Ueber active Beweglichkeit der Bakterien.

Von

Doc. G. Gabritschewsky,

Vorstand des bakteriologischen Institutes an der Kaiserl. Universität zu Moskau.

Die active Beweglichkeit der Bakterien gehört unstreitig zu den interessantesten Functionen der lebenden Zelle und hat das Studium dieser Function in jüngster Zeit eine ganz besondere Bedeutung erlangt.

Man erinnere sich in Betreff dessen nur daran, dass Engelmann (1) als empfindliches biologisches Reagens für den Sauerstoff in Mengen von $\frac{1}{30}$ Millionstel eines Milligramms, das ja schon einem hypothetischen chemischen Molekül gleichkommt, die Beweglichkeit des Bact. photometrici verwertete. Beijerinck (2) gelang es mittelst der sogen. Athmungsfiguren die verschiedene Beziehung der mobilen Bakterien zum Sauerstoff strikt nachzuweisen. Die Untersuchungen des Botanikers Pfeffer (3) endlich ergeben, dass die active Beweglichkeit der Bakterien das Studium der sogenannten Chemotaxis, welche heutzutage allgemeine biologische Bedeutung erlangt hat, da die Beobachtungen von Leber, Massart und Bordet u. A. (4) die Existenz der chemischen Empfindlichkeit der Leukocyten, der beweglichen thierischen Zellen, sicher gestellt, ermöglicht.

In der Litteratur finden sich eine ganze Reihe von Arbeiten, welche nach dieser oder jener Richtung die Frage über die active Beweglichkeit der Bakterien behandeln und welche folgende Einzelheiten in der activen Beweglichkeit der Bakterien unterscheiden lassen: 1. den Charakter der Bewegungen; 2. die Dauer der Bewegungen, abhängig von verschiedenen Bedingungen und Ursachen; 3. die Geschwindigkeit der Bewegungen; 4. die Erscheinungen verschiedener Arten von Empfindlichkeit (Chemotaxis, Thermotaxis, Phototaxis u. s. w.) und 5. die Erscheinungen der sogenannten Agglutination — das schnelle Aufhören der Bewegungen unter dem Ein-

fluss einiger chemischer Factoren, sowie specifischer Sera von immunisirten Thieren (R. Pfeiffer, Gruber, Widal u. A.).

Die Untersuchungen nachstehender Arbeit betreffen bloss die Geschwindigkeit der activen Bewegungen von Bakterien unter verschiedenen Bedingungen, und zwar erstens, weil eben dieser Punkt nur sehr wenig, oder richtiger gesagt noch gar nicht studirt worden, und zweitens, weil ich in dieser Eigenschaft einiger Bakterien, sich langsamer oder schneller fortzubewegen, ein Mittel zu finden glaubte, die beweglicheren Arten von ihnen zu isoliren.

So weit mir bekannt, ist die Geschwindigkeit in der Bewegung der Bakterien bis jetzt noch nicht Gegenstand eines strikten wissenschaftlichen Studiums, dessen Resultate durch Zahlenangaben ausgedrückt werden können, gewesen. Dieser Umstand ist vollkommen verständlich, wenn man berücksichtigt, dass bei mikroskopischer Beschauung eine exacte Bestimmung der Schnelligkeitsbewegungen in vielen Fällen unmöglich ist, sowohl deshalb, weil die Schnelligkeit einzelner Bakterien selbst von ein und derselben Cultur verschieden ist, als auch darum, dass einzelne Bakterienarten bei mikroskopischer Untersuchung — Vergrösserung mehrmals hundertfach — buchstäblich eine blitzartige Geschwindigkeit besitzen. Aus diesem Grunde untersuchte ich die Schnelligkeit von Massenfortbewegungen der Bakterien, wie weit so etwas bei der äussersten Complicirtheit der biologischen Erscheinungen nur möglich ist, vermittelt einer besonderen Methodik, zu deren Beschreibung ich jetzt übergehe.

Es ist selbstverständlich, dass diese ersten Versuche, noch eine neue Function der lebenden Zelle in das Gebiet wissenschaftlicher Messungen einzuführen noch keinen Anspruch auf Abgeschlossenheit und Vollständigkeit erheben können, jedenfalls bezeugen jedoch die erzielten positiven Resultate, dass die von mir in Vorschlag gebrachte Methodik zum Untersuchen der activen Beweglichkeit der Bakterien von Bedeutung sein kann sowohl für das Studium einiger biologischer Fragen, als auch für die Lösung praktischer Aufgaben beim Erhalten in Reincultur gewisser pathogener Bakterien.

I. Methodik der Untersuchungen.

1. Die Bewegung der Bakterien auf feuchtem Filtrirpapier kann durch folgende Experimente nachgewiesen werden. In gewöhnliche Petri'sche Schalen giesst man Agar-Agar (6^{cem}), das entweder mit Bouillon oder einfach mit 0.6 procent. Lösung von ClNa zubereitet worden, lässt es im Kühlapparat horizontal, wasserwagerecht erstarren. Auf die vollkommen gleichmässige, erstarrte Agaroberfläche bringt man ein sterilisirtes rundes

Stück von schwedischem Filtrirpapier (Schleicher und Schüll, Nr. 589 — 9^{cm}), das man vorher in Quadratcentimetern liniirt hat (vgl. Fig. 1). Bei gleicher Zusammensetzung und Quantität des Agars wird das Stück Papier gleichmässig vom Condensationswasser imbibirt, meist ist aber dessen Menge nicht hinreichend für eine genügende Durchfeuchtung des Papiers. Man erzielt letzteres durch Hinzufügen mittelst einer sterilisirten Pipette eines bestimmten Quantums von Flüssigkeit (0.5^{cm} auf jede Schale), sei es Bouillon, oder sonst einer Flüssigkeit, welche dem Wachsthum und der Beweglichkeit der Bakterien förderlich ist, und breitet das Papier mit einer dicken Platinöse oder mit dem stumpfen Ende eines Glasstäbchens dermaassen aus, dass die unter dem Papier befindlichen Luftblasen verschwinden. Ist Flüssigkeit im Ueberfluss, so lässt sich dieselbe leicht entfernen, wenn man die Schale seitlich beugt und das Glas mit steriler Pipette absaugt. Auf 4 vorher bestimmte Quadrate des Papiers legt man

Fig. 1.

