

[Aus der Prosectur der K. K. Krankenanstalt Rudolfstiftung in Wien.]
(Prosector: Prof. R. Paltauf.)

Zur Verwerthbarkeit der Agglutination für die Diagnose der Typhusbacillen.

Von

Dr. Carl Sternberg,
Prosectursadjuncten.

Bei der Untersuchung dreier Wasserproben verschiedener Provenienz (von welchen zwei aus demselben Orte stammten) fand ich Bakterien, die durch ihr morphologisches und biologisches Verhalten grösseres Interesse beanspruchen. Die drei Wasserproben wurden dem Institute behufs bakteriologischer Untersuchung, speciell wegen Verdachtes auf Verunreinigung mit Typhusbacillen, zugesendet. Es fanden sich nun thatsächlich auf den mit verschiedenen Mengen des zu untersuchenden Wassers beschickten Gelatineplatten nicht verflüssigende Colonien, die denen des Typhusbacillus zu entsprechen schienen. Um möglichst rasch eine Identificirung dieser Mikroorganismen zu ermöglichen, wurden sie auf schrägen Agar abgeimpft und nach 24 Stunden der Agglutinationsprobe mit unserem Typhusimmunserum unterzogen. Hierbei zeigte sich, dass sie genau bei der gleichen Verdünnung wie unser Laboratoriumstyphusstamm von dem Immunserum agglutiniert wurden, doch ergab sich bei weiterer Untersuchung, dass die betreffenden Bakterien auf Grund ihres culturellen Verhaltens nicht als Typhusbacillen angesprochen werden durften. Ein vollkommen analoges Verhalten zeigten nun zwei in der Sammlung unseres Institutes aufbewahrte und in die Coligruppe eingereihte Stämme (C_{12} und C_{14}), die vor mehr als einem Jahre im Institute aus einem Wasser herausgezüchtet und seither fortgeimpft worden waren.

Die biologischen Eigenschaften dieser Bakterien ergeben sich aus folgender Zusammenstellung.

Stamm KB. (Küchenbrunnen, Wiener-Neustadt.)

Form: Kurze Stäbchen, darunter längere Fäden.

Beweglichkeit: Beweglich.

Färbbarkeit: Mit den gebräuchlichen Anilinfarben gut färbbar; Gram negativ; von Kartoffelculturen die Stäbchen blässer, oft endständig ungefärbte Stellen („Polkörner“).

Gelatineplatte:¹ Nach 24 Stunden kleine, in der Mitte etwas gelbliche, lappig begrenzte Colonieen mit zarter, blattartiger Zeichnung.

Nach 48 Stunden die Colonieen grösser, convex, irisirend, gelappt, central dunkel, peripher hell mit deutlicher Zeichnung.

Nach 3 Tagen Colonieen noch grösser, mehr rund, Zeichnung undeutlicher; die ganze Colonie dunkler.

Nach 8 Tagen ziemlich grosse, grauweisse, irisirende, fast runde Colonieen, im Mikroskop hellbraungelb erscheinend und nur am Rande noch Zeichnung erkennen lassend.

Gelatinestich: Wachstum im Stich und an der Oberfläche.

Agarplatte: Nicht charakteristisch.

Agarstrich: Nicht charakteristisch.

Agarstich: Wachstum im Stichcanal und an der Oberfläche; nach zwei Tagen bereits sehr intensive Gasbildung.

Bouillon: Diffuse Trübung der ganzen Bouillon mit reichlichem Bodensatz; kein Oberflächenhäutchen.

Kartoffel: Mässig reichlicher, grauweisser, in's Gelbliche spielender feuchter Rasen.

Vogesagar:² Sehr üppiger braungelber Rasen.

Gährungskölbehen: Gutes Wachstum; nach 24 Stunden spärliche Gasbildung, die bereits am folgenden Tage reichlicher ist.

Zuckeragarstich: Gutes Wachstum im Stich und an der Oberfläche; Gasbildung bereits nach 24 Stunden.

Glycerinphosphoragarstich:³ Gutes Wachstum; Gasbildung.

Sauerstoffbedürfniss: Unter Sauerstoffabschluss gutes Wachstum und Gasbildung.

Milch: Nach 17 Tagen keine Gerinnung.

¹ Bei Beschreibung der Gelatineplatten sind stets nur die oberflächlichen Colonieen gemeint, während die tiefen nicht berücksichtigt wurden. Die Angaben über Farben der Colonieen (bräunlich oder gelblich) beziehen sich nur auf das mikroskopische Bild, makroskopisch erschienen sie stets farblos, bzw. im durchfallenden Licht irisirend.

² Bereitet durch Zusatz von 3 bis 5 Tropfen sterilen, defibrinirten Pferdeblutes zu 100 grädigem Agar.

³ Dieser Nährboden, der bei einer anderen Untersuchungsreihe Verwendung fand, wurde durch Zusatz von 2 Procent Acidum glycerinophosphoricum Merck zu gewöhnlichem Agar hergestellt.

Lackmusmolke: Roth, leicht trüb, reichlicher Bodensatz, 5·5 Proc. Säure.

Indolreaction: Negativ.

Neutralrothreaction: Positiv.

Pathogenität: Negativ.

Agglutination durch Typhusimmunserum: 1:600 complet (durchwegs Bildung kleiner Haufen), 1:800 complet, 1:1000 complet, 1:1400 complet.

Stamm WL. (Wasserleitung, Wiener-Neustadt.)

Form: Kurze plumpe Stäbchen, darunter längere Fäden.

Beweglichkeit: Träg beweglich.

Färbbarkeit: Mit den gebräuchlichen Anilinfarben gut färbbar, oft polar gefärbt; Gram negativ; von Kartoffeln ungleichmässig gefärbt, oft ungefärbte Stellen — ab und zu auch endständig — aufweisend.

Gelatineplatte: Nach 24 Stunden wie KB.

Nach 48 Stunden bläulich durchscheinende, irisirende, etwas convexe, gelpappte Colonien, central bräunlich, peripher hell mit deutlicher Zeichnung.

Nach 3 Tagen Lappung undeutlich, die ganze Colonie dunkler (braun-gelb), Zeichnung undeutlich.

Nach 8 Tagen wie KB.

Gelatinestich: Wachsthum im Stich und an der Oberfläche.

Agarplatte: Nicht charakteristisch.

Agarstrich: Nicht charakteristisch.

