

Breitenstein's Repetitorien Nr. 6

Bakteriologie

Leipzig

S. BASCHS's
Buchhandlung u. Antiquariat
Berlin N.
Friedrichstrasse 135
nahe d. Schiffbandamm.

Dv 4766²

Universität Düsseldorf, Bd. 2
Kunst-Recht
Mikrobiologie
Herrn Prof. Dr. H. G. ...
...

UNIVERSITÄTSBIBLIOTHEK
— Hon.-Rectorius. Abt. —
DUSSELDORF
V4802

B

Va

Breitenstein's Repetitorien. No. 6.

Kurzes Repetitorium
der
B a k t e r i o l o g i e

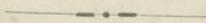
(Methode, Verfahren und Technik sowie Systematik
der pathogenen Mikroorganismen)

als

Vademecum für Studierende und praktische Aerzte.



Zweite stark vermehrte und verbesserte Auflage.



Leipzig,
Johann Ambrosius Barth.

Wien: M. Breitenstein.

Bakteriologie

Gearbeitet nach den Werken und Vorlesungen von

Babes, Baumgarten, Eisenberg, Flügge, Fränkel, Gruber,
Günther, Hueppe, Koch, Pasteur, Schenk, Weichselbaum u. A.

Alle Rechte vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis.

Allgemeiner Theil.

	Seite
I. Bakterien oder Spaltpilze	3
Allgemeines über die Morphologie und Biologie der Bakterien	3
Form der Bakterien	3
Bau der Bakterien	3
Vermehrung der Bakterien	4
Lebensbedingungen der Bakterien	6
Lebensäusserungen der Bakterien	7
II. Schimmelpilze	10
III. Sprosspilze	10
IV. Algen	11
V. Protozoen	11
Apparate für bakteriologische Untersuchungen	11
Sterilisation und Desinfection	14
Züchtung auf künstlichen Nährböden	17
Flüssige Nährböden	17
1. Koch's Bouillon	17
2. Löffler's Bouillon	17
3. Hüppe's Bouillon	17
Feste Nährböden	18
I. Gelatine in Verbindung:	
1. Mit Fleischwasser-Pepton nach Koch	18
2. Mit Fleischextract-Pepton nach Hüppe	19
3. Mit Kartoffelsaft nach Holz	19
4. Mit Milchserum nach Raskine	19
5. Mit Milchsäure nach Marpmann	20
II. Agar-Agar in Verbindung:	
1. Mit Fleischwasserpepton nach Koch	20
2. Mit Fleischextract-Pepton	21
3. Mit Glycerin nach Nocard und Roux	21
III. Blutserum:	
1. Nach Koch	21
2. Nach Löffler	22

	Seite
3. In Verbindung mit Gelatine	22
4. Mit Agar-Agar nach Hüppe	22
5. Mit Glycerin nach Nocard und Roux	22
6. Mit Agar nach Wertheim	22
IV. Vogeleier:	
1. Alkalinbuminate nach Tarchanow und Kolesnikow	23
2. Nach Chopin	23
3. Das Kibitzeiweiss	23
4. Frische Eier für anaërobe Culturen nach Hüppe	24
V. Reis:	
1. Milchreis nach Kral	24
2. Milchbouillonreis	24
VI. Kartoffeln:	
1. Ungeschälte Kartoffelhälften nach Koch	24
2. Geschälte Kartoffelscheiben nach v. Esmarch	25
3. Geschälte Kartoffelcylinder nach Bolton, Globig	25
4. Kartoffelbrei	25
5. Durchscheinende Karoffelscheiben	26
VII. Andere Nährböden:	
1. Nährboden nach Kowalski	26
2. Nährgallerte nach Miquel	26
3. Fleischscheiben nach Kral	26
4. Brotbrei	27
5. Oblaten nach Schill	27
Verwendung der Nährböden.	27
Koch's Plattenculturen	28
Koch's Objectträgerculturen	28
Rolleculturen nach v. Esmarch	28
Die Anlagen von Reinculturen	28
Züchtung anaërober Bakterien:	
Bei beschränkter Luft	30
Bei vollständiger Entfernung der Luft	31
Mikroskopische Untersuchung.	32
Die bei bakteriologischen Untersuchungen gebräuchlichen Farbstoffe, Reagentien und deren Herstellung	33
Anilinfarben	33
Verbindungen der Anilinfarben	34
Karminlösungen	36
Haematoxylinlösungen	38
Entfärbungsflüssigkeiten	38
Allgemeines über die Färbung der Bakterien	39
Färbung der Deckglaspräparate	39

	Seite
Färbung nach Gram	39
Kapselfärbung	40
Geisselfärbung	42
Untersuchung der Bakterien in Schnitten	42
Die Härtung	43
Einbettung	43
1. Glyceringelatineeinbettung	44
2. Celloidineinbettung	44
3. Paraffineinbettung	45
Färbung der Schnitte	46
Schnittpräparate von Reinculturen	48
Thierversuche	49

Specieller Theil.

Kommabacillus der Cholera asiatica	50
Morphologische und biologische Eigenschaften	50
Künstliche Züchtung	52
Vorkommen und pathogene Eigenschaften	53
Färbungsmethoden	54
Nachweis der Cholerabacillen im Stuhl	55
Nachweis der Cholerabacillen im Wasser	56
Finkler-Prior-Bacillus	56
Bacterium coli commune	58
Spirochaete Obermeieri (Recurrrens-Spirillen)	59
Tuberkelbacillus	60
Morphologische und biologische Eigenschaften	61
Züchtung der Tuberkelbacillen	61
Vorkommen und pathogene Eigenschaften	63
Untersuchungsmethoden:	
Sputum-Untersuchungen	63
Nachweis der Tuberkelbacillen in Schnitten	67
Leprabacillus	68
Färbungsmethoden	70
Syphilisbacillus	71
Färbungsmethoden	72
Bacillus mallei. Rotzbacillus	72
Färbungsmethoden	73
Bacillus anthracis. Milzbrand	75
Bacillus oedematis maligni	77
Diphtheriebacillus	78
Typhusbacillus	80
Tetanusbacillus	84

	Seite
Rhinosklerombacillus	86
Pneumobacillus. Friedländer	87
Diplococcus pneumoniae	89
Influenzabacillus	91
Gonococcus	92
Färbungsmethoden	93
Streptococcus erysipelatis	95
Streptococcus pyogenes	96
Staphylococcus pyogenes aureus	97
Actinomyces	99
Bacillus der Beulenpest	100
Trichophyton tonsurans	102
Achorion Schönleini	102
Parasitische Protozoen:	
Amoeba coli	104
Coccidium oviforme	105
Trichomonas vaginalis	105
Trichomonas intestinalis	106
Cercomonas intestinalis	106
Balantidium coli	106
Plasmodium malariae	106
Untersuchung des Blutes auf Plasmodien	107

AL

pila

läss
Coh
teri
grup

eine

Ven

Stäl
ent
eberwer
engals
weg
wei

86
87
89
91
92
93
95
96
97
99
00
02
02
04
05
05
06
06
06
06
07

Allgemeiner Theil.

I. Bakterien oder Spaltpilze.

Allgemeines über die Morphologie und Biologie der Bakterien.

Zu den Mikroorganismen gehören Bakterien oder Spaltpilze, Schimmelpilze, Algen und Protozoen.

Form der Bakterien.

Da sich ein natürliches System der Bakterien nicht aufstellen lässt, bedienen wir uns noch heute der Eintheilung, die Ferdinand Cohn aufgestellt hat und zu deren Grundlage die Form der Bakterien gewählt wurde. Man unterscheidet demnach drei Hauptgruppen und zwar:

1. Kokken,
2. Bacillen und
3. Spirillen.

Die Bary verglich diese drei Grundformen der Bakterien mit einer Billardkugel, einem Bleistift und einem Schraubenzieher.

Die Kokken stellen runde Gebilde dar, die einzeln oder in Verbänden auftreten.

Die Bacillen sind gerade gestreckte oder etwas gekrümmte Stäbchen, von verschiedener Länge und Dicke. Die Enden können entweder scharf abgeschnitten oder abgerundet sein. Sie treten ebenfalls entweder einzeln oder in Form von Verbänden auf.

Die Spirillen sind korkzieherförmig gewundene Gebilde. Sie werden in die Commastäbchen (Vibrionen), in die Spirillen im engeren Sinne und in die Spirochaeten unterschieden.

Bau der Bakterien.

In histologischer Hinsicht betrachten wir die Bakterien als Zellen, obwohl sich in denselben, wie in den letzteren, keineswegs ein gesonderter Kern und ein gesonderetes Protoplasma nachweisen lassen.

Hauptsächlich mit Rücksicht auf das Verhalten als Bakterien Farbstoffen gegenüber nahm man früher an, dass die Bakterien nackte Kerne darstellen. Es haben aber neuere Untersuchungen gezeigt, dass man besonders in grösseren Bakterienformen unter manchen Umständen einen Kern und ein Protoplasma unterscheiden kann. Das ist aber durchaus kein constantes Verhalten. In der Regel finden wir ein stark lichtbrechendes grösstentheils homogenes Protoplasmaklumpchen, welches von einer celluloseartigen oder eiweissartigen Membran umschlossen ist, der sich nach aussen zu eine schleimige, in Flüssigkeiten leicht quellbare Hülle anschliesst. Diese Hülle wird als Kapsel bezeichnet und die Bakterien, bei denen eine derartige Hülle als lichter Hof auftritt, als Kapselbakterien.

Manche Bakterien enthalten in ihrem Protoplasma Stärke, was sich durch eine Jodlösung leicht nachweisen lässt (Indigoblaufärbung), manche enthalten Schwefelkörner; es sind das die sog. Schwefelbakterien. Andere Bakterienarten enthalten in ihrer Hülle Eisenoxyd (sog. Eisenbakterien).

Vermehrung der Bakterien.

Die Bakterien vermehren sich hauptsächlich durch Spaltung (daher der Name „Spaltpilze“) oder Theilung. Ist die Bakterienzelle ausgewachsen, so wird ihr sonst homogener Inhalt einigermaßen granuliert und in der Mitte wird eine quere Einschnidung sichtbar, an welcher die Trennung vor sich geht. Bleiben die Tochterbakterien im Zusammenhang mit einander, so entstehen Verbände. Wenn sich ein Coccus theilt und die beiden Tochterkokken neben einander bleiben, so bezeichnet man sie als Diplokokken. Wenn aber die Producte der fortgesetzten Theilung im Zusammenhang bleiben, so bezeichnet man einen derartigen Verband von Kokken als Streptokokken oder Kettenkokken. Bilden sie aber nach Trennung unregelmässige Haufen, so spricht man von Staphylokokken. Erfolgt die Theilung in zwei auf einander senkrechten Richtungen, so entstehen Gruppen von je vier Kokken, die als Tetragenos oder Merismopedia (Tafelkokken) bezeichnet werden. Die Theilung kann auch nach allen drei Richtungen des Raumes vor sich gehen, so entstehen die Paketkokken (Sarcina).

Auch bei den Stäbchen können, falls Theilungsstandmale sich nicht von einander loslösen, sondern im Zusammenhang bleiben, Verbände auftreten, die als Scheinfäden, Leptothrix oder Mycothrix bezeichnet werden.

Bei den commaartig gekrümmten Stäbchen können nach er-

folgt Theilung kürzere oder längere Verbände entstehen, die korkzieherartig geworden sind (Spirillen).

In wässrigen Flüssigkeiten findet man oft Bakterienverbände (Kammhäute), die als Zooglea oder Palmelea bezeichnet werden und die dadurch entstehen, dass sich die schleimigen Hüllen der einzelnen Bakterienzellen mit einander verquellen.

Die zweite Art der Vermehrung der Bakterien ist die Fortpflanzung durch Sporen, die hauptsächlich bei manchen Stäbchenformen beobachtet wird. Man unterscheidet eine endogene Sporenbildung und eine Arthrosporenbildung.

Die endogene Sporenbildung oder die Sporenbildung im Innern der Mutterzelle geht folgendermaassen vor sich:

An einer Stelle der Bacillen wird das Protoplasma körnig, die Körnchen werden grösser, confluiren mit einander und schliessen sich vom Protoplasma der Mutterzelle durch eine Membran ab, wodurch die Bildung der Spore beendet ist.

Dieselbe stellt dann ein kleines, etwas in die Länge gezogenes Körperchen dar, welches hell glänzend und stark lichtbrechend ist.

Nach der Bildung der Spore beginnt die Mutterzelle zu zerfallen und die Spore wird frei. Eine Zeit lang bleibt sie unverändert, gelangt sie auf einen günstigen Nährboden, so beginnt sie auszukeimen. Der helle Glanz der Spore geht verloren, ebenso alle dunklen Contouren, sie streckt sich successive in die Länge, bis sie die Form der Mutterzelle erreicht hat. Bei manchen Formen platzt die Sporenmembran und der Bacillus wird frei, bei manchen wiederum geht die letztere in die Bacillenmembran über.

Je nachdem die Spore im Stäbchen sich bildet, unterscheidet man mittelständige Sporen, wenn die Spore in der Mitte entsteht und endständige Sporen, falls sie an einem Ende entstehen.

Bei der Sporenbildung gewinnen die Stäbchen, in denen die letztere vor sich geht, eine verschiedene Gestalt. Bei der endständigen Sporenbildung haben sie die Form von Trommelschlägern, das Trommelschläger- oder Köpfchenbakterien, bei der mittelständigen Sporenbildung dagegen sind sie spindelförmig, Clostridien.

Die feste und derbe Membran, die die Sporen besitzen, verleiht ihnen eine ausserordentliche Widerstandsfähigkeit gegen äussere Einflüsse, wie gegen Hitze, Kälte, Austrocknung, chemische Reactionen etc.

Die grosse Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperaturen ist nach Lewith darauf zurückzuführen, dass die Sporen ein wasserarmes Protoplasma besitzen und wasserarmes Eiweiss ist nämlich im Stande, die Einwirkung höherer Temperaturen auszuhalten ohne zu coaguliren.

Durch ihre Widerstandsfähigkeit kommt den Sporen eine grosse Bedeutung für die Erhaltung der Art zu, sie werden daher als Dauerformen oder reproductive Formen bezeichnet. Die Bakterien, die sich durch Quertheilung vermehren, bezeichnet man als vegetative oder Wuchsformen.

Ausser der endogenen Sporenbildung nehmen manche Autoren noch eine Arthrosporenbildung an.

Die Arthrosporen entstehen in der Weise, dass einzelne Bakterien, die sich von anderen Individuen derselben Art in keiner Weise unterscheiden, zum Ausgangspunct einer neuen Bakterienvegetation dienen, während die übrigen absterben. Indessen scheint es sich hier nicht um eine echte Sporenbildung zu handeln. Vor allem gehen diesen Arthrosporen alle Eigenthümlichkeiten der endogenen Sporen ab.

Unter welchen Bedingungen die Sporenbildung vor sich geht, ist nicht genau festgestellt. Man nimmt an, dass das dann geschieht, sobald der Nährboden erschöpft ist oder die eigenen Stoffwechselproducte zu stark angehäuft sind. Indessen scheint das nicht für alle Sporen bildenden Bakterien zutreffen. Wenn man eine Milzbrandcultur, in der sich schon Sporen befinden, sterilisirt, lässt sie hierauf im Thermostaten stehen, um sich zu überzeugen, dass der Nährboden thatsächlich steril ist, und impft ihn dann neuerdings mit Milzbrand, so gedeiht der letztere sehr gut, ein Beweis, dass Nährboden nicht erschöpft war.

Lebensbedingungen der Bakterien.

Ausser dem Wasser, welches zur Erhaltung jedes organischen Wesens unentbehrlich ist, bedürfen die Bakterien eines Nährmediums, welches höhere Kohlenstoffverbindungen und einen gewissen Stickstoffgehalt aufweisen und ausserdem alkalisch sein muss. Je nachdem die Bakterien auf toten Nährmedien oder im lebenden Organismus ihr Fortkommen finden, unterscheidet man saprophytische und parasitische Bakterien. Die letzteren werden eingetheilt in obligate und in facultative Parasiten. Die ersteren gedeihen nur im lebenden Körper und gehen zu Grunde ausserhalb desselben, die letzteren können ausser im lebendigen Organismus auch ausserhalb desselben ihr Fortkommen finden.

Viele Bakterien bedürfen zu ihrem Fortkommen unbedingt des Sauerstoffs, man nennt sie obligate Aëroben, im Gegensatz zu den facultativen Aëroben, die mitunter auch ohne Sauerstoff gedeihen können. Es giebt aber Bakterien, die bei Gegenwart von Sauerstoff zu Grunde gehen und nur in einer sauerstofffreien Atmosphäre ihr Fortkommen finden; solche Bakterien werden als obligate Anaëroben bezeichnet.

Das Fortkommen der Bakterien ist ferner an bestimmte Temperaturverhältnisse geknüpft. Jede Bakterienart hat ihr Temperaturminimum und Temperaturmaximum, und innerhalb derselben ein Temperaturoptimum, bei dem sie am günstigsten gedeiht. Die Grenze, innerhalb welcher Wachstum stattfindet, befindet sich zwischen 10—40° C. Saprophytische Bakterien können im allgemeinen bei niedrigeren Temperaturen gedeihen, parasitische dem natürlichen Aufenthalt entsprechend bei Körpertemperatur oder bei Bruttemperatur, etwa bei 36—37,5° C.

Bei 60° vermögen die vegetativen Formen nicht mehr zu wachsen. Es werden jedoch in oberflächlichen Bodenschichten Mikroorganismen gefunden, die bei 60—70° C. noch gedeihen, andererseits sind auch solche Bakterien bekannt geworden, die noch bei 0° wachsen. Das Licht ist im allgemeinen für das Wachstum der Bakterien ungünstig.

Nach den Untersuchungen von Arloing wirken Sonnenstrahlen auf Milzbrandbacillen derart, dass sie stufenweise ihr Wachstumsvermögen verlieren. Werden solche abgeschwächte Culturen weiter gezüchtet, so kann ihre ursprüngliche Virulenz wieder hergestellt werden.

Es sei noch bemerkt, dass die Bakterien in trockenen Medien widerstandsfähiger gegen die Einwirkung von Lichtstrahlen sich erweisen, als in feuchten.

Lebensäußerungen der Bakterien.

Die Lebensäußerungen der Bakterien sind sehr mannigfach: sie vermögen sich selbst von Ort zu Ort zu bewegen, Pigment und Gase zu bilden, chemische Stoffe zu erzeugen, die Gärung und Fäulnis zu verursachen und eine pathogene Wirkung auszuüben.

Eigenbewegung. Die Eigenbewegung kommt nicht allen Bakterien zu, bei denjenigen Formen, bei denen sie vorkommt, wird sie durch Geisseln vermittelt. Die Geisseln sind peitschenförmige Anhänge der Bakterien, die nach manchen Autoren Protoplasmafortsätze, nach manchen wiederum Fortsätze der Membran darstellen. Sie finden sich entweder nur an einem Ende der Bakterien, oder kommen in mehrfacher Zahl auch an den Längsseiten derselben vor. Man findet die Geisseln bei Vibrionen, Spirillen und manchen Stäbchen. Es wurden aber auch schon Kokken bekannt, die Eigenbewegungen haben, und an ihnen wurde auch das Vorhandensein von Geisseln constatirt. Die Fähigkeit der Pigmentbildung kommt manchen Bakterienarten zu, die deshalb als chromogene Bakterien bezeichnet werden. Diese Lebensäußerung scheint aber lediglich ein Resultat der gegenseitigen Einwirkung der Bakterien auf die Nährboden zu sein. Man hat bei manchen Bakterienarten, die

auf bestimmten Nährboden Pigment erzeugen, durch Wechsel des Nährbodens die Pigmentbildung umgeändert oder ganz aufgehoben. So erzeugt der *Bacillus pyocyaneus* auf eiweissfreien Nährböden ein schönes Blau, auf eiweisshaltigen eine grüne Fluorescenz. Der *Bacillus prodigiosus*, der auf festen Nährböden ein schönes Roth erzeugt, bleibt farblos, wenn man ihn in neutralen oder alkalischen Flüssigkeiten züchtet.

Manche Bakterienarten vermögen zu leuchten und zu phosphoresciren. Nach den Untersuchungen von Katz ist es hauptsächlich das Kochsalz und die Gegenwart von freiem Sauerstoff, die das Zustandekommen des Leuchtens verursachen.

Manche Mikroorganismen zeichnen sich durch Gasbildung aus. So erzeugen manche Anaëroben unangenehm riechende Fäulnissgase; *Bacillus prodigiosus* bildet Trimethylamin, manche wiederum wie z. B. der *Comma-bacillus* der Cholera asiatica, erzeugt einen angenehmen aromatischen Geruch.

Die Bakterien sind die Erreger der Gährung, der Verwesung und der Fäulniss.

Unter Gährung versteht man eine Zerlegung organischer Substanzen unter Gasentwicklung. Manche Mikroorganismen bringen wässerige Extracte des Malzes zur Vergährung — Biergährung, manche vergähren Zucker unter Bildung von Milchsäure — Milchsäuregährung, manche wiederum vergähren Stärke und Zucker unter Bildung von Buttersäure (Buttersäuregährung).

Unter Verwesung versteht man eine durch Mikroorganismen bedingte Oxydation organischer Stoffe bei freiem Zutritt des Sauerstoffs als Luft. Der Kohlenstoff verbrennt hierbei allmählig zu Kohlensäure, der Wasserstoff zu Wasser; Stickstoff und Schwefel werden zu Salpeter- resp. zu Schwefelsäure oxydirt. Finden sich an demselben Orte die Basen, so werden die entsprechenden Salze gebildet.

Die Fäulniss, bei der es zur Zersetzung des Eiweissmoleküls unter Bildung von stinkenden Producten kommt, findet immer unter Abschluss von Sauerstoff der Luft statt und wird durch anaërobe Bakterien verursacht. Sie stellt im Gegensatz zur Verwesung einen Reductionsprocess dar.

Hierher gehört auch die Eigenschaft mancher Bakterienarten, die Nährgelatine, auf der sie wachsen, zu verflüssigen. Diese Eigenschaft beruht höchstwahrscheinlich darauf, dass beim Wachsathum der Mikroorganismen Fermente erzeugt werden.

Eine der wichtigsten Lebensäusserungen der Bakterien ist die Fähigkeit, toxisch wirkende Substanzen, die Toxine und Ptomaine, zu erzeugen, denen die pathogene Wirkung der Mikroorganismen zugeschrieben wird.

Die Toxine theilt man in Toxalbumine und in Ptomaine.

Die Toxalbumine sind Eiweisskörper, die beim Wachsthum der Bakterien auf den Nährboden, besonders in Bouillon, entstehen. Beim Sieden zersetzen sie sich.

Die Ptomaine sind Eiweisskörper, die von Nencki entdeckt worden und die in Bakterienzellen selbst enthalten sind. Ihr wesentlicher Unterschied von den erstgenannten Toxinen besteht darin, dass sie nach langem Sieden unverändert bleiben.

Nach Brieger werden die Toxine folgendermaassen dargestellt: Die betreffende Cultur oder der Gewebssaft wird durch Filtriren durch Thonzellen keimfrei gemacht. Die Eiweisskörper werden dann mit dem zehnfachen Volumen absol. Alkohol ausgefällt. Man löst sie in verdünntem Alkohol und fällt mit alkoholischer Sublimatlösung. Hierauf wird das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff entfernt, gelöst mehrmals in Wasser und schliesslich erzielt man die Toxine durch Ausfällen mit absolutem Alkohol.

Um die Ptomaine aus den Bakterienzellen darzustellen, verfuhr Buchner in folgender Weise:

Es wurden Kartoffelculturen angelegt und dann der Rasen abgestreift. Die erhaltene Masse wurde mit Wasser in einer Reibschale verrieben, mit dem 50fachen Volumen einer $\frac{1}{2}\%$ igen Kalilauge versetzt und auf dem Wasserbade bis zur Verflüssigung digerirt und nachher filtrirt. Das Filtrat wurde mit verdünnter Essig- oder Salzsäure versetzt, auf einen Filter gesammelt und in schwach alkalischem Wasser aufgelöst.

Wenn man Toxine in grösseren Dosen subcutan oder intravenös oder in andere Stelle injicirt, so erzeugen sie theils verschiedene Krankheiten oder führen zum Tode. Wenn man geringe Mengen successive injicirt, so werden die Thiere gegen die betreffenden Bakterien, aus denen die Toxine gewonnen worden, immun.

Involutionserscheinungen. Wenn die Lebensverhältnisse, unter denen die Bakterien leben, ungünstig sich gestalten, wenn z. B. der Nährboden, auf dem sie leben, erschöpft wird, so beobachtet man an den Bakterien Veränderungen, die als Involutionserscheinungen bezeichnet werden. Die Bakterienzellen verändern ihre Gestalt, werden aufgebläht, es entstehen in ihnen Vacuolen oder sie zerfallen in kleine Körner. Diese Veränderungen sind nichts anderes als Erscheinungen des Absterbens der Bakterien. Man beobachtet sie oft in älteren Culturen. Man kann dem in der Weise vorbeugen, dass man die Culturen von Zeit zu Zeit auf frische Nährboden überimpft.

Chemotaxis. Pfeffer hat zuerst beobachtet, dass viele Mikroorganismen durch manche chemische Substanzen angezogen oder

abgestossen werden, was er als Chemotaxis bezeichnet hat. Werden einseitig zugeschmolzene Capillarröhrchen mit den zu prüfenden Stoffen gefüllt, in die auf einem Objectträger befindliche bakterienhaltige Wasserschicht eingeschoben, so bemerkt man, je nachdem die Reizung eine attractive oder repulsive ist, positive oder negative Chemotaxis. Bei der ersteren bewegen sich die Bakterien nach der Capillaröffnung hin, bei der letzteren wenden sie sich von derselben ab.

II. Schimmelpilze.

Die Schimmelpilze sind grösstentheils Saprophyten, doch gehören manche unter ihnen zu den Parasiten. Die Schimmelpilze charakterisiren sich dadurch, dass sie ein Netzwerk von Fäden bilden, die als Mycelien bezeichnet werden. Jedes Mycel besteht aus kürzeren oder längeren Hyphen. Die Schimmelpilze bilden Sporen. Diese können sich zuweilen weiter als Sporen vermehren oder sie wachsen zu einem neuen Mycel aus. Die Sporenbildung geht in verschiedener Weise vor sich, was systematisch verwerthet wird. Die Schimmelpilze theilt man ein in die Mucorineen, Aspergillineen, Penicilliaceen und in die Oidiaceen.

