Ein neues Fadenbacterium, eine pseudo-aktinomykotische Erkrankung erzeugend.

Von

Prof. **Vincenzo Cozzolino**

Director der Klinik für Ohren- und Nasenkrankheiten an der Universität Neapel.

(Hierzu Taf. II.)

Die klinische Beschreibung des äusserst wichtigen Falles ist schon erschienen.¹

Hier beschränke ich mich ganz kurz darauf, die Krankheitserscheinungen zu recapituliren, um gleich zur ausführlichen Beschreibung des von mir isolirten Fadenbacteriums und aller mit demselben ausgeführten experimentellen Untersuchungen überzugehen.

Der Fall betraf eine verheirathete junge Bäuerin, welche sich in meiner Poliklinik für Ohren-, Nasen- und Kehlkopfkrankheiten im klinischen Spital im October 1897 vorstellte. Sie zeigte eine periauriculäre Anschwellung, die sich bis zum äusseren Gehörgange verbreitete (Fig. 1); dem Aussehen nach war sie ganz einer aktinomykotischen Erkrankung ähnlich.

Auskratzung der Anschwellung und interne Behandlung mit Kalijodatum brachten nach etwa 2 Monaten eine anscheinend vollständige Heilung mit sich. Die Patientin erholte sich in ihrem Allgemeinzustande und die chirurgische Wunde vernarbte ganz vortrefflich (Fig. 2).

Im März 1898 wurde sie als geheilt entlassen.

Am folgenden Juli stellte sie sich aber wieder mit einer starken periauriculären, in der Halsgegend verbreiteten Anschwellung vor. Die letztere war nicht mehr antrachoid, sondern gespannt, hart, holzig. Gleichzeitig klagte die kranke Frau über Dysphagie. Die Rachenuntersuchung liess einen beträchtlichen Retropharyngealabscess nachweisen. Letzterer wurde

¹ *Archiv für Ohrenheilkunde*. Bd. XLVI. Hft. 1.

breit geöffnet; die periauriculäre und cervicale Anschwellung wurde ebenso ausgiebig ausgekratzt.

Doch war der Allgemeinzustand stark heruntergegangen, die Patientin hustete und war von hartnäckigen Kopfschmerzen gequält. Im klinischen Krankenhause, wo die Frau wieder Aufnahme fand, starb sie im September mit den Symptomen einer eitrigen Basilärmeningitis.

Der wiederholt aus der periauriculären Geschwulst, dem äusseren Gehörgange und dem Retropharyngealabscess entnommene Eiter war immer dick, rahmartig, weissgelblich und mit einer reichlichen Menge ganz kleiner Körnchen versehen; dieselben hatten die gleiche Farbe wie der Eiter, einige nur waren röthlich gefärbt. Beim Druck boten sie eine schwache Widerstandskraft dar; nur die rothbraun gefärbten Körnchen knisterten wie aus Kalksubstanz bestehend.

Die mikroskopische Eiteruntersuchung sowohl mit den basischen Anilinfarben wie mit der Gram'schen Methode liess immer einen einzigen Mikroorganismus constataren, der sich als isolirte oder verwickelte, wirkliche Büsche bildende Fäden charakterisirte. Die isolirten Elemente sahen wie spirillenartige, gewundene, gefaltene, mehr oder weniger stark gefärbte Fäden aus, und mit Gram bemerkte man im Inneren der längeren Elemente kleine Hohlräume.

Fig. 1.

Die kürzeren Fäden färbten sich intensiver; bei einigen derselben bot der Protoplasmainhalt ein deutlich granulirtcs Aussehen dar.

Wenn man ein ganzes Körnchen aus dem Eiter isolirte und zwischen Deckglas und Objectträger zerquetschte, so konnte man bei frischer Untersuchung beobachten, dass solches aus zwei Elementen bestand. Das erstere, welches den Grund einnahm, war fein granulirt, leicht gelblich gefärbt und wurde von einem dichten Geflecht fadenförmiger Elemente gebildet, welche am besten mit starker Vergrösserung an den Stellen, wo das Körnchen gerissen oder ausgefasert war, zu sehen waren.

Das zweite, mehr, wie es schien, äusserlich als innerlich dem Körnchen anliegende Element stellte sich als amorphes, lichtbrechendes Gewebe von palm- und baumartigem Aussehen dar. Es schien einen Kranz um den Mikroorganismus zu bilden und seine spitz- oder keulenförmigen Enden waren nach aussen gedreht. Solche Gebilde, obwohl mehr gespitzt, erinnerten doch sehr an den Strahlenkranz vom echten Aktinomycespilz.

Bei Färbung des Körnchens mit Gram und Eosin nimmt die buschförmige Masse des Mikroorganismus eine starke violette Farbe an; dagegen

Fig. 2.

bleibt die amorphe Substanz ungefärbt oder leicht rötlich vom Eosin gefärbt; manches palmartige Gebilde tritt wegen seiner lichtbrechenden Kraft hervor. Nur ein einziges Mal nach Fixierung des zerquetschten Körnchens mit der Flemming'schen Flüssigkeit und Färbung mit Gram bei leichter Entfärbung erhielt ich die palmartigen Gebilde violett gefärbt (Taf. II, Fig. 1) und ganz deutlich zwischen den Mikroorganismenbüschen erkennbar. Ich muss bemerken, dass auch die Leukocyten gefärbt wurden.