kleine Stückchen von sterilisirtem Filtrirpapier (1 × 0.5^{cm}) in verschiedenen Richtungen und Entfernungen vom Centrum, wie dies aus Fig. 1 ersichtlich ist. Diese Stückchen Papier durchfeuchten sich selbst und verharren in immobiler Entfernung vom Centrum auf 1, 2, 3 bis 4^{cm}; die feuchte Oberfläche des Papiers ist somit für Wachstum und Bewegung der Bakterien fertig. Jetzt wird die Mitte des central gelegenen Quadrates mit einer Platinöse von einer 24 stündigen Agar- oder Bouilloncultur des zu untersuchenden

Bacteriums infectirt, die Schale kommt in den Brutschrank (37° C.) wasserwagerecht, damit die Vertheilung der Flüssigkeit gleichmässig sei und die Bakterienkulturen durch Neigung nicht weiter vorrücken können. Es bedarf keiner Vorsichtsmaassregeln in Bezug auf ein mögliches Austrocknen der Platten, da bei diesem Verfahren die Schalen bloss 3, 5 bis 7 Stunden im Thermostat bleiben. Nach einer bestimmten Stundenzahl nimmt man die Schalen aus dem Thermostat und bringt mittelst einer sterilen Pincette die einzelnen Stückchen Papier der Reihe nach, beginnend mit dem vom Centrum am weitesten abstehenden, jedes einzeln in ein besonderes Röhrchen mit Bouillon. Nach 24stündigem Aufenthalt im Brütöfen erhält man in den Röhrchen ein Wachstum von denjenigen Stückchen Papier, bis zu welchen die mobilen Bakterien in der verflossenen Zeit auf der feuchten Papieroberfläche sich fortbewegen konnten.

Arbeitet man exact, so findet beim Uebertragen der Papierstückchen keine Verunreinigung durch anderweitige Bakterien statt; sollte dies

dennoch der Fall sein, so lässt sich durch die mikroskopische Analyse die Genauigkeit des Experimentes verificiren, ganz abgesehen davon, dass in dubiösen Fällen eine wiederholte Untersuchung vollends jegliche Zweifel beseitigt.

Bevor wir zur Besprechung der erhaltenen Resultate übergehen, bedarf es eines Umstandes, der zweifelsohne von Bedeutung für die Würdigung der Resultate ist, zu erwähnen. Die Geschwindigkeit, mit welcher bewegliche Bakterien auf den verschiedenen Abständen vom Centrum der feuchten Papieroberfläche erscheinen, zerfällt in die Geschwindigkeit der Vermehrung und diejenige der locomotoren Fortbewegung. Bei dem geschilderten Verfahren der Experimente lassen sich diese beiden Erscheinungen nicht separiren, da in der Mehrzahl der Fälle die für das Wachsthum opportunen Bedingungen auch für die active Beweglichkeit der Bakterien günstig sind. In den Tabellen führen wir bedingungsweise Zahlen nur für die Fortbewegungsgeschwindigkeit der Bakterien an, weil Grund vorhanden ist, die Wachsthumsgeschwindigkeit eher als eine nebensächliche Erscheinung anzusehen. In der That, wenn ein *Staphylococcus*, der ebenso schnell wie ein bewegliches Darmbacterium in Bouillon sich vermehrt, nach Ablauf von 7 Stunden im Bereiche des centralen Quadrates verbleibt, während in derselben Zeit ein Darmbacterium bereits 4^{cm} vom Centrum entfernt gewachsen ist, so kommt man zum Schluss, dass bei der Fortbewegung die Wachsthumsgeschwindigkeit, wenn auch der Weiterverbreitung förderlich, dennoch keine ausschliessliche und wesentliche Rolle spielen kann. Die soeben angeführte bedeutende Differenz in der Verbreitung beweglicher und unbeweglicher Bakterien auf der Oberfläche von feuchtem Papier beweist ebenfalls, dass dieselbe nicht in Abhängigkeit steht von irgend welchen physischen Factoren, wie z. B. von einem ungleichmässigen Austrocknen des Papiers. Die Resultate der Experimente verändern sich durchaus nicht, wenn doppelte Petri'sche Schalen in eine feuchte Kammer gebracht werden.

Es muss noch bemerkt werden, dass die Zahlenangaben über die Bewegungsgeschwindigkeit (Geschwindigkeit und Wachsthum) der Bakterien wahrscheinlich gewissen Schwankungen, die von den Eigenschaften der zu untersuchenden Culturen abhängen, unterliegen; deshalb haben auch die hierbei gewonnenen Resultate nur eine relative und keine absolute Bedeutung, d. h. nur für die im Experiment untersuchten Culturen und unter den angeführten Bedingungen.

Das erste Experiment wurde mit beweglichen und unbeweglichen Bakterien angestellt. (Vgl. Tabelle I.) Bei wiederholten Versuchen ergab dieses Experiment die gleichen Resultate. Der folgende Versuch wurde mit nur beweglichen Bakterien angestellt. (Vgl. Tabelle II.)

Das Zugeben von 1, 2·5 bis 5 Procent Gelatine zur Bouillon ergibt dieselben Resultate wie bei einfacher Bouillon.

Tabelle I.

Nach 5 Stunden	1	2	3	4	Bewegungsgeschwindigkeit in einer Stunde in Millimtr.
<i>B. anthracis</i>	—	—	—	—	0
<i>Staphylococcus aureus</i> . .	—	—	—	—	0
<i>B. coli immobilis</i> . . .	—	—	—	—	0
<i>B. coli mobilis</i>	+	+	+	—	6
<i>B. typhi abdominalis</i> . .	+	+	—	—	4
<i>B. cholerae asiaticae</i> . .	+	+	—	—	4
<i>B. pyocyaneus</i>	+	—	—	—	2

Tabelle II.

Nach 7½ Stunden	1	2	3	4	Bewegungsgeschwindigkeit in einer Stunde in Millimtr.
<i>B. coli mobilis</i>	+	+	+	+	5·3
<i>B. typhi abdominalis</i> . .	+	+	+	—	4·0
<i>B. cholerae asiaticae</i> . .	+	+	+	—	4·0
<i>B. pyocyaneus</i>	+	+	—	—	2·6

Um die Vermehrung der Bakterien zu hemmen, andererseits jedoch die Bedingungen, unter welchen die locomotore Beweglichkeit noch möglich, zu erhalten, muss das Experiment wie folgt ausgeführt werden. Auf erstarrtes Agar (mit 0·6 procent. CNa-Lösung zubereitet) kommt ein von derselben physiologischen Lösung durchtränkter Bogen Papier; alles Uebrige in der Technik erfährt keinerlei Veränderungen.