Agarstich: Wachsthum im Stich und an der Oberfläche; nach 2 Tagen bereits sehr starke Gasbildung.

Bouillon: Diffuse Trübung der ganzen Bouillon mit mässig reichlichem Bodensatz, kein Oberflächenhäutchen.

Kartoffel: Mässig reichlicher, grauweisser feuchter Belag.

Vogesagar: Ueppiger graugelber Rasen.

Gährungskölbchen: Gutes Wachsthum; nach 24 Stunden spärliche Gasbildung, später reichlicher.

Zuckeragarstich: Gutes Wachsthum im Stich und an der Oberfläche; Gasbildung bereits nach 24 Stunden.

Glycerinphosphoragar: Gutes Wachsthum, Gasbildung.

Sauerstoffbedürfniss: Unter Sauerstoffabschluss gutes Wachsthum, Gasbildung.

Milch: Nach 17 Tagen keine Gerinnung.

Lackmusmolke: Roth, leicht trüb, Bodensatz, 9 Procent Säure.

Indolreaction: Negativ.

Neutralrothreaction: Positiv.

Pathogenität: Wechselnd; in einzelnen Versuchen nicht pathogen, in anderen erfolgt der Exitus der Versuchsthiere.

Agglutination durch das Typhusimmunserum: 1:600 complet, 1:800 reichlich kleine Haufen, daneben noch einzelne unbewegliche Stäbchen, 1:1000 ebenso, 1:1400 negativ.

Stamm Kas. (Kasernenbrunnen, Klosterbruck.)

Form: Meist ziemlich lange und dicke Fäden, daneben kürzere Stäbchen, oft und zwar namentlich in älteren Culturen selbst Kokken ähnliche Formen.

Beweglichkeit: Die kürzeren Formen zeigen vielleicht Eigenbewegung, sonst unbeweglich.

Färbbarkeit: Mit den gebräuchlichen Anilinfarben färbbar, Gram negativ; auf der Kartoffel plumpe, dicke, grosse Stäbchen, ferner dicke Fäden mit kolbigem Ende, das gewöhnlich ungefärbt erscheint und an Sporenbildung erinnert.

Gelatineplatte: Nach 24 Stunden die Colonieen grösser wie bei den vorhergehenden Bacillen, sonst aber gleich beschaffen (lappig, blattartige Zeichnung).

Nach 48 Stunden grösser und compacter, unregelmässig begrenzt, lappig, in der Mitte bräunlich, peripher hell, mit Zeichnung.

Nach 3 Tagen Colonieen gross, fast rund, braungelb.

Nach 8 Tagen den früher beschriebenen sehr ähnlich.

Gelatinestich: Wachsthum im Stich und an der Oberfläche.

Agarplatte: Nicht charakteristisch.

Agarstrich: Nicht charakteristisch.

Agarstich: Zartes Wachsthum, fast nur im Stich, keine Gasbildung.

Bouillon: Vollkommen klar, leichter Bodensatz, kein Oberflächenhäutchen.

Kartoffel: Vollkommen unsichtbar, Kartoffel trocken.

Vogesagar: Ueppiger, braungelber Rasen.

Gährungskölbehen: Nach 2 Tagen Gasbildung, die dann ziemlich reichlich wird.

Zuckeragarstich: Wachsthum nur im Stich, Gasbildung.

Glycerinphosphoragar: Wachsthum, Gasbildung.

Sauerstoffbedürfniss: Gutes Wachsthum, keine Gasbildung.

Milch: Keine Milchgerinnung.

Lackmusmolke: Roth, klar, spärlicher Bodensatz, 6 Procent Säure.

Indolreaction: Negativ.

Neutralrothreaction: Positiv.

Pathogenität: Negativ.

Agglutination durch Typhusimmunserum: 1:600 complet, 1:800 complet, 1:1000 complet.

Stamm C₁₂. (Sammlung des Institutes.)

Form: Kurze dicke Stäbchen.

Beweglichkeit: Beweglich.

Färbbarkeit: Mit den gebräuchlichen Anilinfarben färbbar, Gram negativ; von der Kartoffel blass gefärbt, aber ziemlich gleichmässig, keine ungefärbten Stellen.

Gelatineplatte: Nach 24 Stunden wie KB.

Nach 48 Stunden etwas grössere, bläulich durchscheinende, irisirende Colonieen mit lappigem Rande, in der Mitte etwas bräunlich, deutliche, blattartige Zeichnung.

Nach 3 Tagen ziemlich gross, braungelb, nur am Rand heller und hier noch Zeichnung deutlich.

Nach 8 Tagen theils runde, theils gelappte Colonieen, den vorigen ähnlich. Die Culturen haben einen unangenehmen, stinkenden Geruch.

- Gelatinestich: Wachstum im Stich und an der Oberfläche.
 Agarplatte: Nicht charakteristisch.
 Agarstrich: Nicht charakteristisch.
 Agarstich: Reichliches Wachstum und Gasbildung.
 Bouillon: Diffuse Trübung der ganzen Bouillon mit reichlichem Bodensatz, kein Oberflächenhäutchen.
 Kartoffel: Mässig reichliches Wachstum, brauner, feuchter Rasen.
 Vogesagar: Mässig reichlicher, brauner Rasen.
 Gährungskölbchen: Reichliche Gasbildung.
 Zuckeragarstich: Gutes Wachstum, reichliche Gasbildung.
 Glycerinphosphoragar: Gutes Wachstum, Gasbildung.
 Sauerstoffbedürfniss: Gutes Wachstum, keine Gasbildung.
 Milch: Nach etwa 10 Tagen die Milch eingedickt, eine gallertige Masse darstellend, aber nicht geronnen.
 Lackmusmolke: Roth, klar, Bodensatz, 6.5 Procent Säure.
 Indolreaction: Negativ.
 Neutralrothreaction: Positiv.
 Pathogenität: Negativ.
 Agglutination durch Typhusimmunserum: 1 : 600 complet, 1 : 1000 Haufenbildung, daneben aber noch einzelne Stäbchen.

Stamm C₁₄. (Sammlung des Institutes.)

