

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Giessen.]

Die Vibrionen- und Spirillenflora der Düngerjauche.¹

Von

Dr. Kutscher,
Assistenten am Institut.

Bei meinen im Herbste vergangenen Jahres vorgenommenen Untersuchungen der Giessener Gewässer, deren Resultate ich in dieser Zeitschrift veröffentlicht² habe, war mir aufgefallen, dass es mit Hülfe der Peptonvorcultur gelang, in den Wasserproben auch eine morphologisch dem *Vibrio serpens* gleiche Vibrionenart anzureichern. Da mich das häufige Erscheinen dieser grossen Vibrionenart in den Peptonvorculturen interessirte, achtete ich darauf, ob sie auch in den von den Peptonvorculturen angesetzten Gelatine-, bezw. Agarplatten auftreten würde. Control-Klatschpräparate zeigten nun, dass in der That in den bei 37.0° C. gehaltenen Agarplatten vereinzelt Colonieen des fraglichen *Vibrio* zu wiederholten Malen zur Entwicklung kamen, die es abzustechen und weiter zu züchten gelang. Der weitere Gang meiner Arbeit veranlasste mich dann eingehende bakteriologische Untersuchungen der Düngerjauche vorzunehmen. Dabei sah ich gleichfalls, wenn ich die Jauche wie eine choleraverdächtige Wasserprobe behandelte, d. h. ihr soviel von einer 10 procentigen Pepton-Kochsalzlösung zusetzte, bis sie einen Gehalt von 1 Procent Pepton und 1 Procent Kochsalz hatte, und sie bei Brüttemperatur hielt, nicht bloss eine starke Vermehrung von Vibrionenarten, welche sich in ihrer Form dem *Cholera-vibrio* näherten, sondern auch eine Anreicherung von morphologisch höchst

¹ Eingegangen am 3. April 1895.

² *Diese Zeitschrift.* 1895. Bd. XIX. S. 461.

interessanten gekrümmten Bakterien. Nach den bei den Wasseruntersuchungen erzielten Erfolgen lag es nahe, die Züchtung derselben auf festen Nährböden gleichfalls zu versuchen.

Die zum Ziele führende Methode gestaltete sich schliesslich folgendermassen: Es wurden 80^{cem} der in sterilen Erlenmeyer'schen Kölbchen entnommenen Jaucheproben mit 8^{cem} einer 10 procentigen Pepton-Kochsalzlösung versetzt. Nach Zusatz dieser Nährlösung kam die Jauche für 24 Stunden in einen auf 28° C. eingestellten Brutschrank. Darnach wurde ein Tröpfchen im hohlgeschliffenen Objectträger daraufhin untersucht, ob eine Anreicherung von Vibrionen stattgefunden hätte, und ob eine Art besonders prävalirte. War dies der Fall, so wurden Agarplatten angesetzt. Anderenfalls kamen die Kölbchen wieder zurück in den Brutschrank, bis sich ein starkes Ueberwiegen der einen oder anderen Vibrionenart merkbar machte. Doch auch die Jauchekölbchen, von denen bereits Platten angesetzt waren, that ich meist wieder in den Brutschrank, denn häufig wurde die zunächst vorherrschende Vibrionenart durch eine zweite und die wieder durch eine dritte verdrängt, zu deren Züchtung ich gleichfalls Agarplatten ansetzte. War die Jauche ca. 8 Tage im Brutschrank gewesen, so begann sie auszufaulen, d. h. das Bakterienleben fing an allmählich in ihr zu erlöschen. Zu dieser Zeit gelang es mir bisweilen, durch erneuten Zusatz einiger Cubikcentimeter 10 proc. Pepton-Kochsalzlösung eine mächtige Anreicherung einer oder der anderen Vibrionenart zu erzielen, noch bevor es zu einer merklichen Vermehrung der übrigen ebenfalls noch erhaltenen Organismen kam, und die Vibrionen dann durch die Agarplattencultur zu isoliren. Bei der Agarplattencultur verfuhr ich in der Weise, dass ich mindestens 6 bis 10 Oesen der bebrüteten Jauche in ein Gläschen verflüssigten Agars brachte, von diesem 6 bis 10 Oesen auf ein zweites und von dem zweiten die gleiche Oesenzahl in ein drittes Agargläschen übertrug. Das Agar wurde darauf in Petri'sche Schälchen ausgegossen, die in den auf 28° C. eingestellten Brutschrank kamen. Nach 24 Stunden wurden von den Originalplatten Klatschpräparate angefertigt. Fanden sich in denselben keine Vibrionen, so wurden sie wieder in den Brutschrank zurückgebracht, und nach 2, 3 und 4 Tagen durch Klatschpräparate controlirt, ob die eingesäten Vibrionenformen sich in ihnen entwickelt hätten. Nach dem vierten Tage ist gemäss meinen Erfahrungen ein Wachsthum von Vibrionen in den Platten nicht mehr zu erwarten. Sobald sich in den Klatschpräparaten gekrümmte Formen, welche morphologisch den in den Jaucheproben gesehenen glichen, zeigten, wurde versucht, dieselben aus den Verdünnungsplatten zu isoliren. Die von den Originalplatten angelegten Klatschpräparate lehren nun, dass die Vibrionen durchaus nicht proportional der wirklich eingesäten Zahl, sondern