Tabelle III.

Nach 8 Stunden	1	2	3	4	Bewegungsgeschwindigkeit in einer Stunde in Millimtr.
<i>B. coli mobilis</i>	+	+	—	—	2·5
<i>B. typhi abdominalis</i> . .	+	—	—	—	1·2
<i>B. cholerae asiaticae</i> . .	+	—	—	—	1·2
<i>B. pyocyaneus</i>	+	—	—	—	1·2

Dieser Versuch ist noch zwei Mal wiederholt worden mit demselben Resultat: das Ausbreiten der Bakterien auf der Papieroberfläche, das erste Mal nach 7½ Stunden, das zweite Mal nach 15 Stunden, war genau dasselbe, wie im ersten Experiment (Tab. III). Auf Grund dieser Versuche sieht man sich zur Annahme veranlasst, dass physiologische Koch-

salzlösung ein weniger günstiges Medium für die Erhaltung der Bakterienbeweglichkeit ist, als Bouillon, denn sonst würden die Bakterien in 15 Stunden einen doppelt so grossen Abstand vom Centrum einnehmen. Selbst unter diesen Bedingungen hatte das *Bac. coli mobilis* alle anderen Bakterien überholt. Die in Vorschlag gebrachte Methodik beim Experimentiren gestattet die Beweglichkeit der Bakterien in Abhängigkeit von den verschiedenartigsten Lösungen und in verschiedenen Concentrationen, was vielleicht als interessantes Thema für eine selbstständige Arbeit verwerthet werden kann, zu untersuchen. Es muss ausserdem darauf hingewiesen werden, dass diese Methodik auch für anaerobe Bakterien anwendbar ist. Nach dieser Richtung hin habe ich nur zwei Mal einen Versuch mit facultativen anaeroben Bakterien angestellt: *Bac. coli mobilis* und *Bac. typhi*, und konnte zum Schluss kommen, dass die Schnelligkeit der Wachsthumsbeweglichkeit unter den Bedingungen der Anaerobiose bei beiden angeführten Bakterien scheinbar etwas zurückblieb im Verhältniss zu denjenigen der Aerobiose; der *Bac. coli mobilis* jedoch überholt selbst unter den Bedingungen der Anaerobiose den *Bac. typhi* um einige Millimeter.

Fig. 2.

2. Die Beweglichkeit (das Wachsthum) der Bakterien im flüssigen Medium lässt sich ebenfalls mittelst einer besonderen Technik studiren. Nach einigen Versuchen, solche Bedingungen zu schaffen, wählte ich folgendes Verfahren.

Nicht grosse Glaskrähne (Geissler), von bester Qualität, werden mit den freien Enden ihrer Röhrchen so an einander gelöthet, dass sie eine Röhre mit fünf Krähn, welche dieselbe in Abschnitte von 4 cm Länge theilen, bilden. Der Durchmesser eines jeden Krahnes beträgt etwa 1 cm; somit ist die Länge eines jeden Röhrenabschnittes, den Krahn mit eingerechnet, 5 cm. Das Lumen der Röhre ist 4 mm, dasjenige des Krahnes ist 1 bis 1.5 mm. Das eine Ende dieses Apparates endet gerade (4 cm), das andere ist nach oben gebogen¹ (vgl. Fig. 2).

Dieser Apparat, an dessen beiden Enden sich je eine Gummiröhre befindet, wird sammt denselben sterilisirt. Vor dem Gebrauch des Apparates werden die Flächen der Glaspfropfen mit sterilisirtem Vaseline etwas eingefettet, jedoch so, dass das Lumen nicht durch diese Manipula-

¹ Diese Röhren sind von der Firma Th. Schwabe, Moskau, angefertigt worden.

tion verschlossen werde.¹ Darauf wird der am nach oben gebogenen Ende sich befindende Gummischlauch in eine sterile Flüssigkeit getaucht und, nachdem man die Luft im Apparate durch Aspiriren verdünnt, füllt man ihn so lange mit Flüssigkeit, bis dieselbe den 5. Krahn passiert hat. Der erste und letzte Krahn werden hierauf sofort geschlossen, die Gummiröhren entfernt und die sterile Flüssigkeit in dem nach oben gebogenen Ende des Apparates mittelst einer Pipette durch 5.0 einer Emulsion von einer 24stündigen Cultur des zu untersuchenden Bacteriums ersetzt. Das Ende der Röhre, welches als Recipient für die Cultur dient, wird durch einen Wattetampon geschlossen und, nachdem der Apparat am Stativ befestigt, in's Thermostat gestellt. Als Anfang des Versuches gilt der Augenblick, in welchem man den ersten Krahn, welcher die Emulsion der Cultur von der sterilen Flüssigkeit scheidet, öffnet. Nach 3, 5, 7 und mehr Stunden nimmt man wahr, dass die in der Röhre des Apparates befindliche Flüssigkeit in der Richtung vom ersten zu den folgenden Krähen sich zu trüben anfängt. Je schneller das Wachsthum und die Beweglichkeit der Bakterien vor sich geht, um so intensiver verbreitet sich die Trübung, und selbst mit unbewaffnetem Auge lässt der Unterschied zwischen den einzelnen Bakterien sich feststellen. Für ein genaueres Bestimmen der Geschwindigkeit in den Vorwärtsbewegungen der Bakterien kann man die Anwesenheit der letzteren in den einzelnen Abschnitten des Apparates noch vor Beginn des makroskopischen Wachsthumes verwerthen, wobei man sich folgenden Verfahrens bedient. Nach Ablauf einer gewissen Anzahl von Stunden im Thermostat, bei 37° Temperatur, werden alle Krähe (vom fünften begonnen) geschlossen und ein Theil des Inhaltes eines jeden der 4 Abschnitte des Apparates mittelst einer rechtwinklig endenden kleinen sterilisirten Pipette, die nach Entfernung des Krahnes aus dem Apparat in die freie Oeffnung desselben eingeführt, angesogen.