Es scheint mir wahrscheinlich, anzunehmen, dass es sich hier um eine Scheide handelt,

welche das Körnchen sich auf Kosten des umgebenden nekrotisirten Gewebes bildet, und solche Meinung sollte eine Bestätigung in dem Aussehen des Körnchens im Gewebsinneren finden (Taf. II, Fig. 2). Thatsächlich sieht man in der Mitte, dass der Mikroorganismus zwischen einem spitzförmigen Kranze hervortritt, der die Farbe des umgebenden Gewebes etwas annimmt, obwohl eine scharfe Trennung immer besteht.

Ich werde später beweisen, dass die Körnchenbildung ein Entartungs-

stadium des Mikroorganismus darstellt. Gewiss ist die Körnchenscheide ein unabhängiges, wenn nicht die Vegetation des Bacteriums hinderndes Element; der Einimpfung auf allen Nährboden von intacten, möglichst aus dem sie umgebenden Eiter isolirten Körnchen folgte constant keine Entwicklung nach. Dagegen ergab die Aussaat von zerquetschten Körnchen immer ein Fadenbacterium in Reincultur, was ich wenigstens 30 Mal direct aus dem Eiter sowohl der periauriculären Anschwellung wie des Retropharyngealabscesses erhielt. Ich gehe zu der Morphologie des Bacteriums über.

Morphologie.

Der erwähnte Mikroorganismus ist ausserordentlich polymorph, sowohl in den Culturen wie auch in Bezug des individuellen, mikroskopischen Aussehens. Dieser doppelseitige Polymorphismus gründet sich überhaupt auf die mehr oder weniger feuchten Bedingungen des Nährbodens.

Die bacillären Elemente, die man auf die 24 stündigen Agar- oder Serumculturen beobachtet, erscheinen klein, zwischen 2 bis 5 μ schwankend (Taf. II, Fig. 3); manche Fäden sieht man hier und da aus 2 bis 3 mit einem Ende verbundenen Elementen herstammend. Ist das Nährsubstrat feucht, so sieht man fast ausschliesslich diese bacillären Formen auch am 3. bis 4. Tage bei 37°; nur werden die Fäden zahlreicher und länger; sehr selten sind am 3. bis 4. Tage einige in der Mitte, nur selten an den Enden sporentragende Formen zu beobachten.

Der kleine endobacilläre, elliptische Raum ist leicht an der Aequatorlinie geschwollen, nach den Polen dagegen bewahrt er in der Scheide 2 kokkenartige Protoplasmae. Später nehmen die kurzen bacillären Elemente ab, die wenig färbbaren Fäden dagegen überwiegen und die freien lichtbrechenden Sporen werden reichlich (Taf. II, Fig. 4) und verkleinern sich mit der Austrocknung des Nährbodens.

Wenn die Impfung direct auf ganz wenig feuchten Agar geschieht, besser in die Schale als auf schief erstarrten Agar, so wird man gleich am 1. Tage bei 37° reichliche Formen von Endosporen beobachten. Die bacillären Elemente zeigen sich unter diesen Bedingungen oft von kleinen Lücken besetzt, wie eine Scheide, die 2 oder 5 Kokken enthält; den kurzen Bacillen sind immer die Fäden beigemengt, die der Verbindung einzelner Bacillen ihre Entstehung verdanken.

Am 3. bis 4. Entwicklungstage auf trockenem Agar nehmen die Bacillen an Zahl ab, wobei man zwischen einer sehr grossen Zahl von Sporen unregelmässige kokkenartige Formen und mässige Detritusmenge sieht.

Die Austrocknung begünstigt zweifellos die Sporification des Bacteriums, degenerirt aber das Protoplasma desselben. In der That giebt eine gleiche Cultur nach 15 Tagen nur Sporenbildung ohne Bacillen. Die Sporen

sind etwas kleiner als diejenigen, die man am 1. Tage in der Mitte des Bacteriums beobachtet.

Die Anwesenheit von kokkenartigen Formen in den Culturen, welche bei der Vergleichung mit denen, die einige Streptotrixarten zu geben pflegen, ohne Weiteres als Sporen anzunehmen sind, also als Elemente zur Erhaltung der Species, dazu noch der Widerstand solcher elliptischen Formen gegen die specifischen Sporenfärbungen —, hätte natürlich dem Zweifel Platz gegeben, es könnte sich um Degenerationserscheinungen des in Frage stehenden Mikroorganismus handeln.

Einen unerschütterlichen Beweis für die physiologische Bedeutung solcher elliptischen, lichtbrechenden Formen gaben mir verschiedene, wiederholt dazu angestellte Untersuchungen. Impfungen mit sporificirten Culturen wurden z. B. zu sehr hohen Temperaturen gebracht, und doch erhielt man ganz bedeutende Entwicklung. So wurden 5 Bacillenculturen 15 Minuten lang auf 60, 70, 80, 90, 100° gehalten; bei allen wurde die völlige und charakteristische Entwicklung nach 24 Stunden bemerkt.

Ein Präparat auf einem sterilisirten Deckglas wurde 3 Sekunden lang 2 cm oberhalb der blauen Flamme einer Bunsen'schen Lampe gehalten, dann 3 Mal durch die Flamme gezogen, wie man gewöhnlich thut, um das Präparat zu fixiren; dann wurde es sofort in ein Probeglas mit steriler Bouillon eingeführt. Nach 24 Stunden war die Entwicklung der charakteristischen Membran reichlich. Noch beweisender war die Entwicklung einer Bouillonimpfung sporificirter Culturen, welche gut 10 Minuten lang direct auf der Gasflamme gekocht waren.