in wesentlich geringerer Menge angehen. Man findet daher in der ersten Verdünnung meist nur wenige Colonieen der gesuchten Vibrionenart, in der zweiten Verdünnung in der Regel keine mehr. Das Auffinden dieser wenigen, gewöhnlich nicht sehr charakteristisch wachsenden Colonieen ist nicht ganz leicht. Am schnellsten gelingt es noch, wenn man alle verdächtigen Colonieen mittels einer sehr dünnen Platinnadel einreißt.¹ Es sammelt sich dann in dem feinen Riss etwas Flüssigkeit, in welcher man, sobald es sich um grosse Spirillen handelt, diese schon mit schwacher Vergrößerung (— ich benutzte bei meiner Arbeit Seitz Ocular 3, Obj. 3 —) in ihrer Form deutlich erkennbar umherschwimmen sieht. Handelt es sich um kleine Spirillen, dann bemerkt man gleichfalls schon mit schwacher Vergrößerung die in dem Riss angesammelten Bakterienmassen lebhaft hin- und herwogen, allerdings ohne die Einzelindividuen zu erkennen. Da jedoch die Bakterienflora, welche sonst noch auf den Platten gedeiht, fast ausschliesslich durch unbewegliche Bakterien gebildet wird — es fanden sich nämlich meist nur noch 2 Kokken-, 1 Sarcine-, 2 unbewegliche und 1 bewegliche Bacillenart — so lässt Bewegung innerhalb des Risses gewöhnlich mit Recht eine von Vibrionen gebildete Colonie vermuthen. Die letzte Schwierigkeit besteht in der ersten Weiterzüchtung der abgestochenen Colonieen. Durch Benutzung schräg erstarrter Agarröhrchen, die an ihrem Grunde einige Tropfen Condenswasser enthalten, gelingt es, diese zu überwinden. Denn in dem Condenswasser tritt immer eine reichliche Vermehrung der eingebrachten Bakterienmassen ein, und durch Uebertragung eines Tröpfchen solchen Condenswassers ist es weiterhin leicht, auf schrägem Agar gut entwickelte Colonieen zu erhalten.

Mit Hülfe der eben geschilderten Methode gelang es mir, aus verschiedenen Jaucheproben derselben Düngergrube die in der nachstehenden Tabelle aufgeführten acht gekrümmten Bakterien zu isoliren. Eingetheilt habe ich dieselben in zwei Gruppen, und zwar umfasst die erste mit „Vibrionen“ bezeichnete Gruppe vier flacher gekrümmte Arten. Eine derselben, die als Nr. 4 aufgeführte, hat morphologisch alle Eigenschaften des *Spirillum serpens*, und war identisch mit dem von mir aus verschiedenen Wässern gezüchteten grossen *Vibrio* (s. Einleitung). Die übrigen Glieder dieser Gruppe sind meines Wissens bisher nicht beschrieben worden. Die zweite „Spirillen“ bezeichnete Gruppe enthält vier stark gekrümmte Bakterien. Nr. 1 dieser Gruppe ist ein feines *Spirillum*, das von mir auch aus Schweinekoth isolirt wurde, und wahrscheinlich identisch ist mit einem zuerst von Smith² im Schweinekoth gesehenen sehr

¹ Vgl. Schiller. *Deutsche medicin. Wochenschrift*. 1893. Nr. 27.