Der Inhalt eines jeden Abschnittes des Apparates wird, vom 5. Krahn angefangen, der Reihe nach entnommen und in Bouillonröhrchen übergeführt. Das Wachsthum in den Röhrchen bei Thermostatterperatur zeigt nun, bis zu welchem Abschnitte des Apparates die Bakterien hingelangt. Hierbei weist die Cultur auf die Anwesenheit der untersuchten Bakterien — die Anzahl derselben ist belanglos — im betreffenden Abschnitt der Röhre hin, so dass, unabhängig von der zuweilen makroskopisch bestehenden Differenz der einzelnen Abschnitte der Röhre zu dem sichtlichen Wachsthum und der mit unbewaffnetem Auge nicht wahrnehmbaren Vermehrung, das Resultat der Aussaat ein gleichwertiges ist. Das Zählen der Colonieen im Inhalte einer jeden Abtheilung würde ein bestimmteres

¹ In einem Apparat mit sehr gut geschliffenen Krähen stellte ich mehrmals Versuche auch ohne Vaseline an mit gleich guten Resultaten.

Urtheil über diese Erscheinung ergeben, doch würde dies die ganze Arbeit viel complicirter gestalten, da letztere für's erste nur den Zweck verfolgt, die grundlegenden und bedeutenden Thatsachen auf diesem neuen Gebiet des Experimentirens festzustellen.

Beim Untersuchen mit solch einem Apparat ist es selbstverständlich nicht ausser Acht zu lassen, dass auch in diesem Fall, ganz wie beim Studium der Bakterienbewegung auf der feuchten Papieroberfläche, wir die Vorwärtsbewegung der Bakterien, das Gesamtergebniss einer weniger oder mehr schnellen Vermehrung und einer activen locomotoren Beweglichkeit derselben vor uns haben. Leider lassen in der Flüssigkeit noch zwei Umstände, welche die Vertheilung der Bakterien im hohen Maasse beeinflussen können, nämlich die Brown'sche moleculare Bewegung und die Diffusionsströme zwischen dem Inhalte der einzelnen Abschnitte des Apparates, sich nicht ausschliessen. Ist es bereits in einem Abschnitte zum Wachsthum gekommen, fehlt aber dasselbe noch in dem zunächstliegenden, so ist die chemische Zusammenstellung der Flüssigkeit in diesen angrenzenden Abschnitten verschieden, und deshalb werden in Folge der beginnenden Diffusion die in der Flüssigkeit vertheilten Bakterien aus einem Abschnitt in den anderen vollkommen passiv fortgeführt. Die Brown'sche moleculare Bewegung steuert desgleichen der passiven Bakterienwanderung, was um so ausgiebiger vor sich geht, je specifisch leichter die einzelnen Zellen dieser Bakterien sind. Hieraus erhellt, dass die Untersuchungsergebnisse bei diesem Verfahren aus vielen Factoren sich zusammensetzen und als weniger zuverlässiger Maassstab für die Bewegungsgeschwindigkeit der Bakterien, als es in den Experimenten der ersten Kategorie bei feuchten Oberflächen möglich war, gelten muss. Wenngleich die Bedinglichkeit der Untersuchungsergebnisse so bedeutend hervortritt, so muss, wie später angeführt werden wird, trotzdem zugegeben werden, dass zwischen den unbeweglichen und beweglichen Bakterien Differenzen sich bestimmen lassen.

Vergleicht man die Experimente in den Schalen mit denjenigen in den Röhren, so lässt sich im ersten Falle die Geschwindigkeit des Wachstumes und der activen Beweglichkeit, im zweiten dagegen gleichzeitig diejenige des Wachstumes, der activen und passiven Beweglichkeit bestimmen; im ersten Falle lassen sich, je nach Wunsch, das Wachsthum und die Bakterienbeweglichkeit unter den Bedingungen der Aërobiose und Anaërobiose untersuchen, im zweiten Falle jedoch verläuft das Experiment immer unter mangelhaftem Luftzufluss oder selbst unter den Bedingungen der Anaërobiose, wenn man die Röhre mit unmittelbar vor dem Versuche gekochter Flüssigkeit füllt; hierbei kommt nur ein kleiner Theil von im Recipienten A enthaltener Flüssigkeit mit der Luft in Berührung.

Betrachten wir jetzt die mit dem soeben beschriebenen Apparate erhaltenen Resultate. Die römischen Ziffern I, II, III, IV bezeichnen die einzelnen Abschnitte des Apparates.

Tabelle IV.

Nach 5 Stunden	I	II	III	IV
<i>B. anthracis</i>	+	—	—	—
<i>Staphylococcus pyog. aur.</i> .	+	—	—	—
<i>B. coli immobilis</i>	+	—	—	—

Das Experiment ist wiederholt worden, jedoch erst nach 7 Stunden. Es ergab sich, dass der *Staphylococcus* im Verlaufe dieser Zeit sich auch auf den zweiten Abschnitt der Röhre verbreitete. In beiden Experimenten waren die Röhren mit Bouillon gefüllt: wir bestimmten mithin im gegebenen Falle die Geschwindigkeit der Vermehrung und der passiven Ausbreitung. Die schnellere Weiterverbreitung des *Staphylococcus* im Vergleiche mit dem *Bac. anthracis* und *Bac. coli immobilis* lässt sich möglicher Weise nicht nur durch ein schnelleres Vermehren, sondern auch durch die so unbedeutende Grösse der einzelnen Staphylokokken, was die passive Beweglichkeit derselben in der Flüssigkeit besonders begünstigt, erklären.

Die nächsten Tabellen enthalten die Resultate von Beobachtungen an beweglichen Bakterien, gleichfalls in Bouillon ausgeführt.

Tabelle V.

Nach 5 Stunden.	I	II	III	IV
<i>B. coli mobilis</i>	+	+	—	—
<i>B. typhi abdominalis</i> . .	+	+	—	—
<i>B. cholerae asiaticae</i> . .	+	+	—	—
<i>B. pyocyaneus</i>	+	—	—	—

Tabelle VI.

Nach 7 Stunden	I	II	III	IV
<i>B. coli mobilis</i>	+	+	—	—
<i>B. typhi abdominalis</i> . .	+	+	—	—
<i>B. cholerae asiaticae</i> . .	+	+	+	—
<i>B. pyocyaneus</i>	+	+	—	—

Beim Wiederholen der Experimente stellte es sich heraus, dass das Weiterverbreiten der Bakterien in der Flüssigkeit nicht immer diejenige Geschwindigkeit, wie das aus den beiden typischen Tabellen V und VI ersichtlich ist, innehält. So überholte der *Bac. coli mobilis* den *Bac. typhi* in einem von drei Versuchen, wogegen der *Bac. pyocyaneus* zuweilen sich gleich schnell mit dem *Bac. typhi* weiter verbreitete. Andererseits besteht beim Vergleiche der Verbreitungsschnelligkeit des *Bac. pyocyaneus* und des *Staphylococcus* im Verlaufe von 7 Stunden kein Unterschied, wenngleich der *Bac. pyocyaneus* activ beweglich, der *Staphylococcus* es dagegen nicht ist. Vielleicht lässt sich annehmen, dass die von mir benutzte Cultur des *Bac. pyocyaneus* abgeschwächt war, denn beim Ueberimpfen auf Agar entwickelte er sich langsamer als der *Bac. typhi*, *Bac. coli* und *Bac. cholerae*.

