ihre freundliche Unterstützung. Hrn. Dr. Plagge bin ich für seine bereitwillige Hülfe, die er mir bei der Anfertigung der Photogramme geliehen hat, zu besonderem Dank verpflichtet.

Berlin, 30. September 1886.

Literatur.

- 1) Lannelongue und Raynaud, Recherches u. s. w. *Bulletin de l'Académie de médecine*. Séance du 18. janvier 1881. p. 61.
 - 2) Metschnikoff. *Fortschritte der Medicin*. Bd. III. S. 231.
 - 3) Pasteur, Sur une maladie nouvelle, provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage. *Comptes rendus*. Bd. XCII. p. 159.
 - 4) Sternberg, The Pneumonia Coccus of Friedländer (Micrococcus Pasteurii). *American Journal of Medical sciences*. p. 435 und *Bacteria*. Second Edition. New-York 1884. p. 237. — *American Journal etc.* 4. Juli 1886.
 - 5) A. Fränkel, Bacteriologische Mittheilungen aus dem Laboratorium der medicinischen Klinik zu Berlin. *Separat-Abdruck aus der Zeitschrift für klinische Medicin*. Bd. X. Hft. 5 und 6. — Ueber einen Bacterienbefund bei Meningitis cerebrospinalis, nebst Bemerkungen über die Pneumoniemikrokokken. *Separat-Abdruck aus der deutschen medicinischen Wochenschrift*. 1886. Nr. 13.
 - 6) Miller, Zur Kenntniss der Bacterien in der Mundhöhle. *Deutsche medicinische Wochenschrift*. 1884. Nr. 48.
 - 7) Salvioli und Zätlein. *Separat-Abdruck aus dem Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften*. 1883. Nr. 41.
 - 8) Salvioli, Della natura infettiva della polmonite crupale. *Archivio per le scienze mediche*. Vol. VIII. Nr. 7.
 - 8a) Talomon, Note sur le coccus lanceolé de la pneumonie lobaire fibrineuse. *Progrès méd.* 1883. Nr. 31.
 - 9) Weichselbaum. *Wiener Medicinische Gesellschaft*. Juni 1886.
 - 10) Foa und Uffreduzzi, Sulla meningite cerebro-spinale epidemica. Torino 19. Marzo 1886. — Ulteriori ricerche sul Meningococco. Lettura fatte all' accademia di medicina il 26. Marzo 1886. *Estratto dal Giornale della R. Accademia di medicina*. Anno 1886. Nr. 2. 4.
 - 11) Gaffky, Ueber antiseptische Eigenschaften des in der Esmarch'schen Klinik als Verbandmittel benutzten Torfmulls. *Langenbeck's Archiv*. 1883. S. 495—507.
 - 12) B. Fränkel, Angina lacunaris und diphtherica. *Berliner klinische Wochenschrift*. 1886. Nr. 17.
 - 13) Koch, *Wundinfectionskrankheiten*. Leipzig 1879. S. 50—54.
-

Erklärung der Photogramme.

Phot. I. Bacillus salivarius septicus. Stichcultur in Gelatine. $\frac{1}{1}$.

Phot. II. Coccus salivarius septicus. Stichcultur in Gelatine. $\frac{1}{1}$.

Phot. III. Micrococcus tetragenus Stichcultur in Gelatine. $\frac{1}{1}$.

Phot. IV. Streptococcus septo-pyaemicus. Stichcultur in Gelatine. $\frac{1}{1}$.

Phot. V. Staphylococcus salivarius pyogenes. Stichcultur in Gelatine. $\frac{1}{1}$.

Phot. I a. Bacillus salivarius septicus. Deckglaspräparat vom Blute. $\frac{1000}{1}$. Die Hüllen sind deutlich als weisser Hof zu sehen. Die zugespitzte Form des Bacillus ist ebenfalls deutlich.

Phot. II a. Coccus salivarius septicus. Deckglaspräparat vom Blute. $\frac{1000}{1}$. Man sieht in diesem Phot. die Neigung des Micrococcus, auch im Blute Anhäufungen zu bilden.

Phot. II b. Derselbe Coccus in einem Leberschnitt $\frac{500}{1}$. Grosse Colonie in der Gefässverzweigung ohne Infiltration in der Umgebung.

Phot. III a, b, c. Micrococcus tetragenus. Deckglaspräparate vom Blute. $\frac{1000}{1}$. Diese Photogr. zeigen die Gruppierung und die Theilung dieses Coccus in verschiedenen Phasen. Die Hülle ist deutlich zu sehen.

Phot. III d. Derselbe Micrococcus in einem Lungenschnitt. $\frac{500}{1}$.

Phot. IV a. Streptococcus septo-pyaemicus. Deckglaspräparat vom Blute. Sehr lange Ketten mit vielen Windungen.

Phot. IV b. Derselbe in einem Muskelschnitt. $\frac{500}{1}$.

Phot. V a. Staphylococcus salivarius pyogenes. Schnitt durch die Abscesswand. $\frac{500}{1}$.