² Smith, Washington. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*. Bd. XVI. S. 324.

zierlichen Spirillum. Smith nimmt an, dass das von ihm beobachtete Spirillum das gleiche sei, wie das von mehreren Forschern in den Choleradejectionen neben dem Choleravibrio gefundene Spirillum. Zu bestätigen, ob diese Annahme richtig sei, hat mir bisher die Gelegenheit gefehlt. Nr. 2 entspricht morphologisch dem Spirillum tenue, Nr. 3 dem Spirillum Undula, Nr. 4 dem Spirillum volutans. Ich kann daher bezüglich dieser drei letzten Spirillen, sowie des Vibrio serpens auf die von Cohn¹ gegebene Beschreibung verweisen. Betreffs mehrerer morphologischer Eigenthümlichkeiten, welche weder von Cohn noch von anderen Forschern erwähnt worden sind, will ich einige ergänzende Mittheilungen machen. So fällt bei Sp. Undula und Sp. volutans eine grosse Mannigfaltigkeit in der Form der einzelnen Individuen auf. Vorherrschend ist allerdings die typische von Cohn durch Abbildungen fixirte Form, daneben findet man aber alle Uebergänge bis zum geraden Stäbchen, so dass man an Mischculturen glauben möchte, wenn nicht einzelne Exemplare, an denen das eine Ende stark gekrümmt, das andere Ende vollkommen gerade ist, das Entstehen so verschiedener Formen aus einem Keime erklären. Weiter fallen bei Sp. Undula, namentlich bei Benutzung von Agar-Nährböden, ganz eigenartige Gebilde auf. Man kann nämlich nicht allzu selten sowohl von den geraden wie von den gekrümmten Formen bald gerade, bald hornartig gekrümmte Ausläufer abgehen sehen, Bilder, welche am deutlichsten in die Augen fallen, wenn von dem verbreiterten Ende eines geraden Stäbchens sich zwei hornartige Fortsätze abzweigen. Aehnliche Bildungen wie die oben geschilderten habe ich auch, allerdings nicht so häufig wie bei Sp. Undula, am Vibrio serpens beobachten können. Die Frage, ob es sich hier um eine echte Verzweigung handelt, möchte ich vor der Hand noch unentschieden lassen. Wenn Sp. Undula und V. serpens auf der einen Grenze des Bakterienreiches zu stehen scheinen, scheint Sp. volutans sich der anderen Grenze, welche die Bakterien von den Protozoën trennt, zu nähern. Namentlich ist es die an einzelnen Individuen älterer Flüssigkeitsculturen bemerkbare Art der Bewegung, ihre Form und die Vertheilung des Protoplasmas in ihnen, welche die Vermuthung der Contractilität des Protoplasmas von Spirillum volutans nahe legt und dasselbe den Monaden zuzugesellen scheint.

Weiter möchte ich gleich hier die Frage erörtern, ob V. serpens, Sp. tenue, Sp. Undula und Sp. volutans Sporen bilden. Dieselbe scheint nach den Bildern, die man zuweilen im hängenden Tropfen erhält, wo einzelne der genannten Bakterien von regelmässig geformten, runden oder ovalen, stark glänzenden Körnern durchsetzt sind, berechtigt. Auf Grund

¹ Cohn. Cohn's *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*. Bd. I

Zeitschr. f. Hygiene. XX.

meiner Versuche muss ich dieselbe jedoch verneinen. Denn es ergab sich dass, wenn man Culturmassen genannter Bakterien an Deckgläschen antrocknete, sich die mit *V. serpens*, *Sp. tenue* und *Sp. Undula* bestrichenen Deckgläschen bereits nach 24 Stunden steril erwiesen. Länger blieben die am Deckgläschen haftenden Bakterienmassen von *Sp. volutans* entwicklungsfähig, denn an diesen waren erst am fünften Tage alle Keime abgestorben. Die an Seidenfäden angetrockneten Bakterienmassen von *V. serpens*, *Sp. tenue*, *Sp. Undula* gingen nicht so schnell wie die am Deckgläschen zu Grunde, da erst vom neunten Tage jede Entwicklung ausblieb, wenn die Fäden auf Nährböden gebracht wurden. Seidenfäden mit *Sp. volutans* inficirt blieben vom 20. Tage ab steril. Das Resultat dieser Versuche spricht nicht für die Sporennatur der oben erwähnten Körner.

Auch die Einwirkung höherer Wärmegrade überstanden *V. serpens*, *Sp. tenue*, *Sp. Undula* und *Sp. volutans* schlecht, denn eine Temperatur von 65° C. genügte, um alle, sowohl am Deckgläschen wie an Seidenfäden angetrockneten Bakterien binnen 5 Minuten zu tödten.