In Bezug auf alles Andere jedoch ergeben die erhaltenen Resultate, dass im Allgemeinen bewegliche Bakterien im Flüssigen schneller sich weiter verbreiten als unbewegliche, und dass der *Bac. cholerae asiaticae* in Bouillon sich schneller fortbewegt, als die übrigen von uns untersuchten Bakterien.

Vergleicht man jetzt die Resultate über die Verbreitungsgeschwindigkeit von beweglichen Bakterien auf feuchter Papieroberfläche und in den mit Bouillon beschickten Röhren, so ersieht man, dass zwischen beiden eine bedeutende Differenz besteht. In der ersten Reihe von Versuchen, wie oft auch dieselben wiederholt wurden, überholte der *Bac. coli mobilis* alle übrigen; die nächste Reihenfolge nimmt der *Bac. typhi*, dann der *Bac. cholerae asiaticae* ein und schliesslich kommt der *Bac. pyocyaneus*. In der zweiten Reihe von Versuchen jedoch ist die Fortbewegungsschnelligkeit des *Bac. cholerae asiaticae* in einem für denselben günstigen Medium am grössten; hierauf folgen nach einander *Bac. coli mobilis*, dann der *Bac. typhi* und *Bac. pyocyaneus*. Mithin ergiebt die Beobachtung im flüssigen Medium Resultate, die am nächsten denjenigen, welche man bei unmittelbarer Betrachtung unter dem Mikroskop erhält, stehen. In der That ist der *Cholera vibrio* am beweglichsten im hängenden Bouillon-tropfen; zwischen den übrigen drei Bakterien dagegen ist es schwer, die Differenz in der Geschwindigkeit der activen Beweglichkeit unter dem Mikroskop festzustellen. Es sei bemerkt, dass im vorliegenden Falle die Bakterienbeweglichkeit bei 37.0° C. untersucht wurde, was z. B. durchaus nicht belanglos ist für den *Bac. coli mobilis*, welcher bei Zimmer-temperatur viel langsamer als bei 37.0° C. sich bewegt.

Der Gelatinezusatz zur Bouillon hat, allem Anscheine nach, nicht die gleiche Bedeutung für verschiedene bewegliche Bakterien: so z. B. war im nächstfolgenden Versuch die Vorwärtsbewegung des *Bac. coli*

mobilis eine ganz gleiche, sowohl in Bouillon, als auch in 5 procent. Bouillongelatine, wogegen der *Bac. cholerae* in 5 procent. Gelatine bei seinem schnellen Ausbreiten längs des Röhrchens auf Hindernisse stiess. Dieser Versuch ist übrigens nicht wiederholt worden.

Tabelle VII.

Nach 8 Stunden	I	II	III	IV
<i>B. coli mobilis</i> in Bouillon	+	+	—	—
„ „ in Gelatine	+	+	—	—
<i>B. chol. asiatic.</i> in Bouillon	+	+	+	—
„ „ in Gelatine	+	—	—	—

Versuche mit Röhrchen, welche statt mit Bouillon mit 0.6 procent. physiologischer Kochsalzlösung beschickt waren, ergaben dasselbe Resultat, wie die in Petri'schen Schalen ausgeführten, d. h. die beweglichen Bakterien wurden in kurzer Zeit immobil. Im nachfolgenden Experiment währte die Beobachtung 24 Stunden. Um das Austrocknen der Flüssigkeit in den Röhrchen zu verhindern, wurden letztere mit Gummiüberzügen, deren freie Enden sich in Wasser befanden, versehen.

Tabelle VIII.

Nach 24 Stunden	I	II	III	IV
<i>B. coli mobilis</i>	+	—	—	—
<i>B. typhi abdominalis</i> . .	+	—	—	—
<i>B. cholerae asiaticae</i> . .	+	—	—	—
<i>B. pyocyaneus</i>	+	—	—	—

Alle bis jetzt angeführten Experimente berechtigen zum Schlusse, dass, obgleich im vorliegenden Falle als Untersuchungsobject nicht bloss die active Beweglichkeit der Bakterien, sondern auch die Schnelligkeit ihres Wachsthumes, in der letzten Reihe der Versuche aber auch die passive Beweglichkeit in Betracht kommt, dennoch die Hauptresultate der Versuche durch die active Beweglichkeit der Bakterien bestimmt werden; man erhält deshalb, ungeachtet der Complicirtheit der zu studirenden Erscheinungen, ziemlich regelmässige und unter einander übereinstimmende Resultate (besonders wenn die Experimente in Petri'schen Schalen ausgeführt), welche die Brauchbarkeit dieser Methodik für die wissenschaftliche Analyse einer der interessantesten Functionen der lebenden Zelle, der activen Beweglichkeit derselben, bekunden.

II. Das Isoliren der activ beweglichen Bakterien.

Es sind bis in die jüngste Zeit nur einzelne Versuche gemacht worden, der activen Beweglichkeit der Bakterien zum Ausscheiden und sie in Reincultur zu erhalten, sich zu bedienen. So z. B. schlug im Jahre 1890 Ali-Cohen (5) auf Grund der von Pfeffer gewonnenen Resultate über die chemotactischen Eigenschaften der Bakterien vor, den *Cholera vibrio* und den *Typhus bacillus* aus den Excrementen zu isoliren, mittelst Röhrchen, die mit Kartoffelsaft beschickt waren.

Gayon und Dupetit benutzten zur Isolirung von beweglichen, denitrificirenden Bakterien einen besonderen Apparat mit capillärer Schlange (6). Das eine Ende dieser Schlange, mit einer Erweiterung, befindet sich im oberen Theile des Apparates über dem Niveau der Nährflüssigkeit und dient zum Einführen der Bakterienmischung, wogegen das andere offene Ende in der Nährflüssigkeit, mit welcher der Apparat selbst gefüllt ist, zu liegen kommt. Die Schattenseite dieser Methode besteht darin, dass die in der Schlange sich bildenden Gasbläschen in der Röhre nach oben steigen und somit immobile Bakterien leicht an das Ende der Schlange hin transportirt werden und im flüssigen Medium eine Cultur gleichzeitig mit beweglichen Bakterien ergeben können.