Bei den Mucorineen entstehen die Sporen in der Weise, dass das Ende der Hyphen kolbig anschwillt und um dasselbe herum eine Fruchtblase entsteht, in der die Sporen sich bilden.

Bei den Aspergillineen wird das kolbig angeschwollene Hyphenende von sog. Sporenträgern bedeckt, aus denen sich die Sporen lösen.

Bei den Penicilliaceen, die sich im Gegensatz zu den Mucorineen und Aspergillineen büschelförmig verzweigen, bilden sich an den Enden ebenfalls Sporenträger, von denen sich die Sporen in Ketten lösen.

Bei den Oidiaceen kommt es nicht zur Bildung von Sporenträgern, sondern die Sporen lösen sich vom Ende der Hyphen los.

III. Sprosspilze.

Die Sprosspilze sind kugel- oder eiförmige Zellen von etwa 10μ Länge, die weder Fruchträger besitzen, noch Sporen bilden. Sie vermehren sich durch Knospung, d. h. am Ende der Zellen sprossen Knospen, welche, nachdem sie ausgewachsen sind, sich abschnüren.

Die Sprosspilze zeichnen sich dadurch aus, dass sie Erreger der Gährung sind.

IV. Algen.

Von den Algen kommen in der Bakteriologie in Betracht die Cladotrix-, Crenothrix- und Beggiatoaarten.

Es sind das gegliederte Fäden, welche sich weder durch Theilung noch durch die Sporenbildung, sondern durch Spitzenwachstum vermehren.

V. Protozoen.

Thierische Organismen, die in morphologischer Hinsicht Zellen darstellen, deren Protoplasma sämtliche Functionen verrichtet. Das Protoplasma, welches durch Ausstreckung von Pseudopodien Bewegungen auszuführen im Stande ist, zerfällt in ein Ekto- und in ein Entoprotoplasma. Das erstere besorgt die Locomotion, Athmung, Nahrungsaufnahme, das zweite wahrscheinlich die Verdauung. Im Protoplasma ist ein Kern eingelagert, dessen Gestalt und Bau sehr wechselnd ist und dem auch eine besondere Bedeutung, die als Vermehrung zukommt. Dieselbe geht entweder auf dem Wege der Theilung oder der Knospung vor sich. Wo Theilung und Knospung auf einander folgen, kommt es zur Sporenbildung. Theilungen kommen auch im encystierten Zustande vor. Ferner kommt es bei manchen Protozoen zu Conjugation und darauf folgender Theilung.

Hier kommen in Betracht manche Rhizopoden, Sporozoen und Infusorien.

Apparate für bakteriologische Untersuchungen.

Die wichtigsten Apparate für bakteriologische Untersuchungen sind folgende:

Mikroskop. In erster Linie benötigt man ein Mikroskop mit Luftlinsen, eine Immersion, ein Abbé'scher Beleuchtungsapparat mit einer Irisblende. Ungefärbte Präparate werden mit enger Blende untersucht, wobei man das sogen. Structurbild erhält, bei gefärbten Präparaten wird der Abbé'sche Condensor ohne Blende angewendet, in welchem Fall man das sogen. Farbenbild erhält.

Trockenkasten. Zur Sterilisation mit trockener Hitze werden specielle Trockenkästen angewendet, in denen man mit einem starken Gasbrenner eine Temperatur von 160—170° C. erzielen kann. Es sind das doppelwandige, aus Schwarzblech hergestellte Kästen, die nicht gelöthet, sondern genietet werden.

Dampf-Kochtopf. Derselbe stellt einen ca. $\frac{3}{4}$ m hohen und 30 cm im Durchmesser aus Weissblech hergestellten Cylinder dar,

der von aussen, um gegen Wärmeverluste geschützt zu werden, von einem Filzmantel umkleidet ist. Oben trägt er einen Deckel, in dem sich ein Thermometer befindet. An der Grenze seines unteren Drittels ist ein Rost angebracht, unter welchem sich Wasser befindet. Von unten wird der Dampf-Kochtopf mittels Gasbrenner zum Siedepunkt gebracht.

Thermostat (Brutapparat). Derselbe stellt einen doppelwandigen, aus Blech hergestellten viereckigen Kasten dar, der von aussen von einem Filzmantel bekleidet ist. Der Raum zwischen den Wandungen ist mit Wasser gefüllt. Zu demselben führen zwei Oeffnungen, in der einen steckt ein Thermoregulator, zur Regulierung und zur Erhaltung einer constanten Temperatur im Wärmekasten, in der anderen befindet sich ein Thermometer. Geheizt wird der Apparat von unten, auch mit zwei Mikrobrennern, die mit dem Thermoregulator in Verbindung stehen.

Dieser Wärmekasten wird verwendet, wenn es sich handelt, bei höherer als bei Zimmertemperatur zu züchten.

Der Thermoregulator spielt hier eine sehr wichtige Rolle, da von ihm die Erhaltung einer constanten Temperatur im Wärmekasten abhängt. Es wurde eine Reihe von brauchbaren Thermoregulatoren angegeben, und der billigste und zugleich der ziemlich einfachste ist der

Thermoregulator nach Schenk.

In einem eprouvettenähnlichen Glasgefäss ist ein Glasrohr derart eingeschmolzen, dass das erweiterte Ende an der Wandung des ersteren Gefässes luftdicht anhaftet. Füllt man dieses Gefäss mit Quecksilber, so wird ein Theil des Quecksilbers durch das schmale Glasrohr auf den Boden des weiteren Gefässes sinken, ein Theil füllt das schmale Rohr und steht oberhalb desselben in der Eprouvette so hoch, dass diese durch einen einmal durchbohrten Kork verschlossen sein kann. Die in ihr befindliche Luft erhöht die Empfindlichkeit des Apparates, indem ihre durch Temperaturdifferenzen bewirkte Volumsänderung das Quecksilber rascher hebt und senkt. In die Erweiterung kommt ein doppelt durchbohrter Kork, in dem sich zwei knieförmig gebogene Röhren befinden; das eine Rohr reicht bis in die verengerte Stelle des oberen Ansatzstückes, ist schief abgeschliffen und besitzt in der Seitenwandung ein kleines Nothloch; das andere Rohr ist einfach gebogen und ragt bis unterhalb des oberen Korkes.

Wenn der Apparat gebraucht werden soll, so wird er zwischen das Gasöffnungsrohr und den Brenner eingeschoben. Es geschieht

dies derart, dass man in jedes Knieröhrchen ein Kautschukrohr, das eine vom Brenner, das andere vom Gashahn einpasst. Das eprovettenähnliche Gefäss ist, mit der entsprechenden Quantität Quecksilber versorgt, kommt in das den Brutofen umgebende Wasser. Wird das Wasser erwärmt, so steigt die Quecksilbersäule, während das Gas aus dem einen Knieröhrchen in das andere überströmt. Ist die Temperatur so hoch, dass die Quecksilbersäule das längere, schief abgeschliffene, knieförmig gebogene Röhrchen erreicht und dessen Mündung verschliesst, dann ist die Grenze der Temperatur festgestellt, bei der der Brutofen constant erhalten bleiben kann. Es müsste nun, sobald diese Oeffnung durch Quecksilber bedeckt ist, die Gasströmung aufhören und die Flamme des Brenners verlöschen, wenn nicht durch die Nothöffnung so viel Gas durchströmen würde, dass die Flamme auch erhalten bleibt. Nun soll der Regulator derartig mit Quecksilber gefüllt sein, dass diese Grenze bei der Bruttemperatur erreicht werde. Durch Höher- und Tiefstellen des Glasrohres über die Eprovette kann man alsdann die Temperatur um einige Grade höher oder tiefer, je nach Bedarf, stellen.

Wenn die Temperatur des Wassers, in dem sich der quecksilberhaltende Theil des Apparates befindet, steigt, so muss die Oeffnung, durch die das Gas strömt, immer kleiner werden. Dadurch kühlt sich die Wassermasse ab und das Quecksilber sinkt, die Oeffnung zur Gasströmung wird wieder grösser, mit ihr auch die Flamme und die Temperatur kann wieder ansteigen, jedoch die Grenze nicht überschreiten, für welche der Regulator eingestellt ist.

Plattengiessapparat. Zur Herstellung von Plattenculturen wird ein specieller, von Koch angegebener Plattengiessapparat angewendet. Derselbe besteht aus einem Dreieck aus Holz, das auf drei Stellschrauben ruht, auf demselben befindet sich eine Schale mit Eis oder mit kaltem Wasser, welche von einer grösseren Glasplatte bedeckt wird. Der Giessapparat wird vor dem Gebrauch mit einer Libelle in vollkommen horizontale Stellung gebracht. Die Glasplatte, auf der die Platten gegossen werden, wird von einer Glasglocke bedeckt.

Feuchte Kammern. Zur Aufhebung der Plattenculturen verwendet man grössere doppelte Dosen, von 24 cm im Durchmesser. Den Boden der unteren belegt man in der Regel mit in Sublimat benetztes Filtrirpapier.

Petri'sche Schalen. Anstatt der Glasplatten zur Anlegung von Plattenculturen bedient man sich jetzt allgemein der viel bequemeren Petri'schen Schalen. Es sind dies runde und ziemlich flache Doppelschalen von etwa 10 cm im Durchmesser.

Platindrähte. In Glasstäbchen eingeschmolzene, nicht zu dünne Platindrähte von 60—70 mm Länge werden zum Impfen der Nährboden angewendet. Man hält sich mehrere vorrätig und bei einigen von denselben wird das Ende des Drahtes ösenartig eingebogen (Platinösen).

Heissfiltrirtrichter. Um die leicht erstarrenden Nährboden, wie die Nährgelatine und die Nähragar zu filtriren, bedient man sich eines Heissfiltrirtrichters. Derselbe stellt einen doppelwandigen, aus Metall (Kupfer, Messing, Eisenblech) hergestellten Trichter dar mit einem seitlichen Anhange, unter welchem eine Flamme steht, die das zwischen den Wandungen des Trichters befindliche Wasser erwärmt. In solchen Trichtern geht die Filtrirung der erstarrenden Nährboden sehr leicht von statten.

Untersuchungsmethoden.

Die Untersuchungen der Bakterien erstrecken sich auf die Züchtung auf künstlichen Nährböden, auf die mikroskopische Untersuchung im ungefärbten oder im gefärbten Zustande und auf den Thierversuch.

Sterilisation und Desinfection.

Will man irgend eine bestimmte Bakterienform züchten, um ihre Morphologie und Biologie kennen zu lernen, so muss vor allem im Auge behalten werden, dass das Vorkommen der Bakterien in der Natur ein ausserordentlich verbreitetes ist und dass der zu untersuchenden Form sehr leicht auch andere sich beimischen können. Aber bei unseren Bestrebungen, die morphologischen und biologischen Eigenschaften irgend einer bestimmten Form kennen zu lernen, kommt es nur auf Reinculturen an, d. h. auf solche, die von anderen Mikroorganismen vollkommen frei sind.

Wir müssen deshalb trachten, dass sämtliche Instrumente Gefässe, Nährböden, die bei der künstlichen Züchtung in Verwendung kommen, vollkommen bakterienfrei sind, und dafür sorgen, dass auch keine fremden Mikroorganismen von aussen her in die Cultur eindringen können.

Um der ersten Anforderung Genüge zu leisten, muss alles,

was bei der Züchtung im Verwendung kommt, keimfrei — steril gemacht werden und darauf beruht die Sterilisation und Desinfection.

Sterilisiren können wir auf verschiedene Weise:

Sterilisation mit desinficirenden Mitteln.

Vor allem haben wir eine ganze Anzahl von Reagentien, die dies bewerkstelligen können, so z. B. Sublimat, Carbonsäure etc. Wenn wir z. B. den Nährboden mit diesen Mitteln sterilisiren werden, so werden wir ihn freilich keimfrei machen, aber zugleich unbrauchbar für jeden anderen Mikroorganismus; dasselbe kann auch mit den Gefässen und Instrumenten geschehen. Man kann also diese Mittel zur Sterilisation nur dann anwenden, wenn es darauf ankommt, bloß die Mikroorganismen ohne weiteres zu vernichten.

Sterilisation durch die Flamme.

Viel häufiger wird aber die Sterilisation mit hohen Temperaturen durchgeführt. Platindrähte und sonstige Instrumente, die bei der Untersuchung in Verwendung kommen, kann man direct der Flamme aussetzen und sie bis zum Glühen bringen — dadurch wird an ihnen jeder Keim vernichtet.

Sterilisation durch trockene Hitze.

Man kann aber nicht alle Instrumente und Gefässe auf diese Weise sterilisiren, entweder weil sie zu gross oder zu zahlreich oder schwierig zu handhaben sind. Dann bedient man sich der Sterilisation mittels trockener Hitze in den sogenannten Trockenkästen. Hier kann man eine Temperatur von 150° C. erzielen. Wenn die zu sterilisirenden Gegenstände im Trockenkasten einer solchen Temperatur im Laufe einer halben Stunde ausgesetzt werden, so hat man die vollkommene Sicherheit, dass sie vollständig keimfrei gemacht worden sind.

Sterilisation im strömenden Dampf.

Dasselbe kann man aber nicht mit Nährböden machen, weil sie solch hohe Temperaturen nicht vertragen und dabei völlig unbrauchbar werden.

Man muss deshalb bei der Sterilisation der Nährböden ein anderes Verfahren anwenden; als solches hat sich die Hitze in Flüssigkeiten als wirkungsvoll erwiesen.

Die Untersuchungen haben gelehrt, dass Sporen, welche bei einer Lufttemperatur von 150° noch circa eine Stunde leben können, im siedenden Wasser in wenigen Minuten abgetötet werden.

Man bedient sich dazu des von Koch construirten „Dampfkochtopfes“.

Circa 15–30 Minuten genügen, um die Nährlösungen keimfrei zu machen.

Die continuirliche Sterilisation nach Tyndall.

Man kann aber nicht alle Nährböden der Siedehitze aussetzen, besonders diejenigen, die stark eiweisshaltig sind. Für diese Fälle bedient man sich der von Tyndall eingeführten discontinuirlichen Sterilisation. Sie beruht auf folgendem Principe:

Die ausgebildeten Bakterien können einer Temperatur von 58–60° nicht widerstehen, während die Sporen von derselben nicht angegriffen werden. Setzt man einmal den betreffenden Nährboden einer Temperatur von circa 60° aus, so gehen die Bakterien zu Grunde, aber die Sporen bleiben und vermögen sich weiter zu entwickeln. Wiederholt man am nächsten Tage dieselbe Procedur, so werden die nun ausgekeimten Bakterien wieder vernichtet. Wenn man diese Procedur einige Tage hinter einander fortsetzt, so wird der Nährboden vollkommen steril gemacht sein.

Man hat also bei der Sterilisation auf folgende ausserordentlich wichtige Regeln zu achten:

1. Wo es darauf ankommt, dass die Bakterien vernichtet werden, wird irgend ein desinficirendes Mittel z. B. 1 pro mille Sublimat angewendet.

2. Alle Glas- und Metallgegenstände, welche von höheren Temperaturen nicht angegriffen werden, kommen in den Trockenkasten für $\frac{1}{4}$ – $\frac{3}{4}$ Stunden bei einer Temperatur von 150° C.

3. Alle Nährlösungen kommen für $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{2}$ Stunde in den Dampfkochtopf bis zum Siedepunkte.

4. Alle eiweisshaltigen Nährböden und Substanzen, welche den Siedepunkt nicht vertragen, werden einer discontinuirlichen Sterilisation unterworfen, und zwar werden sie mindestens 3 Tage hinter einander einer Temperatur von 50–60° ausgesetzt.

Züchtung auf künstlichen Nährböden.

Die Mikroorganismen in ihren natürlichen Medien bieten keine sicheren und genügenden Anhaltspunkte, um ihre morphologischen und biologischen Eigenschaften festzustellen, weil grösstentheils bestimmte zu erforschende Mikroorganismen mit anderen vermengt sind. Um dies aber zu erreichen, trachtet man die einzelnen Bakterienformen zu isoliren, man hebt sie deshalb aus ihren natürlichen Medien heraus und bringt sie auf künstliche Medien — Nährböden, die entweder flüssig oder fest sind. Man hat sich früher flüssiger Nährböden bedient, in denselben lassen sich aber aus begreiflichen Gründen die einzelnen Bakterienarten von einander nicht unterscheiden. Koch gebührt das Verdienst, dass er in die Bakteriologie feste und durchsichtige Nährböden eingeführt hat, auf denen die Isolirung der einzelnen Bakterienarten ermöglicht ist.

Flüssige Nährböden.

1. Koch's Bouillon.

Der flüssigen Nährböden bedient man sich in solchen Fällen, in welchen es sich darum handelt, flüssige Culturen, bei höheren Temperaturen gezüchtet, zu Infectionsversuchen zu verwenden.

500 gr. Rindfleisch werden fein gehackt, in einem Liter Wasser $\frac{3}{4}$ Stunden im Wasserbade gekocht und dann mit einer gesättigten Lösung von Natr. carbonic. alkalisirt. Hierauf wird wieder 1 Stunde gekocht. Man lässt die Flüssigkeit erkalten und filtrirt sie.

Die Reaction muss eine deutlich alkalische sein.

2. Löffler's Bouillon.

Er verfährt ebenso wie Koch, nur setzt er dem ausgepressten und filtrirten Aufgusse noch 10 gr. trockenes Pepton und 5 gr. Kochsalz hinzu, alkalisirt und kocht 1—2 Stunden, bis die Flüssigkeit klar wird etc.

3. Hüppe's Bouillon.

Man kocht zusammen: 1 Liter Wasser, 30 gr. trockenes Pepton, 5 gr. Trauben- oder Rohrzucker und 5 gr. Fleischextract; dann neutralisiren und sterilisiren.

4. Milch.

Man füllt Glasgefässe mit Milch, stopft sie mit Watta zu und sterilisirt 3 Tage hinter einander je 20 bis 30 Minuten bei 100° C.

Feste Nährböden.

I. Gelatine in Verbindung:

1. Mit Fleischwasser-Pepton (nach Koch).

Zu 1 Liter Wasser giebt man 500 gr. feingehacktes, fettfreies Rindfleisch, man lässt es 12—24 Stunden an einem kühlen Ort stehen und presst den Aufguss durch ein Tuch so lange aus, bis aus 1500 gr. des Gemenges 1000 gr. Fleischwasser gewonnen wurde. Zu diesem Extracte setzt man 10 gr. Pept. siccum, 5 gr. Kochsalz und 100 gr. feste Gelatine hinzu. Die ganze Mischung wird in einem grossen Kolben, am Wasserbade oder im Dampfapparate so lange erwärmt, bis die Gelatine aufgelöst ist (etwa eine halbe Stunde). Die Flüssigkeit wird mit einer concentrirten Sodalösung neutralisirt, bis das Lackmuspapier eine schwache, aber deutliche alkalische Reaction zeigt. Dann kocht man weiter eine oder zwei Stunden auf dem Wasserbad oder im Dampftopf, wobei die aus den Muskeln stammenden Eiweisskörper ausgefällt werden.

Die gewonnene Flüssigkeit muss völlig klar und durchsichtig sein, sie darf sich nicht trüben und muss unbedingt alkalisch reagiren. Ist die Gelatine noch sauer, so muss Sodalösung neuerdings zugesetzt werden und wieder $\frac{1}{4}$ Stunde erhitzt werden. Ist sie trübe, und man findet dafür keinen Grund, so setzt man das Weisse von einem Hühnerei oder 2—3 Röhrchen Blutserum zu. Man kocht dann weiter, worauf es zur vollkommenen Klärung der Nährgelatine kommt. Man filtrirt nun mittelst Heissfiltrirtrichters durch ein Faltenfilter, welches vorher mit heissem Wasser befeuchtet wird. Ist das geschehen, so schreitet man zur Fällung der sterilisirten Eprouvetten. Mit einer sterilisirten Pipette werden 10 ccm der Nährgelatine in die Eprouvette hineingegossen, wobei darauf geachtet werden muss, dass der Rand der Eprouvette von der Gelatine nicht verunreinigt wird, weil sonst der Wattapropf, mit dem die Eprouvetten verschlossen werden, an die Ränder derselben angeklebt wird. Nach Einfüllung der Eprouvetten schreitet man zur discontinuirlichen Sterilisation in der bereits beschriebenen Weise.*)

*) Das Glas in neuen Eprouvetten reagirt alkalisch und trübt beim Erhitzen die Gelatine. Es ist deshalb angezeigt, die Eprouvetten vor dem Gebrauche mit angesäuertem Wasser auszuspülen.

2. Mit Fleischextract-Pepton (nach Hüppe).

In einem Glaskolben wird in 1 Liter Wasser 100 gr. Gelatine aufgelöst und nachher 30 gr. Pepton, 5 gr. Traubenzucker, 5 gr. Fleischextract zugesetzt und gekocht. Die kalte Flüssigkeit muss sorgfältig sterilisirt werden.

3. Mit Kartoffelsaft (nach Holz).

Fein zerkleinerte und geschälte Kartoffeln werden durch ein Tuch ausgepresst. Den erhaltenen Saft lässt man bei einer Temperatur von 10° C. in geschlossenen Flaschen stehen. Nach 24 Stunden filtrirt man. Das Filtrat wird im Dampftopf $\frac{1}{2}$ Stunde erhitzt und nochmals filtrirt. Zu 400 gr. dieser Flüssigkeit setzt man 40 gr. Gelatine hinzu, erhitzt im Dampftopf, filtrirt und sterilisirt in den Eprovetten.

4. Mit Milchserum (nach Marie Raskine).

Es giebt 3 Modificationen dieses Nährbodens:

a) Zu 1 Liter unabgeschöpfter Milch, die auf 60—70° C. erwärmt wird, setzt man 70—100 gr. Gelatine hinzu. Nach Auflösung der Gelatine kocht man einige Minuten, wodurch das Kasein ausgefällt wird. Nach Entfernung des Kaseins wird die trübe Flüssigkeit 20 Minuten der Bruttemperatur ausgesetzt. Man lässt sie erkalten und schöpft die Rahmschicht ab. Die Flüssigkeit wird aufgekocht, mit 1% Pepton versetzt, neutralisirt und filtrirt.

b) Zum Hühnereiweiss setzt man successive concentrirte Natronlösung hinzu, bis eine gallertige durchsichtige Masse entsteht. Man schneidet sie mit einem sterilisirten Messer, wäscht in sterilisirtem Wasser und lässt sie so lange stehen, bis die Masse zu einer gelblichen Flüssigkeit wird. Zu der Milchserum-Gelatine setzt man anstatt Pepton 3% dieser gelblich alkalischen Flüssigkeit hinzu.

c) Man lässt Milch 2 Tage stehen, rahmt sie ab und erwärmt circa 20 Minuten bis 70° C. Das vom Serum durch Auspressen befreite Kasein wird in 95% Alkohol ausgewaschen. Man trocknet es und extrahirt mit Aether das Fett; dann trocknet man wieder das Kasein mit Fliesspapier ab und setzt es einer Temperatur von 120—140° C. 10—15 Minuten aus. Unter dem Einflusse der Hitze verwandelt sich das Kasein in klebrige Stücke. Nach dem Auswaschen mit Natronlauge werden die Stücke hornartig, durchsichtig und nach dem Abtrocknen fest.

Man setzt dann zu der Milchserum-Gelatine 2,5% dieses Kaseins hinzu.

6. Mit Milchsäure (nach Morpmann).

Man kocht 1 Liter Milch, welche man dann mit Schwefelsäure fällt. Das Serum wird filtrirt, um es von den ausgeschiedenen Eiweisskörpern zu befreien. Man mischt dasselbe mit kohlen-saurem Kalk und lässt das Gemisch aufkochen. Die Flüssigkeit lässt man dekantiren, schüttelt das Serum, welches neutral sein muss, ab und setzt zu demselben 10% Gelatine hinzu. Man sterilisirt dann 8 Tage je eine Stunde bei 80° C.

II. Agar-Agar in Verbindung:

1. Mit Fleischwasserpepton (nach Koch).

Zu einem Liter Fleischbrühe, welche in der bereits beschriebenen Weise gewonnen wurde, setzt man 10 gr. Pepton siccum und 5 gr. Kochsalz hinzu, man kocht die Mischung eine Stunde, filtrirt sie und zum Filtrat giebt man 20 gr. kleingeschnittenes Agar-Agar oder Agarpulver hinzu und lässt es auf dem Wasserbade auflösen. Man kann auch das Agar vorher in Lösung überführen und es nachher dem Aufguss zusetzen. Hierauf wird mit einigen Tropfen concentrirter Natriumcarbonatlösung neutralisirt. Dann muss die Flüssigkeit entweder auf freiem Feuer oder im Dampfapparat stundenlang gekocht werden, bis die zusammengeballten Eiweisskörper von der klaren Agarlösung ausgeschieden sind, was schneller durch Eiweisszusatz am Schlusse erreicht wird.

Es wird hierauf zur Filtrirung mittelst Heissfiltrirtrichters geschritten, was nur äusserst langsam vor sich geht. Um dem abzuhelfen, wird folgendes Verfahren empfohlen:

Man giesst die heisse Agarlösung in einen hohen Cylinder und lässt sie im Dampftopfe allmählig abkühlen. Die Trübung setzt sich allmählig zu Boden, während oberhalb derselben befindliche Lösung sich successive klärt. Man lässt nun die ganze Agarlösung erstarren. Der obere Theil ist vollkommen klar, während am Boden der trübe Inhalt sich befindet. Durch gelindes Erwärmen entfernt man die Agarmasse aus dem Cylinder und schneidet mit einem Messer den trüben Inhalt ab. Hierauf wird die klare Masse geschmolzen, in Eprovetten eingefüllt und lege artis sterilisirt. Nach Erstarrung ist obere Nährmaase etwas trübe und opak. Tischutkin bringt das zu verwendende Agar in einer verdünnten Essigsäurelösung zur Aufquellung, wäscht es mit reinem Wasser aus und setzt es dem Bouillon hinzu, in dem es sich nach einem Kochen von 3—5 Minuten aufklärt. Es wird hierauf neutralisirt und nach Abkühlung der Lösung das Weisse von zwei Hühnereiern

zugesezt. Die Mischung wird $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunden im Dampfapparat gehalten, die Filtrirung erfolgt dann in kurzer Zeit auch ohne Heisswassertrichter.