Aehnliche Ergebnisse lieferten den eben beschriebenen analoge Versuche, welche mit den übrigen in der Tabelle aufgeführten Bakterien angestellt wurden.

(Vgl. nachstehende Tabellen.)

In den Tabellen findet sich als flüssiges Nährsubstrat „Agarfleischwasser“ aufgeführt. Ich habe damit einen Nährboden bezeichnet, den ich folgendermassen erhielt: Einem Kolben mit Wasser setzte ich 2 Proc. Agar zu, brachte den Kolben für 48 Stunden in einen auf 37° C. eingestellten Brutschrank, und presste nach dieser Zeit das Wasser vom Agar ab. Der so erhaltenen farblosen, etwas opalescirenden Flüssigkeit setzte ich die gleiche Menge sterilen Fleischwassers zu, fügte $\frac{1}{2}$ Procent Kochsalz bei, neutralisirte mit Ammoniumpentasulfid, sterilisirte das Gemisch und filtrirte es nach der Sterilisation. Das wasserklare Filtrat wurde dann in Reagensgläser abgefüllt und nochmals sterilisirt. Ich habe zu diesem flüssigen Nährmittel greifen müssen, da sich zu meiner Verwunderung herausstellte, dass sich die 1 procentige Pepton-Kochsalzlösung für die Reinculturen der von mir gezüchteten Vibrionen und Spirillen als schlechter Nährboden erwies. Ebenso zeigte sich sterilisirte Jauche, ferner ein Gemisch von Jauche und Peptonlösung, sowie die übliche Fleischpeptonbouillon nicht recht brauchbar. Dagegen gingen alle Vibrionen und Spirillen bis auf *Sp. Undula*, für das sich bisher das Agar-Condenswasser als bester flüssiger Nährboden erwiesen hat, in der eben beschriebenen Nährlösung gut fort.

Von flüssigen Nährböden kam endlich noch sterile Milch zur Verwendung. In derselben wuchsen, ohne sie makroskopisch zu verändern,

Tabelle.
Gruppe I. „Vibrionen“.

Nr. und Fundort	Wachstum in der Gelatineplatte.	Wachstum in der Agarplatte	Wachstum im Gelatinestich	Wachsth. auf Kartoffeln	Wachstum in Agar- Fleischwasser	Zahl und Anordnung der Geisseln	Bemerkungen
Nr. 1. Fundort: Jauche.	In den Gelatineplatten wachsen grob gekörnte, grüne Colonien mit unebenem Rande, welche in ihrer Configuration lebhaft an junge Choleracolonien erinnern. An der Oberfläche bildet sich zuweilen ein zarter am Rande ausgefranster Rasen, dessen äussere Zone von einer homogenen farblosen Masse zusammengesetzt ist, während er im Innern einen grünen Parbenton besitzt und von zahlreichen untereinander anastomosirenden Rissen durchsetzt scheint. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.	Die tiefegelegenen gelben Colonien haben meist Wetzsteinform und sind häufig an den Seiten mit Protuberanzen besetzt. Die oberflächlichen Colonien entwickeln einen zarten, farblosen, nicht gezeichneten Rasen von unregelmässiger Begrenzung.	Innerhalb des ganzen Stichcanales findet ein zartes, schleierartiges Wachstum statt. Von der Einstichöffnung schiebt sich über die Oberfläche der Gelatine ein dicker, mattirter Glase sehr ähnlicher Rasen, der Wandung des Gläschens zu. Die Gelatine wird nie verflüssigt.	Auf Kartoffeln gedeiht Vibrio 1 nicht.	Die Nährflüssigkeit wird stark und gleichmässig getrübt. An ihrer Oberfläche bildet sich ein Häutchen.	Vibrio 1 besitzt eine endständige, mehrfach gewundene Geissel.	Morphologisch und in der Art seiner Bewegung kommt Vibrio 1 dem Cholera-vibrio sehr nahe.

Gruppe I. „Vibrionen“.