Was die Beobachtungen und Experimente Ali-Cohen's betrifft, so können sie einstweilen nicht als Grundlage einer allgemeinen Methodik zur Isolirung von mobilen Bakterien verwendet werden, da man für ein jedes einzelne von ihnen nach positiv chemotactischen Substanzen suchen müsste.

Die Berücksichtigung dieser Thatsachen veranlasste mich, zur Isolirung von beweglichen Bakterien nicht die Methode der Chemotaxis zu benutzen, sondern diejenige, welche die Schnelligkeit der activen Bakterienbeweglichkeit (Wachstumsschnelligkeit) bestimmt. Unter den mobilen Bakterien, deren Isolirung für den Mediciner ein besonderes praktisches Interesse hat, sind der *Bac. cholerae* und der *Bac. typhi* zu nennen, weshalb auch die nachfolgenden Isolirungsversuche eben nur an diesen Bakterien ausgeführt wurden.

Unter den vielen zur Isolirung der *Cholera vibrionen* in Vorschlag gebrachten Verfahren verweise ich auf die Methode des Prof. R. Koch (7), die der meinen am nächsten kommt. Prof. R. Koch brachte ein Partikelchen von *Cholera fäces* auf eine mit Bouillon getränkte Leinwand (Wäsche), belass es im Laufe von 24 bis 36 Stunden im Brütöfen, und zwar, um ein Austrocknen zu vermeiden, unter einer Glocke. Rings um die infectirte Stelle bekam man eine Cultur von dem *Cholera vibrio*.

Wenn heutzutage das Isoliren der Choleravibrien aus den Fäces und Wasser keine grossen technischen Schwierigkeiten bereitet, so lässt sich ein Gleiches nicht vom *Bac. typhi* sagen. Ungeachtet der diagnostischen Bedeutung der Widal'schen Reaction und der guten Resultate bei den vervollkommeneten Verfahren zum Isoliren des *Typhusbacillus* aus den Excrementen vermittelt der Methoden von Elsner, Piorkowski, Mankowsky u. A., ist bis jetzt die praktische Ausführung der Isolirung des *Typhusbacillus* mit grossen Schwierigkeiten verbunden und sehr zeitraubend, ganz besonders beim Isoliren aus dem Wasser. Hierbei sind hauptsächlich zwei Umstände in Betracht zu ziehen: erstens das beständige gleichzeitige Antreffen des *Typhusbacillus* mit dem *Bact. coli*, das ein complicirtes Verfahren für ihre Differenzirung erheischt, und zweitens die verhältnissmässig geringe Anzahl von Keimen des *Typhusbacillus* in der grossen Menge anderer Bakterien, welche nicht selten das Wachsthum des ersteren vollständig maskiren.

Das ist der Grund, der mich veranlasste, eine neue Isolirungsmethode hauptsächlich für den *Typhusbacillus* in Anwendung zu bringen. Dieses Verfahren kann als guter Prüfstein für die Methode selbst verwerthet werden, wie auch gleichzeitig nachweisen, von welchem Nutzen sie für praktische Zwecke beim Isoliren des *Typhusbacillus* ist.

1. Das Ausscheiden beweglicher Bakterien von unbeweglichen wird sehr leicht durch unsere Methode auf Platten mit Filtrirpapier bewerkstelligt. Wenn im Gemisch verschiedener Bakterien nur eine Art beweglicher vorhanden ist, so lässt sich schon nach 3 bis 5 Stunden dieses bewegliche Stäbchen, das von den übrigen auf einem Stückchen Papier isolirt worden, erhalten; nach weiteren 6 bis 12 Stunden bekommt man es selbst in Bouilloncultur, mithin noch vor Ablauf von 24 Stunden, folglich unvergleichbar schneller, als aus Plattencolonieen. Ich isolirte damit den Choleravibrio und den *Typhusbacillus* aus einem Gemisch von Staphylokokken und der unbeweglichen Art des *Colibacillus*. Hat man es gleichzeitig mit mehreren beweglichen und unbeweglichen Bakterien zu thun, so erhält man eine Reincultur auf vom Centrum entfernteren Papierstückchen ausschliesslich nur dann, wenn die Geschwindigkeit der untersuchten mobilen Bakterien keine gleichmässige ist. Selbst wenn es unmöglich sein sollte, eine Reincultur zu erhalten, besitzt das Plattenverfahren zweifelsohne den Vorzug beim Ausscheiden, z. B. des Choleravibrio und des *Typhusbacillus* aus den Excrementen, da man jedenfalls eine Menge unbeweglicher Bakterien los wird und somit günstigere Bedingungen für die Vermehrung der zu isolirenden Bakterien schafft, d. h. man erzielt die Bedingungen der sogenannten Anreicherungs-methode.

Gesetzt den Fall, dass in den zu untersuchenden Fäces ausser dem Typhusbacillus noch ein anderes bewegliches Bacterium und ein immobiliter Darmbacillus (*Bact. coli immobilis*) vorhanden seien, so erhalten wir beim Plattenverfahren schon nach 5 bis 7 Stunden den Typhusbacillus isolirt vom Colibacillus; jetzt bietet die Differentialdiagnose zwischen Typhusbacillus und den anderen Bakterien schon nicht mehr diejenigen Schwierigkeiten, welche das gleichzeitige Vorhandensein beider verursachen würde.