Zuweilen, unter besonderen Bedingungen, stellt sich der Bacillus in Form einer äusserst verwirrten Strähne von langen, ununterbrochenen Fäden dar (Gerstenbouillon, geschmolzene und zur Erstarrung gebrachte Gelatine); zuweilen erscheinen die Sporen (junge, feuchte Culturen und bei unter 30° gehaltene Culturen) nicht; in einem anderen Falle dagegen zeigt die Cultur eine unzählige Sporenmenge und nur ganz seltene bacilläre und fadenartige Elemente (trockene Kartoffel und Agar). Endlich kamen auch ganz kleine Bacillen von 1 bis $1\frac{1}{2}\mu$ zum Vorschein (spanischer Pfeffer von ganz saurer Reaktion) oder Bacillen mit ellipsoidaler, färbbarer Schwellung auf einem Pol (Milch, alte Cultur).

In gleicher Weise nimmt die Färbungsfähigkeit der Bacillen mit ihrem Alter ab, man kann noch Culturen erhalten, wo dieselben vorwiegend granulirt erscheinen, ähnlich wie der Bacillus Löffler's, und dazwischen sieht man beigemischt kokkenartige isolirte, freie Formen, die an eine Verunreinigung der Cultur könnten denken lassen.

Bei den alten Culturen kommen wieder die dünnen, spirillären, gebogenen, verschiedentlich färbbaren, im Eiter gefundenen Formen zum

Vorschein. Keine Spur von echten Verzweigungen ist zu beobachten.

Bei der Fadengruppirung könnte man glauben, zuweilen eine Verzweigung vor sich zu haben; doch eine sorgfältige Untersuchung hauptsächlich bei hängendem Tropfen beweist ganz deutlich, dass es sich um ein zufälliges Auseinandergrenzen von zwei oder mehreren Fäden handelt.

Die Fäden bestehen, wie gesagt, aus einer Verbindung der bacillären Elemente; die Verbindungsstelle ist fast immer ersichtlich, da sie nur bei alten Culturen verschwindet.

Die jüngeren Bacillen besitzen eine eigene, äusserst rasche, ich möchte sagen fast schwanzartige Bewegung; die Fäden sind weniger beweglich und die grossen Haufen sind geradezu unbeweglich.

Färbung.

Der *Bacillus filamentosus* färbt sich mit allen basischen Anilinfarben und behält ganz entschieden die Farbe nach der Gram'schen Methode.

Culturen.

Der *Bacillus* entwickelt sich sehr rasch zwischen 37 bis 40°; ich erhielt aber ganz schöne Culturen noch von 40 bis 60°. Bei Zimmertemperatur geht die Entwicklung ganz langsam vor sich; sie bleibt zuweilen ganz aus. Nach dieser Methode kann man also bloss das allmähliche Aufwachsen der Colonie studiren.

Bei leicht alkalischer Reaktion und bei 37° folgt eine rasche Entwicklung fast in allen Nährböden; doch entwickelt sich der *Bacillus* auch in saurer Bouillon, obwohl langsamer, und mit der weiteren Entwicklung wird die Flüssigkeit am stärksten alkalisch.

Der *Bacillus* ist aërob und facultativ anaërob. Wenn man denselben in geschmolzene Gelatine impft und lässt sie dann erstarren, so entwickeln sich sehr langsam im Inneren des Nährbodens kleine, kugelige, isolirte Colonieen; in zwei Fällen erhielt ich um das kleine, in der Gelatine stehen gebliebene Membranstück die Entwicklung eines wirklichen, ein Mycelium vortäuschenden Busches.

Der *Bacillus* wurde auf verschiedenen Nährboden gezüchtet — peptonisirte Bouillon, Bouillon mit Glycerin, Gerstendecoct, Agar-Agar, Agar mit Glycerin, Agar mit Gerste, Gelatine, Kartoffel, Rübe, spanischen Pfeffer, frisches und gekochtes Ei, Milch, Ochsengehirn, Blutserum und Seewasser.

Ganz charakteristisch ist die Bildung eines Häutchens nach 18 bis 20 Stunden bei 37 bis 40° auf der Oberfläche der flüssigen oder soliden, aber feuchten Nährböden. Das Häutchen sieht trocken, weiss aus, es ist

äusserst widerstandsfähig; bei den jüngeren Culturen ist es wie mit Thautröpfchen besät, zuweilen erscheint es gefasert, bedeutend häufiger aber vereinigt und stark gefaltet, hauptsächlich auf Nährböden, die allmählich austrocknen (Agar).

Die Bouillon trübt sich in den ersten 12 bis 18 Stunden, aber nachdem die Membran auf der Oberfläche sich gebildet hat, wird sie wieder hell und zeigt einen sehr dünnen, weisslichen Bodensatz. Das Häutchen geht am Boden des Reagensglases nur herunter, wenn dasselbe ganz stark geschüttelt wird. Seine Resistenzfähigkeit ist ebenso stark genug, um sich schwer mit der Platinöse auslösen zu lassen.

Die alten Bouillonculturen, sowie diejenigen, die aus dem Blute der mit diesem Bacillus geimpften Thiere herkommen, liefern einen leichten, unangenehmen, scharfen Geruch, welcher sich noch mehr verstärkt, wenn man die Cultur erheblich erhitzt.

Die Reaction ist um so mehr alkalisch, als die Cultur älter wird. In seltenen Fällen, wo die Cultur keiner raschen Entwicklung bei 37° unterliegt, beobachtet man einige freie Stückchen eines granulirten, in der Flüssigkeit schwimmenden Schleiers, bevor es zur Bildung der compacten Membran auf der Oberfläche kommt.