Das Fleischwasserpeptonagar unterscheidet sich von Nährgelatine durch seinen höheren Schmelzpunkt. Die letztere schmilzt schon bei 25° C., so dass sie zur Züchtung von Mikroorganismen bei Bruttemperatur nicht verwendet werden kann. Zu diesem Zwecke bedient man sich deshalb des Nähragars. Ein zweiter wesentlicher Unterschied zwischen der Nährgelatine und dem Nähragar besteht darin, dass das letztere, da das Agar kein Eiweisskörper, sondern ein den Kohlehydraten nahestehender Körper ist, nicht peptonisirbar ist und durch Mikroorganismen nicht verflüssigt wird, wie die Nährgelatine.

2. Mit Fleischextract-Pepton.

1 Liter Wasser, 20 gr. Agar-Agar, 30 gr. Pepton, 5 gr. Traubenzucker, 5 gr. Fleischextract werden wie früher behandelt.

3. Mit Glycerin (nach Noard und Roux).

Von grossem Vortheil ist für die Züchtung mancher Mikroorganismen, wenn man dem filtrirten Bouillon 6—7% reines neutrales Glycerin zugleich mit dem Agar zusetzt. Viele Mikroorganismen lassen sich auf diesem Nährboden ausgezeichnet züchten und manche, wie z. B. die Tuberkelbacillen, gedeihen nur auf solchem Agar.

III. Blutserum:

1. Nach Koch.

Das beim Schlachten aus der Wunde fliessende Blut wird in cylindrischen, mit Glaskapseln versehenen, sterilisirten Glasgefässen aufgefangen und dann 48 Stunden im Eiskasten unberührt stehen gelassen. Das ausgeschiedene Serum wird mit sterilisirten Pipetten in sterilisirte Reagensgläser zu je 10 ccm gefüllt. Das Blutserum wird dann durch 5—6 Tage bei 56° je 1—2 Stunden sterilisirt. Um auch jene Mikroorganismen zu tödten, die noch bei höherer Temperatur gedeihen, wird das Blutserum mit Chloroform im Uebermaasse geschüttelt und einige Tage stehen gelassen. Vor dem Gebrauch wird das Chloroform durch Erhitzen entfernt. Die Reagensgläser mit dem flüssig gebliebenen Serum werden in schräger Lage zur Erstarrung gebracht, in einem eigenen Apparate,

der von Koch angegeben wurde. Derselbe stellt einen doppelwandigen Zinkblechkasten dar. Der Zwischenraum zwischen den Wandungen ist mit Wasser gefüllt. Erhitzt man das Wasser auf 65—68° C., so erstarrt das Blutserum. Es muss darauf geachtet werden, dass das Erhitzen des Wassers langsam vor sich geht und dass keine höhere Temperatur als die soeben angegebene erreicht wird, sonst erhält man ein trübes Blutserum. Das Blutserum ist fest, bernsteinfarbig oder etwas heller gefärbt, je nachdem Rinder- oder Hammelblut benützt wurde.

2. Nach Löffler.

Löffler modificirte die Darstellung des Blutserums in folgender Weise: 1% Pepton, 1% Traubenzucker und 0,5% Chlornatrium fügt man einer Rindsbouillon hinzu. Man neutralisirt mit Natriumcarbonat und kocht auf dem Wasserbade bis zur Ausfällung der Eiweisskörper. Dann wird filtrirt. Das Filtrat wird sterilisirt und ein Theil desselben wird mit 3 Theilen Blutserum vermischt. Dann discontinuirliche Sterilisation.

3. In Verbindung mit Gelatine.

Ster. Blutserum mischt man mit der gleichen Menge einer zweimal so concentrirten Gelatinelösung, als man die fertige Blutserum-Gelatine haben will und erwärmt auf 37° C. Nachher wieder Erwärmen etliche Tage hinter einander 1—2 Stunden bei 52° C.

4. Mit Agar-Agar (nach Hüppe).

Man mischt gleiche Mengen sterilisirtes und neutralisirtes Blutserum und verflüssigte sterilirte 2% Agar-Agarlösung.

5. Mit Glycerin (nach Nocard und Roux).

Zum Blutserum werden, ebenso wie zum Agar, 6—8% Glycerin hinzugefügt.

6. Mit Agar (nach Wertheim).

Das von der menschlichen Placenta gewonnene Blutserum wird zu gleichen Theilen mit Nähragar versetzt. Anstatt menschliches Blutserum kann auch solches von Säugethieren verwendet werden.

IV. Vogeleier:

1. Alkalialbuminate (nach Tarchanow und Kolesnikow).

Man lässt Hühnereier 14 Tage in 5—10%iger Kalihydration liegen. Das Eiweiss wird fest, gelatineartig und durchsichtig. Diese Masse wird in Lamellen geschnitten und sterilisiert.

2. Nach Chopin.

Man filtriert Hühnereiweiss und versetzt es mit der gleichen Menge Ammoniak. Nach Erwärmen erhält man einen durchsichtigen Nährboden.

3. Das Kibitzeiweiss (nach Schenk).

Das Eiweiss der Eier der Nesthocker bis zu der Zeit, wo der Embryo seinen Blutlauf entwickelt hat, wurde von Schenk als Nährmedium empfohlen. Es wurde hierzu das Eiweiss der Kibitzeier gewählt, weil diese im Frühling leicht käuflich sind. Wenn man ein mit Sublimatlösung gereinigtes Kibitzei eröffnet, so findet man um die Dotterhaut herum eine dichtere Eiweissmasse, während nach aussen das Eiweiss klarer und weniger dicht ist. Füllt man diese äussere Eiweissmasse in schmale Epruvetten, und legt diese schief, so erhält man bei einer Temperatur, bei der das Eiweiss gerinnt, eine klare, gelatinöse, durchsichtige Masse, welche für die verschiedenen Culturen brauchbar ist.

Man kann dieser Eiweissmasse verschiedene andere Substanzen, Traubenzucker, Dextrin, Kleister, überhaupt in Wasser lösliche Substanzen, die nicht sauer reagiren, hinzufügen, um den Nährboden verschiedenartig zu modificiren. Auch aus der mit Wasser verdünnten concentrirten Eiweissmasse kann man die Nährböden herstellen; nur muss das Eiweiss früher filtrirt werden.

Vor dem Gebrauche sind Epruvetten discontinuirlich zu sterilisiren.

Zu **Plattenculturen** ist Kibitzeiweiss auch verwendbar, nur muss es nach sorgfältiger Sterilisation unter einem sterilisirten Recipienten einer Luftpumpe über Schwefelsäure, auf einer sterilisirten Glasplatte (Schale) getrocknet und dann nach der Infection in der feuchten Kammer erhalten werden.

Das Plattenverfahren kann dadurch erleichtert werden, dass man das Kibitzeiweiss mit Gelatine oder Agar mischt.

4. Frische Eier für anaerobe Culturen (nach Hüppe).

Man reinigt sorgfältigst die Schalen von frischen Eiern, sterilisiert sie mit Sublimat, spült sie mit sterilem Wasser und trocknet sie mit steriler Watte ab. Man macht in die Eierschale mit einem spitzen, ausgeglühten Instrumente eine feine Oeffnung und impft die zu cultivirende Form. Die Oeffnung wird dann verklebt mit Papier und Kollodium. Dieser Nährboden eignet sich zur Züchtung anaerober Culturen.

V. Reis:

1. Milchreis (nach Kral).

Man mischt in einer Reibschale 100 gr. Reispulver mit 250 cem abgerahmter Milch; die Mischung wird in einer Porzellanschale über einer Bunsenflamme unter beständigem Umrühren in einen festen Brei umgewandelt. Derselbe wird noch im heissem Zustande mittelst eines Hornspatels in einen sogenannten Kartoffelbohrer eingestrichen. Nach dem Erkalten schiebt man den Reiscylinder mit dem Bohrerstempel etwas hervor, und schneidet ihn mittelst eines bogenartig gefassten, dünnen Platindrahtes in Scheiben von 6—7 mm Dicke. Man bringt sie in Glasdosen, fügt 8 Tropfen Milch hinzu und lässt sie 1—1½ Stunden im strömenden Dampfe sterilisiren.

2. Milchbouillonreis (nach Soyka-Eisenberg).

Man verreibt 100 gr. Reispulver, 210 gr. Milch und 70 gr. Bouillon in einer Reibschale, hierauf wird die Masse in Glasdosen gebracht und ohne Deckel im Wasserbade erhitzt, bis die Masse erstarrt. Nach Schliessen der Dosen mit den Deckeln sterilisiert man sie im Dampfkochtopf an drei auf einander folgenden Tagen je 15—20 Minuten. Der Nährboden bildet dann eine homogene schmutzigweisse bis milchkaffeeähnliche Masse mit glatter Oberfläche.

VI. Kartoffeln:

1. Ungeschälte Kartoffelhälften (nach Koch).

Einen ausgezeichneten Nährboden, auf dem viele Mikroorganismen in sehr charakteristischer Weise wachsen, bilden die Kartoffeln, die von Schrötter zuerst angewendet werden. Die Kartoffeln werden sorgfältigst mit einer harten Bürste unter Wasser gereinigt und mit einem spitzen Messer entfernt man, ohne zu tief in die

Kartoffel einzuschneiden, die sogen. Augen und die knolligen Auswüchse. Hierauf kommen sie ca. auf $\frac{3}{4}$ —1 Stunde in folgende Lösung:

Sublimat	1,0
Salzsäure	5,0
Wasser	100,0

Man spült dann gründlich in sterilisirtem Wasser ab und giebt sie in den Dampftopf auf $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunden, wo sie gekocht und sterilisirt werden. Nach der Abkühlung fasst man sie mit zwei oder drei in Sublimat getauchten Fingern der linken Hand und schneidet mit dem durch Ausglühen steril gemachten Kartoffelmesser entzwei, man hebt sie in sterilisirten Schalen, mit der Schnittfläche nach oben gerichtet, auf. Die Kartoffeln haben gewöhnlich eine saure Reaction; falls es nothwendig wird, kann man sie mit einer Sodalösung leicht alkalisch machen.

2. Geschälte Kartoffelscheiben (nach v. Esmarch).

Die Kartoffeln werden geschält, gründlich gereinigt, die sogen. Augen und Faulflecke entfernt und dann in ca. 1 cm dicke Scheiben zerschnitten. Man legt sie in entsprechende Glasschälchen und sterilisirt sie 3 Tage hinter einander je $\frac{1}{4}$ —1 Stunde. Man kann auf diese Weise Kartoffeln zu Culturzwecken stets vorrätzig halten.

3. Geschälte Kartoffelcylinder (nach Bolton, Globig).

Mit einem Korkbohrer von geringerem Durchmesser als die Reagirgläser werden aus den Kartoffeln Stücke von cylindrischer Form herausgeschnitten, dann durch einen schrägen Längsschnitt in zwei gleiche Segmente zerlegt und hierauf in Reagensglässchen, die mit Watte verstopft werden, gelegt. Da sich Condensationswasser absetzt, so werden, um die Berührung desselben mit den Kartoffeln zu vermeiden, die Kartoffelcylinder in specielle Reagensglässchen gebracht, die am Boden halsartig verlaufen und sich in einem kugeligen Reservoir, in dem sich das Condensationswasser ansammelt, fortsetzen. Sterilisation 3 Tage hinter einander, am ersten Tag $\frac{1}{2}$ Stunde, die folgenden 15—20 Minuten.

4. Kartoffelbrei (nach Eisenberg).

Die heiss zerriebenen Kartoffeln werden mit einem Spatel in Glasdosen, auf welche ein planer Glasdeckel aufgeschliffen ist, gepresst und geglättet. Sterilisation. Verwendung zu Dauerculturen mittelst Paraffinverschlusses.

5. Durchscheinende Kartoffelscheiben (nach Wood).

Man schneidet aus weichen Kartoffeln sehr feine Scheiben, drückt sie an sterilisirte Glasstreifen und bringt sie auf denselben in die Reagensgläser. Sterilisation.

VII. Andere Nährböden:

1. Nährboden (nach Kowalski).

Man zerkleinert 1 kg einer Kalbslunge und übergiesst sie mit 2 Liter Wasser und lässt den Aufguss an einem kühlen Orte stehen. Man presst den Aufguss aus und zum Filtrate wird folgendes hinzugefügt:

Kochsalz	18 gr.
Phosphorsaures Kali	9 gr.
Schwefelsaures Ammoniak	9 gr.
Schwefelsaures Natron	25 gr.
Zucker	90 gr.
Pepton	25 gr.

Nach gänzlicher Lösung setzt man der Mischung entweder 10—15% Gelatine oder 2% Agar-Agar hinzu und kocht bis zur vollständigen Lösung. Hierauf wird mit gleichen Theilen einer Kali- und Natronlauge neutralisirt, auf 2,5 Liter durch Wasser ersetzt und unter 50° C. abgekühlt. Man giebt der Flüssigkeit das zu Schnee geschlagene Eiweiss von 5 Hühnereiern hinzu. Es wird nochmals gekocht und filtrirt. Zum Filtrate von strohgelber Verfärbung wird 8—10% Glycerin beigefügt, dann in Gläser gefüllt und 3 Tage hinter einander je 10 Minuten sterilisirt.

2. Nährgallerte (nach Miquel).

Man kocht 300—400 gr. irisches Moos (Carragheen, *Fucus crispus*) in 10 Liter Wasser. Man filtrirt dann, das Filtrat wird wieder gekocht und heiss kolirt. Das Filtrat dampft man auf dem Wasserbade ab und trocknet es bei 40—45° C.; dem Bouillon wird 10% dieser Gallerte hinzugesetzt.

3. Fleischscheiben (nach Kral).

Frisches Fleisch wird sorgfältig von allem Bindegewebe befreit und fein zerkleinert. Der Brei wird auf einer grossen Glasplatte in sehr dünnen Schichten ausgebreitet und bei 40—50° C. getrocknet. Es entsteht eine hornartige Masse, die zu einem feinen Pulver verrieben und durch ein feinmaschiges Seidenflor-

sieb von größeren Theilen befreit wird. Man nimmt 100 gr. von diesem Fleischpulver und verreibt sie mit 300 cem peptonisirter Fleischbrühe in einer Porzellanschale zu einem Brei. Dieser wird zwischen mit Glycerin befeuchtete kreisrunde Glasscheiben geschichtet (10—15 über einander), in eine Blechbüchse gegeben, die mit Bouillon ausgefüllt, verschlossen und durch 15 Minuten einer Temperatur von 100° C. überlassen. Man zieht die Glasplatten von einander ab und macht mit dem Kartoffelbohrer runde Stücke und bringt sie in Glasdosen, wo sie 1—1½ Stunden im strömenden Dampfe sterilisirt werden.

4. Brotbrei.

Man dörft Graubrod, zerreibt es zu Pulver, welches man in Erlenmayer'sche Kölbchen ½ cm hoch hineingiebt und setzt zu demselben wenig Wasser hinzu. Für Spaltpilze muss der Brei mit Natriumcarbonat sterilisirt werden. Für Schimmelpilze kann der Brei ohne Neutralisation verwendet werden. Sterilisation in beiden Fällen.

5. Oblaten (nach Schill).

Oblaten werden mit einer Nährlösung befeuchtet, und dann in Glasdosen sterilisirt. Ein günstiges Nährmaterial für chromogene Bakterien.

Verwendung der Nährböden.

Koch's Plattenculturen.

Zum Gewinnen von Reinculturen und zum Nähren der Keime verwendet man Gelatine- oder Agar-Agarplatten. Man verfährt dabei folgendermaassen. Man macht den betreffenden Nährboden durch gelindes Erwärmen flüssig und inficirt ihn dann mit der Platinnadel und zwar so, dass man sie wiederholt im flüssigen Nährboden hin und her bewegt. Aus diesem macht man Verdünnungen. Man entnimmt aus diesem Reagensgläschen 3 Platinösen und bringt sie in ein zweites Reagensgläschen, in dem man den Nährboden ebenfalls flüssig gemacht hat. Aus dem zweiten Reagensgläschen entnimmt man wieder 3 Oesen und impft ein drittes Reagensgläschen. Man bereitet sich vorher viereckige Glasplatten und lässt sie durch 20 Minuten im Trockenkasten sterilisiren; dann lässt man sie auf dem Nivellirapparat abkühlen und giesst den Inhalt auf je eine Platte aus. Man deckt sie mit einer Glas-

glocke zu und lässt erstarren. Ist das geschehen, werden sie in feuchten Kammern auf Glasbänkchen aufbewahrt.

Anstatt dieses ziemlich umständlichen Plattenverfahrens bedient man sich jetzt allgemein der Petri'schen Schalen. Der inficirte Inhalt der Eprouvette wird unter Vorsichtsmaassregeln in die untere Schale ausgegossen und mit der oberen zugedeckt.

Günther modificirte das Plattenverfahren folgendermaassen: Auf eine Glasfläche bringt er einige isolirt von einander liegende Tropfen von sterilisirtem Wasser oder von Bouillon, inficirt mit dem Platindraht den ersten Tropfen und überträgt mittelst der stets von neuem ausgeglühten Platinnadel den Injectionsstoff nach einander in die weiteren Tropfen. Von dem letzten Tropfen wird eine Oese in eine Eprouvette mit flüssiger Gelatine gebracht und diese in eine Petri'sche Schale ausgegossen.

Koch's Objectträgerculturen.

Auf einen Objectträger giesst man unter allen Vorsichtsmaassregeln etwas Gelatine aus, lässt sie erstarren und streicht sie mit der inficirten Platinnadel.

Rollculturen nach v. Esmarch.

Die Gelatine oder Agar-Agar wird wie gewöhnlich flüssig gemacht, geimpft, mit Watte verschlossen, über welche man noch eine Gummikapsel giebt. Dann wird das Reagensgläschen unter kaltem Wasser regelmässig gedreht. Der Nährboden kommt sodann auf die Innenfläche des Reagensgläschens in dünner Schicht zu liegen.

Die Anlage von Reinculturen.

Bei der Anlage irgend einer Reincultur verfährt man folgendermaassen:

Man hat z. B. eine weisse Maus, die an Anthrax gestorben ist und will eine Reincultur von Anthrax gewinnen. Im Trockenkasten sterilisirt man mehrere Glasplatten ca. $\frac{1}{2}$ Stunde. Unterdessen nimmt man 3 Reagensgläschen mit irgend einem Nährboden, z. B. mit Gelatine. Durch gelindes Erwärmen an der Flamme führt man den Nährboden in flüssigen Zustand über. Man öffnet jetzt rasch die Maus und nimmt mit der geglühten Platinnadel, der man die Form einer Oese gegeben hat, ein wenig Blut oder Milzsaft und führt es in eine der vorbereiteten Reagensgläschen, welches flüssige Gelatine enthält, hinein und bewegt in derselben die Nadel hin und her, damit das Blut resp. der Milzsaft gut

vertheilt werde. Aus diesem Reagensgläschen nimmt man 3 Oesen voll und führt sie in das zweite Reagensgläschen und von hier wieder 3 Oesen voll in das dritte. Auf diese Weise hat man sich die Verdünnungen hergestellt.

Man nimmt jetzt aus dem Trockenapparate eine Glasplatte, giebt ihr auf dem Giessapparat mittelst Libelle eine vollkommen horizontale Lage und giesst den Inhalt der ersten Eprouvette auf dieselbe aus oder man bedient sich besser der Petri'schen Schalen. Nach dem Erstarren hebt man die Platte auf sterilisirten Glasbänken in einer feuchten Kammer auf. Es ist das eine grosse verschliessbare Glasdose, in die man auf den Boden mit Sublimat befeuchtetes Filtrirpapier legt.

Dasselbe macht man mit den zwei übrigen Eprouvetten.

An demselben oder am nächsten Tage werden die Platten von Zeit zu Zeit untersucht mit blossen Auge und unter dem Mikroskop. Man findet darin kleine und grössere Pünktchen, die nichts anderes als im Wachstum begriffene Colonien sind. Diese Colonien müssen aber nicht eben von Anthrax herrühren. Im Blute resp. in dem Milzsaft sind auch andere Mikroorganismen enthalten, die mit der Cultur hineingekommen sind.

Man muss jetzt herausfinden, welche von diesen Colonien Anthrax ist und ihn dann isoliren. Man verfährt dabei wieder folgendermassen: Aus jeder der auf den Platten sich befindenden Colonien wird eine Sticheultur gemacht.

Man nimmt von jeder Colonie mit der Platinnadel ein wenig und sticht in eine Eprouvette mit fester Gelatine hinein. Bei der Anwendung von Agar-Agar und Blutserum macht man eine Strichcultur. Man streicht mit der Platinnadel die entnommene Colonie auf die Oberfläche des schief erstarrten Agar-Agar und Blutserum.

Man verfolgt dann das Wachstum in den Eprouvetten und controlirt sie mit dem Mikroskop im gefärbten oder ungefärbten Zustande. Hat man ein Reagensgläschen gefunden, in dem man Anthrax vermuthet, so werden nochmals Platten gegossen, die Colonien isolirt, bis man eine Reincultur gewinnt.

Klatschpräparate. Um sich bei der Absuchung von Platten-
culturen rasch über die Beschaffenheit einer Colonie zu orientiren,
werden sogen. Klatschpräparate angefertigt. Hat man eine
Colonie gefunden, die geprüft werden soll, so legt man auf die-
selbe ein sterilisirtes Deckgläschen, drückt dasselbe an die Colonie
leicht an und hebt es dann vorsichtig ab. Am Deckgläschen bleibt
in der Regel ein Theil oder die ganze Colonie haften. Es wird
nachher getrocknet, filtrirt und gefärbt.

Züchtung anaërober Bakterien.

Bei Beschränkung der Luft.

Nach Koch.

Man legt auf die Gelatine oder Agar-Agar-Platten im Beginn des Erstarrens ausgeglühte dünne Plättchen von Marienglas oder Glimmer.

Nach Hesse.

Man giesst Gelatine oder sterilisirtes Oel auf die Stich- oder Strichculturen.

Nach von Esmarch.

Der Hohlraum von fertigen Rollröhrchen wird mit flüssiger Gelatine ausgefüllt, indem die Röhrchen im Eiswasser gehalten werden.

Nach Buchner.

Die Cultur wird in ein Reagensglas gebracht, auf dessen Boden sich 1 gr. trockene käufliche Pyrogallussäure befindet, zu der 10 ccm einer $\frac{1}{10}$ Kalilauge hinzugefügt wird. Das Reagensglas wird dann sofort mit Gummipropf luftdicht verschlossen. Das alkalische Pyrogallol absorbiert den Sauerstoff, so dass die Cultur sich in einer Atmosphäre von Stickstoff mit etwas Kohlensäure und Kohlenoxyd befindet.

Nach Hüppe.

Siehe pag. 9, Absatz 4.

Nach Kitasato.

Man verwendet reducirende Substanzen, und zwar wird dem fertigen noch flüssigen Agar-Agar am besten 0,3 bis 0,5% ameisen-saures Natron zugesetzt, dann sterilisirt.

Nach Fuchs.

Das Reagensglas wird nach Abgiessen des Condensationswassers umgedreht; von unten her wird in dasselbe mittelst eines Glasrohres durch einige Minuten Wasserstoff geleitet. Hierauf wird von unten mit einem Gummipropfen fest verschlossen, welcher dann paraffinirt wird.

Bei vollständiger Entfernung der Luft.

1. Nach Buchner, Hauser und Liborius.

Das Reagensgläschen hat einen Ansatz, der sich über dem Niveau des Nährbodens befindet. Der Ansatz steht in Verbindung mit einem Wasserstoff-Entwicklungs-Apparat. Nach der Infection des Nährbodens wird das Glas unter dem Wappapfropf ausgezogen und nach Durchleitung des Gases zugeschmolzen. Nachdem schmilzt man auch den Ansatz zu.

2. Nach Roux und Liborius.

In besonderen Glasröhrchen, die ebenfalls mit einem rechtwinklig gebogenen Ansatz versehen sind, wird durch den letzteren Wasserstoff ca. 10 Minuten in die Nährflüssigkeit geleitet, dann wird wie früher zugeschmolzen.

3. Nach Hüppe und C. Fränkel.

In einem Kolben, der mit einem luftdicht schliessenden doppeltdurchbohrten Gummipfropfen versehen ist, leitet man durch ein auf den Boden reichendes Glasrohr Wasserstoff über den Nährboden, während durch ein zweites Rohr die Luft entfernt wird. Nach Durchleitung des Gases, was 10—20 Minuten dauert, werden die Glasrohre zugeschmolzen.

4. Nach M. Gruber.

Längere Reagensgläser verengt man ungefähr 5 cm unterhalb der Öffnung. Man füllt den betreffenden Nährboden, verschliesst mit Watta und sterilisirt. Man impft dann, drückt den Wappapfropf bis zur Verengung des Reagensglases und verschliesst mit einem Gummipfropf, der ein rechtwinkliges Glasrohr in sich enthält. Während der Erwärmung des Reagensglases auf 30—35° (Gelatine) oder 40—47° (Agar-Agar) verbindet man das rechtwinklig gebogene Rohr mit einer Luftpumpe und pumpt die Luft aus. Hierauf wird das Röhrchen unterhalb des Wappapfropfens zugeschmolzen.

5. Hohe Cultur nach Liborius.

Das den Nährboden enthaltende Reagensglas wird durch Erhitzen mit siedendem Wasser von der Luft befreit und rasch auf 30—40° C. abgekühlt. Es wird dann rasch geimpft und zugeschmolzen.

Schutzvorrichtungen.

Die sterilisirten Nährböden sowie Gefässe müssen vor dem Eindringen von Mikroorganismen geschützt werden, sie dürfen nicht, wenn die Untersuchungen exact sein sollen, verunreinigt werden. Die Gefässe, die die Nährböden und die Culturen enthalten, müssen deshalb sorgfältigst verschlossen werden. Man bedient sich hierzu des Wattaverschlusses, über den man noch eine Gummikapsel geben kann.

Es ist rathsam, die Nährböden sowie die Culturen so selten als möglich zu öffnen. Ist man aber gezwungen, sie zu öffnen, so dürfen dabei die Gefässe nicht vertical gehalten werden, sondern nur unter einem Winkel, da man sonst der Gefahr ausgesetzt ist, dass aus der Luft Mikroorganismen eindringen werden.

Conservirung der Culturen.

Kral verfährt bei der Conservirung der Bakterienculturen in der Weise, dass er sie auf Kartoffelcylinder impft, und in gut verschliessbare Dosen bringt, die dann mit Paraffin und Weingeistfirnis keimdicht abgeschlossen werden.