Wiederholt konnte ich mich überzeugen, dass das Isoliren der beweglichen von unbeweglichen Bakterien auch vermittelt der Röhren möglich sei, nur sind bei diesem Verfahren grössere Schwierigkeiten als bei den Platten zu überwinden. Es handelt sich darum, dass in Folge passiver Vorwärtsbewegung einiger Bakterien im ersten und zweiten Abschnitte des Röhrens gleichzeitig bewegliche und unbewegliche Bakterien auftreten können; nur die allerbeweglichsten unter ihnen überholen die übrigen und erscheinen in Reincultur im dritten und vierten Abschnitte der Röhre. Diese missliche Seite kann übrigens durch folgendes Verfahren vermieden werden. Wenn man in den Recipienten A des Röhrens ein Stück steriler Watte einlegt, dasselbe bis unmittelbar vor die Oeffnung des ersten Krahnes bringt und ein Gemisch von beweglichen und unbeweglichen Bakterien vor dieselbe einführt, so ergibt das Experiment, dass durch diese mit Nährflüssigkeit imbibirte Watte (beim Anfüllen der Röhre) nur die beweglichen Bakterien durchpassiren und in diesem Falle in den ersten Abschnitten der Röhre eine Reincultur ergeben, wogegen alle immobilen, wenigstens im Laufe von 3 bis 9 Stunden, wie lange solch ein Versuch währt, von der Watte zurückgehalten werden. Bei einem Experiment hatte ich Gelegenheit mich zu überzeugen, dass selbst im Verlaufe von 24 Stunden der *Staphylococcus*, welcher ja überhaupt im flüssigen Medium sich leicht fortbewegt, den Wattepfropf nicht durchdrang. In diesen Versuchen haben wir folglich eine neue Erscheinung, die besonders vermerkt zu werden verdient, vor uns. Der Wattetampon, welcher die in der Röhre enthaltene Flüssigkeit in zwei Theile scheidet, kann als Filter, der die unbeweglichen Bakterien zurückhält, dienen, trotzdem dass zwischen beiden Flüssigkeitstheilen Diffusionsströme bestehen, es versteht sich bei gleichmässigem Drucke in den Flüssigkeiten und bei nicht allzulanger Dauer des Experimentes, weil schliesslich auch immobile Bakterien den Wattebausch durchwachsen können. Ich kann nicht umhin, zu bemerken, dass man zum Isoliren beweglicher von unbeweglichen Bakterien auch einfache Glasröhren ohne Krähne benutzen kann. Der Apparat mit Krähnen wird eigentlich hauptsächlich zum Bestimmen der Wachstums- und Bewegungsschnelligkeit in einem flüssigen Medium verwendet. Unten komme ich noch ausführlicher auf dieses Verfahren zurück.

2. Das Isoliren beweglicher Bakterien aus dem Gemische anderer beweglicher ist bei Anwendung unseres Versuchsverfahrens äusserst schwierig. Will man den Typhusbacillus aus einem Gemische von beweglichen Colibacillen isoliren, so muss mit der bereits früher angeführten Thatsache der schnelleren Wachstumsgeschwindigkeit des Colibacillus im Vergleiche zum Typhusbacillus, sowohl auf feuchter Papieroberfläche, als auch im flüssigen Medium gerechnet werden.

Aus diesem Grunde, wie auch deshalb, weil der Bac. coli den bis jetzt untersuchten chemischen Agentien gegenüber viel resistenter als der Typhusbacillus, wie dies vollkommen begründet Löffler (8) behauptet, ist, mussten noch neue Medien, welche Bewegung und Wachstum ausschliesslich des Colibacillus hemmen sollten, gesucht werden.

Zu diesem Zwecke prüfte ich die Wirkung alter (9 Tage alter bei 37° C.) Bac. coli-Bouillonculturen auf das Darmstäbchen. Auf der Papieroberfläche, die mit einer bei 60° C. sterilisirten Bouilloncultur imprägnirt wurde, bewegte sich der Bac. coli mobilis mit der ihm eigenen Schnelligkeit und überholte den Typhusbacillus. Darauf untersuchte ich die agglutinirenden Eigenschaften des normalen Serums von verschiedenen Thieren, und zwar der weissen Maus, des Meerschweinchens, des Kaninchens, der Gans, des Hundes und der Ziege. Nur das Blutserum der letzteren agglutinirte in Verdünnung von 1:10 den Colibacillus schneller als den Typhusbacillus, wogegen die Agglutination aller anderen Sera (Verdünnung 1:1 und 1:10) für Culturen des Coli- und des Typhusbacillus gleich schnell ausfiel. Da keine bedeutende Differenz in der Wirkung des Ziegenserums auf den Coli- und den Typhusbacillus bestand, schritt ich zur Immunisirung von Meerschweinchen, Kaninchen und eines Hundes mit Culturen eines beweglichen Colibacillus und erhielt in kurzer Zeit ein so hochwerthiges specifisch agglutinirendes Serum, dass z. B. das Hundeserum den Bac. coli selbst in einer Verdünnung von 1:5000 agglutinirte, während bei den Typhubacillen dieselbe Wirkung nur bei einer Verdünnung von 1:10 sich manifestirte. Die nachstehenden Resultate sind mit eben diesem Serum in 3 procent. Bouillonverdünnung erzielt worden. In den Plattenversuchen ist Agar in 6 procent. Kochsalzlösung verwendet worden.

Tabelle IX.

Nach 6 Stunden	1	2	3	4
B. coli mobilis	+	—	—	—
B. typhi abdominalis . .	+	+	—	—

Tabelle X.

Nach 6 Stunden	1	2	3	4
<i>B. coli mobilis</i>	—	—	—	—
<i>B. typhi abdominalis</i> . .	+	+	—	—

Tabelle XI.

Nach 8 Stunden	1	2	3	4
<i>B. coli mobilis</i>	—	—	—	—
<i>B. typhi abdominalis</i> . .	+	+	+	—

Da der bewegliche Colibacillus sich fast als immobilisirt erwies, was aus Tabellen IX, X und XI ersichtlich, lag die Möglichkeit vor, den Typhusbacillus aus dem Gemische mit dem *Bac. coli mobilis* den ersteren zu isoliren. Zu diesem Zwecke wurden Bouillonemulsionen einer Agarcultur dieser beiden Bakterien (eine Platinöse Cultur auf 5^{cem} Bouillon) hergestellt und Gemische aus einer Emulsion von Typhusbacillen (T) und *Bac. coli* (C) in Proportionen T:C = 1:10, 1:100, 1:1000 und 1:10000 angefertigt.

Ein Tropfen der Mischemulsion wurde auf das centrale Papierquadrat gebracht und dann die Ausbreitung des *Bac. coli* und typhi nach Wachsthum in Bouillon, Milch, auf der Piorkowski'schen Nährgelatine und nach der specifischen Agglutination bestimmt. In den Tabellen bedeutet C den *Bac. coli*, T den Typhusbacillus und C + T das Gemisch beider.

Tabelle XII.

Nach 8 Stunden	1	2	3	4
T : C = 1 : 10	T	—	—	—
T : C = 1 : 100	T	—	—	—
T : C = 1 : 1000	C + T	—	—	—
T : C = 1 : 10000	T	—	—	—

Tabelle XIII.