- Form: Kurze plumpe Stäbchen, bisweilen Kokken ähnlich.
 Beweglichkeit: Schwach beweglich.
 Färbbarkeit: Mit den gebräuchlichen Anilinfarben färbbar, Gram negativ; von der Kartoffel blässer gefärbt, ungefärbte Stellen nicht nachweisbar.
 Gelatineplatte: Nach 24 Stunden wie oben, stark gelappt.
 Nach 48 Stunden grösser, stark gelappt, in der Mitte etwas bräunlich, peripher hell mit deutlicher Zeichnung.
 Nach 3 Tagen gross, theils ziemlich rund, theils stark gelappt oder zackig, am Rand deutliche Zeichnung.
 Nach 8 Tagen wie die früheren; grösstentheils stark gelappt, ziemlich hell. Die Culturen haben einen unangenehmen, stinkenden Geruch.
 Gelatinestich: Gutes Wachstum im Stich und an der Oberfläche.
 Agarplatte: Nicht charakteristisch.
 Agarstrich: Nicht charakteristisch.
 Agarstich: Sehr üppiges Wachstum, oberflächlich ein dicker Rasen, Gasbildung.
 Bouillon: Starke diffuse Trübung, Bodensatz, nach 6 Tagen ein Oberflächenhäutchen.
 Kartoffel: Nicht ganz deutlicher gelber, feuchter Belag.
 Vogesagar: Ueppiger braungelber Rasen.
 Gährungskölbchen: Reichliche Gasbildung.
 Zuckeragarstich: Gutes Wachstum, sehr reichliche Gasbildung.
 Glycerinphosphoragar: Gutes Wachstum, Gasbildung.
 Sauerstoffbedürfniss: Gutes Wachstum, reichlich Gas.
 Milch: Nach 7 bis 9 Tagen Beginn der Gerinnung, an den folgenden Tagen complet.

Lackmusmolke: Roth, trüb, Bodensatz, 11 Procent Säure.

Indolreaction: Negativ.

Neutralrothreaction: Positiv.

Pathogenität: Negativ.

Agglutination durch Typhusimmunserum: 1:600 complet, 1:1000 kleinere und grössere Haufen, daneben noch einzelne Stäbchen.

Zu vorstehenden Beschreibungen wäre zu bemerken, dass die in den Agarstichculturen beobachtete Gasbildung inconstant war und sich daher nicht weiter verwerthen lässt. Es hängt die Gasbildung in gewöhnlichem Agar bekanntlich von der Art seiner Bereitung ab und sie kann daher bei einem und demselben Bacterium auftreten oder ausbleiben, wovon wir uns auch im Verlaufe unserer Untersuchungen wiederholt überzeugen konnten. In diesem Sinne kommt auch den betreffenden Angaben bei Beschreibung der anaëroben Culturen keine Bedeutung zu.

Bezüglich der Kartoffel wäre zu bemerken, dass dieselbe ohne weiteren Zusatz einer Sodalösung zur Verwendung kam, da nur auf solchen, also schwach saueren Kartoffeln der Typhusbacillus sein charakteristisches Wachsthum zeigt, wie ja schon von mehreren Seiten und erst neuerdings wieder von Migula betont wurde.

Die Indolreaction wurde in der vorgeschriebenen Weise an Bouillon-culturen, die 1 Woche alt waren, angestellt.

Behufs Bestimmung der Säurebildung beschickten wir entsprechend den Angaben Petruschky's Lackmusmolke, die von Dr. Grübler bezogen wurde, und untersuchten sie 10 Tage später. Die gebildete Säure wurde durch Austitrirung mit $\frac{1}{10}$ normal. Natronlauge bestimmt, von welcher 1^{cem} 0.0049^{grm} H_2SO_4 entsprach. Das gebildete Alkali wurde mit $\frac{1}{10}$ normal. Schwefelsäure austitriert, von der 1^{cem} 0.004^{grm} NaHO entsprach.

Zur Frage der Pathogenität der einzelnen Stämme injicirten wir Meerschweinchen intraperitoneal Aufschwemmungen junger Agarculturen in der Menge von 2 Oesen; bei einzelnen der nicht pathogenen Stämme injicirten wir $\frac{1}{2}$ Agarcultur intraperitoneal.

Zur Bestimmung des Agglutinationswerthes kamen im Allgemeinen Verdünnungen von 1:600, 1:800, 1:1000 und 1:1400 zur Verwendung; als Grenzwert hielten wir jene Verdünnung auf, bei welcher sich neben kleinen lockeren Haufen noch zahlreiche einzeln liegende, unbewegliche und auch bewegliche Stäbchen fanden. Durch das verwendete Typhusimmunserum wurde ein typischer Typhusstamm im Verhältnisse von 1:600 und 1:1000 complet agglutiniert; bei letzterer Verdünnung traten kleinere und grosse, dichte Haufen auf; bei der Verdünnung von 1:1400 fanden sich neben den Haufen auch noch einzelne unbewegliche und bewegliche

Stäbchen: Das zum Vergleich herangezogene *Bacterium coli* wurde im Verhältnisse von 1:600 und 1:1000 nicht agglutiniert.

Ueberblicken wir nun die vorstehenden Beschreibungen, so bemerken wir, dass alle untersuchten Bakterien sich in ihrem Wachstume auf Gelatineplatten — namentlich im Anfange — vollkommen gleich verhielten und dass alle in ziemlich hoher Verdünnung und zwar in denselben Verdünnungen wie unser Typhusstamm von dem Typhusimmunserum agglutiniert wurden.

Vier Stämme, nämlich KB., WL., C₁₂ und C₁₄, zeigten unter einander ziemliche Uebereinstimmung und unterschieden sich nur in minder wesentlichen Punkten, während Stamm Kas in einigen wichtigeren Eigenschaften von dem Verhalten der übrigen Bakterien abwich. Zum Vergleiche wurde auch einer unserer Typhusstämmen sowie ein typisches *Bacterium coli* in den Kreis der Untersuchungen einbezogen, um ihr Verhalten auf den einzelnen Nährböden dem der fraglichen Bakterien gegenüberstellen zu können. Der Typhusbacillus stammte aus der Milz einer Typhusleiche, das *Bacterium coli* aus der Milz einer Leiche, bei der sich eine schwere Enteritis fand und bei welcher auch aus der Darmschleimhaut das *Bacterium coli* in Reincultur herausgezüchtet wurde.

Der Uebersichtlichkeit halber sind die wesentlichen Eigenschaften der untersuchten Bakterien, sowie des Typhusbacillus und *Bacterium coli* in der folgenden Tabelle I in Kürze zusammengestellt.