Durch einfaches Zuschmelzen der Eprouvetten können die Culturen ebenfalls conservirt werden.

Praussnitz übergiesst Sticheultur mit 1%iger Carbonsäure oder mit 5%iger Essigsäure und versiegelt den Korkverschluss.

Jacobi conservirt die Gelatineplatte in 1%iger Kaliumbichromlösung einige Tage, härtet sie in Alkohol und schneidet sie wie Gewebsstücke. Um Theilchen von Agarplatten aufzuheben, giebt sie Günther auf einen Objectträger, auf dem sich ein Tropfen Glycerin befindet, und deckt sie mit dem Deckglas zu. Hierauf Endschluss mit Lack.

Mikroskopische Untersuchung.

Ungefärbte Präparate im hohlen Objectträger oder im hängenden Tropfen.

Man reinigt ein Deckgläschen, zieht es durch die Flamme und bringt darauf mit der Platinnadel ein Tröpfchen der zu untersuchenden Flüssigkeit. Das Deckglas wird umgekehrt und über der Höhlung des Objectträgers mit Vaselin befestigt. Es wird dann bei enger Blende untersucht.

Die Untersuchung im ungefärbten Zustande wird nur dann angewendet, wenn es darauf ankommt, die Beweglichkeit der be-

treffenden Bakterien zu beobachten. In allen übrigen Fällen werden die Bakterien mit verschiedenen Farbstoffen nach verschiedenen Methoden gefärbt und mit entsprechenden Reagentien behandelt.

Die bei bakteriologischen Untersuchungen gebräuchlichen Farbstoffe, Reagentien und deren Herstellung.

Anilinfarben.

Die Anilinfarben, die im Jahre 1863 von Waldeyer und Frey in die mikroskopische Technik eingeführt wurden, haben seither bei der wachsenden Production derselben eine stark verbreitete Anwendung gefunden. Die Anilinfarbstoffe zerfallen in zwei grosse Gruppen, welche durch chemische Eigenthümlichkeiten von einander scharf geschieden sind, nämlich in die sauren und die basischen Farbstoffe. Bei den ersteren ist das färbende Princip eine Säure, bei den zweiten eine Base. In die Gruppe der sauren Farbstoffe gehören: Pikrinsäure, Eosin, Aurolin, Orange, Säurefuchsin, Anilinblau etc.; in die Gruppe der basischen: Methylenblau, Methylviolett, Fuchsin, Gentianaviolett, Safranin, Vesuvin etc.

In eine verschliessbare Flasche mit absolutem Alkohöl wird im Ueberschusse Farbstoff in Pulverform eingeschüttet.

Es muss dann am Boden der concentrirten Lösung ein Satz von ungelöstem Farbstoff zurückbleiben, sonst wird frischer Farbstoff hinzugefügt. Beim Verbrauch der Lösung wird immer frischer, absoluter Alkohol aufgegossen.

Aus dieser concentrirten „Stammlösung“ bereitet man sich jedesmal verdünnte alkoholische Lösungen, indem man in destillirtes Wasser oder in verdünnten Alkohol soviel der concentrirten Lösung hinzufügt, als die Concentration gewünscht ist.

In der bakteriologischen Technik werden hauptsächlich die basischen Farbstoffe angewendet.

Fuchsin liefert eine intensive rothe Färbung der Bakterien, der chromatischen Substanz des Kernes, eine leichte Plasmafärbung und eine intensive Mucinfärbung.

Methylenblau, Methyl- und Gentianaviolett liefert eine mehr oder minder blauviolette Färbung der Bakterien und der Kerne.

Bismarckbraun. Bakterien, Kerne dunkelbraun. Protoplasma lichtbraun, Muskeln strohgelb.

Gefärbt wird in diesen Farbstoffen bei Schnitten $\frac{1}{2}$ Stunde

bei 1 Tag, worauf in Alkohol so lange ausgezogen wird, bis keine Farbwolken mehr aufsteigen.

Verbindungen der Anilinfarben:

Um die Wirkung der Anilinfarben zu verstärken, werden sie mit verschiedenen Flüssigkeiten gemischt.

Mit Kalilauge.

a) Nach Koch.

Concentr. alkoh. Methylenblaul.	1 kem.
Aq. destill.	200 kem.
10% Kalilauge	0,2 kem.

b) Nach Löffler.

Concentr. alkoh. Methylenblaulösung	30 kem.
0,01% Kalilauge	100 kem.

Mit Ammoniak.

Nach Weigert.

Liq. amm. caust.	0,5 gr.
Alk. absol.	10,0 gr.
Aq. destill.	90,0 gr.
Gentianaviolett	2,0 gr.

Mit Ammoniakcarbonat.

Nach Hermann.

a) Krystallviolett	1 gr.
95% Alkohol	30 kem.
b) Ammoniakcarbonat	1 gr.
Aq. destill.	100 kem.

Zu einem Theile der Lösung b) wird so vielmal die Lösung a) hinzugesetzt, bis ein Tropfen der Mischung auf Filtrirpapier eine starke Farbe erzeugt.

Mit Borax.

Nach Sahli.

Aq. destill.	40,0 gr.
Gesättigte wässrige Lösung von Methylenblau	24,0 gr.
5% Boraxlösung	16,0 gr.

Mit Carbolsäure.

a) Nach Ziehl-Neelsen.

Aq. destill.	100 gr.
Ac. carb. crystal.	5 gr.
Alkoh.	10 gr.
Fuchsin	1 gr.

b) Nach Kühne.

Methylenblau	1,5 gr.
Alkoh. abs.	10,0 gr.
dann allmählig zugesetzt 5% Carbols.	100,0 gr.

Mit Borsäure.

Nach Lübbimoff.

Man mischt 20 gr. Aq. destill., 0,5 gr. Borsäure und 15,0 gr. Alkohol absol. und setzt zu dieser Flüssigkeit 0,5 gr. Fuchsin hinzu.

Mit Salpetersäure.

Nach B. Fränkel.

Wasser	50 gr.
Alkohol	30 gr.
Acid. nitric.	20 gr.

Methylenblau so viel, als sich nach wiederholtem Schütteln löst.

Mit Schwefelsäure.

Nach Gabbet.

25%ige Schwefelsäure	100 Theile
Metylenblau	1—2 Theile

Mit Essigsäure.

a) Nach Friedländer.

Conc. alkoh. Gentianaviolett	50 gr.
Acid. acet.	10,0 gr.
Destillirtes Wasser	100,0 gr.

b) Nach Ribbert.

Wasser	100 Theile
Alkohol	50 Theile
Eisessig	12½ Theile.

Diese Flüssigkeit wird in der Wärme mit Dahlia gesättigt.

Mit Anilinwasser.

a) Nach Ehrlich.

Ca. 5 cem Anilin mit 100 cem Wasser geschüttelt und dann nach einigen Minuten filtrirt. Zu dem Filtrat wird von einer gesättigten alkohol. Fuchsin- oder Methylviolettlösung so lange hinzugefügt, bis eine deutliche Opalescenz der Flüssigkeit entsteht.

b) Nach Weigert-Koch.

95 cem Aqua destillata werden mit 5 cem chemisch reinem Anilin versetzt; nach gehörigem Schütteln filtrirt man und zum Filtrate wird hinzugesetzt:

Conc. Alkohol-Lösung von Fuchsin oder Methylviolett 11 cem.
Absoluter Alkohol 10 cem.

c) Nach Löffler.

Man mischt 100 cem gesättigte Anilinwasserlösung mit 1 cem einer 1% Natriumhydratlösung. Man giesst diese alkalisch reagierende Flüssigkeit in Erlenmayer'sche Kölbchen, in welche man 4—5 gr. Methylviolett, Methylenblau oder Fuchsin in substantia hineingiebt. Man schliesst sie und schüttelt sie tüchtig. Vor dem Gebrauche ist jedesmal zu filtriren.

Mit Anilin- und Nelkenöllösung.

Nach Kühne.

Man verreibt eine Messerspitze Methylenblau oder Safranin, Auramin etc. mit 10,0 gr. reinem Anilinöl resp. 15,0 gr. Nelkenöl. Einige Tropfen von dieser Mischung werden vor dem Gebrauch mit dem betreffenden Oel bis zur gewünschten Concentration versetzt.

Ausser den Anilinfarbstoffen können noch andere nicht anilin-haltige Farbstoffe wie Karminlösungen und Haematoxylinlösungen, besonders bei der Untersuchung von Schnitten, angewendet werden.

Karminlösungen.

Ammoniakalisches Karmin.

Darstellung: Karmin pulv. 1,0
Ammoniak 1,0
Wasser 100,0

Nach der Auflösung des Karmins unter dem Einflusse des

Wassers wird die Lösung filtrirt und an der Luft so lange stehen gelassen, bis der ganze Ammoniak verdunstet.

Einwirkung: Einige Minuten bis mehrere Stunden.

Lithionkarmin.

Darstellung: Karmin 2,5 gr.
Kalt gesättigte Lösung von Lithion.
carbonicum 100,0 cem.

Einwirkung: Sehr kurze Zeit.

Grenacher's Alaunkarmin.

Darstellung: Gepulvertes Alaun 3,0 gr.
Karmin 1,0 gr.
Wasser 100 cem.

In einer Schale wird der Alaun mit dem Karmin zerrieben und dann im Wasserbade 10—20 Minuten gekocht. Die Lösung wird dann filtrirt.

Einwirkung: 15 Minuten und mehrere Stunden.

Grenacher's Boraxkarmin.

Darstellung: Karmin 0,75—1,0 gr.
Borax 2,0 gr.
Wasser 100 cem.

werden gekocht. Nach dem Erkalten wird tropfenweise Essigsäure zugesetzt und die Lösung sich selbst 24 Stunden überlassen, hierauf wird filtrirt.

Einwirkung: Einige Minuten bis mehrere Stunden.

Czokor's Alauncochenille.

Cochenille 0,0 gr.
Gebrannt. Alaun 7,9 gr.
Aq. destill. 700,0 gr.

Man zerreibt die Cochenille und den Alaun zu einem Pulver und kocht es in 700 cem Wasser so lange, bis die ganze Lösung nur 400 cem hat. Hierauf wird wiederholt filtrirt. Bei Schimmelbildung kann man die Lösung mit einigen Krystallen Thymol desinficiren.

Einwirkung: Einige Minuten bis mehrere Stunden.

Haematoxylinlösungen.

Nach Delafield.

Darstellung: Haematoxylin 4,0 cem.
Alkohol absol. 25 cem.
Conc. wässrige Ammoniaklös. 400 cem.

Man setzt die Lösung einige Tage dem Licht aus und filtrirt sie nachher. Hierauf wird zu der Lösung:

Glycerin 100 cem.
Methylalkohol 100 cem.

hinzugefügt, neuerdings einige Tage stehen gelassen und nochmals filtrirt.

Einwirkung: Dieser Farbstoff färbt ausserordentlich rasch und intensiv. Schon nach einigen Minuten tritt Ueberfärbung ein. Besser und bequemer ist es, wenn man einen Theil der Lösung stark mit Wasser verdünnt und die Schnitte in derselben einige Minuten färbt. Es tritt dabei niemals Ueberfärbung ein.

Ehrlich's Haematoxylin.

Darstellung: Haematoxylin 2,0 cem.
Eisessig 10 cem.
Glycerin }
Alkohol absol. } je 100 cem.
Wasser }
Alaun im Ueberschuss.

Einwirkung: Einige Minuten.

Entfärbungsflüssigkeiten.

Jodjodkaliumlösung.

(Lugo'sche Lösung bei der Gram'schen Methode anwendbar.)

Jod 1 gr.
Jodjodkalium 2,0 gr.
Destill. Wasser 300 gr.

Nach Kühne.

Jod 2 gr.
Jodjodkalium 4 gr.
Destill. Wasser 100 gr.

Von dieser Lösung wird bei jedesmaligem Gebrauch in einem

Schälchen so viel Wasser hinzugesetzt, bis die Lösung eine Madeira-
farbe angenommen hat.

Säurelösungen zum Entfärben.

Salpeter - Salz - Schwefelsäure in ca. 25%igen wässrigen
Lösungen.

Essigsäure in $\frac{1}{2}$ —1%iger Lösung.

Saurer Alkohol.

Salpetersäure	1 Theil
Alkohol	10 Theile.

Allgemeines über die Färbung der Bakterien.

Färbung der Deckglaspräparate.

Auf ein reines Deckglas bringt man die zu untersuchende
Cultur oder Flüssigkeit mittelst einer Platinnadel. Man legt ein
zweites Deckglas darauf und verreibt fein zwischen den beiden
Deckgläsern. Man zieht die Deckgläser von einander und lässt
sie eine Weile an der Luft trocknen, worauf man sie dreimal durch
die Flamme zieht. Dann giebt man entweder die Deckgläser in Uhr-
schälchen, in welchen sich der betreffende Farbstoff befindet, oder
man bringt mittelst Pipette den betreffenden Farbstoff auf das
Deckglas und lässt ihn darauf 1—5 Minuten. Man spült dann in
Wasser ab, lässt wieder an der Luft trocknen und schliesst in
Balsam ein.

Isolirte Färbung der Bakterien.

Nach Gram.

Um mit Sicherheit behaupten zu können, dass man thatsäch-
lich die Bakterien gefärbt hat und nicht etwa Kerndetritus, Plasma-
körnungen und die sogen. Mastzellen (Ehrlich), die sich alle
ebenfalls mit Anilinfarben gut tingiren, bedient man sich der
isolirten Bakterienfärbung, die darauf beruht, dass man farbstoff-
entziehende Substanzen einwirken lässt, die die nichtbakteriellen
Bestandtheile des Präparates vollkommen entfärben, ohne zugleich
die Bakterien zu entfärben.

Nach Gram verfährt man dabei folgendermaassen:

Mit Anilinwasser Gentianaviolett gefärbte Präparate (1—2 Min.) kommen in die Jodjodkaliumlösung, dann gleich darauf in Alkohol, bis die Präparate gänzlich entfärbt sind. Man wäscht dann in Wasser und färbt in der Regel mit einem anderen Contrastfarbstoffe nach. Hat man sogen. Gentianaviolett angewendet, so kann man mit Vesuvin oder mit irgend einem rothen Farbstoff nachfärben. Diese Methode ist aber nicht für alle Bakterien anwendbar.

Nach Gram färben sich folgende pathogene Mikroorganismen: Der Milzbrandbacillus, der Tuberkelbacillus, der Leprabacillus, der Diphtheriebacillus, der Tetanusbacillus, die Streptokokken, der Staphylococcus pyogenes aureus, der Diplococcus pneumoniae, Actinomyces. Bacillen des Schweinerotlaufes, der Mäusesepsikämie und Mikrooccus tetragenus.

Nach Gram färben sich nicht:

Der Typhusbacillus, der Rotzbacillus, der Bacillus des malignen Oedems, des Kommabacillus, der Cholera asiatica, Bacillus Pneumoniae Friedländer, die Gonokokken, die Recurrensspirillen, Rauschbrandbacillus, Hühnercholera, Kaninchensepsikämie, Schweineseuche, Rinder- und Wildseuche.

Kapselfärbung.

Nach Ribbert.

Die Deckgläser kommen in die Ribbert'sche Lösung auf eine kurze Zeit und werden sofort in Wasser abgespült. Die Bacillen sind dunkelblau, die Kapseln hellblau.

Nach Friedländer.

Man färbt in der Friedländer'schen essigsäuren Gentianaviolettlösung, entfärbt in 0,1% Essigsäure und spült in Wasser ab.

Sporenfärbung.

Bei der gewöhnlichen Färbung der Bakterien bleiben die Sporen ungefärbt; um sie zur Darstellung zu bringen, werden folgende Methoden angegeben.

Nach Neisser - Bienstock.

Man färbt die Präparate mit Anilinwasser-Fuchsin in der Wärme, und wäscht dann mit salzsaurem Alkohol aus. Nachfärben mit Methylenblau. Die Bakterienzelle ist blau und die Sporen roth.

Nach Buchner-Hüppe.

Das präparierte Deckglas wird entweder im Trockenkasten $\frac{1}{2}$ —1 Stunde auf 210° erhitzt oder 1 Stunde bei 120° C. im Dampf gehalten, oder mit concentrirter englischer Schwefelsäure betupft und nach 15 Secunden sorgfältig ausgewaschen, resp. nach Hüppe (statt dreimal) 7—10mal durch die Flamme gezogen.

Die Färbung geschieht dann analog der Tuberkelbacillenfärbung nach Ehrlich.

Nach Hauser.

Auf ein präpariertes Deckglas wird concentrirte wässrige Fuchsinlösung geschüttet, dann 30—40 mal durch die Flamme geführt, bis Dämpfe aufsteigen; hierauf Entfärbung in einer 25% Schwefelsäure, auswaschen in Wasser und nachfärben mit Methylenblau.

Nach Ernst.

Auf die präparierten Deckgläschen wird starke alkalische Löffler'sche Methylenblaulösung geschüttet, dann $\frac{1}{2}$ Minute durch die Flamme hin und her geführt, bis leichte Nebel aufsteigen (Flüssigkeit darf nicht zum Sieden kommen). Abspülen im Wasser, nachfärben durch 1—2 Minuten in Bismarckbraun oder mit sehr verdünnter Fuchsinlösung. Sporen sind blau gefärbt.

Nach Neisser.

Man färbt in erwärmtem Carbofuchsin, spült in 1% Schwefelsäure und färbt mit Löffler's Methylenblaulösung nach. Oder man färbt in Anilinwasser-Methylenviolettlösung, spült in 1% Schwefelsäure und färbt mit Safranin nach.

Nach Moeller

färbt man die Sporen folgendermaassen: Die präparierten Deckgläschen kommen auf einige Minuten in absoluten Alkohol und hierauf auf ebenso kurze Zeit in Chloroform. Es wird in Wasser abgospült und auf zwei Minuten in 5%ige Chromsäure gebracht. Es wird wieder in Wasser abgospült und einige Tropfen einer wässrigen Carbofuchsinlösung auf das Deckglas geträufelt. Man erwärmt das Deckglas bis zum einmaligen Aufkochen der Farbeflüssigkeit. Der Farbstoff wird abgossen und das Deckgläschen kommt in eine 5%ige Schwefelsäure bis zur Entfärbung. Hierauf wird gründlich in Wasser ausgewaschen und eine halbe Minute mit

einer wässrigen Lösung von Methylenblau oder Malachitgrün nachgefärbt. In blau oder grün gefärbten Bakterienzellen befinden sich die dunkelroth gefärbten Sporen.

Geisselfärbung.

Die Geisseln werden bei der gewöhnlichen Färbung der Bakterien nicht sichtbar, um dieselben darzustellen, worden besondere Methoden angewendet.

Nach Koch.

Man färbt die Präparate mit einer concentrirten wässrigen Lösung von Extr. campechianum, dann kommen sie in 0,5%ige Chromsäure oder in Müller'sche Lösung; es bildet sich dann eine unlösliche braunschwarze Verbindung des Extr. campech. mit der Chromsäure. Abspülen in Wasser, trocken einschliessen.

Nach Löffler.

Die schönsten Bilder erzielt man mit der Löffler'schen Methode.

Die lege artis hergestellten ungefärbten und fixirten Deckglaspräparate kommen auf $\frac{1}{2}$ —1 Minute in folgendermaassen hergestellte Beize: 2 gr. Tannin werden in der Wärme in 8 cem. Wasser gelöst; zu der Lösung setzt man 5 cem. einer kalt gesättigten wässrigen Ferrosulfatlösung und 1 cem. einer gesättigten alkoholischen Fuchsinlösung hinzu.

Man spült die Beize ab und trocknet das Präparat durch Abblasen. Hierauf giebt man auf das Deckglas einige Tropfen einer Farbstofflösung und erwärmt an der Flamme bis zur beginnenden Dampfbildung. Abspülen in Wasser, einschliessen. Bei dieser Methode färbt sich sowohl die Geissel, als alle anderen Bestandtheile der Bakterienzelle.

Nach Trenkmann.

Die Geisseln werden dargestellt, wenn man die Präparate vor der Färbung mit Tanninsalzsäure oder Campechholzextract mit Carbonsäurezusatz oder Campechholzextract mit Säure behandelt. Die Geisseln werden noch deutlicher, wenn man die gebeizten und gefärbten Präparate in einem Tropfen Jodwasser untersucht. Man bringt auf einen Objectträger 2—3 Tropfen gekochtes Wasser, versetzt sie mit einem kleinen Tropfen der zu untersuchenden Cultur, mischt gut, bringt ein kleines Tröpfchen auf ein Deckglas, breitet

es aus, trocknet an der Luft und legt es in eine Lösung, die 2% Tannin und 0,5% Salzsäure enthält. In dieser Lösung bleibt das Deckglas 6—12 Stunden, wird dann in Wasser abgespült, auf eine Stunde in Jodwasser gelegt, wieder abgespült und für eine halbe Stunde in eine schwache Gentianaviolettanilinwasserlösung gebracht.

Nach Künstler.

Zu der zu färbenden Flüssigkeit wird auf dem Objectträger ein Tropfen Osmiumsäure hinzugefügt; hierauf lässt man das Gemisch durch 15 Minuten verdunsten und bedeckt es mit einem Deckgläschen, auf dessen 4 Ränder man je ein kleines Tröpfchen concentrirter Lösung von Colinschwarz bringt, welches man mit einer Nadel mit der Flüssigkeit unter dem Deckglas in Verbindung bringt.

Das Deckglas wird dann mit Paraffin und darauf mit Wachs umgeben. In ca. 8—14 Tagen sind die Cilien sehr deutlich gefärbt.

Untersuchung der Bakterien in Schnitten.

Die Härtung.

Die Härtung wird für bakteriologische Zwecke grösstentheils in absolutem Alkohol vorgenommen, der mehrmals gewechselt werden muss.

Der käufliche absolute Alkohol und der längere Zeit in Verwendung seiende sind in der Regel nicht ganz wasserfrei. Das verursacht auch manchmal den Präparaten keinen besonderen Schaden. Will man jedoch möglichst absolut wasserfreien Alkohol haben, so kann man sich solchen von 96%igem Alkohol herstellen. Das Cuprum sulfuricum wird auf einer Metallplatte oder in einem Metalltiegel geglüht. Es bildet sich ein weisses Pulver, welches hohe wasserentziehende Eigenschaften besitzt. Man giebt nun eine grössere Quantität dieses Pulvers in eine Flasche und giesst darauf 96%igen Alkohol. Vor dem Gebrauch ist nur zu filtriren. Das Pulver wird mit der Zeit durch Wasseraufnahme grünlich, es ist daher angezeigt, dasselbe von Zeit zu Zeit zu wechseln.

Einbettung.

Die gehärteten Stücke werden, um mit dem Mikrotom in Schnitte zerlegt zu werden, eingebettet. Man bedient sich dazu mehrerer Methoden:

1. Glyceringelatineeinbettung.

Man bedient sich zu diesem Zwecke einer Mischung von Glycerin und Gelatine. 1 Theil Gelatine, 2 Theile Wasser, 4 Theile Glycerin werden gelöst und kurze Zeit gekocht. Man giebt einen Tropfen von dieser Mischung auf einen Kork oder Holzklötz, drückt darauf das Präparat, lässt erkalten und giebt das Ganze in schwachen Alkohol.

Viel vortheilhafter ist die Einbettung in Celloidin und Paraffin.

2. Die Celloidineinbettung.

Die Celloidineinbettung geschieht in folgender Weise: Die Objecte werden sorgfältigst in absolutem Alkohol entwässert. Um sicherer zu sein, dass das vollständig geschehen ist, kann man die Präparate noch auf 1—2 Tage entweder in reinem Aethyläther oder in ein Gemisch von gleichen Theilen Methyläther und absoluten Alkohol hineingeben. Hierauf kommen die Präparate in eine wasserdünne Celloidinlösung, in der man sie, je nach ihrer Consistenz, 2—8 Tage belässt. Aus dieser Lösung überträgt man die Präparate in eine etwas dickere Celloidinlösung, in der sie wiederum einige Tage verbleiben. Zum Schluss bedient man sich einer honigdicken Lösung, bei welcher man in folgender Weise verfährt: Eine Glasschale oder ein Papierkästchen wird mit der letzteren so gefüllt, dass das hineingebrachte Präparat gänzlich von ihr bedeckt wird. Man lässt nun diese Lösung mit dem Präparate etwa 1—2 Tage offen stehen. Durch die Verdunstung des Aethers wird die Masse härter. Zur vollständigen Erhärtung giebt man die Glasschale und das Papierkästchen in 80—80% Alkohol.

Nachdem das geschehen ist, schneidet man aus der Masse das Präparat in der Weise heraus, dass um das letztere eine dünne Celloidinschicht verbleibt. Dieser Block wird dann entweder auf einem Kork oder auf ein Holzklötzchen aufgeklebt. Auf diejenige Fläche des letzteren, auf welche man aufkleben will, gießt man eine geringe Quantität von der dicken Celloidinlösung und drückt dann den Celloidinblock darauf. Nach einigen Minuten bringt man das Klötzchen, mit dem Präparat nach unten gewendet, in 50—70% Alkohol.

Zur Herstellung der Celloidinlösung bedient man sich einer Mischung bestehend aus gleichen Theilen absolutem Alkohol und Aether. Man giebt in dieselbe so viel klein geschnittene Celloidinstückchen hinein, dass eine honigartige Lösung entsteht. Aus derselben kann man sich dann durch Hinzufügung von Alkohol und Aether dünnere Lösungen herstellen.

3. Die Paraffineinbettung.

Xylolmethode.

Das Präparat kommt aus dem absoluten Alkohol in ein Gefäß mit Xylol und wird in dem letzteren so lange belassen, bis es vollständig durchsichtig wird. Das geht ziemlich rasch von statten. Hierauf kommt das Präparat in ein Gemisch von Xylol und Paraffin (Xylolparaffin), welches man sich in folgender Weise herstellt: Das weiche Paraffin wird in ganz kleine Stückchen zerschnitten oder man schabt es mit dem Messer in eine Schale hinein, in welche man so viel Xylol hineingiebt, bis eine breiige Masse entsteht. In dieser Masse verbleiben nun die Präparate in Thermostaten mit constanter Temperatur von etwa 60° C., je nach ihrer Consistenz einige Stunden bis einen ganzen Tag. Mittlerweile schneidet man das harte Paraffin in kleine Stückchen und lässt es im Thermostaten schmelzen. Aus dem Xylolparaffin kommen dann die Präparate auf 1—2 Stunden in das harte Paraffin, in dem die definitive Einbettung stattfindet.