Nach 8 Stunden	1	2	3	4
T : C = 100	T	—	—	—
T : C = 1000	T	—	—	—
T : C = 10000	T	—	—	—

Nur im ersten Versuche (Tab. XII) bei einem Verhältnisse der Zahl der Typhusbacillen zu derjenigen der Colibacillen von etwa 1:1000 erhielt man keine Reincultur von Typhusbacillen. Dafür aber gelang die Isolirung des Typhusbacillus aus dem Gemische mit dem Colibacillus im Verhältnisse von 1:10000. Wollte man die Experimente nach dieser Richtung hin fortsetzen, so liesse sich vielleicht ein positives Resultat bei noch stärkerer Verdünnung der Typhusbacillus-Emulsion erzielen, aber hoffentlich genügen die angeführten Beispiele, um die Exactheit und Zuverlässigkeit der vorgeschlagenen Methodik zur Isolirung des Typhusbacillus aus einem Gemische mit beweglichen Colibacillen zu beweisen.

Die entsprechenden Versuche in Röhren führten zu denselben Resultaten. Bewegliche Colibacillen, welche zwar durch 3 procent. spezifisches Serum agglutinirt werden, können sich dennoch nach Ablauf von 6 bis 8 Stunden bei 37° C. in die zwei nächstgelegenen Abschnitte der Röhre ausbreiten. Diese Erscheinung ist vielleicht durch das nicht vollständige Einbüßen der Beweglichkeit zu erklären. Bringt man in den Recipienten A der Röhre einen Wattetampon und füllt die Röhre mit 3 procent. spezifischem Serum, so hält solch ein Filter einen vollkommen beweglichen Colibacillus zurück (vgl. Tabelle XIV), was sonst nur den von Natur aus unbeweglichen Bakterien eigen ist.

Zu Tabelle XV sind die Resultate dieser Experimente angeführt.

Tabelle XIV.

Nach 8 Stunden		I	II	III	IV
B. coli mobil.	mit Wattetamp.	—	—	—	—
	ohne Wattetamp.	+	+	—	—
B. typhi abd.	mit Wattetamp.	+	+	—	—
	ohne Wattetamp.	+	+	+	—

Tabelle XV.

Nach 8 Stunden		I	II	III	IV
T : C = 1 : 10	} ohne Wattetamp.	C + T	C + T	T	—
T : C = 1 : 100		C + T	C + T	T	—
Nach 24 Stunden					
T : C = 1 : 1000	} mit Wattetamp.	T	T	T	T
T : C = 1 : 10000		T	T	T	T

Im letzten Versuche waren die Wattetampons zu fest in den Recipienten der Röhren gestopft, weshalb auch nach Ablauf von 8 Stunden Bouillon mit Serum in allen Abschnitten der Röhren vollkommen klar blieben, mithin augenscheinlich ohne Wachstum des Typhusbacillus in derselben. Nach 24 Stunden jedoch enthielt die ganze Röhre eine Reincultur dieses Stäbchens, was als neuer Beweis für die Unpassirbarkeit des Wattefilters unter den gegebenen Bedingungen des Experimentes und im angeführten Zeitabschnitte nicht für von Natur aus unbewegliche, sondern auch für künstlich immobil gemachte Bakterien gilt.

In Anbetracht dessen, dass die mit Krähen construirten Röhren keinen Einfluss auf die Resultate der Isolirung von beweglichen Bakterien haben können, bediente ich mich zu demselben Zwecke einfacher Glasröhren von 2^{mm} Durchmesser und etwa 20^{cm} Länge, mit Wattebüschchen an beiden Enden und einem Halse an einem Ende.

Solche sterilisirte Röhren füllte man mit 3 procent. in Bouillon verdünntem specifischen Serum, dann wurde am Halse das äussere Ende abgelöthet und das andere Ende in ein bestimmtes Gemisch (1^{ccm}) von Typhus- und Colibacillusemulsion getaucht. Beim Ablöthen des einen Endes der Röhre muss das andere in verdünntem Serum liegen, damit beim Erkalten das Lumen der Röhre sich mit der Flüssigkeit anfülle und keine Luftblasen eintreten können; aus demselben Grunde muss auch der Wattebausch bis an's Ende der Röhre reichen. Nach 8 bis 24 stündigem Thermostataufenthalt, je nachdem der Wattepfropf fest in der Röhre sitzt, erhält man oberhalb desselben eine Typhusbacillenreincultur. Es gelang mir auf diese Weise, ein positives Resultat aus einem Gemische von Typhus- und Colibacillusemulsionen im Verhältnisse von 1:10, 1:100, 1:1000 und 1:10000 zu erzielen. In einigen Röhren erhielt man ausser dem Typhus- auch den Colibacillus, was einfach nur dadurch bedingt war, dass der Wattebausch in diesen Röhren sehr locker war und sehr leicht unbewegliche Bakterien in Folge der Diffusionsströme in der Flüssigkeit durchlassen konnte.

Es drängt sich selbstverständlich die Frage auf, ob man nicht diese neue Methode zum Isoliren des Typhusbacillus aus den Fäces und Wasser heranziehen könnte. In einem von zwei Fällen gelang es mir, durch das Plattenverfahren den Typhusbacillus aus den Excrementen zu gewinnen. Auf Grund meiner Versuche kann ich freilich nicht behaupten, dass diese neue Methode die bereits für die Isolirung des Typhusbacillus bestehenden ersetzen kann. Das wird noch specielle Untersuchungen und specielle Veränderungen der Technik erfordern, vielleicht wird z. B. ein polyvalentes Serum für die Colibacillen erforderlich sein zum Ausscheiden des Typhusbacillus aus den Excrementen und dem Wasser.

Jedenfalls eröffnet die in Vorschlag gebrachte Methodik zum Untersuchen der activen Bakterienbeweglichkeit ein neues Feld für biologische Forschungen über die bakterielle Zelle und führt zu neuen Mitteln zum Ausscheiden von beweglichen Bakterien überhaupt und im Speciellen des Cholera vibrio und des Typhubacillus.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Engelmann, Pflüger's *Archiv*. 1883. Bd. XXX. — *Botan. Zeitung*. 1888.
 2. Beijerinck, *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*. Bd. XIV.
 3. Pfeffer, *Botan. Zeitung*. 1884.
 4. Gabritschewsky, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1890. T. IV.
 5. Ali-Cohen, *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*. Bd. VIII.
 6. Die Abbildung des Apparates von Gayon et Dupetit befindet sich im Catalog des Glasgeschirrs und der Apparate. Alvergnyat. Paris.
 7. Gaffky, *Bericht der Cholera-Commission*. Berlin 1887.
 8. Weyl's *Handbuch der Hygiene*. 1896. Bd. I.
-