Auf schief erstarrtem Agar nimmt die Cultur ein verschiedenes Aussehen nach dem Feuchtigkeitsgrade des Nährbodens an.

Auf wenig consistentem Agar bildet sich ein dünner, regelmässiger Schleier, so dass man ihn mit einem flachen Belage verwechseln könnte, wenn das Häutchen nicht so deutlich auf der Condenswasseroberfläche des Agars hervorragte.

Auf Agar von mässiger Consistenz bildet sich in weniger als 12 Stunden ein ganz schönes, weisses, dick gefaltetes und wie mit Perlen besätes Häutchen, hauptsächlich im unteren Theile. Die Perlen bestehen, wie gesagt, aus Wassertröpfchen, die zuweilen fehlen können, doch ist dies sehr selten der Fall. Auf dem Bodenwasser verlängert sich die Membran, wobei die darunter stehende Flüssigkeit hell bleibt. Dieses Häutchen, allmählich dem Austrocknungsprocesse unterliegend, faltet sich immer mehr und nimmt eine schmutziggelbe bis gelbrosa Farbe mit Zwischenstufen an.

Bei Sticheultur auf Agar bildet sich nach 24 Stunden bei 37° auf der Oberfläche eine trockene, gerunzelte Membran, die im Verlaufe der Zeit die oben erwähnte Pigmentirung annimmt; längs des Stichcanales geht die Entwicklung mit Seitenstrahlen von Statten.

Auf der Agarplatte stellt sich die Colonie kreisförmig dar, mit einem dunkleren Punkte in der Mitte (er kann aber auch fehlen), der von einer

helleren, regelmässigen Zone umgeben und äusserlich von einer undurchsichtigen Linie begrenzt ist. Die letztere bildet fast eine Falte; in der That zertheilt sich entweder allmählich diese Linie, um eine Knospenbildung der Colonie herbeizuführen, oder verbreitert sich zusammen mit der helleren, aber compacten Zone. Aus dieser Zone strahlen von allen Seiten wirkliche haarähnliche, verzweigte Büsche aus; diese Cultur erinnert in ausserordentlicher Weise an die von *B. mykoides* (Flügge).

Wenn man die Colonie mit Vergrösserung durchsieht, so erhält man ein Bild wie folgt: die dicke Zone mit den entsprechenden Falten, die eine so ausgeprägte, mesenterische Verwicklung ausbilden, besteht aus einem verwirrten Haufen lineärer Elemente und stellt die oberflächliche Colonie dar; die capillären Verzweigungen, aus einem deutlich getrennten, bacillären Elemente gebildet, entsprechen der tiefen Entwicklung der Colonie auf Agar. Ein solcher Entwicklungsunterschied sowohl auf der Oberfläche wie in der Tiefe stimmt mit der Beobachtung in Gelatinecultur überein, wo ein Stückchen der eingepfropften Membran ein wirkliches Mycelium hervorrief.

Der Sticheultur auf Gelatine bei Zimmertemperatur folgt eine langsame Entwicklung und Einschmelzung des Substrates, was etwas schneller bei 22° geschieht. Entlang des Einstiches bilden sich ganz kleine, weisse, granulirte Colonieen, welche immer dasselbe Aussehen bewahren, ohne zu schmelzen, dagegen wird die Oberfläche von der gewöhnlichen, gefalteten Membran ergriffen, die eine allmähliche cylindrische Verflüssigung der Gelatine hervorruft, indem sie dann mit horizontaler Begrenzungsfläche abwärts schreitet.

Bei 15 bis 17° wird die Entwicklung langsamer und die Verflüssigung hört auf. Die Verflüssigung einer 5 monatlichen Cultur bei Zimmertemperatur betrug nur 1½^{cm} Höhe.

Wie oben erwähnt, brachte ich ein Stückchen der Membran in's Innere der geschmolzenen Gelatine hinein, und nach Erstarrung erhielt ich eine wirkliche Mycelentwicklung ohne Gelatineverflüssigung. Ebenso schmelzen die Colonieen, die sich entlang des Stichcanales entwickeln, die Gelatine nicht, was darauf hindeutet, dass eine solche Verflüssigung durch die Sporen hervorgerufen wird, die sich nur bei der Luftanwesenheit bilden. Auf die tieferen Schichten setzt sich die Entwicklung nur fort, wenn sich Spalten bilden.

Die verflüssigte Gelatine giebt eine stark alkalische Reaction.

Der Polymorphismus auf Agarculturen wiederholt sich auf Kartoffel-culturen.

An nicht neutralisirten Kartoffeln, die in ein Rohr gebracht werden, an dem sich eine Einziehung befindet, d. h. bei den geeignetsten Bedingungen für die Eintrocknung, findet sich nach 24 Stunden, bei 37°, ein trockenes, grauweissliches, gefaltetes Häutchen, das vollständig an eine Cultur von *Bacillus mesentericus* erinnert und eine solche vortäuscht. Der Mikroorganismus breitet sich auf die ganze Kartoffeloberfläche aus. Dieselbe trocknet ein und nimmt eine dunkle Farbe an, während ganz auf der Oberfläche sich allmählich echte kalkartige Körnchen bilden.

Werden dagegen die Kartoffeln in ein gewöhnliches Reagensglas gelegt, d. h. bei natürlich feuchteren Bedingungen, so erscheint die mesenterische Schicht weniger evident, man kann sogar eine Entwicklung erhalten, wie ein dünner, leicht gefalteter Belag.