Nr. und Fundort	Wachsthum in der Gelatineplatte	Wachsthum in der Agarplatte	Wachsthum im Gelatinestich	Wachsth. auf Kartoffeln	Wachsthum in Agar-Fleischwasser	Zahl und Anordnung der Geisseln	Bemerkungen
Nr. 2. Fundort: Jauche.	Nr. 2 bildet in der Gelatineplatte zunächst hellschimmernde, fein gekörnte, grünlich bis grün-gelblich gefärbte Colonien, mit leicht gewelltem oder scharfem Rande. Beim weiteren Wachsthum wird der Farbenton der Colonien ein tief gelber, sie verlieren die Randzeichnung und werden auch im Innern völlig homogen. Oberflächlich gelegten bilden sie einen zarten, transparenten, fein chagrinirten Rasen mit gelappten Rändern. Der Rasen verdickt sich weiterhin und kann makroskopisch an den Rasen des Bacillus coli communis erinnern, mikroskopisch unterscheidet er sich jedoch durch den dunkleren Farbenton und das Fehlen der dem Rasen des Bacillus coli eigenthümlichen Zeichnung. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.	In Agar besitzen die tiefgelegenen, grünlichen, feingekörnten Colonien entweder wetzsteinförmige oder mehr rundliche Formen. Die oberflächlich gelegenen bilden einen zarten, in der Mitte gelblichen, aussen farblosen Rasen mit fein gezahntem Rande.	Längs des Stichcanales entwickelt sich ein kräftiger weisslicher Bakterienfaden, der sich nach seinem unteren Ende zu in vereinzelte Colonien auflöst. Von der Einstichöffnung schiebt sich ein weisslicher, lackartig glänzender Rasen mit tief gelappten Rändern der Wandung des Gläschens zu.	Beimpfte Kartoffeln überziehen sich mit einem dünnen, grauweissen, trockenen Belag.	Wachsthum wie das von Nr. 1.	Die sechs feinen, leicht gekrümmten Geisseln des Vibrio 2 sitzen an einem Ende des Bakterienkörpers und sind häufig zu 1 oder 2 Geisselzöpfen verflochten.	Vibrio 2 ist am Ende abgerundet und hat die doppelte Grösse und Dicke des Choleravibrio. Er besitzt die Neigung, namentlich in Flüssigkeiten culturen längere lebhaft bewegliche Verbände zu bilden, so dass hängende Tropfen solcher Culturen ein sehr zierliches Bild geben.

Gruppe I. „Vibrionen“.

Nr. und Fundort	Wachsthum in der Gelatineplatte	Wachsthum in der Agarplatte	Wachsthum im Gelatinestich	Wachsth. auf Agar-Kartoffeln	Wachsthum in Agar-Fleischwasser	Zahl und Anordnung der Geisseln	Bemerkungen
Nr. 3. Fundort: Jauche.	<p>Die kleinen Gelatine-colonien erinnern lebhaft an die knochen-körperchenartigen Colonien des Mausepticämiebacillus. Beim weiteren Wachsthum vergrössert sich namentlich der compacte Kern der Colonie, färbt sich gelblich und nimmt ein kleinkörniges Gefüge an. Die Gelatine wird langsam verflüssigt.</p>	<p>Im Agar bilden sich wetzsteinförmige, grüngelb bis braun gefärbte Colonieen, deren Rand häufig mit Protuberanzen versehen ist. Die oberflächlich gelegenen entwickeln einen zunächst zarten, ungleichmässig begrenzten, fein chagrinierten Rasen. Derselbe kann weiterhin eine beträchtliche Dicke erreichen, nimmt im Innern einen braunen Farbenton an, und wird von zahlreichen unter einander anastomosirenden Furchen durchzogen, der Rand wird durch vor-dringende zungenförmige Ausläufer stark gelappt.</p>	<p>Das Wachsthum findet längs des ganzen Stichecanals statt, ist jedoch im oberen Theile weit kräftiger wie im unteren und vollzieht sich in der Weise, dass zunächst im Stich eine schleierartige Trübung eintritt, von der aus nach allen Seiten zarte, fiederartige Ausläufer in die klare Gelatine eindringen. Allmählich tritt von oben her eine langsame Peptonisirung und Verdunstung der Gelatine ein, so dass es langsam zur Ausbildung einer trichterförmigen Luftblase kommt.</p>	<p>Werden Kartoffeln besät, so entwickelt sich ein weisslicher, trockener, von der Kartoffelfläche sich wenig abhebender Belag.</p>	<p>Wächst wie Nr. 1.</p>	<p>Es liessen sich an Vibrio 3 bis zu 8 einem endständigen Büschel vereinigte, zarte, leicht gekrümmte Geisseln zählen.</p>	<p>Vibrio 3 ist lebhaft beweglich, an den Enden abgerundet und nur wenig kleiner als V. serpens. Längere Verbände bildet er selten, dagegen sind S-Formen häufig. Auffallend an ihm ist die ausserordentlich starke Körnung seines Protoplasmas und die Neigung Vacuolen zu bilden.</p>

Gruppe I. „Vibrionen“.