Die Differenz zwischen den erst genannten 4 Stämmen bezieht sich somit auf geringe Unterschiede in ihren Formen, die in nebenstehender Tabelle nicht nochmals, hervorgehoben wurden, geringe Unterschiede in ihrer Beweglichkeit, ferner in dem Auftreten von Polkörnern, in der Farbe der Kartoffelculturen, der Menge der gebildeten Säure u. s. w.

Die Stämme KB. und WL. zeigen unter einander nur äusserst geringe Unterschiede, indem bei WL. die Säurebildung viel stärker ist und derselbe sich in einem von drei Versuchen für Meerschweinchen pathogen erwies; andererseits wird KB. durch das Typhusimmunserum viel stärker agglutiniert als WL.

C₁₄ unterscheidet sich von den übrigen Bakterien durch die Bildung eines Oberflächenhäutchens in Bouillon, durch die Milchgerinnung und starke, dem *Bacterium coli* nahe kommende Säurebildung. Auch ist bei C₁₄ ebenso wie bei C₁₂ die Kartoffelcultur von KB. und WL. verschieden, die Gasbildung reichlicher, die Agglutination durch Typhusimmunserum schwächer. Bei C₁₂ ist auch die Eindickung der Milch bemerkenswerth.

Der Stamm Kas ist durch Form und Grösse der einzelnen Bakterien von den übrigen Stämmen verschieden. Wesentliche Unterscheidungs-

Tabelle I.

	Form	Beweglichkeit	Färbung	Färbung von der Kartoffel	Gram	Sauerstoffbedürfniss	Gelatineplatte	Gelatinestich	Agarculturen
KB.	kurze Stäbchen	beweglich	wie gewöhnlich färbbar	Polkörner	negativ	facultativ anaërob	kleine gelpappte Colonien mit blattartig. Zeichnung	Wachsthum an der Oberfläche und im Stich	nicht charakteristisch
WL.	"	träg	oft polar	ab und zu Polkörner	"	"	"	"	"
C ₁₂	"	beweglich	färbbar	keine Polkörner	"	"	"	"	"
C ₁₄	"	träg	"	"	"	"	"	"	"
Kas.	meist ziemlich lange und dicke Stäbchen	nur die kürzeren Formen beweglich	"	Polkörner	"	"	grössere, compactere Colonien	"	"
Ty.	kurze Stäbchen	beweglich	"	"	"	"	kleiner, zarter, langsames Wachsthum	"	"
Coli	"	"	oft polar	keine Polkörner	"	"	grösser, rascher wachsend	"	"

Tabelle I. (Fortsetzung.)

	Kartoffel	Bouillon	Gährungs- kölbchen	Zuckeragar- stich und Glycerinphos.	Milch	Lackmus- molke	Indol	Pathogenität	Agglutination
KB.	grauweiss, feucht	diffuse Trübung, Bodensatz	spärlich Gas	Gas	keine Gerinnung	5.5 Procent Säure	negativ	negativ	sehr stark
WL.	"	"	"	"	"	9.0 Procent	"	positiv	stark
C ₁₃	braun, feucht	"	reichlich Gas	"	Eindickung der Milch, keine Gerinnung	6.5 "	"	negativ	"
C ₁₄	nicht deutlich, gelb, feucht	Häutchen auf der Oberfläche	"	"	Gerinnung	11.0 "	"	"	"
Kas.	ganz unsichtbar, trocken	ganz klar, leichter Bodensatz	spärlich Gas	"	keine Gerinnung	6.0 "	"	"	sehr stark
Ty.	ganz unsichtbar, feucht	diffuse Trübung, Bodensatz	kein Gas	kein Gas	"	5.0 "	"	positiv	stark
Coli	gelb, feucht	"	sehr reichlich Gas	sehr reichlich Gas	Gerinnung schon nach 16 Stunden	16.0 "	positiv	"	negativ

merkmale bieten aber die Kartoffel- und Bouilloncultur. Er wird jedoch durch das Typhusimmunserum sehr stark agglutiniert.

Die Stämme KB. und WL., die nur wenig von einander abweichen, stehen also jedenfalls einander sehr nahe. Auch C_{12} unterscheidet sich nur wenig von ihnen, während C_{14} und ganz besonders Stamm Kas. wesentliche unterscheidende Merkmale aufweisen.

Versuchen wir nun, die gefundenen Bakterien mit einer der bekannten Arten zu identificiren, so ergeben sich wesentliche Schwierigkeiten. Die Thatsache, dass sie durch Typhusimmunserum in derselben Verdünnung agglutiniert wurden wie der Typhusbacillus selbst, ja bisweilen schneller als dieser, könnte es natürlich zunächst nahe legen, sie gleichfalls für Typhusbacillen zu erklären. Dagegen sprechen aber: die Zuckervergähmung wie das Aussehen der Kartoffelculturen. Bei C_{12} und C_{14} (insbesondere bei letzterem) kommt ausserdem die Veränderung der Milch, bei C_{14} auch die Bouilloncultur in Betracht. Stamm Kas. ist, abgesehen von der Gasbildung, schon durch die Form der Stäbchen selbst hinlänglich von dem Typhusbacillus unterschieden. Es genügt aber bereits die Eigenschaft der Zuckervergähmung, die ja alle untersuchten Bakterien besitzen, um sie vom Typhusbacillus scharf zu trennen, da dieser niemals Gas bildet. So führt Babes in seiner „Tabelle der hervorragendsten Eigenschaften des Typhusbacillus, einiger seiner natürlichen Varietäten und einiger nahestehender Bacillen, welche aus den Organen der Typhusleichen gewonnen wurden“, zwei Stämme an, die in der Tiefe des Agar, bzw. der Gelatine manchmal Gas bildeten. Einen der beiden Stämme (Fall 7; XV), der aus einer Mesenterialdrüse heraus cultiviert wurde, bezeichnet Verf. selbst als entfernt stehenden Bacillus und beantwortet die Frage, ob diese dem Typhusbacillus nahe stehenden Varietäten Typhus erzeugen können, mit Nein. Er mahnt daher bezüglich der Bestimmung von ausserhalb des Körpers, namentlich aber aus dem Wasser gewonnenen Bakterien als Typhusbacillen zu grosser Vorsicht.