Ein ähnlicher Belag oder eine Membran bildet sich auf der gelben Rübe.

Auf stark saurem, spanischem Pfeffer entwickelt sich der *Bacillus filamentosus* ganz langsam und beschränkt sich auf die feuchteren Stellen, die sich durch Stückchen von gelblicher Membran hervorheben.

Auf gekochtem Eigelb bildet sich bei 37° nach 24 bis 48 stündiger Aufbewahrung eine gleichmässige, granulirte Membran, welche dem malvenrosenfarbigen Substrat dicht anliegt, wobei dasselbe mit dem Alter eine weinrothe Farbe annimmt.

Diese Pigmentirung beschränkt sich auf die oberflächliche Schicht. Auf alten Culturen bilden sich ebenso wie auf Kartoffeln weisse kalkartige Körnchen. Das Wachsthum auf gekochtem Eiweiss ist nicht so charakteristisch; die Pigmentirung ist bedeutend geringer, aber es bilden sich in ähnlicher Weise kreibige Körnchen.

Auf frischem Ei, bei 37° während einer Woche, zeigt sich weder eine makroskopische Aenderung noch Entwicklung von Schwefelwasserstoff; die weitere Impfung ruft aber kräftig anwachsende Culturen hervor. Die Präparate aus diesen Culturen zeigen grosse spirillenartige, gebogene Bacillen und Fadenketten.

Auf Milch, nach 36 Stunden bei 37°, schlägt das Casein nieder, indem die höher liegende Flüssigkeit hell bleibt und auf ihrer Oberfläche sich die gewöhnliche Membran bildet. Die Reaktion ist alkalisch.

Auf bei 60° 6 Tage lang sterilisirtem Ochsengehirn bildet sich auf der Oberfläche nach 48 Stunden bei 37° eine trockene, fein granulirte, bräunliche, kaum mit blossen Augen sichtbare Schicht.

Auf geronnenem Blutserum erhält man eine gleiche Entwicklung wie auf Agar; es ist nur eine malverosa Pigmentirung bemerkbar, ähnlich, wenn auch weniger intensiv wie jene auf Eigelb. Diese leichte Färbung pflanzt sich zu dem Substrat fort.

Das Serum wird langsam verflüssigt.

Auch auf Charrin- und Arnaud-Flüssigkeit mit Asparagin ohne Eiweisssubstanzen findet Wachsthum statt, obgleich etwas langsamer; nach 6 Tagen bei 37° bildet sich auf der Oberfläche ein dünnes, gefenstertes, zertheiltes Häutchen.

Chemische Leistung.

Der Bacillus zeigt auf Agar eine Pigmentirung, welche sich von rosa bis zu stark braun erstreckt, auf Ei und Serum von roth bis zu weinroth übergeht. Das Pigment löst sich gut in Wasser, weniger in Alkohol und ist ganz unlöslich in Aether und Chloroform.

Aus den Bouillonculturen, hauptsächlich aus den alten Culturen unseres Bacillus, geht ein höchst unangenehmer Geruch hervor.

Ich muss noch hervorheben, dass die Impfungen in Bouillon, welche über die Flamme gehalten und erhitzt waren, nach 3 Monaten ein schwarzes, doch durchsichtiges Aussehen annahmen, wobei sie einen merklichen Geruch nach Valeriansäure ausdünsteten. Die Culturen gleichen jenen von *B. mesentericus fuscus*.

Die weiteren Impfungen aus diesen Bouillonculturen bewahren die chromogene Eigenschaft noch auf Agar und Gelatine.

Ich kann das ursächliche Moment einer solchen abnormen Pigmentirung bei einer vorläufigen, übermässigen Erwärmung bald nach der Impfung desselben nicht erklären, doch halte ich es für sehr wichtig, diesen weiteren Charakter meiner Bacillen hervorzuheben.

Auf Lactosebouillon mit Lackmustropfen wird keine Säure gebildet. Eine Reduction der Farbe findet nur statt, wenn die Membran die ganze Oberfläche der Flüssigkeit zudeckt. Durch Schütteln mit Luft lässt sich die Farbe wieder herstellen.

Auf Bouillon mit 2 Proc. Harnstoff findet nach 48 Stunden bei 37° eine vollständige Entwicklung ohne Ausscheidung von kohlen saurem Ammoniak und ohne Bildung von ammoniakhaltigen Dämpfen bei Anwesenheit von Chlorwasserstoffsäure statt.

Der Bacillus giebt keine Indolreaction.

Biologische Eigenschaft.

Ich habe schon die ausserordentliche Widerstandskraft der Sporen bei äusserst hoher Temperatur erwähnt, was sie vielleicht einer besonderen Gestalt der membranösen Kapsel verdanken, die der specifischen Färbung der Sporen widersteht, indem dieselben nur eine sehr leichte, rosaähnliche, kaum mit der Moeller'schen Methode hervortretende Farbe annehmen.

Die Eintrocknung, die sich dem Leben der bacillären Form entgegenzustellen scheint, begünstigt dagegen die Sporenbildung.

Ich habe endlich noch einen merkwürdigen Beweis für den ausserordentlichen Widerstand dieses Bacillus mitzutheilen. Die nach der Autopsie der kranken Frau herausgeschnittenen Stücke vom Kleinhirn, Rückenmark (wo dieselben mehr eitrig infiltrirt waren) und die Schläfe der entsprechenden Seite wurden in 10 procent. Formalin eingelegt. Zwei Monate, nachdem die Stücke in derselben, oft gewechselten Flüssigkeit verblieben waren, impfte ich auf Agar und Bouillon etwas vom aus dem Gehörgange und Kleinhirne herausgenommenen Eiter. Unter 8 geimpften Röhrchen erhielten doch 5 mein Bacterium in Reincultur; nur waren einige bemerkenswerthe Unterschiede im Aussehen der Culturen, nämlich war die Membran glätter, leichter, zerbrechlicher.