Nr. und Fundort	Wachstum in der Gelatineplatte	Wachstum in der Agarplatte	Wachstum im Gelatinestich	Wachsth. auf Kartoffeln	Wachsthum in Agar-Fleischwasser	Zahl und Anordnung der Geisseln	Bemerkungen
Nr. 4. <i>Vibrio serpens</i> . Fundort: Jauche und Wasser.	<i>Vibrio serpens</i> bildet in der Gelatine grünlich gelbe bis braune, ziemlich grob gekörnte, scharfrandige, runde Colonieen. An den oberflächlich gelegenen entwickelt sich ein zarter, im Centrum farbloser Rasen, dessen Ränder stark gelappt sind. Zusammengesetzt ist dieser Rasen aus zahlreichen lockenartig angeordnet. Bakterienbündeln. Die Gelatine wird langsam verflüssigt.	Im Agar haben die tief gelegenen, gelb bis braun gefärbten Colonieen meist Wetzsteinform und sind häufig mit seitlichen Protuberanzen besetzt. Der Rasen, welcher sich von den oberflächlichen auszubreiten pflegt, ist in der Mitte gelblich, aussen farblos, und grob chagritirt. Die scharfe Randcontour wird häufig von einzelnen hervorstehenden in ihrer Form schon mit schwacher Vergrößerung erkennbaren Vibrionen unterbrochen.	In den oberen $\frac{1}{3}$ des Impfstiches wachsen die eingebrachten Bakterienmassen zu einem weissen, zarten, zusammenhängenden Faden aus, während im unteren Drittel keine Entwicklung mehr stattfindet. Um die Einstichöffnung bildet sich ein weisser am Rande leicht ausgekerbter Rasen, der die Gelatine langsam verflüssigt und allmählich in dieselbe unter Bildung einer Luftblase einsinkt.	Auf der Kartoffeloberfläche breitet sich ein weisslicher, dicker, feuchter Rasen aus.	Die Nahrung wird stark getrübt. Zuweilen bildet sich auf ihr ein zartes Häutchen.	Es liessen sich bis 14 ständigen Büschel vereinigte Geisseln zählen.	Auffallend ist an <i>Vibrio serpens</i> die Neigung zur Schwarmbildung, welche man im hängen den Tropfen regelmässig beobachten kann, und die die im Tropfen befindlichen Vibrionen bald zu einem, bald zu mehreren Haufen oder auch zu bandartig den Tropfen durchziehenden Schwärmen sich vereinigen lässt. Nicht so regelmässig tritt diese Erscheinung bei <i>Spir. tenue</i> , <i>Spir. undula</i> und <i>Spir. volutans</i> auf.

Gruppe II. „Spirillen“.

Nr. und Fundort	Wachsthum in der Gelatineplatte	Wachsthum in der Agarplatte	Wachsthum im Gelatinestich	Wachsth. auf Kartoffeln	Wachsthum in Agar-Fleischwasser	Zahl und Anordnung der Geisseln	Bemerkungen
Nr. 1. Fundort: Jauche und Schweinekoth.	Nr. 1 entwickelt sich in der Gelatine zu recht charakteristischen Colonien. Dieselben werden durch Bakterienmassen gebildet, welche eine dreifache Anordnung zeigen. Ihr Centrum bildet ein compacter, je nach der Einstellung bald dunkler bald heller schimmernder Kern. Derselbe wird von scheinbar lockeren, fein gekörnten Bakterienmassen umgeben, die sich an ihrem äusseren Rande in einen Kranz häufig anastomosirender Strahlen auflösen. Die Gelatine wird langsam verflüssigt.	In der Agarplatte bilden sich farblose oder leicht gelbliche, weizsteinförmige, ausen mit kleinen Protuberanzen besetzte kleine Colonien. Kommt es zu Oberflächenwachsthum, so erscheint die Agaroberfläche makroskopisch wie von kleinen durchsichtigen Thautropfen bedeckt, welche unter dem Mikroskope als zarter, feingekörnter, scharfrandiger Bakterienrasen gesehen werden.	Im Gelatinestich erfolgt längs des ganzen Stichcanales Wachsth., und zwar bildet sich zunächst im Stichanal ein weisslicher Bakterienfaden, von dem aus zarte, wolkige Büschel nach allen Seiten in die Gelatine dringen. Allmählich kommt es von oben her zur Verflüssigung und Verdunstung der Gelatine, so dass sich eine trichterartige, langsam in die Tiefe fortschreitende Luftblase bildet.	Wachsthum auf Kartoffeln liess sich nicht beobachten	Die Nahrungsfüssigkeit wird leicht getrübt. Hauthenbildung fehlt.	Geisseln sind bisher nicht gefärbt.	Spirillum 1 ist wohl das feinste der bisher gezüchteten Spirillen, da es die bekannten im menschlichen Darm sich öfters findenden zarten Spirillen nicht an Dicke übertrifft. Es ist an den Enden zugespitzt und lebhaft beweglich. S-Formen und kurze 3 bis 4 Windungen zeigende Verbände sind die Regel.