In der Abhandlung Kruse's über die Gruppe des Typhusbacillus in Flügge's „Mikroorganismen“ findet sich keine Angabe darüber, dass bei dem echten Typhusbacillus Gasbildung in Zuckeragar auftreten könnte, wiewohl daselbst die Variabilität der Charaktere des Typhusbacillus eingehend erörtert wird. Auch für die Annahme, es lägen hier etwa Typhusbacillen vor, die durch ihren Aufenthalt im Wasser und die Symbiose mit anderen Gas bildenden Bakterien daselbst die Fähigkeit erlangt hätten, Zucker zu vergähren, besteht in keiner Richtung eine Veranlassung und kann dieselbe schon deshalb zurückgewiesen werden, da ja die Stämme C_{12} und C_{14} bereits seit länger als einem Jahre, die übrigen Stämme

mehrere Monate lang auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet wurden, ohne die Eigenschaft, Gas zu bilden, verloren zu haben.

Somit ist es zweifellos, dass die beschriebenen Bacillen von dem Typhusbacillus absolut zu trennen sind, wiewohl sie durch das Typhusimmunserum selbst noch bei starker Verdünnung agglutiniert werden. Auch das Auftreten endständiger, bei Methylenblaufärbung ungefärbt bleibender Stellen auf der Kartoffelcultur („Polkörner“), das bei den Stämmen KB., WL. und Kas. beobachtet wurde, ist gegenüber den vorhandenen unterscheidenden Momenten nur von untergeordneter Bedeutung und vermag nicht die Diagnose Typhusbacillus zu beweisen, wiewohl dasselbe nach Migula bei dem Typhusbacillus „so überaus charakteristisch ist, dass er hierdurch mit absoluter Sicherheit vom *Bact. coli* und von allen anderen typhusähnlichen Bakterienarten unterschieden werden kann.“

Am einfachsten wäre es natürlich, die gefundenen Bakterien in die sogenannte Coligruppe einzureihen. Von dem typischen *B. coli* unterscheiden sich aber unsere Stämme durch den Mangel der Indolreaction, Ausbleiben der Milchgerinnung (die nur bei C_{14} und auch hier erst sehr spät auftritt), durch geringere Vergährungsfähigkeit und schwächere Säurebildung. Wenn es somit nicht angeht, die beschriebenen Bakterien als *Bacterium coli* zu bezeichnen, so ist andererseits nichts damit gewonnen, wenn man sie in die sogenannte „Coligruppe“ einreicht. Der gangbaren Nomenclatur folgend, wären sie als Paracolibacillen zu bezeichnen, die die Eigenthümlichkeit besitzen, durch Typhusimmunserum agglutiniert zu werden. In die Gruppe der Paracolibacillen gehören wohl auch die von Refik bei Wasseruntersuchungen in Konstantinopel gefundenen Bakterien, die er als Varietäten des *Bacterium coli* beschreibt. Refik stellt fünf Typen auf, von denen Typus C durch Zuckervergährung, Mangel der Milchgerinnung und der Indolreaction charakterisirt ist; alle fünf Typen zeigen aber auf der Kartoffel das bekannte, für *B. coli* charakteristische Wachsthum. Hierdurch unterscheidet sich unser Stamm Kas. von dem Typus C, während die übrigen Stämme mit demselben übereinstimmen. Wir würden aber, wie erwähnt, alle diese Bakterien von dem *B. coli* trennen.

In neuerer Zeit macht sich ja bereits mehrfach das Bestreben geltend, das *B. coli* von anderen anscheinend nahestehenden Mikroorganismen abzugrenzen und nur jenen Bacillus als *B. coli* zu bezeichnen, der die bekannten culturellen und morphologischen Merkmale aufweist. Es wäre hier auf die in jüngster Zeit erschienene Arbeit Deeleman's zu verweisen, der nach dem Vorgange Heim's an die Stelle der „Coligruppe“ die Gruppe des *B. dictyodroma* setzt, welcher Gruppe sowohl der Typhusbacillus als das *B. coli* und die diesen nahestehenden Bakterien als Unterarten angehören würden.

Müssen somit die hier beschriebenen Bacillen von dem *B. coli* getrennt werden, so stösst andererseits der Versuch, sie mit einer der zahlreichen bei Wasseruntersuchungen gefundenen Bakterienarten zu identificiren, auf grosse Schwierigkeiten, da die grosse Mehrzahl der Beschreibungen aus einer Zeit stammt, in welcher die chemischen Leistungen der betreffenden Bacillen nicht untersucht wurden. Es ermöglichen daher auch die grösseren Zusammenstellungen von Maschek, Tils, Zimmermann, Lustig u. A. keine genaue Bestimmung der in Rede stehenden Bakterien. Unter den von Kruse in Kapitel XV. Gruppe des *Bacillus coli communis* und *Typhusbacillus* angeführten Bakterien finden sich nur wenige, die mit unseren Bacillen einige Analogien aufweisen. Der *Bacillus icterogenes* unterscheidet sich durch die Indolbildung, der *Bacillus equi intestinalis* und *Bacillus enteritidis* (Gärtner) durch die in 1 bis 2 Tagen eintretende Milchgerinnung, letzterer auch durch seine Pathogenität für Thiere, der *Bacillus paradoxus* durch das Wachsthum auf der Kartoffel, der *Bacillus Friedbergensis* und *Bacillus morbificans bovis* durch ihre Thierpathogenität, der *Bacillus meningitidis* (Neumann und Schaeffer), *Bacillus aquatilis sulcatus* (V) (Weichselbaum), *Bacillus pseudotypus* und *Bacillus faecalis alcaligenes* durch den Mangel der Zuckervergährung, letzterer auch durch die Alkalibildung.

Einige Aehnlichkeiten mit den hier beschriebenen Bakterien weisen die Mikroorganismen in nebenstehender Tabelle II auf.

Es wäre auch das in der schon citirten Arbeit Deeleman's beschriebene *Bact. coloides virescens* hier in Betracht zu ziehen, doch können die hier beschriebenen Bakterien weder mit diesem, noch mit den eben erwähnten Bacillen identificirt werden, da sich einerseits mehrere Unterschiede zwischen ihnen ergeben, andererseits die Beschreibung oft nicht jene Vollständigkeit aufweist, die zu einem genauen Vergleich nöthig wäre.

Welche Stellung immer man aber auch den gemeinten Bacillen anweisen mag, so bleibt in Anbetracht des Umstandes, dass sie, wie ihr culturelles Verhalten mit Sicherheit zeigt, nicht als *Typhusbacillen* angesprochen werden können, die Thatsache bemerkenswerth, dass sie trotzdem durch das *Typhusimmunserum* in ebenso hohem Grade agglutinirt werden, als der *Typhusbacillus* selbst.