Die Bedeutung der sich auf altem Ei, Kartoffeln, sowie Agarculturen bildenden kalkhaltigen Körnchen, obwohl sie eine Aehnlichkeit mit jenen zeigen, die wir auf den Culturen der verschiedenen Streptotrixarten beobachten, scheint mir doch ganz verschieden. Bei den Streptotrixarten ist es in der That die ganze Colonie, welche auf der Oberfläche ein kroidiges Aussehen annimmt, indem sie ein ganz dünnes Mycelium aufweist. Bei dem in Frage stehenden Bacillus dagegen sind hier und da einzelne Stellen der Cultur, die körnchenförmig oder unregelmässig verkalken und kein Mycelium zeigen; mikroskopisch bestehen sie aus meist nadelförmigen Krystallen.

Pathogenität.

Der Mikroorganismus hat sich bei Impfung in die Peritoneal- und Pleurahöhle mit dem aus dem Tumor gewonnenen Eiter, wie auch mit den Culturen, als pathogen für die jungen Meerschweinchen und Hausmäuse erwiesen, während die weissen Mäuse und die Kaninchen sich als refractär zeigten.

Der aus dem Tumor gewonnene Eiter wurde in's Peritoneum eines kleinen Meerschweinchens geimpft, welches nach 5 Tagen starb.

Ein anderes junges Meerschweinchen bekam 2 Eiterimpfungen an der hinteren Seite der Unterschenkelmuskulatur; es zeigte gar keine Reaction. Nach etwa einem Monate wurde durch die Laparotomie eine weitere Eitermenge in's Peritoneum verimpft, wobei das Thier nach 24 Tagen zu Grunde ging. Ein solcher Unterschied kann einer partiellen, aus den früheren Impfungen erzeugten Immunität zugeschrieben werden.

Ein weiteres junges Meerschweinchen bekam in das Subcutangewebe das Häutchen einer Bouilloncultur, die aus dem Blute des vorigen Meerschweinchens gezüchtet wurde. Der Tod trat nach 19 Stunden ein.

Eine im Mörser zerriebene Cultur, in die Pleurahöhle eines Meerschweinchens und eines Kaninchens gebracht, rief bei dem letzteren keine krankhafte Erscheinung hervor, aber das Meerschweinchen starb nach 12 Tagen.

Wird der aus dem Tumor gewonnene Eiter in eine Hausmaus und in weisse Mäuse geimpft, so bleiben die letzteren gesund, während die erstere nach 24 Stunden stirbt.

Aus dem Blute aller gestorbenen Meerschweinchen sowie der gestorbenen Hausmaus wurde der Mikroorganismus in Reincultur erhalten.

Bei der Section fand ich keine Geschwulst, sondern eine starke Veränderung der Leber, welche nebst einer starken Entzündung entweder nekrotische Knötchen oder nekrotische Zonen zeigte. Die Lungen waren stark infiltrirt; in der Gallenblase einige Körnchen, ähnlich wie diejenigen im Eiter gefundenen aussehend. Die übrigen Organe zeigten makroskopisch unbedeutende Besonderheiten.

Bei der histologischen Organuntersuchung der Meerschweinchen und der Maus, welche in Folge der Impfung sowohl des aus pseudoaktinomykotischer Geschwulst entnommenen Eiters, wie auch des in reiner Cultur isolirten Bacillus starben, betreffen die am weitesten auffallenden Veränderungen die Leber, wo besonders eine diffuse Nekrose und eine fettige Entartung der Leberzellen hervortritt.

Die nekrotischen Zonen sind äusserst zahlreich; sie erscheinen in der Dicke des Organes entweder in Form von gewöhnlichen, perivascularären Knötchen (Meerschweinchen), oder wie querförmige, völlige Streifen, oder wie unregelmässige Zonen (Maus).

Die Leberzellen in dieser Zone sind vollständig nekrotisch, in unregelmässige Massen verwandelt, ohne scharfe Grenzen, ohne Spur von Kern, selten trifft man einen Nucleinrest und hier und da eine Spur des Zellenrandes an.

In der Nähe solcher nekrotischen Zonen begegnet man einer bedeutenden Anhäufung von stark färbbaren, meist polynucleären Leukocyten, einige derselben zeigen deutliche Theilungsformen.

Wo die Nekrose einen grösseren Umfang genommen hat, treten die Leukocyten in die Tiefe des Herdes hinein, wobei sie sich zwischen den übrig gebliebenen Maschen und in den von den Zellen leer gebliebenen Räumen infiltriren. Diese nekrotische Zone sitzt überhaupt in der Nähe der Gefässe, besonders der interlobulären Zweige der Vena portae und der Vena centralis. Die Zellen des Gefässendothels sind vollständig bewahrt, nehmen gut die Farbe an und treten zwischen der nekrotischen Zone hervor. Die Gefässe bieten sogar in diesem Gebiete eine leichte

kleinzellige Infiltration ihrer Wand dar; dieselbe kehrt sich in manchen Stellen noch in nekrosirtes Gewebe um.