Gruppe II. „Spirillen“.

Nr. und Fundort	Wachstum in der Gelatineplatte	Wachstum in der Agarplatte	Wachstum im Gelatinestich	Wachsth. auf Kartoffeln	Wachstum in Agar- Fleischwasser	Zahl und Anordnung der Geisseln	Bemerkungen
Nr. 2. Spirillum tenue. Fundort: Jauche.	In der Gelatineplatte bildet Spirillum tenue gelbliche, feinkörnige, scharfrandige Colonieen, welche die Gelatine langsam verflüssigen. Zuweilen entwickelt sich von den oberflächlich gelegenen aus ein zarter, transparenter, scharfrandiger Rasen von feiner Körnung.	In der Agarplatte haben die tiefgelegenen feinkörnigen, grüngelben Colonieen meist Wetzsteinform. Die oberflächlichen bilden einen gelblichen, feingekörnten, scharfrandigen Rasen.	Längs des ganzen Stiches entwickelt sich ein sehr zarter zusammenhängender, weisslicher Bakterienfaden. Um die Einstichöffnung kommt es zu reichlicherem Wachstum. Die sich hier bildenden gelblichen Bakterienmassen verflüssigen die Gelatine langsam und sinken allmählich unter Bildung einer Luftblase in dieselbe ein.	Auf Kartoffeln liess sich kein Wachstum erzielen.	Die Nährflüssigkeit wird schnell getrübt und auf ihrer Oberfläche bildet sich ein dickes Häutchen.	Spir. tenue besitzt ein Büschel sehr feiner, endständiger, leicht gewellter Geisseln.	Beyerinck berichtet im Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenkunde, Abth. II, Bd. I, Hft. 2 u. 3 über die Isolirung von drei Varietäten des Spir. tenue. Die Angaben über die culturellen Eigenschaften derselben sind jedoch so spärlich, dass eine genaue Identificirung unmöglich ist.

Gruppe II. „Spirillen“.

Nr. und Fundort	Wachsthum in der Gelatineplatte	Wachsthum in der Agarplatte	Wachsthum im Gelatinestich	Wachsth. auf Kartoffeln	Wachsthum in Agar-Condenswasser	Zahl und Anordnung der Geisseln	Bemerkungen
Nr. 3. Spirillum Undula. Fundort: Jauche.	Spirillum undula bildet in der Gelatine langeam wachsende, runde, scharfrandige, gekörnte, leicht grünlichgelb gefärbte Colonien, in deren Bereich die Gelatine ein wenig eingesunken erscheint. Eigentliches Oberflächenwachsthum liess sich an den Colonien nicht bemerken.	Im Agar haben die grünlichbraun gefärbten, ziemlich grobkörnigen Colonien in der Regel Wetzsteinform. Die oberflächlich gelegenen entwickeln einen grünlichbraunen, am Rande farblosen, grob chagrinierten Rasen, dessen Rand eine feine Zählung aufweist.	In seinem oberen 2/3 ist der Sticheanal durch die zur Ent-wicklung gekornen massen schleierartig getrübt. Das untere Ende bleibt steril. Um die Einstichöffnung bildet sich ein weisslicher, am Rande etwas gelappter Rasen.	Auf Kartoffeln findet kein Wachsthum statt.	Die Nährflüssigkeit wird gleichmässig getrübt, Häutchenbildung liess sich nie beobachten.	Spirillum Undula besitzt bis zu 15 zu einem endständigen Geisselbüschel vereinigte Geisselfäden.	

Gruppe II. „Spirillen“.