Die Xylolmethode kann einigermaßen vereinfacht werden, ohne dass die Präparate den geringsten Schaden leiden würden. Aus dem Xylol kommen die Präparate statt in das Xylolparaffin direct in das weiche geschmolzene Paraffin und von hier auf eine kurze Weile in das harte hinein.

Chloroformmethode.

In das Gefäß mit dem absoluten Alkohol, in welchem das Präparat enthalten ist, wird tropfenweise reines Chloroform hinzugesetzt. Das schwerere Chloroform sinkt zu Boden, wodurch der Alkohol mit dem Präparat in die Höhe getrieben wird. Ein kurze Weile sieht man das Präparat an der Grenze der beiden Flüssigkeiten schwimmen. Es beginnen nun im Präparate Diffusionsströmungen, wodurch das Präparat zu Boden sinkt. Aus diesem Gemisch kommt das Präparat auf mindestens einen Tag in reines Chloroform.

Aehnlich wie bei der Xylolmethode stellt man sich eine Chloroformparaffinmischung her, in welche man das Präparat hineinlegt. Man stellt das in den Wärmekasten, in welchem es so lange bleibt, bis das Chloroform vollständig verdunstet ist. Das Paraffin kommt hierauf in das geschmolzene harte Paraffin auf einige Stunden, worauf die Einbettung erfolgt. Auch bei Chloroformmethode kann das Chloroformparaffin ganz hinwegfallen. Es kommen also die Präparate aus dem reinen Chloroform direct in das geschmolzene weiche Paraffin etc.

Färbung der Schnitte.

Nach Löffler.

Die Schnitte kommen in Löffler's Methyleneblaulösung, und werden dann entfärbt in 0,5% Essigsäurelösung. Absol. Alkohol. Cedernöl. Kanadabalsam.

Nach Koch.

Die gefärbten Schnitte kommen in eine Lösung von kohlen-saurem Kali (gesättigtes kohlen. Kali mit gleichen Theilen Wasser). Alkohol, Cedernöl etc.

Nach Schütz.

Färben in Kalilauge 0,01% und conc. alkohol. Methyleneblau-lösung zu gleichen Theilen, ca. 14 Stunden Abspülen in Wasser mit 4 Tropfen Essigs. Alkohol 50%. Alk. abs. etc.

Nach Gram.

Färben in Anilinwasser-Gentianaviolett 1—3 Minuten. Ab-spülen in Wasser, Entfärben in Jodjodkaliumlösung, Auswaschen in 90% Alk., absol. Alk. etc.

Günther's Modification der Gram'schen Methode.

Bei dieser Modification verfährt Günther folgendermaassen:

1. Der Schnitt gelangt aus Alkohol in eben filtrirte Anilin-wassergentianaviolettlösung auf 1—2 Minuten. Die Farblösung muss mindestens 24 Stunden alt sein.
2. Herausnehmen des Schnittes mit der Nadel, Abtupfen der überschüssigen Farblösung auf Fliesspapier und Einbringen des Schnittes in Jodjodkaliumlösung auf 2 Minuten.
3. In Alkohol auf $\frac{1}{2}$ Minute.
4. In 3%igen Salzsäure-Alkohol auf genau 10 Sekunden.
5. Mit Ablauf der 10 Sekunden sofortige Uebertragung in neuen reinen Alkohol auf mehrere Minuten.
6. Noch ein oder mehrere Male Uebertragung in frischen Alkohol bei der maximalen Entfärbung.
7. In Xylol einschliessen.

Kühne's Modification der Gram'schen Methode.

a) Färben in Victoriablau 1 gr. in 50 ccm. 50% Alk., welcher zur Hälfte mit einer 1%igen wässrigen Lösung von kohlen-saurem

Ammoniak versetzt wurde. Abspülen in Wasser. Entfärben in Jodjodkaliumlösung (2:4:100) 2—3 Min. Abspülen in Wasser. Ausziehen des Farbstoffes durch Fluorescin-Alkohol, reiner Alkoh., dann mit Anilinöl behandelt, worauf Ausziehen des Anilinöls durch ätherisches Oel und Xylol. Einschliessen.

b) Färben in einer wässrigen Violettlösung mit Salzsäure versetzt (1 gtt. Salzsäure auf 50 gtt. Wasser) 10 Minuten. Abspülen in Wasser. Entfärben in Jodjodkalium. 2—3 Minuten. Abspülen in Wasser, Alkoh. abs. Reines Anilinöl zur Ausziehung. Differenzirung und Entwässerung, ätherisches Oel, Xylol, Balsam.

Kühne's Carbolmethylenblau-Methode.

Färben in Carbolmethylenblau $\frac{1}{2}$ —2 Stunden. Abspülen im Wasser und entfärben in angesäuertem Alkohol. Dann wieder abspülen in einer wässrigen Lösung von kohlen-saurem Lithion und in reinem Wasser. Eintauchen in Alkohol abs. mit etwas Methylenblau, dann Methylenblau-Anilinöl. Abspülen in reinem Anilinöl. Aetherisches Oel. Xylol. Balsam.

Kühne's Fuchsin-Methode.

Färben in Carbofuchsin 3—5 Minuten. Abspülen im Wasser. Eintauchen in Alkohol; zur Differenzirung und Entfärbung in Methylgrün-Anilinöl 15 Minuten bis 2 Stunden. Aetherisches Oel. Xylol. Balsam.

Kühne's Fluorescinnelkenöl-Methode.

Die Schnitte kommen in conc. wässrige Oxalsäurelösung auf 5—10 Minuten. Abspülen in Wasser. Entwässern in Alkohol, färben in Fuchsin-Anilinwasser oder Methylenblau in $\frac{1}{2}$ —1% wässriger Ammoniumcarbonatlösung. Entwässern in abs. Alkohol, zu dem etwas Fuchsin resp. Methylenblau hinzugesetzt wurde, 5—10 Minuten. Zur Differenzirung kommen sie in Fluorescein-Nelkenöl, worauf in Eosin-Nelkenöl für Schnitte, die mit Methylenblau gefärbt wurden. Aetherisches Oel. Xylol. Balsam.

Nach Weigert.

Schnitte färbt man in mit Gentiana- oder Methylviolett gesättigtem Anilinwasser. Abspülen in Chlornatrium, abtrocknen, mit Jod behandeln. Hierauf wieder abtrocknen und Anilinöl auf das Präparat tropfen. Dasselbe 2—3 mal erneuern. Ausziehung des Anilinöls durch Xylol, Balsam.

Weigert's Modification nach Kühne.

Färben in conc. wässriger Violletlösung mit 1 Tropfen CIH auf 50 gr. Lösund. Abspülen in Wasser. Jodjodkalium. Abs. Alk. Anilinöl, Xylol, Balsam.

Trockenmethode nach Kuhne.

Färben in 1% wässrig. Ammoniumcarbonatlösung, der conc. wässriges Methylenblau zugesetzt wird. 10—15 M. Abspülen in Wasser. Entfärben in 1—2% CIH. Auswaschen in Wasser. Trocknen auf dem Objectträger. Xylol, Balsam.

Schnittpräparate von Reinculturen.

Eine Gelatine- oder Agarcultur wird aus dem Reagensglase durch Erwärmen entfernt und in Alkohol übertragen, in dem die Cultur schnittfähig gemacht wird. Man filtrirt auf einem Kork und schneidet mit dem Mikrotom.

Neisser giebt die Culturen auf 8 Tage in eine 20% ige Lösung von Kali bichromicum und setzt dem Licht aus. Hierauf wird in Wasser sorgfältig ausgewaschen, in Alkohol gehärtet und geschnitten. Um Mikrotomschnitte von lebenden Bakterienulturen ohne Härtung herzustellen, verfährt Winkler folgendermaassen: Man bedient sich zu diesem Zweck des weichen Paraffins. Man schneidet sich aus der Paraffinmasse einen prismatischen in die betreffende Mikrotomklammer passenden Block zu, bohrt mit einer der niedrigsten Nummern aus dem Kochbasiersalze einen Cylinder aus und schliesst mit einem kleinen Stückchen Paraffin die untere Oeffnung. Den so erhaltenen Cylinder legt man auf eine Stunde in ein Gefäss mit Sublimat. Bei besonders wichtigen Arbeiten macht man das Paraffin zuerst durch Erwärmen unter dem Schmelzapparat keimfrei, lässt es in einer sterilisierten Schale erstarren, schneidet mittelst eines sterilisirten Messers den in die Mikrotomklammer passenden Block aus und setzt dann den in der Hitze sterilisirten und erkalteten Bohrer an.

Die Höhlung wird mit Gelatine gefüllt. Man inficirt vorher die Nährmasse und füllt dann den Parafinhohlraum oder lässt die reine Nährmasse in der Höhlung erstarren und legt eine Stichcultur an. Auch zur Untersuchung anaërober Mikroorganismen kann man das Paraffin mit vorzüglichem Resultat benutzen. Unmittelbar nach der Füllung des Hohlraumes mit der bereits inficirten Nährmasse wird die obere Oeffnung durch ein kleines Stückchen Paraffin geschlossen. Die Zerlegung der Schnitte wird unter Alkohol vorgenommen. Der Schnitt löst sich sehr leicht von der

umschliessenden Masse ab und bleibt am Mikrotommesser haften. Man spült ihn mit Alkohol ab und fasst ihn mit einem vorher in Alkohol getauchten Pinsel auf und überträgt ihn in ein mit 70% Alkohol gefülltes Schälchen.

Thierversuche.

Eine der wichtigsten Untersuchungsmethoden in der Bakteriologie ist der Thierversuch, um die pathogene Wirkung der betreffenden Bakterien zu erforschen. Es werden dabei mehrere Wege eingeschlagen, die etwa annähernd den natürlichen Eintrittspforten beim Menschen entsprechen, um dem Thiere die zu untersuchenden Mikroorganismen in Reincultur oder die letzteren enthaltende Se- und Excrete beizubringen.

Subcutane Injektionen. Mittelst einer Spritze wird dem Thiere unter Beobachtung aller Vorsichtsmaassregeln der betreffende Infectionsstoff unter die Haut gebracht. Bei kleineren Thieren kann man dasselbe auch in der Weise ausführen, dass ein kleiner Einschnitt in der Haut gemacht und der Infectionsstoff mit der Platinoë unter die Haut gebracht wird.

Durch die Luftwege. Um die Infection durch die Luftwege auszuführen, bedient man sich eines Sprayapparates, in dem die betreffende Cultur zerstäubt wird. Man bringt zu diesem Zwecke das Versuchsthier in einen Kasten und dirigirt das Sprayrohr in den letzteren hinein.

Intravenöse Injektionen. Man wählt dazu irgend eine oberflächlich gelegene Halsvene, zu der man unter allen antiseptischen Cautelen gelangt. Man kann sich zu demselben Zwecke eines Einstiches in ein Ohrgefäss bedienen.

Durch den Verdauungsapparat. Hierbei können mehrere Wege eingeschlagen werden: Man füttert das Thier mit dem betreffenden Infectionsstoff, indem man ihn unter das Futter mischt, oder derselbe wird mit der Schlundsonde, was man bei flüssigen Infectionsstoffen thut, direct in den Magen gebracht. Da der Magensaft sauer reagirt und die Bakterien in sauren Medien rasch absterben, so wird bei solchen Versuchen oft der Magensaft mit einer Sodälösung neutralisirt und das geschieht wiederum mit der Schlundsonde. Es können ferner Magen- und Darmfistel angelegt werden, durch welche der Infectionsstoff direct in den Verdauungsapparat hineingebracht wird.

Die Infection durch die vordere Augenkammer. Mit einer Lanzettnadel wird an der Grenze zwischen Sclera und Cornea

ein kleiner Einstich gemacht und so die vordere Augenkammer eröffnet. Man bringt dann mit der Platinnadel den betreffenden Infectionsstoff in die letztere hinein.

Specieller Theil.

Kommabacillus der Cholera asiatica. Koch.

Im Jahre 1883 brach in Aegypten die Cholera aus. Zum Studium derselben wurde eine französische und eine deutsche Expedition entsendet. Die deutsche Expedition unter Koch's Leitung setzte ihre Untersuchungen in Indien, in der Heimath der Cholera, fort. Im Mai des Jahres 1884 theilte Koch der Choleraconferenz, welche in Berlin abgehalten wurde, die Resultate seiner Untersuchungen mit. Nach denselben ist als Erreger der Cholera ein Stäbchen anzusehen, welches sich immer in den Darmentleerungen Cholerakranker befindet und welches Koch auch im Wasser eines Tanko in der Nähe von Calcutta nachweisen konnte.

Die Resultate der deutschen Expedition basirten auf Obduktionen von 11 Cholerafällen in Aegypten und 42 in Indien und auf die Untersuchung von Dejecten von 32 Cholerakranken.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Die Cholerabacillen sind lebhaft bewegliche Stäbchen, dicker und kürzer als der Tuberkelbacillus (etwa $\frac{1}{2}$ oder höchstens $\frac{2}{3}$ so lang) und etwas gekrümmt, wodurch sie die Form eines Beistriches erhalten. Häufig treten sie paarweise auf und lagern so an einander, dass sie einen Halbkreis oder eine S-Form bilden. In künstlichen Culturen, besonders in älteren (selten im Choleradarm) findet man fadenförmige Verbände, welche sich bei Untersuchung im lebenden Zustande (im hängenden Tropfen) als Spirillen erweisen. Die Spirillen sind als Involutionerscheinungen aufzufassen. Sie sind auch thatsächlich dicker als die Stäbchen, die die Kommaform beibehalten haben. Ausserdem findet man in Präparaten von Reinculturen Stäbchen, die die charakteristische Krümmung nicht aufweisen, sondern gerade gestreckt sind.

An einem Ende befindet sich eine gebogene Geissel, die $1-1\frac{1}{2}$

so lang ist das Stäbchen und deren Dicke $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{8}$ der Dicke des Stäbchens beträgt. Diese Geisseln wurden zuerst von Neuhaus und dann von Löffler nach einer bestimmten Methode dargestellt.

Von Koch und anderen wurden keine Sporen beobachtet, dagegen macht Hüppe folgende Beobachtungen:

„Die Bacillen wuchsen zuerst zu schraubigen Fäden aus; dann entstanden an einzelnen vorher nicht zu bestimmenden Stellen kleine, glänzende Kügelchen, welche das Licht stärker brachen, als der übrige Zellinhalt und sich von diesem unschwer unterscheiden liessen; diese Kügelchen entwickelten sich nicht wie die Sporen im Milzbrandstäbchen als besondere Gebilde, sondern das ganze Glied formte sich allmählig unmittelbar in die neue Gestalt um und meist gingen aus einer Zelle zwei solche Kügelchen hervor. Dieselben sind, nach Hüppe, unbeweglich und vermehren sich sicher nicht durch Theilung, wohl aber vermögen sie auszukeimen und neue Bacillen aus sich hervorgehen zu lassen. Ihr Glanz nimmt ab, sie strecken sich in die Länge, und Hüppe sah so mit eigenen Augen aus dieser Frucht die junge Zelle entstehen. Er fasst den Vorgang als Arthosporenbildung auf und hält die Kügelchen für Gliedersporen.“

Diese Gebilde haben aber mit einer Sporenbildung nichts zu thun. Es handelt sich hier lediglich um Involutionsformen, die man besonders in älteren Culturen als körnige Kugeln findet. Dauerformen sind also bis jetzt nicht nachgewiesen worden. Im Gegentheil, sie scheinen die empfindlichsten Bakterien zu sein, die wir kennen: Austrocknung, hohe Temperaturen, chemische Eingriffe tödten sie leichter, als andere Mikroorganismen.

Wenn man einer Cultur (bei 37° C. gezüchtet) 5 bis 10% CaH_2 oder SO_4H_2 hinzusetzt, so entsteht eine rosaviolette Verfärbung der Cultur, das sogen. Choleraroth, welches Brieger isolirt hat und welches von Salkowski als Indol erkannt wurde. Nach seinen Untersuchungen handelt es sich hier um die Nitroso-Indolreaction (Indol, Salpetrige Säure giebt eine Rothfärbung). Die Reaction gelangt sowohl mit peptonhaltigem Bouillon, in dem die Bacillen ca. 24 Stunden im Thermostaten gewachsen sind, als auf festen Nährböden. Diese Reaction wurde von Pöehl, Bujwid und Dunham unabhängig von einander gefunden. Die Autoren stellten diese Reaction als specifisch für die Cholera hin. Auch Koch behauptet, dass keine von den bis jetzt bekannten gekrümmten Stäbchen diese Reaction zeigen. Nach anderen Untersuchungen ist aber diese Reaction keinesfalls zuverlässig, da noch manche andere Mikroorganismen eine ähnliche Erscheinung aufweisen, so der Kommabacillus von Finkler, der Kommabacillus von Deneke, der Vibrio Metschnikow, der Vibrio berolinensis. Wenn man den

Culturen von diesen Mikroorganismen salpetrige Säure, oder ein Gemenge von Kaliumnitrit und Schwefelsäure zusetzt, so tritt ebenfalls eine Rothfärbung ein.

Künstliche Züchtung.

Der Kommabacillus gedeiht auf allen gebräuchlichsten Nährböden schon bei Zimmertemperatur, lebhafter freilich bei Brutttemperatur. Die Nährböden müssen aber alkalisch sein, da er auf schwach sauren oder neutralen schlecht oder gar nicht wächst. Nach Dahmen wird der Nährboden am besten folgendermassen alkalisch gemacht: Zu 100 cem. kochender, vorher genau neutralisirter Gelatine wird genau krystallisirtes kohlen-saures Natron hinzugefügt. Flügge setzt zu diesem Zweck zu einem Liter Bouillon 35 cem., zu einem Liter Gelatine 55 cem. einer Sodalösung hinzu, welche 10,6% durch Glühen von Natriumbicarbonat hergestellte Soda enthält.

Auf Gelatineplatten entstehen nach 24 Stunden Colonien mit unregelmässig zackigen Contouren. Später werden die Colonien grobkörnig, und die Körner erhalten einen Glanz, wodurch die Colonien wie „Häufchen von Glasbröckchen“ aussehen. Es tritt eine trichterförmige Vertiefung ein, welche durch Verdunstung des Wassers in der langsam vorflüssigenden Gelatine entsteht.

In Stichculturen (Gelatine): von der Oberfläche der Gelatine, von der Stelle des Stiches beginnend, bildet sich nach innen eine trichterförmige Einsenkung, welche mit Luft gefüllt ist, wodurch die Cultur das Aussehen erhält, als würde über ihr eine Luftblase schwimmen. Es tritt längs des ganzen Impfstiches eine langsame Verflüssigung ein. Auf der Oberfläche bildet sich eine weisse Decke, eine Art Kammhaut. Nach 8 Wochen ist die Cultur abgestorben.

Auf Agarplatten entstehen runde durchsichtige Colonien, die lichtbraun verfärbt sind.

Auf Strichculturen wachsen die Kommabacillen in Form eines vom Impfstich ausgehenden weisslichen Ueberzugs.

Auf Kibitzeiweiss im Reagenzglas wächst der Kommabacillus ohne Verflüssigung und Verfärbung des Nährbodens.

Auf Kartoffeln bilden sich (nur nicht bei Zimmertemperatur) bei 30—40° C. graubräunliche Rasen von breig zerfliessender Consistenz. Noch besser gedeihen sie auf Kartoffeln, wenn man dieselben vorher alkalisch macht.

Im Bouillon trübt sich die Flüssigkeit und in älteren Culturen entstehen Kammhäute.

Blutserum verflüssigen die Kommabacillen.

Im sterilisirten Wasser gedeihen sie sehr gut, im gewöhnlichen Wasser jedoch nicht, da sie von den im letzteren lebenden Bakterien überwuchert werden.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Die Kommabacillen finden sich in den Faeces von Cholera-kranken, ferner im Darminhalt von Choleraleichen und im Gewebe des Darmcanals. In anderen Organen wurden sie bis jetzt nicht gefunden. Der Kommabacillus ist ein facultativer Parasit, der auch ausserhalb des Organismus leben kann. In Choleraegenden wurde er im Wasser nachgewiesen und dürfte auch auf Speisen gelangen. Die Infection geschieht beim Menschen ausschliesslich vom Darmcanal aus, wobei die Incubationsdauer 1—2 Tage beträgt.

In den letzten Choleraepidemien wurden wiederholt letal endende Cholerafälle beobachtet, bei welchen in den Dejecten keine Kommabacillen gefunden werden konnten; andererseits wieder konnte man solche zur Zeit der Epidemie im Darne Gesunder finden.

Die ersten Versuche bei Thieren künstlich Cholera zu erzeugen, wurden im Jahre 1884 von Nicati und Rietsch am Meerschweinchen gemacht. Sie unterbanden den Ductus choledochus und führten eine Reincultur direct in das Duodenum ein, dadurch wurde die Einwirkung des sauren Magensaftes auf die sauerempfindlichen Mikroorganismen vermieden. Dasselbe erzielte dann Koch in einer anderen Weise.

Koch verfährt bei diesen Versuchen folgendermaassen:

Man bringt dem Thiere 5 cem. einer 5 procentigen Soda-lösung mit der Schlundsonde bei, um den Magensaft und den Mageninhalt zu entsäuern. Dann spritzt man in die Bauchhöhle eine Quantität Opium, um die Darmbewegungen zu lähmen. Es genügt, wenn man auf etwa 200 gr. des Thiergewichts 1 gr. Tinct. Op. anwendet, mit der Pravaz'schen Spritze die Bauchdecken durchsticht und langsam einfließen lässt. Man wähle diesen Weg, um das Opium bei den Meerschweinchen zur Wirkung zu bringen, da dieselben es vom Magen aus so gut wie gar nicht aufzunehmen vermögen. Im übrigen vertragen die Thiere diese Behandlung vortrefflich. Bald nach der Opiuminjection injicirt man durch die Schlundsonde 10 cem. einer Aufschwemmung von Cholera-bakterien in Bouillon. Das Thier erholt sich bald, aber schon am nächsten Tage giebt es Zeichen von Missbehagen, verweigert das Futter, bekommt eine lähmungsartige Schwäche der hinteren Extremitäten, schwache und verlangsamte Respiration und ist in der Regel nach 48 Stunden todt, ohne vorher erbrochen oder wässrige Entleerungen von sich gegeben zu haben. Die Section ergiebt Röthung des Dünndarms. Derselbe

war mit einer wässrigen Flüssigkeit gefüllt, die Kommabacillen enthält. Es wurde ein der Cholera des Menschen ähnliches, aber keineswegs identisches Bild erzielt.

In den letzten Jahren wurden auch Versuche mit Cholera-culturen an Menschen angestellt. Diesen Weg betreten zuerst Pettenkofer und Emmerich, indem sie selbst eine Quantität einer Cholera-cultur einnahmen. Weiter wurden Versuche im hiesigen Stricker'schen Institut angestellt. Diese Versuche ergaben aber keine einwandfreien Resultate. In den diarrhöischen Stühlen waren zwar Kommabacillen enthalten, das klinische Bild aber war keineswegs das einer Cholera-erkrankung, sondern es wurde besonders in einem Fall eine acute Gastroenteritis hervorgerufen.

Das Cholera-gift. Cantani fand, das die Cholera-bacillen ein Gift produciren, welches Brieger zu isoliren gelang. Er fand nämlich neben dem Cadaverin, Putrescin und Cholin specifische Toxine, welche durch die Einwirkung der Kommabacillen entstehen.

Meerschweinchen erweisen sich für das Cholera-gift als sehr empfänglich. Wenn man von einer jungen Agar-cultur eine Aufschwemmung im sterilen Bouillon herstellt (15 mg. der Agar-cultur auf 350 gr. Körpergewicht des Thieres) und dieselbe einem Meerschweinchen intraperitoneal injicirt, so tritt ein Vergiftungseffect nach wenigen Stunden auf. Die Temperatur sinkt, das Thier wird matt, die hinteren Extremitäten in einem lähmungsartigen Zustand, es treten von Zeit zu Zeit fibrilläre Zuckungen auf und nach ca. 16 Stunden ist das Thier todt. Wenn man aber Meerschweinchen intraperitoneal durch Erhitzen abgetödtete Cholera-culturen einverleibt und nachher intraperitoneal eine Bouillonaufschwemmung von einer virulenten Cholera-cultur injicirt, so treten die erwähnten letal ausgehenden Zustände nicht auf, sondern es stellt sich nur eine vorübergehende Allgemeinerkrankung ein: Es handelt sich in diesem Fall, wie Pfeiffer und Wassermann gezeigt haben, nicht um eine Immunisirung des Thieres, sondern um eine Erhöhung der bakterienschädigenden Eigenschaften der Körpersäfte der Thiere. Das Blutserum von Menschen, die Cholera asiatica überstanden haben, besitzt ebenfalls Meerschweinchen schützende Eigenschaften.

Färbungsmethoden.

Deckgläser färbt man in wässrigen kalten oder erwärmten Anilinfarbstofflösungen.

Schnitte färbt man 24 Stunden in den gewöhnlichen Anilinfarbstofflösungen.

Bei der Gram'schen Methode entfärben sich die Kommabacillen.

Der Nachweis der Cholera bacillen im Stuhl.

Der Nachweis der Cholera bacillen im Stuhl kann in erster Linie *lege artis* durch die im allgemeinen Theil beschriebenen Methoden erbracht werden. Es handelt sich aber im grössten Theil der Fälle um eine möglichst rasche Diagnose. Zu diesem Zwecke bedient man sich folgender Nährböden.

Man nimmt mit einer Oese ein Flöckchen von dem verdächtigen möglichst frischen Stuhl, verreibt es zwischen zwei Deckgläsern, färbt mit Ziehl'scher Lösung und untersucht. Liegt Cholera asiatica vor, so wird man in grösserer Zahl die charakteristischen kommaartigen Stäbchen finden und Anhaltspunkte für die Diagnose sind gegeben. Es kommt aber vor, dass man mehrere Deckglaspräparate anfertigt und in ihnen nur vereinzelte Stäbchen findet, so dass die Diagnose nicht mit Sicherheit gestellt werden kann. In solchen Fällen greift man zu Methoden, die in den letzten Zeiten von mehreren Autoren angegeben wurden und die sehr rasch in ca. 12 Stunden zum Ziel führen. Es sind dies die sogen. *Vorculturmethode*n, deren Zweck darin besteht, eine Vermehrung der in geringer Zahl gefundenen Cholera bacillen herbeizuführen. Schottelius verfährt dabei folgendermaassen: Man nimmt ca. 100 cem. des suspecten Stuhls und mischt ihn mit 250 cem. Bouillon; das Gemisch kommt auf ca. 12 Stunden in den Brutapparat. Die Bacillen vermehren sich ausserordentlich rasch und sammeln sich an der Oberfläche des Gemisches an. Fertigt man jetzt Deckglaspräparate an, so kann man die Cholera bacillen in grosser Anzahl finden.