Die nekrotischen Herde sind deutlich von dem umgebenden Gewebe begrenzt; es giebt eine scharfe Trennung ohne Zwischenstufen unter den abgestorbenen und den gut bewahrten und färbbaren Zellen, welche nur hie und da leicht aufgeschwollen erscheinen. In einzelnen Fällen bemerkt man doch verschiedene Phasen von sowohl nucleären, wie protoplasmatischen Zellenveränderungen; am bedeutendsten tritt die fettige Entartung hervor, welche an der Peripherie und in der Mitte der Acini, in der Umgebung der Gefässe am meisten accentuirt erscheint.

Mit der Flemming'schen Fixationsmethode ist diese Entartung deutlich sichtbar. Die an der Schnittperipherie gelegenen Zellen, wo die Osmiumsäure besser ihre Wirkung entfalten konnte, erscheinen abnorm gross, wie schwarz aussehende, unregelmässige Massen; in der Mitte des Präparates, wo natürlich diese Wirkung beschränkt war, erscheinen die Zellen grösser, ihr Protoplasma ist zu einer dünnen peripherischen Schicht reducirt, wobei der Zellenrest von Fett ersetzt wurde. Der Kern ist an die Peripherie zusammen mit dem Protoplasmarest verrückt. In anderen Zellen ist die Fettanhäufung nicht so reichlich, sondern wie Tröpfchen angeordnet. An manchen Stellen hat solche Entartung noch nicht stattgefunden, und die Zellen erscheinen geschwollen und vergrössert. Das Protoplasma besteht aus ungemein zahlreichen, grossen, deutlich färbbaren Körnchen, der Kern zeigt sich nicht gefärbt, aber ihr Netz ist wohl erkennbar; es besteht hier nämlich eine deutliche trübe Schwellung, welche die consecutive fettige Entartung verräth.

Die Gefässe sind diffus und leicht erweitert und alle mit Blut verstopft. Die kleinen Gallengänge zeigen eine leichte kleinzellige Infiltration ihrer Wände und das diese bedeckende Epithel ist meistentheils desquamirt. Auch die Kapsel ist leicht infiltrirt.

Herz. Im Herzen bestehen keine bedeutenden Veränderungen, mit Ausnahme einer mehr oder weniger heftigen Hyperämie, da die Gefässe erweitert und mit Blut erfüllt erscheinen.

Lungen. Die Lungen sind stark congestionirt, die Gefässe diffus erweitert und blutvoll. Bedeutende kleinzellige Infiltration zwischen den Alveolen und hauptsächlich um die Gefässe herum; auch in den Alveolengängen bemerkt man reichliche weisse Blutkörperchen. Das Epithel der alveolären Wand ist grösstentheils abgefallen: an einigen Stellen hat die Zahl der epithelialen Zellen so stark zugenommen, dass das Lumen der Alveolen damit fast vollständig verstopft erscheint.

In den Bronchiolen sind fast keine Veränderungen vorhanden.

Milz. Die wichtigste Veränderung ist die Vergrößerung der Malpighi'schen Körperchen und die reichliche darin eingetretene Ansammlung von vorzugsweise mononucleirten Leukocyten. Auch in der Milzpulpa sind dieselben mehr oder weniger zahlreich, nur wiegt die Ansammlung von rothen Blutkörperchen vor, wovon viele schon sich im Zustande einer fortgeschrittenen regressiven Metamorphose befinden. Die Infiltration findet überhaupt in der subkapsulären Schicht statt. Die Gefäße sind erweitert und blutvoll.

Nieren. Die Veränderungen der Nieren sind wenig bedeutend. Hauptsächlich erscheinen die gewundenen, doch auch die Sammelcanälchen erweitert; ihr Epithel ist mässig verändert, theils abgefallen, theils in deutlich trüber Schwellung. Keine Stelle derselben bietet die Zeichen der Nekrose dar, in allen jedoch ist die charakteristische Kammstructur von Heidenhain verschwunden.

Aehnliche Epithelveränderungen findet man in der Henle'schen Schleife. In Theilen der Harncanälchen sind die Veränderungen sehr wenig ausgeprägt.

In einigen Fällen sind die Blutgefäßschlingen der Glomeruli mit Blut erfüllt (Meerschweinchen), was dagegen in anderen Fällen fehlt (Maus).

Ich habe etwas ausführlich die Morphologie und das Culturverhalten des *Bacillus filamentosus* behandelt, da mir die Thatsache nicht unwichtig erscheint, dass Geschwülste, die dem Aussehen nach und klinisch ähnlich denjenigen vom *Aktinomyces* oder wenigstens von den *Streptotrix*-arten erzeugten Geschwülsten sich zeigen, doch von Mikroorganismen hervorgerufen sein können, die deutlich verschiedene mikroskopische und culturelle Eigenschaften besitzen.

Es fehlt freilich bei diesem *Bacillus* das mikroskopische Merkmal, auf welches sich die Eintheilung der *Streptotrix*arten stützt, nämlich die echte Verzweigung; es fehlt bei ihm sogar die falsche Verzweigung der *Cladotrix*arten.

Der Familie der *Streptotrix* nähert derselbe sich aber wenigstens scheinbar wegen seiner dreifachen Form als *Bacillus*, *Spirillus* und *Coccus*, mit dem Unterschiede, dass die Kokken bei den *Streptotrix*arten nach der allgemeinen Ansicht, Organe für die Specieserhaltung darstellen sollten, während sie bei meinem *Bacillus* vielmehr als ein Zerstörungsproduct des bacillären Protoplasmas angesehen werden müssten, indem sich die Sporen vollkommen ausbilden. Bei den Culturen, wo die Sporen vorwiegen, sieht man in der That, dass sowohl die Bacillen wie auch die Kokken verschwinden.