Nr. und Fundort	Wachsthum in der Gelatineplatte	Wachsthum in der Agarplatte	Wachsthum im Gelatinestich	Wachsth. auf Agar-Kartoffeln	Wachsthum in Agar-Fleischwasser	Zahl und Anordnung der Geisseln	Bemerkungen
Nr. 4. Spirillum volutans. Fundort: Jauche.	Spirillum volutans entwickelt sich in der Gelatineplatte zu runden, grünlich-braunen, scharfrandigen, gekörnten Colonieen. Die oberflächlichen bilden einen weisslichen Rasen, der unter dem Mikroskop aus einem grünlich-braunen, grob gekörnten Centrum u. einem ebenfalls gekörnten, farblosen, stark gelappten Rande gebildet wird. Um die Colonieen ist die Gelatine ein wenig eingesunken.	In Agar bildet Spir. volutans wetzsteinförmige, gekörnte Colonieen, deren Oberflächenwachsth. lebhaft an das der Diphtheriebacillen erinnert.	Die oberen $\frac{2}{3}$ des Impfstiches werden durch zarte, weissliche Bakterienmassen ausgefüllt, das untere Drittel bleibt dagegen steril. Von der Einstichöffnung schiebt sich ein weisser, porzellanartiger, stark gelappter Rasen über die Gelatine fort und sinkt allmählich ein wenig in dieselbe ein.	Auf beimpften Kartoffeln entwickelt sich ein grauer, trockener Rasen.	Die Nährflüssigkeit wird gleichmässig getrübt, Hautchenbildung fehlt.	Es liessen sich an Spirillum volutans bis zu acht zu einem endständigen Büschel vereinigte, lange, leicht gewellte Geisseln sichtbar machen. Die Angabe Cohn's, dass Spir. volutans eine Geissel besitzt, lässt sich daraus erklären, dass die Geisseln häufig zu einem Zopf vereinigt sind.	

nur *Vibrio* 1 und 2. Die anderen Vibrionen, sowie die Spirillen vermehrten sich in der Milch nicht.

Weitere Anhaltspunkte zur Differenzirung der verschiedenen gewonnenen Bakterien suchte ich durch Anlage von Agarstichculturen zu erhalten. Dabei ergab sich, dass nur *Vibrio* 2 sich längs des ganzen Stichcanales entwickelte, während sich bei allen übrigen das Wachsthum im Stich auf den obersten Theil beschränkte. Der oberflächliche Rasen, den alle um die Einstichöffnung bildeten, hatte nichts Charakteristisches.

Auf schräg erstarrtes Agar übertragen bildet der grösste Theil der Vibrionen und Spirillen einen zusammenhängenden, kräftigen, wenig Bemerkenswerthes bietenden Belag. Nur der Rasen von *Spirillum* 1 fällt durch seine Zartheit auf, und *Vibrio* 3, sowie *Vibrio serpens* zeichnen sich dadurch aus, dass sie selbst bei sehr reichlicher Uebertragung gern als isolirte Colonieen wachsen.

Auf Blutserum bilden alle Vibrionen und Spirillen zarte nicht charakteristische Beläge.

Für Thiere scheint keines der im Vorstehenden geschilderten Bakterien pathogen zu sein, denn Tauben, welche in den Brustmuskel, weiter graue Hausmäuse, die subcutan und intraperitoneal und Meerschweinchen, die intraperitoneal mit ihnen geimpft worden waren, blieben gesund.

Zum Schluss möchte ich noch den Einfluss verschieden hoher Temperaturen auf das Wachsthum der einzelnen Vibrionen und Spirillen angeben. Bei meinen diesbezüglichen Versuchen zeigte sich, dass *Vibrio* 1 und 2 bei Temperaturen von 22 bis 37° C. gut fortging. *Vibrio* 3 wuchs innerhalb der genannten Wärmegrade gleichfalls reichlich, doch waren die einzelnen Organismen in den bei 37° C. gezüchteten Culturen entweder unbeweglich, oder nur sehr gering beweglich, während sie in Culturen, die unterhalb 30° C. gehalten wurden, die lebhafteste Ortsveränderung zeigten. Für das Wachsthum und die Beweglichkeit des *Vibrio serpens* und *Spirillum* 1 lag das Temperaturoptimum bei 37° C. Das Temperaturoptimum für *Sp. tenue*, *Sp. Undula* und *Sp. volutans* dagegen lag innerhalb 25 bis 30° C. Ueber schritt die Wärme diese Grenze nach oben oder sank sie unter dieselbe, so trat eine deutliche ungünstige Beeinflussung des Wachstums und der Bewegungsfähigkeit der genannten Organismen ein.