Buchner bedient sich zu demselben Zweck folgenden Nährbodens:

Er sterilisirt durch kochen eine 7 Tage alte und im Brutapparat gezüchtete Cholera cultur und verdünnt sie mit dem zehnfachen Volumen einer 0,6%igen Kochsalzlösung. Man impft von diesem Nährboden den zu untersuchenden Stuhl. Die Bacillen sammeln sich ebenfalls an der Oberfläche an, wobei es zur Bildung eines Häutchens kommen kann, welches mitunter den Komma bacillus in Reincultur enthält.

Das beste und das einfachste Verfahren ist von Koch angegeben. Er bediente sich dabei einer Pepton-Kochsalzlösung; eine 1% wässrige Peptonlösung, welche 1% Kochsalz enthält, wird mit Soda alkalisch gemacht und mit dem verdächtigen Stuhl (eine oder mehrere Platinösen) geimpft. Die Procedur wird in einem Reagenzglase vorgenommen. Schon nach 6 stündigem Verbleiben des letzteren im Brutapparat bildet sich an der Oberfläche des Nährbodens ein Häutchen, welches die Komma bacillen in grosser Zahl

enthält. Gleichzeitig mit den Vorculturen werden bei allen diesen Methoden zur Controlle auch Plattenculturen angelegt. Das Plattenverfahren kann nach Koch ebenfalls beschleunigt werden. Man schmilzt Agar, säht es in Doppelschalen aus und lässt sie einige Tage im Brutapparat stehen. Man bestreicht mittelst Oese die Oberfläche des Nährbodens mit dem verdächtigen Stuhl und nach 8—10 Stunden sind bei 370 grosse Colonien sichtbar.

Der Nachweis der Cholera-bacillen im Wasser.

Der Nachweis der Cholera-bacillen im Wasser kann wiederum lege artis erbracht werden. Gelatine, Agar etc. wird mit zu untersuchendem Wasser geimpft, Platten gegossen etc. Es können ferner zu demselben Zwecke die Vorculturmethode angewendet werden.

Heim setzt zu dem zu untersuchenden Wasser 2% Pepton und 1% Kochsalz hinzu, worauf Brutapparat.

Löffler mischt 10 cm. alkalischen Bouillon mit 200 cm. des verdächtigen Wassers. Nach 24stündigem Aufenthalt des Gemisches im Brutapparat werden von der Oberfläche Platten angelegt.

Flügge setzt zu dem zu untersuchenden Wasser 1% Pepton hinzu. Die Mischung bleibt 10 Stunden im Brutkasten, worauf von der Oberfläche Gelatineplatten gegossen werden.

Koch setzt dem Wasser 1% Pepton und 1% Kochsalz hinzu. Das Gemisch kommt in den Brutkasten. Nach 10 Stunden wird es zu weiterer Untersuchung entnommen.

Finkler-Prior-Bacillus.

Im Jahre 1884, zur Zeit als Koch den Kommabacillus als Erreger der Cholera asiatica bezeichnet hat, haben Finkler und Prior aus alten Faeces eines an Cholera nostras Erkrankten einen dem Kommabacillus ähnlichen Bacillus gezüchtet. Die weiteren Untersuchungen ergaben, dass dieser Bacillus vom Kommabacillus vollständig verschieden ist, und dass ihm bei der Erzeugung der Cholera nostras gar keine Bedeutung zukommt.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Bewegliche Bacillen, dem Kommabacillus ähnlich, nur etwas grösser, dicker und plumper und weniger gekrümmt. An einem

Ende tragen sie ebenso wie der Kommabacillus eine Geißel. Sie wachsen auch zu Spirillen aus. Hier handelt es sich ebenfalls um Involutionsformen.

Sporenbildung ist nicht bekannt.

Auf Gelatineplatten entstehen runde Colonien von gelblicher Verfärbung, wobei die Gelatine sehr rasch verflüssigt.

In Sticheulturen verflüssigt die Gelatine sehr rasch, besonders in älteren Culturen. Impft man zwei Gelatineprovetten durch je zwei parallel mit einander laufende Stiche, die eine mit dem Bacillus der Cholera asiatica, die andere in derselben Weise mit dem Finkler-Prior, so beobachtet man in der letzteren eine rasche Verflüssigung, während diese bei der Cholera asiatica sehr langsam auftritt und sich in einer Einziehung an der Oberfläche zeigt, die durch eine Luftblase ausgefüllt ist. Wie ein „Hosenbein“ erscheint die Form, welche die Bakterienwucherung in die feste Gelatine eingefressen hat. Nach der Verflüssigung bildet sich auf der Oberfläche eine weissliche Haut.

In morphologischer Hinsicht sind die Unterschiede zwischen dem Kommabacillus und dem von Finkler-Prior nicht sehr auffallende. Um so auffallender sind die Unterschiede, die sich bei künstlicher Züchtung ergeben.

Auf Agar-Agar erscheint ein grauweißer schleimiger Ueberzug.

Auf Kibitzeiweiss im Gegensatz zum Kommabacillus tritt eine Gelbfärbung und eine Verflüssigung des Nährbodens ein.

Auf Kartoffeln wachsen sie schon bei gewöhnlicher Temperatur viel rascher als der Kommabacillus. Es entsteht ein graubrauner schleimiger Rasen.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Ein einziges Mal fand man ihn in den Faeces eines an Cholera nostras Erkrankten. In pathologischer Hinsicht kommt diesem Bacillus beim Menschen keine Bedeutung zu. Für Meerschweinchen ist er pathogen, aber im geringeren Maasse als der Kommabacillus. Die Infection kann ebenso wie beim letzteren vom Darmcanal aus vorgenommen werden. Der Darminhalt zeigt nachher einen starken Fäulnisgeruch.

Färbungsmethoden.

Sie färben sich mit den gewöhnlichsten Farbstofflösungen.

Bacterium coli commune.

Dieser Bacillus wurde zuerst von Rodet und Roux im Wasser von Orten gefunden, in denen Typhus grassirte. Escherich fand ihn nachher constant in den unteren Partien des normalen Säuglingsdarmes. Weitere Untersuchungen haben gezeigt, dass er auch im menschlichen Darm unter normalen wie pathologischen Verhältnissen vorkommt.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Bacillen mit ziemlich träger Eigenbewegung, die kurze Stäbchen darstellen, deren Breite 3—4 μ beträgt. Sie treten sowohl einzeln wie paarweise auf. An einem Ende befindet sich eine oder mehrere (3—4) Geisseln, die sich mit der Löffler'schen Methode darstellen lassen. Sporenbildung wurde nicht beobachtet.

Sie wachsen auf den gebräuchlichen Nährböden, sowohl bei Zimmertemperatur als im Brutapparat in Gegenwart von Sauerstoff.

Auf Gelatineplatten bilden sich an der Oberfläche Colonien, die sich als ein weissblechgraues irisirendes Häutchen ausbreiten, welches unregelmässig gebuchtete Ränder zeigt. In dieser Form sind die Colonien denjenigen des Typhus sehr ähnlich.

In Stichculturen geht das Wachstum längs des Stichcanals vor sich, wobei weisse Knöpfchen auftreten. Auf der Oberfläche der Gelatine tritt wiederum, ähnlich wie auf Plattenculturen, das Häutchen auf.

Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Auf Agar bildet sich ein weisser Belag.

Auf Kartoffeln entstehen dicke, glänzende, bräunlich gefärbte Beläge.

Auf Blutserum entsteht ein weisser Belag.

In Milch gezüchtet führt er unter Bildung von Milchsäure zur Gerinnung derselben, was bei gewöhnlicher Temperatur langsamer geschieht, als bei Bruttemperatur.

Der Bacillus kann sich auch auf traubenzuckerhaltigem Nährboden (z. B. Traubenzuckerbouillon) auch ohne Sauerstoffzufuhr entwickeln und erzeugt dann ein aus Wasserstoff und Kohlensäure bestehendes Gas.

Wenn man zu peptonhaltigen Culturen Schwefelsäure und Kaliumnitrit hinzusetzt, so bekommt man, ähnlich wie bei Cholera asiatica, eine Rothfärbung, die Nitrosoindolreaction.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Wie bereits erwähnt, wurden diese Stäbchen unter normalen Verhältnissen im menschlichen Darne gefunden. Das gab

Veranlassung, die Behauptung aufzustellen, dass ihnen keine pathogenen Eigenschaften zukommen. Beim Meerschweinchen nahm man solche an, da Escherich Meerschweinchen mit geringen Quantitäten der Cultur mit Erfolg inficiren konnte. In kurzer Zeit trat Temperatursteigerung auf, es stellten sich heftige Diarrhöen ein und das Thier ging zu Grunde. Im Jahre 1889 konnte Laruelle in Fällen von Perforationsperitonitis im Exsudate das Bakterium coli commune nachweisen und an Thieren Peritonitis erzeugen. Auch Alex. Fränkel konnte bei Thieren experimentell mit den Bakterien Peritonitis hervorrufen.

Das Bakterium coli commune kommt beim Menschen auch im Blut vor und wurde auch bei Wundinfectionen gefunden. Seine anderweitige pathologische Bedeutung ist bis jetzt noch nicht erforscht.

Färbungsmethoden.

Das Bakterium färbt sich leicht mit verdünnter Carbofuchsinlösung. Bei der Gram'schen Methode entfärbt es sich, wenn ihm aber ein fettreiches Nährsubstrat zur Verfügung steht, ist die Gram'sche Methode anwendbar.

Spirochaete Obermeieri (Recurrens-Spirillen).

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Lebhaft bewegliche, äusserst zarte und scharf contourirte structurlose Spirillen mit zahlreichen Windungen und spitz zulaufenden Enden. Die Länge der Spirillen schwankt zwischen 14 und 40 μ , etwa das Sechsfache eines rothen Brutkörperchen.

Sporenbildung ist bis jetzt mit Sicherheit nicht nachgewiesen worden. Sarnow beobachtete jedoch im Blut, bevor noch ein Rückfall zu befürchten ist, Diplokokken ähnliche Gebilde, die im Anfang des Anfalls zu Stäbchen auswachsen, aus welchen dann die Spirillen hervorgehen sollen.

Die künstliche Züchtung der Recurrensspirillen ist bis jetzt nicht gelungen. Im Blutegel können sie nach den Beobachtungen von Pasternatzki etwa 10 Tage lebend erhalten werden.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Man findet die Spirillen im Blut an Febris recurrens Erkrankter und zwar nur während der Fieberanfälle. Nach denselben

scheinen sie zu verschwinden. Naunyn berichtet aber über einen Fall, bei welchem die Spirillen auch nach dem Anfälle im Blut nachweisbar waren. Ebenso sah sie Birch-Hirschfeld noch zwei Tage nach dem Anfall.

Die Uebertragung vom spirillenhaltigem Blut ruft beim gesunden Menschen einen typischen Recurrens hervor. Auch beim Affen ist es gelungen, Recurrens experimentell zu erzeugen. Die Incubation dauert circa 3–4 Tage, wobei nur ein Fieberfall auftritt.

Färbungsmethoden.

Zur Färbung der Recurrensspirillen in Blutpräparaten hat Günther folgendes Verfahren angegeben.

Die getrockneten und fixirten Blutpräparate kommen auf 10 Secunden in eine 1–5%ige Essigsäurelösung, um das Hämaglobin aus den Blutscheiben zu extrahiren. Das Präparat wird getrocknet und nachher am besten mit dem Weigert'schen Anilinfärbemittel violett gefärbt. Durch dieses Verfahren erhält man eine ziemlich isolirte Färbung der Mikroorganismen.

Diese Methode lässt aber manchmal im Stich, wenn die Blutschicht vor sehr langer Zeit am Deckglas angetrocknet und das Präparat in diesem Zustande aufbewahrt wurde. Das Plasma ist dann so fest am Deckglas angetrocknet, dass es nicht gelingt, dasselbe mit der Essigsäurelösung abzuspülen. Hier hat Günther mit Erfolg folgenden Kunstgriff angewendet: Er behandelte so eingetrocknete Behälter mit 2–3%iger wässriger Pepsinlösung. Das Plasma wurde in kurzer Zeit peptonisirt, die Bakterien blieben wohl erhalten.

Die Gram'sche Methode ist bei den Recurrensspirillen nicht anwendbar.

Tuberkelbacillus. Koch.

Dass die Tuberkulose eine Infectiouskrankheit darstellt, wurde schon in den vierziger Jahren dieses Jahrhunderts ausgesprochen und von Villemin im Jahre 1865 dadurch weiter gestützt, dass er bei Thieren durch Einimpfung tuberkulöser Massen Tuberkulose künstlich hervorrufen konnte. Diese Meinung wurde allerdings bestritten, aber die infectiöse Natur der Tuberkulose wurde endlich durch Cohnheim und Salomonsen festgestellt. Die Aetio-

logie dieser Krankheit blieb aber nach wie vor völlig unbekannt. In den Jahren 1882—1884 hat Koch seine bahnbrechenden Untersuchungen über die Tuberkulose veröffentlicht, in denen er die Aetiologie dieser Krankheit begründet.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Die Tuberkelbacillen sind unbewegliche, gerade gestreckte oder leicht gekrümmte Stäbchen, deren Länge zwischen 2—5 μ . schwankt (also ungefähr so lang, wie eine farbige Blutzelle), mit leicht abgerundeten Enden. Auf künstlichen Nährböden erscheinen sie etwas kürzer und schlanker als die im lebenden Organismus; den längsten Formen begegnet man im Sputum, wo sie auch in Gruppen von zwei oder mehreren angeordnet sind.

Die Sporen bilden sich nach Koch schon im Thierkörper, sowie ausserhalb desselben in den Culturen. Es sind das stark lichtbrechende Körper von ovaler Form, die sich nach der Färbung der Bacillen als eiförmige Flecken oder Lücken in denselben präsentiren.

Die Sporen besitzen eine enorm grosse Widerstandsfähigkeit. Das Sputum verträgt monatelange Austrocknung, Temperaturen nahe der Siedehitze, die Einwirkung der Säuren des Magensaftes, ohne etwas von seiner Wirksamkeit und Ansteckungsfähigkeit zu verlieren. Indessen ist es in den letzten Zeiten fraglich geworden, ob die eiförmigen Lücken in den Bacillen thatsächlich Sporen darstellen, denn es wurde gezeigt, dass die grosse Widerstandsfähigkeit, die den Sporen zukommen sollte, auch den Tuberkelbacillen selbst eigen ist.

Die Züchtung der Tuberkelbacillen.

In die Bauchhöhle wird einer Anzahl von Meerschweinchen tuberkulöses Sputum eingespritzt. Nach 3—4 Wochen stirbt das erste Thier an Tuberkulose. Man erdrosselt dann ein zweites Versuchsthier und eröffnet es sofort, ehe Fäulnisbakterien entstehen und Zersetzungen stattfinden. Mit ausgeglühten Instrumenten werden die Hautdecken zurückgeschlagen und eine Oeffnung in die Brustwand gemacht, um die Lunge theilweise herausziehen zu können. Mit vollkommen sterilisirten Instrumenten werden von der Oberfläche der Lunge mehrere Knötchen entnommen, auf sterilisirte Objectlager gebracht und fest zerdrückt. Die zerdrückte Masse wird mit einem starken Platindraht auf erstarrtes Blutserum in Eprovetten oder in Schalen ausgestrichen,

Auf diesem Nährboden entstehen am günstigsten bei 37,5° C.

mattweisse compacte Schüppchen, die, neben einander angehäuft, einen grauweissen Ueberzug bilden, der dem erstarrten Blutserum ganz lose aufliegt, niemals in dasselbe eindringt und es auch nie verflüssigt. Das Wachstum auf Blutserum geht ausserordentlich langsam vor sich. Am 10. und 11. Tage nach der Impfung sieht man noch nicht die Colonien mit blossen Auge, es vergehen wieder zwei Wochen, bis sie bemerkbar werden. Die Tuberkelbacillen gedeihen nicht unter 29° C., ebenso nicht bei 42° C. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 37—38° C.

Um die umständlichen Versuche an Thieren behufs Züchtung der Tuberkelbacillen zu vermeiden, hat Koch eine Methode angegeben, die Tuberkelbacillen direct aus dem Sputum zu züchten. Nach vorheriger Reinigung der Mundhöhle wird Sputum in eine sterilisirte Petri'sche Schale ausgehustet. Das Sputum wird mit sterilisirtem Wasser ausgewaschen und aus demselben ein Stückchen mit einem sterilisirten Instrument entnommen und auf Blutserum ausgestrichen.

Eine andere Methode, Tuberkelbacillen aus dem Sputum zu züchten, hat Pasteur angegeben: Das mit sterilisirtem Wasser gereinigte Sputum wird in ebensolchem Wasser geschüttelt. Die Aufschwemmung kommt in geschmolzene Nährgelatine, die dann in Schalen ausgegossen wird. Nach 3—4 Tagen werden diejenigen Stellen der Gelatine, an denen sich keine Culturen entwickelt haben, ausgeschieden und auf Blutserum gebracht. Im Brutapparat entwickeln sich dann die Tuberkelbacillen. Diese Methode hat also nur den Zweck, die verunreinigenden Colonien von der Reinzüchtung fernzuhalten.

Kitasato verfährt, um aus dem Sputum direct Reinculturen von Tuberkelbacillen gewinnen zu können, folgendermaassen: Das Sputum wird in sterilisirte Schalen entleert. Eine aus den tieferen Partien des Respirationsapparates stammende Flocke wird mit sterilisirten Instrumenten isolirt und in mindestens zehn mit sterilisirtem Wasser gefüllten Schälchen nach einander sorgfältig gewaschen. Die Flocke wird auf Blutserum gebracht. Nach etwa 14tägigem Aufenthalte im Brutapparat bilden sich die ersten Colonien, die als kreisrunde, rein weisse durchsichtige Flecken erscheinen, welche über die Oberfläche des Nährbodens vorragen. Dabei sind die Colonien flach, glänzend und glatt, während die nach früheren Methoden aus tuberkulösen Organen gewonnenen Bacillencolonien von Anfang an trocken, matt und gefaltet erscheinen. Im weiteren Verlauf des Wachsthum's schwinden die Unterschiede; es bedeckt sich der ganze Nährboden mit einem Belage, der aus mannigfach verschlungenen Zügen besteht.

Ausser auf Blutserum lassen sich die Tuberkelbacillen noch auf

Bouillon und Agar züchten. Besonders gut gedeihen sie auf dem letzteren, wenn demselben nach dem Vorgang von Nocard und Roux 7—8% Glycerin hinzugefügt wird.

Auch auf Kartoffeln lassen sich die Tuberkelbacillen züchten. In Glasröhren eingeschlossen, bilden sich nach 12—20 Tagen grauweissliche ablösbare Colonien.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Der Tuberkelbacillus findet sich in allen Producten menschlicher und thierischer Tuberkulose. Besonders in tuberkulösen Knötchen, in den sogenannten Riesenzellen und im Blute miliar-tuberkulöser Menschen.

Der Ausspruch Koch's, „dass die Tuberkelbacillen nicht bloss eine Ursache der Tuberkulose, sondern die einzige Ursache derselben sind, und dass es ohne Tuberkelbacillen keine Tuberkulose giebt“ steht gegenwärtig vollkommen fest.

Beim Menschen ist die Eingangspforte für die Tuberkelbacillen die Luftwege. Dieselbe kann aber auch die Darmschleimhaut, und andere Schleimhäute abgeben. Ausserhalb des Körpers ist der Tuberkelbacillus dort zu finden, wo Sputum abgesetzt wird, welches austrocknet und zerstäubt wird.

Injectionen von tuberkulösen Producten und Reinculturen von Tuberkelbacillen erzeugen Tuberkulose. Meerschweinchen, Feldmäuse, Kaninchen und Katzen sind für die Tuberkulose empfänglich, dagegen zeigen sich weisse Mäuse, Ratten und Hunde immun.

Untersuchungsmethoden.

Sputum - Untersuchungen.

Nach Koch-Ehrlich.

Das zu untersuchende Sputum wird auf eine dunkle Unterlage ausgeschüttet, und die gelblichen zähen Klümpchen, die sog. „Linsen“, herausgesucht. Man überträgt ein solches Klümpchen mit der Platinnadel auf ein Deckgläschen, welches mit einem zweiten bedeckt wird, um das Klümpchen zwischen ihnen zu verreiben. Man lässt die Deckgläschen lufttrocken werden, zieht sie dreimal durch die Flamme und legt sie mit der angestrichenen Fläche nach unten in eine Lösung von Anilinwasser mit Methyl- oder Gentianaviolett oder Fuchsin.

Man bereitet sich diese Lösung folgendermassen: In eine Epruvette giebt man eine geringe Quantität Anilinöl, setzt Wasser

hinzu und schüttelt, bis eine Flusstgkeit von milchiger Farbe entsteht. Diese Flüssigkeit wird filtrirt. Zum Filtrate werden einige Tropfen Methyl- oder Gentianaviolett, Fuchsin in alkoholischer Lösung hinzugefügt. Man lässt in dieser Farblösung die Deckgläser 24 Stunden liegen, um die Bacillen zu färben. Will man aber die Untersuchung rasch machen, so legt man die Präparate in die Farblösung und erhitzt die letztere, bis Dämpfe aufsteigen oder Blasen springen. Es genügt dann ein 15minütiges Verweilen der Deckgläser in der Flüssigkeit, um die Bacillen zu färben.

Zur Entfärbung der übrigen Bestandtheile des Sputums kommen die Deckgläser in eine 33% Acid. nitric. Lösung; man führt sie einige Secunden in derselben hin und her, bis die vorher tiefrothen oder blauschwarzen Präparate grünlichblau oder gelblichroth werden. Sie kommen nachher in 70% Alkohol, bis sie keinen Farbstoff mehr abgeben. Dann macht man eine Gegenfärbung, für mit Gentiana- oder Methylviolett gefärbte Präparate mit Bismarckbraun, für mit Fuchsin gefärbte mit Methylenblau oder Malachitgrün (wenige Minuten), dann in Alkohol, Oel, Canada. ■

Nach Ziehl und Neelsen.

Die präparirten Deckgläser kommen entweder in ein Uhrschälchen mit Carbolsäure-Fuchsinlösung und werden darin so lange über der Flamme gehalten, bis die Farbflüssigkeit aufdampft oder Blasen wirft, oder man schüttet auf die angestrichene Fläche des Deckglases einige Tropfen Carbofuchsin (dasselbe kann man noch bei der Koch-Ehrlich'schen Methode machen) und erhitzt direct das Deckgläschen mit der Farbe. Nach kurzem Abspülen im Wasser, Entfärbung in 5% Schwefelsäure oder verdünnter Salpetersäure, dann in 70% Alkohol, Wasser; Nachfärben mit Malachitgrün oder Methylenblau.

Nach Weichselbaum.

Die Deckgläser werden nach Ziehl und Neelsen gefärbt, abgespült im Wasser und direct in eine concentrirte alkoholische Methylenblaulösung übertragen, bis zur gleichmässigen Blaufärbung, dann im Wasser abgospült etc.

Nach Gabett-Ernst.

Die Deckgläser werden gefärbt in kalter Carbol-Fuchsinlösung (Ziehl-Neelsen) 2-5 Minuten, hieraus kommen sie in die Gabett'sche Methylenblau-Schwefelsäurelösung, verbleiben hier eine Minute und werden mit Wasser abgospült etc.

Nach B. Fränkel.

Man kocht Anilinwasser und fügt alkohol. Fuchsin bis zur Sättigung zu. In dieser erhitzten Flüssigkeit lässt man die Präparate 5 Minuten färben, dann überträgt man sie direct in B. Fränkel'sche Methylenblau-Salpetersäurelösung. Nach kurzer Zeit werden die Präparate in $\frac{1}{2}\%$ essigsauerm Wasser abgespült und untersucht.

Nach Günther

verfährt man folgendermaassen:

Das präparirte Deckgläschen bringt man

1. auf die Oberfläche frisch bereiteter Ehrlich'scher Anilinwasserfuchsinlösung, welche in ein Uhrschälchen eingefüllt ist.

2. Das Schälchen wird mit starker Pincette am Rand erfasst und über kleiner Flamme bis zur Blasenbildung der Flüssigkeit erhitzt.

3. Das Schälchen wird eine Minute ruhig stehen gelassen.

4. Das Deckglas wird mit kleiner Pincette aus der Farbe genommen und in ein Uhrschälchen mit 3%igem Salzsäure-Alkohol gelegt; hierin wird das Deckglas eine Minute lang hin und her, auf und ab bewegt.

5. Das Deckglas wird mit der Pincette aus dem Säurealkohol genommen und es wird nun durch einen Wasserstrahl zunächst die Flüssigkeit zwischen den Branchen weggespült, dann das Gläschen selbst beiderseitig abgespült.

6. Aufträufeln weniger Tropfen verdünnter wässriger Methylenblaulösung mit der Pipette.

7. Abspülen im Wasser, Eintrocknen, Einschliessen. Die Methode ist nach Günther eine absolut zuverlässige. Sämmtliche gefärbte Tuberkelbacillen sind stets mit gleicher Intensität gefärbt.

Nach Kaatzer.

Die Präparate kommen in eine auf 80° C. erwärmte Anilinwasserargentianviolettlösung auf 3 Minuten. Zur Entfärbung kommen sie in folgende Flüssigkeit:

90% Alkohol	100 cm ³
Wasser	30 cm ³
Conc. Salzsäure	20 gtt.

Man spült nachher in 90% Alkohol ab und färbt in einer concentrirten Vesuvinviolettlösung nach.

Nach Gibbes.

Die Deckgläschen kommen auf 5 Minuten in eine erhitzte Lösung von folgender Zusammensetzung:

Anilinöl	3 cm ³
Absol. Alkohol	15 cm ³
Fuchsin	2,0 gr.
Methylenblau	1,0 gr.
Wasser	15 cm ³ .

Hierauf wird das Präparat in Alkohol so lange gewaschen, bis kein Farbstoff mehr ausgeht. Die Bacillen sind roth auf blauem Grunde.

Nach Baumgarten.