In dieser Hinsicht ist auch das Ergebniss der Agglutinationsversuche von Interesse, die mit dem Serum von gegen einzelne dieser Stämme immunisirten Thieren angestellt wurden. Je einem Kaninchen (von 2000 ^{grm}, 1720 ^{grm} und 1660 ^{grm} Gewicht) wurde am 21. II. eine halbe Agarcultur der Stämme KB., WL. und Kas. subcutan eingespritzt; am 22. II. und 23. II. erhielten die Thiere subcutane Injectionen ganzer Agarculturen derselben Stämme. Alle Kaninchen zeigten eine constante Gewichtsabnahme

Tabelle II.

Name	Form	Bewegung	Wachsthum	Indol	Milch
B. monadiformis	sehr kurze Stäbchen	lebhaft beweglich	wächst wie Coli	negativ	keine Gerinnung
B. chologenes	kurze Stäbchen	beweglich	„	negativ oder schwach positiv	nach 1-2 Tag. od. etwas spät. Gerinnung
B. Breslariensis	„	lebhaft beweglich	„	negativ	keine Gerinnung
B. levans	„	mässig beweglich	auf allen Nährböden wie Coli	„	„

Name	Molke	Trauben-zuckeragar	Kartoffel	Bouillon	Provenienz
B. monadiformis	wenig sauer	wenig intensive Gasbildung	—	—	aus Typhusstuhl und peritonitisch. Eiter
B. chologenes	—	reichliche Gasentwicklung	dicker, rein gelber m. Gasblasen häufig untermengter Rand, rasch sich ausdehnend	—	Angiocholitis u. Meningitis
B. Breslariensis	—	„	ziemlich dicker, gelblicher Belag	getrübt, mit zarten Häutchen	Erreger zweier Epidemien von Fleischvergiftung
B. levans	—	Gas	—	auf Gelatine und Bouillon manchmal Gas	Regelmässig im Sauerteig gefunden

(von 2000 grm auf 1900 grm , 1850 grm und 1800 grm , resp. von 1720 grm auf 1640 grm , 1600 grm und 1400 grm , von 1660 grm auf 1540 und 1550 grm), sowie locale Infiltrate an den Injectionsstellen. Das gegen den Stamm WL. immunisirte Kaninchen ging am 25. II. ein; bei der Obduction fanden sich an den Injectionsstellen Abscesse in der Bauchwand und entsprechend einem derselben eine circumscripte, recente eitrige Peritonitis. Aus dem rechten Herzen und der Jugularvene wurde steril Blut aufgefangen. Die beiden anderen Versuchsthiere blieben am Leben und erhielten am 26. II. noch je eine subcutane Injection einer ganzen Agarcultur. Am 28. II. wurde beiden Thieren aus der Vena jugularis Blut entnommen. Die agglutinirende Wirkung der verschiedenen Sera ist in Tab. III. zusammengestellt:

Tabelle III.

Agglutination des Serums des gegen Stamm WL. immunisirten Kaninchens geprüft auf:

Verdünnung	WL.		Kas.		Ty.	
	nach $\frac{3}{4}$ Std.	n. $2\frac{1}{2}$ -3 Std.	nach 15 Std.	n. $\frac{3}{4}$ Std.	n. $2\frac{1}{2}$ -3 Std.	nach 15 Std.
1 : 12	positiv	Fadenbildung	positiv	negativ	positiv	positiv
1 : 20	fraglich	positiv	"	"	"	"
1 : 60	"	"	"	"	"	"
1 : 100	negativ	schwach	Fadenbildung	"	negativ	"
1 : 200	"	negativ	schwach	"	negativ	"

Agglutination des Serums des gegen Stamm Kas. immunisirten Kaninchens geprüft auf:

Verdünnung	Kas.		KB.		Ty.	
	nach $\frac{3}{4}$ Std.	nach 3 Std.	nach 15 Std.	nach $\frac{3}{4}$ Std.	nach 3 Std.	nach 15 Std.
1 : 40	fraglich	schwach	Fadenbildung	sehr schw.	schwach	negativ
1 : 100	"	"	positiv	schwach	positiv	positiv
1 : 200	negativ	positiv	(Fadenbildung)	negativ	schwach	"

Agglutination des Serums des gegen Stamm KB. immunisirten Kaninchens geprüft auf:

Verdünnung	KB.		Kas.		Ty.	
	nach $\frac{3}{4}$ Std.	nach 3 Std.	nach 15 Std.	nach $\frac{3}{4}$ Std.	nach 3 Std.	nach 15 Std.
1 : 40	schwach	positiv	positiv	negativ	positiv	positiv
1 : 100	"	"	"	"	negativ	"
1 : 200	"	(Fadenbildung)	(Fadenbildung)	"	schwach	"

Aus diesen Tabellen ergibt sich somit, dass es durch Immunisirung mit den betreffenden Stämmen (schon bei relativ kurzer Behandlung der Versuchsthiere) gelingt, ein Serum zu gewinnen, das nicht nur den homologen Stamm, sondern auch eine echte Typhuscultur in ziemlich beträchtlicher Verdünnung zu agglutiniren im Stande ist; dieses Phänomen ist sowohl im hohlen Objectträger als auch makroskopisch in Eprovetten sehr gut zu beobachten. Während bei dem homologen Stamm oft Fadenbildung eintritt, ist dieselbe bei dem Typhusstamm nicht nachweisbar; hingegen tritt die Agglutination bei dem Typhusstamm früher auf und ist hier auch stärker als bei dem homologen Stamm. Die Agglutination des WL.- und KB.-Serums auf Stamm Kas. ist nur sehr schwach, ebenso die des Kas.-Serums auf KB.

Das Ergebniss dieser Versuche ist ebenso bemerkenswerth wie die früher erwähnte Thatsache, dass die beschriebenen Stämme durch das Typhusimmunserum ebenso stark agglutiniert werden als der Typhusstamm selbst, so dass sich hier naturgemäss die Veranlassung zu einigen Betrachtungen über die Specificität der Agglutination ergibt.