Dieser *Bacillus filamentosus* kann nicht aus denselben Gründen mit den verschiedenen *Pseudoaktinomyces*arten zusammengeworfen werden, da die Morphologie und die culturellen Eigenschaften der isolirten Mikroorganismen, wenn nicht identisch mit jenem des *Aktinomyces bovis*, sich doch in die Kategorie der Streptotricheen einreihen lassen (1). Ebenso kann mein Mikroorganismus nicht mit den in 2 Fällen von *Pseudoaktinomykose* von Dr. Sawtchenko (2) und von Dr. Krassnobajew (3) isolirten Bacillen verwechselt werden, obwohl bei allen beiden im Eiter die gewöhnlichen Granula auftraten, da sie sowohl morphologische wie culturelle Unterscheidungsmerkmale zeigen, darunter z. B. die absolut anaërobische Eigenschaft und die Nichtfärbung derselben mit Gram.

Nach der Systematik von Kruse könnte der von mir isolirte *Bacillus* ein Verbindungsglied zwischen den Hyphomyceten, wovon der *Aktinomyces* die letzte Stufe darstellt, dem er wegen der pathogenetischen Wirkung beim Menschen ähnelt, und der Gruppe des *Heubacillus* sein, dem er wegen mehrerer biologischer Eigenschaften, sowie wegen der Aehnlichkeit der Culturen mit einigen Arten derselben Gruppe sich anschliesst.

Es ist nicht meine Aufgabe, den von mir gefundenen *Bacillus* genau zu classificiren, und ich beschränke mich darauf, ihn zwischen die „Fadenbakterien“ einzureihen, wohl nach den Ansichten von Prof. Dr. Giaksa unserer Universität und Dr. Gasperini aus Pisa. Ich benutze die Gelegenheit an dieser Stelle diesen Collegen meinen Dank auszusprechen für ihr besonderes Interesse, diesen wichtigen Befund zu controliren.

Meine Beobachtung, die im klinischen Sinne als eine *Pseudoaktinomykose* betrachtet werden kann, weist noch mehr auf die Nothwendigkeit, bei der Stellung einer Diagnose weder auf die Anwesenheit von Körnchen im Eiter wie auch im Gewebe sich zu beschränken, welche die Diagnose von *Aktinomykose* bestätigen könnten, sondern vielmehr durch eingehendes Studium des Mikroorganismus die Entscheidung über den wirklichen pathogenen Krankheitserreger zu liefern.

Bevor ich diese Arbeit schliesse, möchte ich in einer Tabelle die bis jetzt studirten Erreger resumiren, welche bei Menschen klinische Formen erzeugten, wovon einige ganz identisch, andere nur ähnlich der *Aktinomykose* waren, wobei alle im Eiter das charakteristische Aussehen des Körnchens zeigten:

Echte Aktinomykose	Pseudo-Aktinomykose, von Streptotricheen erzeugt	Pseudo-Aktinomykose, von Bacillen erzeugt
Strept. Aktinomyces bovis	Streptotr. von Israeli Streptotr. von Affanassiew-Schultze „ „ Liebmann ¹ „ „ Poncet-Dor „ „ Vincent	Bacillus von Sawtchenko (anaërobisch) Bacillus von Krassnobajew (anaërobisch) Bacillus von Cozzolino (aërobisch-sporenhaltig)

¹ Verf. hat die echten Verzweigungen gefunden, aber er hat gleichzeitig die Endosporen erhalten.

Die histologische Untersuchung der inneren Organe wird als II. Theil der Arbeit im Archiv f. Ohrenheilkunde erscheinen. Hier sei nur erwähnt, dass in fast sämtlichen Organen (Lungen, Nieren, Milz, Medulla oblongata, Hirnrinde) in sehr beträchtlicher Menge unsere Fadenbakterien mit ihren charakteristischen Merkmalen als lange, dicke, äusserst färbbare, in manchen Gefässlumina büschelförmig angeordnete Bacillen nachgewiesen wurden.

Litteratur.

1. Taufal, Aktinomykose des Mittelohres. *Prager med. Wochenschrift.* 1894. Nr. 27 u. 29. — Flügge, *Die Mikroorganismen.* II. Theil. 1896. — Israeli, Ueber Cultivirbarkeit des Aktinomyces. *Virchow's Archiv.* Bd. XCV. — Kischensky, Ueber Aktinomycesreinculturen. *Archiv für experim. Pathologie und Pharmakologie.* 1889. — Affanassiew u. Schultze, Baumgarten's *Jahresbericht.* — Vincent, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1894. Fasc. 3. — Aschoff, Ein Fall von primärer Lungenaktinomykose. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1895. — Poncet et Dor, Une nouvelle mycose à grains jaunes, ses rapports avec l'actinomycose etc. *Gaz. hebdom. de médecine et chirurgie.* 1896. Nr. 47. — Berestnew, Ueber Pseudo-Aktinomykose. *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXIX.

2. Bacilläre Pseudo-Aktinomykose. *Russisches Archiv* von Podwissotzky. 1895.

3. Citirt in der Arbeit von Berestnew, *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXIX.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. II.)

- Fig. 1.** Gequetschtes Eiterkörnchen. Fixirung mit Osmiumsäure.
Fig. 2. Körnchen im Gewebe der periauriculären Geschwulst.
Fig. 3. Das Fadenbacterium. Aus einer 24stündigen Bouilloncultur bei 37°.
Fig. 4. Sechstägige Cultur auf Agarplatte bei 37°.
-