In zweifelhaften Färbungsfällen kann diese Methode mit Erfolg angewendet werden. Das lege artis hergestellte Deckgläschen wird einige Minuten in Chloroform entfettet, das Chloroform nachher mit absolutem Alkohol extrahirt, und nach Verdunstung des Alkohols wird auf dasselbe einige Tropfen Kalilauge gebracht. Man untersucht mikroskopisch. Findet man Stäbchen, so träufelt man auf das Deckgläschen einige Tropfen einer verdünnten Methylviolettlösung und untersucht sofort. Die Tuberkelbacillen bleiben während der Untersuchung (5—10 Minuten) farblos, während die übrigen Mikroorganismen blau gefärbt sind.

Es kommt manchmal vor, dass mehrere Präparate von suspectem Sputum angefertigt werden, ohne dass es gelingt, Tuberkelbacillen nachzuweisen. In solchen Fällen muss das Sputum sedimentirt werden.

Nach Stroschein verfährt man dabei folgendermaassen: Man schüttelt einen Esslöffel Sputum mit drei Esslöffeln einer Mischung von 1 Theil einer concentrirten Borsäurelösung und 3 Theilen Wasser im Reagensglas tüchtig durch, bis das Sputum verflüssigt ist, giesst es in ein Spitzglas, lässt es 24 Stunden stehen, giesst die obere klare Flüssigkeit ab und fertigt aus dem Bodensatz ein Deckglaspräparat an. Biedert kocht 1 Esslöffel Sputum mit 2 Esslöffeln Wasser und 7—8 Natronlauge, bis die Masse gleichmässig flüssig geworden ist. Man giesst sie dann in ein Spitzglas und lässt sie darin 8—4 Tage stehen. Es wird dann bis auf eine Höhe von 5—8 mm abgegossen. Von dem mit etwas frischem Hühneriweiss tüchtig ungerührten Bodensatz wird ein Deckglaspräparat gemacht und mit Ziehl'scher Lösung gefärbt. Statt der Sedimentirung kann man sich der Centrifuge bedienen.

Nachweis der Tuberkelbacillen in Schnitten.

Nach Ehrlich-Gaffky.

Die Schnitte werden 20–24 Stunden in Anilinwasserfuchsin oder Gentianaviolett gefärbt. Zur Entfärbung kommen sie in eine Lösung 1 : 3 Salpetersäure, dann in 70% Alkohol zur endgiltigen Entfärbung. Man färbt sie dann einige Minuten in Methylenblau oder Malachitgrün resp. Bismarckbraunlösung nach; Auswaschen in Wasser oder Alkohol, Entwässern, Einschliessen.

Nach Ziehl-Neelsen.

Die Schnitte werden 1 Stunde in erwärmter Carbol-Fuchsinlösung gefärbt, entfärbt in 5% Schwefelsäure. Alkohol 70%. Nachfärben wie bei Koch-Ehrlich. Einschliessen.

Nach Gabbet-Ernst.

2–5 Minuten wird in kalter Carbol-Fuchsinlösung gefärbt. Entfärbt und nachgefärbt in Methylenblau-Schwefelsäure 1 Minute. Abgespült in Wasser. Einschliessen.

Kühne's Doppelfärbung.

Es wurden 3 Modificationen angegeben.

1. Gefärbt wird 10 Minuten in Carbofuchsin, entfärbt in 30% Salpetersäure und in 60% Alkohol, bis die Schnitte rosa werden. Auswaschen in Wasser, Entwässern, Nachfärben in Methylenblau-Anilinöl 5–10 Minuten. Dann kommen sie in ätherisches Oel auf 2 Minuten. Xylol. Canadabalsam.

2. 10 Minuten färben in Carbofuchsin. Abspülen in Wasser und ausziehen in Fluorescein-Alkohol. Nachfärbung in Methylenblau-Anilinöl 5 Minuten. Aetherisches Oel, Xylol, Canadabalsam.

3. Färben 1 Stunde in 1% wässriger Ammonium-Carbonatlösung mit Zusatz einer concentr. wässrigen Krystallviolettlösung. Darauf in Wasser abspülen. Entfärben in Jodjodkaliumlösung 2–3 Minuten und concentr. alkohol. Fluoresceinlösung. Alkohol. Nelkenöl, Terebin, Xylol. Balsam.

Kühne's dreifache Färbungen.

1. Schwach gefärbt in Delafield's Haematoxylin. Auswaschen in Wasser durch längere Zeit. Entwässern, worauf Färben in Carbofuchsin 10 Minuten. Auswaschen in Wasser und Ausziehen des Fuchsin in Fluorescein-Alkohol. Abspülen in absol. Alkohol.

Aetherisches Oel. Xylol. Dann wird die dritte Farbe angewendet. Man legt die Schnitte auf einige Minuten in Auramin-Anilinöl, bis eine gelbliche Farbe entsteht. Man spült in Anilinöl ab, dann aetherisches Oel, Xylol, Canada.

Bacillen sind roth, Kerne violett, Protoplasma gelb.

2. Färben in Haematoxylin. Auswaschen in schwacher Alaunlösung von Extr. campechianum. Auswaschen in Wasser durch längere Zeit. Entwässern. Färben 24 Stunden in einer Mischung von concentrirter alkoholischer Fuchsinlösung und einer 1% Lösung von Ammoniumcarbonat und Thymolwasser zu gleichen Theilen. Auswaschen in Wasser und Entwässern. Dann in Anilinöl auf einige Minuten. Worauf auf 10—15 Minuten in eine concentr. Anilin-Auraminlösung. Terpentin. Xylol.

Die Tuberkelbacillen sind roth, Zellkerne violett und Zellprotoplasma gelblich-grau.

3. Die Schnitte kommen in Kernschwarz mit 3—4 Theilen Wasser verdünnt. Auswaschen in einer wässrigen Lösung von kohlensaurem Lithion, bis der Schnitt hellgrau wird. Abspülen in Wasser. Entwässern, hierauf wird in Carbofuchsin 10 Minuten gefärbt. Abspülen im Wasser. Entfärbung in Fluorescein-Alkohol und Auswaschen in absol. Alkohol. Färben in Methylgrün-Anilinöl 5—10 Minuten. Aetherisches Oel, Xylol, Canada.

Bacillen sind roth. Kerne und Protoplasma verschiedene Nuancen von Blaugrün.

Leprabacillus. Armauer. Hansen.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Der von Hansen und später von Neisser entdeckte Bacillus leprae ist 4—6 μ lang. Nach Leloir beträgt seine Länge $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$, seine Breite $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{15}$ des rothen Blutkörperchens. Am Ende sitzen sie mehrfach Sporen an, oder dieselben sind in der Mitte des Stäbchens eingeschaltet. Das ganze Stäbchen sieht dann gekörnt aus. Von anderer Seite jedoch wird behauptet, dass diese Sporen ein Kunstproduct sind, eine Folge von Berstungen der zarten Bacillenhülle durch die Färbungsverfahren, durch welche der Austritt des Bacilleninhaltes in Form heller, kleiner Tropfen zu Stande kommt. Der von Neisser stammenden Deutung dieser hellen Gebilde in den Stäbchen als Sporen widerspricht Hansen, der sie

für Körnchen erklärt, die ein Zufallsproduct des Bacillus darstellen und ein Absterben desselben bedeuten.

In frisch gewonnenen Lebragewebssaft zeigen die Stäbchen Eigenbewegungen, welche von Hansen zuerst entdeckt, von mehreren Autoren anerkannt worden sind, während von anderer Seite den Bacillen nur eine Molecularbewegung zugesprochen wird. Eine charakteristische Eigenthümlichkeit dieses Bacillus ist die Production von Schleim, welche namentlich dort sichtbar wird, wo viele Bacillen zusammen liegen. Dieser von Neisser als Bacillennantel bezeichnete Schleim ist nicht färbbar, unterscheidet sich jedoch von der Kapsel des Pneumococcus unter anderen besonders dadurch, dass er nicht ein nothwendiges Attribut des einzelnen Stäbchens ist, dass man also eine ganze Menge einzeln liegender Bacillen finden kann, ohne die geringste Andeutung des Bacillennantels.

Sämmtliche Versuche, welche von zahlreichen Autoren gemacht worden sind, den Bacillus zu züchten, haben ein absolut negatives Resultat ergeben. Holst hat 100 Züchtungsversuche auf verschiedenen Nährböden, sämmtliche mit negativem Erfolg vorgenommen. Wolters konnte nach 3 Wochen nur Degeneration der ursprünglich verimpften Bacillen nachweisen. Sind aber bei Züchtungsversuchen Stäbchen gewesen, so zeigen sie von vornherein tinctorische Unterschiede. Das gegenüber Säuren und Farbstoffen dem Leprabacillus gleiche Verhalten, welches die von Gianturco, Konthak und Barklay gezüchteten Colonien bewiesen, haben jedoch auch nicht die anfangs publicirte Identität dieser Stäbchen mit dem Leprabacillus aufrecht erhalten können.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Man findet die Leprabacillen in allen Producten der leprösen Processe.

Die lange Reihe von Versuchen, die darauf abzielten, den Bacillus auf Thiere zu übertragen, ist gleichfalls negativ ausgefallen, nachdem das angeblich positive Resultat als Tuberculose erklärt worden ist.

Die von Neisser, Damsch, Wolters u. A. vorgenommenen Implantationen von leprösem Material in die vordere Kammer von Kaninchenaugen ergeben im grossen Ganzen dasselbe Resultat wie das Einbringen eines Fremdkörpers überhaupt. Nach Wolters entsteht an dem implantisirten Stück eine entzündliche Reaction, es sammeln sich Leukocyten, von denselben werden die Leprabacillen aufgenommen und verschleppt, schliesslich schwindet die implantirte Masse ganz. Die Untersuchung sämmtlicher Organe, welche

in verschiedenen Zeitabschnitten nach der Impfung vorgenommen worden ist, hat stets das Fehlen von Leprabacillen oder leprösem Gewebe in denselben ergeben. Inplantirung von Lepraknoten in die Bauchhöhle verschiedener Thiere, in den Dorsalsack des Rückenmarkes, Injectionen von Emulsionen, die aus dem Gewebssaft der Lepraknoten dargestellt worden, haben ein gleich negatives Resultat ergeben. (Bergmann.)

Färbungsmethoden.

Sie färben sich ebenso wie die Tuberkelbacillen, nur nehmen sie ausserdem noch andere Anilinfarbstoffe auf, ebenso lassen sie sich nach Gram behandeln. Zum Unterschiede von den Tuberkelbacillen färben sie sich nicht in Löffler's wässriger oder alkalischer Methylenblaulösung. Ein weiteres Unterscheidungsverfahren wurde von Baumgarten und Lustgarten angegeben.

Deckglaspräparate.

Nach Baumgarten.

6—7 Minuten wird in verdünnter alkohol. Fuchsinlösung gefärbt, entfärbt in Salpetersäure und Alkohol (1 : 10), abgespült in Wasser und nachgefärbt in wässriger Methylenblaulösung. Die Tuberkelbacillen färben sich nicht in dieser Zeit.

Nach Lustgarten.

Gefärbt wird in Anilinwasser-Fuchsin oder Gentianaviolett, entfärbt lange Zeit in 1% unterchlorigsaurem Natron, Abspülen in Wasser. Die Tuberkelbacillen werden früher entfärbt.

Schnitte.

Nach Baumgarten.

Die Schnitte kommen auf 12—15 Minuten in eine verdünnte alkoholische Fuchsinlösung und werden dann in einer Mischung, bestehend aus 1 Theil Salpetersäure und 10 Theilen Alkohol, entfärbt. Auswaschen in Wasser. Entwässern. Entfärben und Einschliessen. Bei dieser Behandlung färben sich die Leprabacillen, dagegen nicht die Tuberkelbacillen. Dagegen ist das Verhalten nach L. Lustgarten umgekehrt, wenn beide Bacillen mit unterchlorigsaurem Natron behandelt werden.

Unna's Trockenverfahren.

12—24 Stunden werden die Präparate im Anilinwasser-Fuchsin gefärbt, worauf entfärbt in 10—20% wässriger Salpetersäure solange, bis das Präparat eine gelbe Farbe angenommen hat. Dann kommen sie in Spiritus dilutus, wo sie so lange verbleiben, bis die rothe Farbe wieder erscheint. Man entsäuert die Präparate entweder längere Zeit in destillirtem Wasser oder durch einmaliges Eintauchen in schwache wässrige Ammoniaklösung. Nachdem das Wasser durch Fliesspapier aufgesaugt wurde, lässt man sie über der Flamme 1—2 Sec. vollkommen abtrocknen. Gleich darauf werden sie in Chloroform und ölfreiem Balsam eingeschlossen.

Lutz-Unna's Jodparosanilin - Methode.

Man färbt die Präparate in erwärmten verdünntem Anilinwasser-Gentianaviolett so lange, bis sie eine dunkelblauviolette Farbe angenommen haben. Sie werden dann entfärbt in Jodjodkaliumlösung, in absolutem Alkohol mit 10—50% Ac. nitr. fum. und in absolutem säurefreien Alkohol. Man wiederholt dann dieses Entfärbungsverfahren mehrmals, bis die Präparate ein bläuliches Schiefergrün zeigen. Einschluss in Thymen oder Nelkenölbalsam.

Syphilisbacillus. Lustgarten.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Gebogene, S-förmig gekrümmte Stäbchen von der Grösse der Tuberkelbacillen, an den Enden knopfförmig verdickt, an den Conturen schwach gekielt.

Die glänzenden Flecke, die in jedem Bacillus zu 2—4 in gleichen Abständen sich befinden, sind vielleicht als Sporen anzusehen.

Ausserhalb des Organismus ist es nicht gelungen sie zu cultiviren. Auch ist bis nun die spezifische Natur dieser Bacillen nicht sichergestellt.

Sie kommen nur im Gewebe vor und zwar in Zellen, die etwas grösser sind als weisse Blutkörperchen. Sie unterscheiden sich von den Tuberkel- und Leprabacillen dadurch, dass sie in Mineralsäuren sofort die Farbe verlieren, während jene erst nach längerer Einwirkung.

Färbungsmethoden.

Nach Lustgarten.

Die Schnitte kommen in Anilinwasser-Gentianaviolett auf 12 bis 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur und dann noch auf 2 Stunden bei 40° C. Sie werden im absoluten Alkohol einige Minuten ausgewaschen und in eine circa 1½% wässrige Lösung von Kali hypermang. etwa auf 10 Secunden gebracht. Hieraus in eine wässrige Lösung von reiner schwefeliger Säure für 1—2 Sekunden und endlich in Aq. dest. ausgewaschen. Hierauf kommen die Schnitte wieder in Kali hypermang. und schwefelige Säure 3—4 mal hintereinander, bis die Schnitte völlig entfärbt sind. Dann werden sie lege artis eingeschlossen.

Mit Deckglaspräparaten verfährt man ebenso, nur lässt man sie in den betreffenden Reagentien eine kürzere Zeit.

Nach Giacomi.

a) Deckgläser färbt man in heissem Anilinwasserfuchsin wenige Minuten, dann wäscht man sie in stark verdünnter, hierauf in concentrirter Eisenchloridlösung aus, und schliesslich in Wasser abgespült.

b) Bei Schnitten verfährt man ebenso, nur werden sie in Anilinwasserfuchsin 24 Stunden gefärbt, worauf dasselbe Verfahren.

Nach Dautrelepon und Schütz.

Man färbt die Präparate in 1% wässriger Methylviolett-lösung 24—28 Stunden, worauf Entfärbung in verdünnter Salpetersäure (1:15) einige Secunden und in ca. 60% Alkohol etwa 10 Minuten. Man bringt weiter die Schnitte auf einige Minuten in eine wässrige Safraninlösung, worauf man sie in 60% Alkohol auswäscht.

Nach diesem Verfahren erscheinen die Bacillen blau, die Kerne und das Gewebe hellroth, die Mastzellen blau mit rothem Kerne.

Bacillus mallei, Rotzbacillus. Löffler-Schütz.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Die Rotzbacillen sind unbewegliche, kleine, schlanke Stäbchen mit abgerundeten Enden von 2—5 μ Länge und 0,5—1,4 μ

Breite, den Tuberkelbacillen ähnlich, nur kürzer und dicker als diese. Die Frage, ob sie Sporen bilden, ist mit Sicherheit noch nicht entschieden. Löffler beobachtete allerdings, dass eingetrocknete Rotzbacillen drei Monate ihre Virulenz behalten haben. Baumgarten und Rosenthal nehmen an, dass der Rotzbacillus Sporen bildet, da ihnen gelungen sein soll, dieselben zu färben.

Auf den gewöhnlichen Nährböden gedeihen die Rotzbacillen nur in Thermostaten bei einer Temperatur von 25—40° C. Gelatine kann also nicht verwendet werden.

Auf Milchserum-Hühnereinatronalbuminat lassen sie sich auch bei Zimmertemperatur züchten.

In Strichculturen (Agar-Agar) erscheint bei 37° C. längs des Striches ein weisslich durchscheinender, feucht glänzender Überzug, welcher später bräunlich wird.

Auf Agarplatten bei 37° C. erscheinen schon am zweiten Tage lichtgelbe, weisslich glänzende, später bräunlich werdende Auflagerungen.

Auf Blutserum entstehen bei Bruttemperatur rundliche gelblich gefärbte Tropfen, die mit einander zusammenfliessen und eine schleimige Decke bilden.

Auf Kartoffeln ist das Wachstum sehr charakteristisch. Bei 37—38° C. sieht man anfangs einen nahezu gelblichen Belag, der nach ungefähr einer Woche rötlichbraun oder fuchsroth wird.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Man findet sie in den Rotzknötchen, wo sie entweder einzeln oder in grösseren und kleineren Bündeln beisammen liegen.

Die Eingangspforte für die Infection mit Rotz sind in der Regel Verletzungen der Haut oder der angrenzenden Schleimhäute.

Bei Pferden ist die Eingangspforte in der Regel die Nasenschleimhaut.

Pferde, Kaninchen, Meerschweinchen und Feldmäuse sind für den Rotzbacillus empfänglich. Nach der Injection findet man ihn in den Knötchen und Abscessen, ferner im Blute und Harn. Weisse Mäuse zeigen sich immun. Weniger empfänglich sind Schafe und Hunde, Schweine noch weniger, Rinder sind immun.

Färbungsmethoden.

Nach Löffler.

Die Deckgläschen werden 5 Minuten hindurch in heiss gemachtem Anilinwassergentianaviolett, dem 1% Natronlauge zuge-

setzt wird, gefärbt. Hierauf kommen sie in eine 1%ige Essigsäure, welcher man durch eine wässrige Lösung von Tropaeolin 00 eine etwa weingelbe Farbe giebt. Man lässt die Präparate bis 1 Secunde und wäscht in destillirtem Wasser aus. Das Tropaeolin wirkt derart, dass es den Farbstoff in den Bacillen zurücklässt, und aus den übrigen Theilen des Präparates nahezu vollständig entfernt.

Schnitte bringt man auf einige Minuten in das Löffler'sche Methylenblau, dann auf 5 Secunden in eine Mischung von 10 cem. Aq. dest., 2 Tropfen concentrirte schweflige Säure und 1 Tropfen 5%ige Oxalsäure, dann in absol. Alkohol etc.

Nach Kühne.

Etwas complicirter ist das Verfahren nach Kühne, man erhält aber instructivere Bilder. Die Schnitte kommen aus dem Alkohol in's Wasser, man färbt sie dann in Carbol-Methylenblau circa 3—4 Minuten; aus dem Farbstoff kommen sie auf einige Secunden in mit einigen Tropfen Salzsäure angesäuertes Wasser, worauf sie mit destill. Wasser abgespült und in absoluten Alkohol entwässert werden. Man legt dann die Schnitte auf 5 Minuten in Anilinöl, zu dem 6—8 Tropfen Terpentinöl hinzugesetzt werden. Hieraus kommen sie in reines Terpentinöl und dann in Xylol und werden in Canadabalsam eingeschlossen. Bei diesem Verfahren sind die Bacillen blau, während das Gewebe ungefärbt ist. Will man aber auch das Gewebe gefärbt haben, so legt man die Schnitte aus dem Xylolbad in Terpentinöl, dem 5 Tropfen einer Safraninlösung oder besser 2 Tropfen einer Lösung von Anilin-Auramin zugefügt sind.

Die Bacillen erscheinen jetzt blau auf rosa oder grünlichem Grunde.

Nach Noniewicz.

Schnitte werden einige Minuten in alkalischem Methylenblau gefärbt, in Wasser abgespült und dann in folgender Mischung differenzirt: 3 Theile einer $\frac{1}{2}$ %igen Essigsäure und 1 Theil einer $\frac{1}{2}$ %igen wässrigen Lösung von Tropaeolin 00. Es wird hierauf in Wasser ausgewaschen — entwässert etc. und eingeschlossen. Die Bacillen sind schwarz auf einem blauen Hintergrunde.

Bacillus anthracis, Milzbrand. Pollender, Davaine.

Schon im Jahre 1849 beobachtete Pollender im Blut an Milzbrand erkrankter Thiere eigenthümliche Stäbchen, deren pathogene Bedeutung Davaine (1863) experimentell festgestellt hat. Koch und Pasteur haben die morphologischen und biologischen Verhältnisse, sowie die pathogenen Eigenschaften des Milzbrandbacillus näher ermittelt.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Die Milzbrandbacillen sind unbewegliche, glashelle Stäbchen, 3—10 μ lang und 1—5 μ breit und von einer Hülle oder Kapsel umgeben. Sie treten entweder einzeln oder in Form von Verbänden auf.

Die einzelnen Stäbchen haben scharf abgeschnittene Enden. In Verbänden ändert sich ein wenig das Bild. Es treten nämlich zwischen den einzelnen Gliedern ovale Lichtungen auf. Diese entstehen dadurch, dass die Enden an den Längsseiten der Stäbchen kolbig verdeckt sind, während sie nach der Schmalseite hin in eine ovale Fläche übergehen, welche nach der Mitte zu concav eingezogen ist.

Die Sporenbildung lässt sich an ihnen sehr schön verfolgen. Der glashelle Inhalt des Bacillus trübt sich allmählig, es entstehen an einer Stelle kleine dunkle Körnchen, die successive nach der Mitte des Bacillus zusammenfliessen und hier sich mit einander vereinigen. Dadurch entsteht ein stark lichtbrechender Körper, der eine Hülle besitzt, die sich als scharfer Contour erkennen lässt. Die fertige Spore besteht nach Koch aus einem stark lichtbrechenden Tröpfchen, vielleicht einem Oel, welches von einer dünnen Protoplasmaschicht eingehüllt ist. Letztere ist die eigentliche entwicklungsfähige Zellsubstanz, während ersteres vielleicht einen bei der Keimung zu verbrauchenden Reservestoff bildet. Die Bildung der Sporen geht nur bei einer Temperatur von 18—40° C. vor sich. Bei 37° C. bilden sich Sporen schon nach 24 Stunden. Die dauerhaftesten Sporen bilden sich bei einer Temperatur zwischen 20 und 25° C. Die Widerstandsfähigkeit der Sporen ist eine ziemlich wechselnde. Manche werden in 5% Carbolsäure in 2 Tagen getödtet, manche leben in diesem Medium länger als 40 Tage, manche gehen im strömenden Dampf in 3 Minuten zu Grunde, manche wiederum vertragen ihn 12 Minuten. Es giebt auch Milzbrand-

bacillen, die die Fähigkeit, Sporen zu bilden, verlieren, ohne dabei an ihrer Virulenz einzubüssen. Nach der Sporenbildung zerfällt das Stäbchen.

Auf Gelatineplatten bilden sich rundliche Colonien, die an der Peripherie wollige „weichselzopfähnliche“ verflochtene Fäden zeigen.

In Stichculturen (Gelatine) entstehen längs des Impfstiches weisse Fäden, die in die Gelatine hineinwachsen, sich vielfach verzweigen und mit einander ein feines Netzwerk bilden. Die Verflüssigung der Gelatine geht von oben nach unten vor sich.

Auf Agarplatten sieht man bei Bruttemperatur schon nach 24 Stunden ähnliche Colonien wie auf der Gelatineplatte.

In Strichculturen (Agar-Agar) zeigt sich ein grauweisslicher, wie mattes Silber glänzender Belag.

Auf Blutserum kommt es zur langsamen Verflüssigung.

Auf Kartoffeln bildet sich ein rahmartiger trockener Rasen. Die Kartoffeln geben einen besonders guten Boden für die Sporenbildung ab.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Man findet den Anthraxbacillus im Blute milzbrandkranker und an Milzbrand verstorbenen Thiere. Ausserhalb des Thierkörpers ist der Milzbrandbacillus bis jetzt nicht nachgewiesen worden. Es ist aber naheliegend anzunehmen, dass er auch ausserhalb des thierischen Organismus sein Fortkommen findet.

Bei Schafen, Rindern, Pferden, überhaupt bei Weidethieren findet die Infection vom Darmcanal aus statt, sie kann aber auch auf anderem Wege, z. B. durch die Haut, durch Inhalation von Sporen vor sich gehen. Beim Menschen kommt die Infection sehr oft durch kleine Hautwunden zu Stande, an welcher Stelle dann die sogen. Pustula maligna entsteht.

Die Hadernkrankheit, welche bei Lumpensortirern, besonders in Papierfabriken, auftritt, ist nach Paltauf und Eisellsberg mit dem **Lungenmilzbrand** identisch und entsteht durch Einathmung von Milzbrandsporen.

Hankin isolirte aus Anthraxculturen einen ausserordentlich giftigen Eiweisskörper. Pasteur stellte eine Vaccine für Schafe und Rinder gegen Milzbrand dar, durch Cultivirung von virulenten Milzbrandbacillen bei Temperaturen zwischen 42—43° C.

Mäuse, Meerschweinchen und die üblichen Versuchsthiere gehen nach der Impfung in der Regel nach 24 Stunden zu Grunde.

Das Schwein, der Hund, die Ratte und die meisten Vögel sind gegen den Anthrax immun. Die Infection beim Frosch gelingt nur dann, wenn man ihn nach der Infection in den Brutapparat setzt.

Färbungsmethoden.

Sie färben sich mit den gewöhnlichen Anilinfarbstofflösungen. Die Gram'sche Methode ist hier anwendbar.

Bacillus oedematis maligni. Pasteur, Koch.