Dass das Serum Typhuskranker nicht nur den Typhusbacillus, sondern bisweilen auch das Bacterium coli — selbst noch in ziemlich beträchtlicher Verdünnung — agglutiniert, ja unter Umständen das Bacterium coli sogar noch in höherer Verdünnung agglutiniert als den Typhusbacillus (namentlich wenn das Bacterium coli aus den Fäces desselben Kranken herauscultiviert wurde, von dem das Serum stammt), ist bekannt und sei hier nur auf die einschlägige Mittheilung von Stern verwiesen. Stern selbst führt bereits die Angaben anderer Autoren an, denen zufolge das Serum mancher Typhuskranker dem Bacterium coli nahestehende Bacillen in noch stärkerer Verdünnung agglutiniert als den Typhusbacillus. Es sei hier noch einmal die Mittheilung von Widal und Nobécourt erwähnt, aus der sich ergibt, dass das Serum einer Typhusreconvalescentin den Typhusbacillus nur in 20facher Verdünnung, hingegen einen von ihnen aus einem Eiter gezüchteten Paracolibacillus noch in 12000facher Verdünnung agglutinierte; 8 Tage später agglutinierte dieses Serum den Typhusbacillus überhaupt nicht mehr, während es den Paracolibacillus noch im Verhältniss von 1:12000 agglutiniert.

Gruber und Durham haben bereits beobachtet, dass der Bacillus enteritidis Gärtner gleichfalls durch Typhusserum agglutiniert wird, wenngleich schwächer als letzterer, weshalb die Reaction von Durham als eine specielle und nicht eigentlich spezifische bezeichnet wird.

Nach den Beobachtungen von Gilbert und Fournier, Achard und Bensaude, Widal und Sicard wird der Nocard'sche Bacillus der Psittakose gleichfalls durch Typhusserum agglutiniert, doch in viel ge-

ringerem Grade als dieser, so dass die genannten Autoren zu dem Schlusse kommen: „Même cette différence de degré est telle qu'elle peut servir à différencier les deux microbes.“

Stern betont aber auf Grund seiner Erfahrungen, dass ein typhusverdächtiger Bacillus auch dann nicht mit Sicherheit als Typhusbacillus angesehen werden kann, wenn er durch das Blutserum eines Typhuskranken in starker Verdünnung oder selbst in noch stärkerer Verdünnung als eine zweifellose Typhuscultur agglutiniert wird. Er fügt aber ausdrücklich hinzu, dass sich seine Einwände nur auf die differentialdiagnostische Verwendung des Serums Typhuskranker, nicht aber auf die Verwendung eines spezifischen Immunserums beziehen.

Es finden sich in der Litteratur aber auch bereits Angaben, dass das Typhusimmunserum das *B. coli commune* in gleicher Weise agglutinire wie den Typhusbacillus. Ich verweise nur auf die erste einschlägige Mittheilung Beco's, in welcher dieser Autor zeigt, dass die Agglutination mittels Typhusimmunserums eine sichere Differentialdiagnose zwischen dem Typhusbacillus und dem *Bacterium coli* nicht ermögliche. Allerdings hat Beco später seine Ansicht modificirt, nachdem er dieselben Versuche mit einem stärkeren Immunserum angestellt hatte. Bei diesen Versuchen ergab sich, dass ein Typhusimmunserum, welches Typhusbacillen im Verhältniss von 1:100 000 agglutinierte, Colibacillen höchstens im Verhältniss von 1:10 000 agglutinierte; die untersuchten Colistämme stammten theils aus Typhusstühlen, theils aus normalen Stühlen. In demselben Verhältniss (1:10 000) wurde auch ein aus einem Typhusstuhl stammender *Bac. fluorescens liquefaciens* agglutiniert, während ein aus einem normalen Stuhl stammender *Proteus* noch im Verhältniss von 1:1000 agglutiniert wurde. Beco hält demnach die Agglutination durch das Typhusimmunserum für ein praktisch verwerthbares differentialdiagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung des Typhusbacillus, falls man sich eines sehr activen Serums bedient und die Agglutination des Typhusbacillus in einem beträchtlich höheren Grade erfolgt, als die des *Bacterium coli*. Hierzu wäre allerdings zu bemerken, dass nach der Tabelle Beco's sechs seiner Typhusstämmen (unter 18) nur im Verhältniss von 1:10 000 durch das Immunserum agglutiniert wurden, also genau in dem gleichen Verhältniss wie drei Colistämme und der *Bac. fluorescens liquefaciens*. Es wäre aber möglich, dass hier ein Druckfehler vorliegt, da Beco weiter unten im Text angiebt, dass sämtliche untersuchten Typhusstämmen mindestens im Verhältniss von 1:100 000 agglutiniert wurden.

Zu unseren Bakterien zurückkehrend, müssen wir demnach die Möglichkeit zugeben, dass bei Verwendung eines activeren Serums, als es uns

zur Verfügung stand, sich vielleicht wesentliche Differenzen in den Agglutinationswerthen zwischen dem Typhusbacillus und den aus den Wasserproben herausgezüchteten Bakterien zu Gunsten ersterer ergeben hätten.

Die Thatsache, dass die hier beschriebenen, dem Typhusbacillus ähnlichen Paracolibacillen, welche sich durch Mangel der Indolreaction und Milchgerinnung von dem Bacterium coli unterscheiden, durch das Typhusimmunserum in ebenso hohem Grade agglutiniert werden als der Typhusbacillus selbst, zeigt, wie sehr demnach die neuerlich so oft betonte Bedeutung der Agglutination durch das Typhusimmunserum als ausschliessliches differentialdiagnostisches Hilfsmittel eingeschränkt wird; ganz besonders muss betont werden, dass dieselbe bei Wasseruntersuchungen in diesem Sinne nicht zur Anwendung kommen kann. Allerdings müssen wir die Möglichkeit offen lassen, dass dies nur für ein minder actives Serum gilt, während ein sehr actives Serum nach Beco auch eine Differentialdiagnose des Typhusbacillus von den im Wasser gefundenen Bakterien gestatten mag.

Jedenfalls aber sind solche Beobachtungen geeignet, der Specificität der Agglutination einigermassen Eintrag zu thun.

Es sei daher noch besonders hervorgehoben, dass die Identificirung der Typhusbacillen niemals auf Grund eines, wenn auch sehr wesentlichen Merkmales vorgenommen werden kann, sondern dass es stets geboten ist, aus sämtlichen biologischen Eigenschaften des fraglichen Bacillus die Diagnose zu stellen.

Wenn einerseits gegen manche Befunde von Typhusbacillen im Wasser, die aus der Zeit vor Entdeckung der Serodiagnostik stammen, Zweifel erhoben wurden, so zeigen andererseits diese Untersuchungen, dass auch auf Grund des Agglutinationsphänomens allein die Diagnose Typhusbacillus nicht gestellt werden kann und dass zum Nachweis desselben im Wasser stets eine vollständige bakteriologische Untersuchung unumgänglich nothwendig ist.

Nachtrag.

Während der Drucklegung vorstehender Untersuchungen wurde die Immunisirungsmethode bei dem Pferde, welches das bei denselben verwendete Typhusimmunserum geliefert hatte, geändert und ein stärker agglutinirendes Serum erhalten; dasselbe agglutinierte den bei den obigen

Untersuchungen verwendeten Typhusstamm bei einer Verdünnung von 1:1000 und 1:5000 in kurzer Zeit, bei einer Verdünnung von 1:8000 und 1:10000 nach mehreren Stunden und auch dann nicht complet. Mit Rücksicht auf die oben ausgesprochene Möglichkeit, dass ein wirksameres Serum auch bei den in der Untersuchung gestandenen Paracolibacillen ein entscheidendes Resultat ergeben würde, wurden die Untersuchungen mit dem neuen, um das Zehnfache wirksameren Serum wiederholt. Hierbei wurden Stamm KB. und Stamm Kas. bei einer Verdünnung von 1:1000 complet, Stamm KB. im Verhältniss von 1:5000 noch schwach agglutinirt, während die Reaction bei den Verdünnungen von 1:8000 und 1:10000 bei beiden Stämmen, bei Stamm Kas. auch schon im Verhältniss von 1:5000 vollkommen negativ ausfiel.

Diese Untersuchungen ergaben somit eine Bestätigung der oben angedeuteten Möglichkeit, dass diese Paracolistämme durch ein stärker wirksames Serum nicht mehr in demselben Verhältnisse agglutinirt werden könnten, als der Typhusbacillus selbst. Bei einem sehr activen Serum ergeben sich somit in entsprechend hohen Verdünnungen Differenzen in der Agglutinationsfähigkeit des Typhusbacillus einerseits und der untersuchten Paracolibacillen andererseits; in unserem Falle trat dieser Unterschied bei einem Serum von der Stärke von etwa 1:10000 auf.

Berücksichtigt man aber die citirte Arbeit Beco's, in der er mittheilt, dass drei seiner Colistämme und ein Bacillus fluorescens liquefaciens durch sein Typhusimmunserum noch in dem Verhältniss von 1:10000 agglutinirt wurden, so ergibt sich, dass eine bestimmte Höhe der Agglutinationskraft eines Serums noch nicht angegeben werden kann, bei der ausschliesslich das Agglutinationsphänomen für die Diagnose des Typhusbacillus ausreichen könnte. Aller Wahrscheinlichkeit nach wird dem relativen Verhalten der Agglutinationsfähigkeit der betreffenden Typhusbacillen zu Typhus ähnlichen Bacillen die grössere Bedeutung zukommen; es ist hierbei auch zu berücksichtigen, dass, wenn auch Jatta, in seiner während Drucklegung dieser Mittheilung erschienenen Arbeit¹ keinen wesentlichen Unterschied in der Agglutinationsfähigkeit verschiedener Typhusbacillen gegen dasselbe Serum gefunden hat, andere Untersucher sicher solche Unterschiede constatirt haben. Jatta setzt die Höhe eines für die Sero-diagnostik des Typhusbacillus ausreichenden Serums nach seinen Untersuchungen an 28 Colistämmen mit grösster Wahrscheinlichkeit bereits bei 1:1000 an; allerdings findet sich unter diesen 28 Stämmen keiner, der den von uns untersuchten Stämmen völlig entsprechen würde.

¹ Jatta, Experimentelle Untersuchungen über die Agglutination des Typhusbacillus und der Mikroorganismen der Coligruppe. *Diese Zeitschrift*. Bd. XXXIII. S. 185.

Wenn es demnach sowohl bei unseren Untersuchungen als auch bei denen Beco's und Jatta's möglich war, bei Verwendung starker, obgleich in den grössten Breiten schwankender Typhusimmunsera (von 1:1000 bis 1:10000) die serodiagnostische Beurtheilung der Typhusbacillen und Typhus ähnlichen Bacillen durchzuführen, so ergibt sich dennoch aus diesen Beobachtungen, dass immer auch das gesammte biologische und culturelle Verhalten der betreffenden im Wasser gefundenen Bacillen behufs ihrer Identificirung mit dem Typhusbacillus festzustellen ist.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Babes, Ueber Variabilität und Varietäten des Typhusbacillus. *Diese Zeitschrift*. 1890. Bd. IX. S. 323.
2. Bartoschewitsch, Die Anwendung der Widal'schen Reaction zum Nachweis von Typhusbacillen im Wasser. *Wratsch*. 1897. 15. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXII. S. 20.
3. Beco, *Bulletin de l'Académie de Médecine de Belgique*. 1898.
4. Derselbe, Note sur la valeur de l'agglutination par le sérum antityphique etc. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1899. Bd. XXVI. S. 136.
5. Bensaude, *Le phénomène de l'agglutination des microbes etc.* Paris 1897.
6. Deeleman, Vergleichende Untersuchungen über colihähnliche Bakterienarten. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1899. Bd. XXVI. S. 501.
7. Flügge, *Die Mikroorganismen*. Leipzig 1896. 3. Aufl. Bd. II.
8. Lustig, *Diagnostik der Bakterien des Wassers*. Deutsch von R. Teuscher. Jena und Turin 1893. 2. Aufl.
9. Maschek, *Jahresbericht der Oberrealschule zu Leitmeritz*. 1887.
10. Migula, *System der Bakterien*. Jena 1900. Bd. II.
11. Refik, Sur les divers types de Coli-Bacille des eaux. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1896. p. 242.
12. Stern, Typhusserum und Colibacillen. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXIII. S. 673.
13. Tils, Bakteriologische Untersuchung der Freiburger Leitungswässer. *Diese Zeitschrift*. 1890. Bd. IX. S. 282.
14. Weichselbaum, Bakteriologische Untersuchungen des Wassers der Wiener Hochquellenleitung. *Das österreichische Sanitätswesen*. 1889. Nr. 14—23.
15. Widal et Nobécourt, Séro-réaction dans une infection à paracolibacille. *Semaine médicale*. 1897. p. 285.
16. Zimmermann, *Ueber die Bakterien unserer Trink- und Nutzwässer, insbesondere der Chemnitzer Wasserleitung*. Chemnitz 1890.