Dieser Bacillus wurde von Coze und Feltz beim Studium der Sepikämie gefunden. Er wurde hierauf von Pasteur unter dem Namen **Vibrion septique** beschrieben. Koch beschäftigte sich ebenfalls mit diesem Mikroorganismus und nannte ihn Bacillus oedematis maligni.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Die Bacillen sind schwach bewegliche Stäbchen 3,0–3,5 μ lang und 1,0–1,1 μ breit, den Anthraxbacillen ähnlich, nur sind sie schmaler und zeigen abgerundete, nicht scharf abgeschnittene Enden. Sowohl an den Enden, als an den Längsseiten befinden sich eine grössere Anzahl von Geisseln.

Sporenbildung wurde beobachtet. Die Bacillen schwellen in der Mitte oder an einem Ende zu kaulquappähnlichen Gebilden an, in deren aufgetriebenem Theile sich die stark glänzende Spore entwickelt.

Die Züchtung gelingt, da sie streng anaërob sind, nur unter Sauerstoffabschluss und zwar nach dem Verfahren von Esmarch und Liborius. Er wächst auf dem gewöhnlichen Nährboden bei Zimmertemperatur.

Auf Gelatineplatten erscheint die Colonie als glänzende Kugel mit flüssigem Inhalte.

In Sticheulturen (Gelatine) wird die verflüssigende Gelatine wolkig getrübt.

Auf Agarplatten zeigen sich mattweisse, nicht scharf umgrenzte Colonien, die aus einem dichten Netz fein granulirter Fäden bestehen.

In Strichculturen (Agar-Agar) zeigt sich eine körnige Wucherung mit unregelmässigen Rändern.

Auf Kartoffeln entsteht bei Bruttemperatur ein Netzwerk von Bacillen.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Man findet diesen Bacillus in in Zersetzung begriffenen faulenden Stoffen, im Schmutzwasser und besonders in der Gartenerde.

Injectionen von einer Bouilloncultur tödten die üblichen Versuchsthiere in 24—48 Stunden. Dasselbe bewirkt Gartenerde, wenn man eine Messerspitze voll einem Meerschweinchen oder Kaninchen in die Bauchhöhle bringt. Da der Bacillus des malignen Oedem streng anaërob ist, so gelingt an Thieren nur dann der Impfversuch, wenn der Sauerstoff bei demselben ferngehalten wird. Man legt deshalb bei den zu inficirenden Thieren eine subcutane Hauttasche an. Nach dem Tode findet man von der Impfstelle ausgehend ein subcutanes Oedem mit an Bacillen reicher Oedemflüssigkeit. Man findet ferner die Bacillen im Saft von verschiedenen Organen, in der Peritonealflüssigkeit, im sauerstoffhaltigen Blut kommen sie nicht vor. Nach dem Tode jedoch, wo der Organismus sauerstoffarm wird, wandern sie in alle Organe ein.

Viele Thiere, wie Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen, Kälber, Schafe, Pferde, Esel, Schweine, Katzen, Hunde, Hühner, Tauben, Enten, sind für die Infektion mit dem Bacillus empfänglich. Besonders ist in dieser Beziehung die Maus hervorzuheben. Bei diesem Thier scheinen besonders günstige Bedingungen für sein Fortkommen vorhanden zu sein. Sie dringen gleich in alle Organe und durchbrechen die Gefässe.

Rinder sollen gegen Infektion mit dem Bacillus des malignen Oedems immun sein.

Färbungsmethoden.

Sie färben sich mit allen Anilinfarben.

Die Gram'sche Methode ist hier nicht anwendbar.

Diphtheriebacillus. Klebs-Löffler.

Der Diphtheriebacillus wurde zuerst von Klebs gefunden und dann näher von Löffler untersucht, der ihn constant bei Diphtherie nachweisen konnte.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Die Diphtheriebacillen sind unbewegliche Stäbchen von mittlerer Grösse, von der Länge der Tuberkelbacillen, aber doppelt so

breit als diese, es kommen oft leicht gekrümmte Formen mit etwas abgerundeten Enden vor und solche, die an einem Ende kolbig angeschwollen sind.

Sie bilden keine Sporen, jedoch beobachtete man, dass eine 153 Tage alte Cultur noch lebensfähig war.

Der Diphtheriebacillus wächst bei einer Temperatur zwischen 20—42° C. auf allen gebräuchlichen Nährböden, die aber nur alkalisch sein müssen.

In Sticheulturen (Gelatine 15%) beobachtet man längs des Impfstiches weisse, runde, kleine Colonien. Es muss hier darauf hingewiesen werden, dass die Bacillen nach kurzer Zeit auf der Gelatine die unregelmässigsten Formen annehmen.

Auf Gelatineplatten (15% Gelatine) entstehen bei 24° kleine, weisse Colonien, die niemals die Gelatine verflüssigen und unter dem Mikroskop als gelblichbraune, dichte grobkörnige Scheiben mit unregelmässigen Rändern erscheinen.

Auf Agar-Agar lässt sich kaum ein Wachstum nachweisen, dafür wachsen sie sehr schön auf Glycerin-Agar und besonders üppig auf dem von Löffler hergestellten Nährboden.

Auf diesen Nährböden entsteht bei 35° schon am 2—3 Tage ein dicker, undurchsichtiger weisslicher Belag.

Um den Diphtheriebacillus zu züchten, verfährt man nach Löffler in der Weise, dass man ein kleines Stückchen Pseudomembran auf 6—8 Blutserum- oder Glycerinagarröhrchen anstreicht und dieselben in den Brutapparat stellt. Handelt es sich um echte Diphtherie, so gehen zahlreiche Colonien auf.

Auf Kartoffeln wachsen sie sehr schwer. Bei 35° C. nach 8—10 Tagen ist kaum ein feiner Flaum zu bemerken. Macht man die Kartoffel alkalisch, so entsteht nach 48 Stunden ein weisslicher Belag.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Man findet sie ausschliesslich in den Diphtheriemembranen, in keinem anderen Organe sind sie zu finden. Der Diphtheriebacillus gehört zu den toxischen Bakterien. An der Stelle, an welcher er eindringt und sich localisirt, erzeugt er ein heftiges Gift, welches dem Organismus übermittelt wird. Das Gift, welches die Diphtheriebacillen erzeugt, soll nach Guinoctet kein Eiweisskörper sein, so dass die giftigen Eiweisskörper, die von Brieger und C. Fränkel aus Diphtherieculturen gewonnen wurden, mit dem specifischen Diphtheriegift nicht identisch zu sein scheinen.

Mäuse und Ratten sind refractär, kleinere Vögel, Tauben, Hühner, Kaninchen und Meerschweinchen zeigen nach subcutanen

Injectionen hämorrhagische Oedeme des Unterhautzellgewebes und der Pleurahöhlen. In die Trachea der Hühner und Kaninchen injicirt, erzeugen sie Pseudomembranen. Bei länger dauernder Krankheit kommt es zu diphtheritischen Lähmungen.

Färbungsmethoden.

In Schnitten färben sie sich am besten nach Löffler.

Die Schnitte kommen in eine Lösung von 30 cem. concentr. alkohol. Methylenblaulösung mit 100 cem. Kalilauge (1 : 10000). Hier werden sie einige Minuten gefärbt und dann in $\frac{1}{2}\%$ Essigsäure entfärbt.

Mit den gewöhnlichen Anilinfarben färben sie sich ebenfalls, ebenso ist die Gram'sche Methode anwendbar.

Nach Löffler und Hoffmann finden sich in der Mund- und Rachenhöhle Bacillen, welche morphologisch und biologisch den Diphtheriebacillen ähnlich sind, aber keine Virulenz besitzen. Man bezeichnet sie als **Pseudodiphtheriebacillen**. Roux und Yersin halten sie für Diphtheriebacillen mit sehr abgeschwächter Virulenz.

Typhusbacillus. Eberth, Gaffky.

Anfangs der 80er Jahre wurde dieser Bacillus von Eberth in den Organen an Abdominaltyphus Erkrankter gefunden. Später hat Gaffky mit diesem Bacillus eingehend sich beschäftigt und seine aetiologische Bedeutung für den Typhus abdominalis festgestellt.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Es sind das lebhaft bewegliche Stäbchen, kurz und plump, dreimal so lang als breit, etwa $\frac{1}{2}$ so gross wie ein menschliches rothes Blutkörperchen, mit deutlich abgerundeten Enden. Jedes Stäbchen besitzt 8—12 Geisseln, welche nicht nur an den Enden angebracht sind, sondern auch an den Seitenwandungen. Sie lassen sich ebenfalls nach Löffler darstellen. Sie wachsen zuweilen zu langen Verbänden aus.

Nach den Untersuchungen von Gaffky sollen sie endständige Sporen im Laufe von 3—4 Tagen bilden, bei 32—40° C. langsame, bei 20° C., bei noch niedrigerer Temperatur erfolgt keine Sporenbildung.

Indessen ist die Sporenbildung der Typhusbacillen in Frage gestellt worden. Es wurde nämlich nachgewiesen, dass den vermeintlichen Sporen eine der wichtigsten Eigenschaften der Sporen, nämlich die Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen und Eintrocknung, vollkommen abgeht.

Der Typhusbacillus wächst auf allen gebräuchlichen Nährböden schon bei Zimmertemperatur, rascher bei Bruttemperatur, sowohl bei Anwesenheit von Sauerstoff, als bei Sauerstoffabschluss.

Auf Platten (Gelatine) entstehen oberflächliche gräulichweisse unregelmässig begrenzte Colonien. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen sie glaswollartig und verflochten und mit einem bräunlichen Schimmer. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

In Sticheulturen (Gelatine): Wachstum auf der Oberfläche der Gelatine in Form eines grauweißen Belages mit zackigem Rand.

Auf Agar, Blutserum entsteht ein feuchter, weisser Ueberzug.

Auf Kartoffeln gestaltet sich das Wachstum des Typhusbacillus nach Gaffky folgendermassen: Die Kartoffeln lassen im Lauf der folgenden Tage für das blosse Auge nur sehr geringe Veränderungen erkennen. Die besäeten Flächen scheinen wohl ein etwas gleichmässigeres und feuchteres Aussehen anzunehmen; doch sieht man makroskopisch von einem Wachstum nichts. Versucht man aber — etwa nach 48 Stunden — mit der Platinnadel von der Oberfläche eine geringe Menge zu mikroskopischen Untersuchung zu entnehmen, so erhält man den Eindruck, als ob die ganze Fläche in eine zusammenhängende resistenterere Haut verwandelt wäre, ohne dass sich von Entwicklung noch nur eine Spur wahrnehmen liesse. Von welcher Stelle der Oberfläche man aber auch ein minimales Kartoffelstückchen entnehmen mag, überall, auch an den nicht besäeten Partien, findet man bei der mikroskopischen Untersuchung in ganz überraschenden Mengen die verimpften Bacillen, meist von der gewöhnlichen Länge, zum Theil aber auch in Form längerer Scheinfäden. Die ganze Oberfläche scheint fast nur aus Bacillen zu bestehen.

Wie E. Fränkel und Ali Cohen nachgewiesen haben, lässt sich dieses Wachstum nur auf sauer reagierenden Kartoffelscheiben beobachten.

Bei der Cultivirung der Typhusbacillen ist die Züchtung auf Kartoffeln unerlässlich, da sich nur auf diesem Nährboden ein charakteristisches Wachstum constatiren lässt, welches ermöglicht, den Typhusbacillus von anderen ähnlichen Mikroorganismen, in erster Linie von *Bacterium coli commune*, zu unterscheiden. Auf den übrigen Nährböden lassen sich diese beiden Bakterienarten ungemein schwer von einander unterscheiden.

Es scheint aber auch die Kartoffelkultur nicht nur die Möglichkeit zu bieten, beide Mikroorganismen von einander zu unterscheiden. So haben Fränkel, Simmoends, Kamen auf ein atypisches Wachstum der Typhusbacillen auf Kartoffeln hingewiesen, indem sich vom Impfstrich aus langsam ein gelblicher, später bräunlich werdender Belag entwickelt, der sich tangenförmig ausbreitet; nach einigen Tagen soll die Kartoffelscheibe einen violetten Farbenton annehmen. Ausser der Züchtung der Typhusstäbchen auf Kartoffeln wurde noch eine ganze Reihe von Methoden angegeben, um dieselben von anderen ähnlichen Mikroorganismen mit Bestimmtheit unterscheiden zu können.

Chantemesse und Widal empfehlen zu diesem Zweck, der Nährgelatine 0,25% Carbonsäure hinzuzusetzen. Nur der Typhusbacillus soll auf diesem Nährboden gedeihen, während die übrigen Mikroorganismen auf demselben nicht aufgehen.

Nach Holz soll das aber nicht zutreffen, da er fand, dass die Typhusbacillen nur bei einem Carbolzusatz von 0,1% ungehindert wachsen. Er empfiehlt deshalb, zu der gewöhnlichen Nährgelatine den Saft roher Kartoffeln hinzuzusetzen. Auf einem derartigen Nährboden kommt nur eine sehr geringe Zahl von indifferenten Arten fort, während die Typhusbacillen charakteristisch wachsen.

Kitasato fand, dass eine Typhusbouillonkultur die Indolreaction nicht giebt, während bei allen ähnlichen Mikroorganismen dieselbe positiv ausfällt.

Nach Th. Smith bildet der Typhusbacillus in 2%iger Traubenzucker-Bouillon keine Gasbildung, während beim Bacterium coli commune Gasbildung auftritt.

Lyonnel empfiehlt folgende Methode: Zur Bouillon, welche mit Thierkohle entfärbt wird, setzt man 1% Carbonsäure, 2% Milchezucker und etwas Congoroth hinzu und inficirt einen derartig hergestellten Nährboden mit dem fraglichen Pilz. Auf diesem Nährboden geht nur der Typhusbacillus und das Bacterium coli commune auf. Bleibt derselbe klar, so liegt weder der Typhusbacillus, noch das Bacterium coli commune vor. Wird die Bouillon trüb und bleibt dabei roth, so haben wir es wahrscheinlich mit Typhusbacillen zu thun, wird sie aber dabei violett, so handelt es sich um das Bact. coli commune.

Für die Diagnose des Typhusbacillus bedient sich Elsner folgender Methode: Ein Kartoffelauszug von $\frac{1}{2}$ kg Kartoffeln auf 1 l Wasser wird mit gewöhnlicher Gelatine gekocht und durch Zusatz von 2,4–3,2 cm³ von $\frac{1}{10}$ Normal-Natronlauge auf je 10 cm³ Gelatine der bestimmte Säuregehalt erreicht. Der Nährboden wird filtrirt und sterilisirt. Die Gelatine kommt in Erlenmeyer'sche Kölbchen und wird mit 1% Jodkalium versetzt. Man mischt und

giesst Platten. Während man vom *Bact. coli commune* schon nach 24 Stunden ausgewachsene Colonien findet, beobachtet man erst nach 48 Stunden die Typhuscolonien als kleine wassertropfenähnliche, fein granulierte Colonien.

Alle bis jetzt angeführten Methoden übertrifft die Reaction, die in den letzten Jahren von Widal angegeben wurde. Dieselbe ermöglicht nicht nur die Erkennung des Typhusbacillus, sondern auch die Stellung der Diagnose auf Typhus, falls das klinische Bild, wie es oft anfangs vorkommt, nicht ganz klar ist.

Von einem Typhuskranken wird eine geringe Quantität Blut entnommen und aus demselben Serum gewonnen. Aus einer Cultur, in welcher man Typhus vermuthet, wird eine Eprouvette mit Bouillon geimpft und 24 Stunden im Brutapparat gelassen. Zu einem Tropfen der geimpften Bouillon wird ein Tropfen Serum hinzugefügt. Handelt es sich im gegebenen Fall um Typhusbacillen, so verlieren die Stäbchen sofort ihre Eigenbewegung und ballen sich zusammen. Alle übrigen bis jetzt bekannten Mikroorganismen bleiben in diesem Serum unverändert.

Aehnlich verfährt man, wenn es sich darum handelt, die Diagnose auf Typhus abdominalis zu stellen. Man verwendet hierzu eine voraus bestimmte Typhuscultur. Reagiren die Typhusbacillen nach Zusatz des Serums von dem suspecten Kranken in der erwähnten Weise, so liegt bestimmt Typhus abdominalis vor.

Zur Untersuchung des Wassers auf Typhusbacillen wurden folgende Methoden empfohlen. Vincent impft mit einer Probe des zu untersuchenden Wassers eine Bouillon, die bei 42° C. gehalten und zu der fünf Tropfen einer 5%igen Carbonsäurelösung hinzugesetzt wurde. Parietti setzt zu mehreren Epruvetten, die je 10 cm. einer neutralen Bouillon enthalten, einige Tropfen —

3-9 — folgender Lösung hinzu:

Salzsäure	4,0 gr.
Carbonsäure	5,0 gr.
Wasser	100,0 gr.

Die Epruvetten werden 24 Stunden der Bruttemperatur überlassen, mit dem zu untersuchenden Wasser geimpft und neuerdings der Bruttemperatur ausgesetzt. Tritt in der Bouillon Trübung ein, so handelt es sich um Typhusbacillen.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Die Eingangspforte für die Typhusbacillen ist der Darm. Man findet sie demgemäss in grösseren oder kleineren Gruppen in der Darmwand, ferner in den Mesenterialdrüsen, in der Milz, Leber, Niere von Typhuskranken. In vereinzelt Fällen findet man sie auch im Blut, in den Faeces und im Harn.

Aus Culturen von Typhusbacillen wurde von Brieger ein giftiges Alkaloid gewonnen, welches folgende Formel besitzt: $C_7H_{17}NO_4$. Aehnliche giftige Eiweissverbindungen wurden auch in den Organen Typhöser nachgewiesen.

Es ist bis jetzt nicht gelungen, Typhus bei Thieren experimentell hervorzurufen. Zunächst wurden Thiere mit typhösen Excrementen gefüttert. Das fiel negativ aus. Ebenso negativ fielen die Versuche aus, Thiere mit Culturen von Typhusbacillen zu füttern. Injections in's Peritoneum oder in den Darm von grösseren Dosen von Typhusculturen erzeugen jedoch bei Mäusen und Kaninchen eine tödtlich verlaufende Krankheit, bei der es zur Anschwellung der Milz, der Mesenterialdrüsen und der Peyer'schen Plaques kommt. Es handelt sich aber in solchen Fällen um eine Intoxication, die durch die giftigen Alkaloide hervorgerufen sein dürfte, denn die Typhusbacillen vermehren sich nicht im Organismus der Versuchsthiere.

Färbungsmethoden.

Mit den gewöhnlichen Anilinfarben färben sie sich viel schwerer als viele andere Bakterienarten. Es empfiehlt sich daher, die Farbelösungen entweder zu erwärmen, oder in Löffler's Methyleneblau oder im Ziehl'schen Carbolfuchsin zu färben. Die Gram'sche Methode ist beim Typhusbacillus nicht anwendbar.

Schnitte werden mit den üblichen Farbstoffen gefärbt.

Tetanusbacillus. Nicolaier, Kitasato.

Carle und Rattone ist es im Jahre 1889 gelungen, durch Ueberimpfung von Eiter einer Wunde, nach welcher Tetanus aufgetreten ist, bei Thieren Tetanus zu erzeugen. Zu derselben Zeit hat Nicolaier bei Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen, denen subcutan Gartenerde einverleibt wurde, einen Tetanus hervorgerufen.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Wenig bewegliche, schlanke Stäbchen, von 0,001 mm Länge und 0,005 mm Breite. In Culturen wachsen sie oft zu Fäden aus. Im sporenhaltigen Zustande, in welchem sie unbeweglich sind, haben sie die Form von Stecknadeln, während sie im sporenfreien Zustande ein borstenförmiges Aussehen besitzen.

Sie erzeugen bei 37° C. schon nach 30 Stunden runde endständige Sporen, bei 20—25° C. treten dieselben erst nach ca. sieben Tagen auf. Die Sporen sind ausserordentlich widerstandsfähig. Eine Stunde bei 80° im feuchten Zustande gehalten, bleiben sie lebensfähig, erst 5 Minuten in Dampf bei 100° werden sie abgetötet. Getrockneter, sporenhaltiger Eiter bleibt nach 15 Monaten noch virulent. In 0,5%igem Sublimat verliert die Erde ihre Virulenz erst nach einer Stunde.

Die Tetanusbacillen sind obligat anaërob, sie wachsen nur bei Luftabschluss. Unter Wasserstoff gedeihen sie gut, nicht aber unter Kohlensäure. Die Reinzüchtung der Tetanusbacillen wollte den ersten Untersuchern nicht gelingen. Erst Kitasato hat dieselben in folgender Weise gezüchtet. Auf schräges Agar oder Blutserum wurde Tetanuseiter verstrichen. Nach 48stündigem Aufenthalt im Brutapparat gingen nebst anderen Bakterien die Tetanusbacillen auf. Um die übrigen mitgewachsenen Mikroorganismen abzutöten, bringt man die Epruvetten in ein Wasserbad, welches auf 80° C. erhitzt ist und lässt sie darin ca. eine Stunde. Nachher kann das Plattenverfahren angewendet werden. Man inficirt Nährgelatine mit der gewonnenen Cultur und giesst sie in Schälchen aus, in welches Wasserstoff geleitet wurde.

In den Gelatineschälchen oder -Platten (am besten gelingt die Cultivirung, wenn der Nährgelatine 1—2% Traubenzucker zugesetzt wird) entstehen bei 20—25° C. nach 4—5 Tagen, bei 14—28° C. erst nach einer Woche Culturen, die denen des Heubacillus ähnlich sind, mit massigen dichten, von einem feinen Strahlenkranz umgebenen Centren. Langsam tritt die Verflüssigung und die Gasbildung ein.

In hoher Cultur. Gelatine mit 1,5—2% Traubenzucker. Längs des Stiches entsteht eine wolkig ausstrahlende Cultur.

Der Tetanusbacillus wächst auf allen gebräuchlichen Nährböden, im Thermostaten rascher als bei Zimmertemperatur. Bei 14° C. findet kein Wachstum statt.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Man fand ihn in der Erde und im Wundeiter an Tetanus Verstorbener. Mäuse, Ratten, Kaninchen gehen nach Injectionen an Tetanus zu Grunde. Auch bei Pferden, Schafen, Hunden zeigen sich nach Uebertragungen typische Tetanuserkrankungen. Das Huhn ist unempfindlich für die Tetanusbacillen.

Bei Infektionsversuchen mit tetanushaltigem Eiter oder Erde findet man den Tetanusbacillus nur im Eiter an der Infektionsstelle, sonst nirgends im Organismus. Wird zu den Infektionsversuchen

eine Reincultur verwendet, so tritt allerdings Tetanus auf, aber die Tetanusbacillen sind dann nicht mehr auffindbar. Das spricht dafür, dass es sich bei Tetanus um keine Intoxication handelt, vielmehr um eine primäre Infection und nachträgliche Intoxication. An der Infectionsstelle erzeugen die Tetanusbacillen das spezifische Gift, welches dem Organismus übermittelt wird und welches eigentlich den Tetanus erzeugt.

Ein solches Gift wurde von Faber in Culturen nachgewiesen. Weyl und Kitasato gelang es dann, diesen giftigen Körper aus den Culturen auszuscheiden. Mit diesem Gift allein — ohne Infection mit Tetanusbacillen — lässt sich bei Thieren Tetanus erzeugen.

Beim Menschen wurde das spezifische Tetanusgift im circulirenden Blut von Nissen nachgewiesen. Ueber die chemische Natur dieses Giftes sind unsere Kenntnisse noch sehr mangelhaft. Es ist uns bekannt, dass durch Erhitzen auf 55—65° C. das Gift in 5 Minuten bis 1½ Stunden geschädigt wird. Ebenso ungünstig wirken auf dasselbe das Licht, der Sauerstoff der Luft und das Austrocknen.

Am Tetanusgift ist es Behring und Kitasato zuerst gelungen, die immunisirenden Eigenschaften des Blutserums von künstlich immunisirten Thieren nachzuweisen. Kaninchen wurden künstlich gegen Tetanus immunisirt. Das Blutserum von denselben wurde Mäusen injicirt, und die letzteren dann mit Tetanus inficirt. Es zeigte sich nun, dass die Mäuse, die sonst für Tetanus empfänglich sind, immun blieben. Diese Entdeckung war von der grössten Tragweite, denn sie wurde zum Ausgangspunkt der ganzen Blutserumtherapie, die gegenwärtig so grossartige Fortschritte macht.

Färbungsmethoden.

Sie färben mit den gewöhnlichen Anilinfarben und auch nach Gram.

Rhinosklerombacillus v. Frisch.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Unbewegliche, kurze Bacillen 2—3 mal so lang als breit, mit abgerundeten Enden; sie sind von einer deutlichen Schleimhülle, einer Gallertkapsel, umgeben; grösstentheils kommen sie zu zweien vereinigt vor; sie können auch zu längeren Bacillen und Scheinfäden auswachsen.

Die Rhinosklerumbacillen sind dem Friedländer'schen Pneumobacillus sehr ähnlich. Nur sind sie weniger virulent als dieser. In morphologischer Beziehung ist dem Friedländer gegenüber eine grössere Transparenz der Gelatinecultur, sowie der Persistenz der Kapsel auf den meisten Nährböden als Unterscheidungsmerkmal hervorzuheben.

Auf Gelatineplatten zeigen sie am 2.—3. Tage rundliche Colonien von weissgelblichem Colorit, die bei schwacher Vergrösserung granulirt erscheinen.

In Sticheulturen (Gelatine) ist das Wachsthum ähnlich einer Nagelcultur. Der Kopf ist feucht, glänzend und von schleimiger Consistenz. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Auf Agar zeigen sich bei 36—38° C. nach kurzer Zeit violettglasartige Colonien.

Auf Kartoffeln entsteht ein weisser, leichtgelblicher rahmartiger Rasen, der anfangs nur auf die Impfstelle beschränkt ist und erst später sich ausbreitet.

Auf Blutserum entwickelt sich ein weisser Belag. Bei allen diesen Züchtungsversuchen bleibt die Kapsel auch in den späteren Entwicklungsstadien erhalten. Bei der Züchtung in Bouillon gehen aber die Kapseln zu Grunde.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Man fand ihn im Gewebesafte von Rhinoskleromtumoren.

Impfungen haben bei Thieren Entzündungen der Pleura, Abscesse im subcutanen und muskulären Gewebe und den Tod zur Folge, aber Rhinosklerom liess sich nicht erzeugen.

Färbungsmethode.

Färbt sich gut mit Löffler's Methyleneblaulösung. Bei der Färbung mit Anilingentianaviolett und nachträglicher Behandlung mit essigsauerm Wasser oder mit Ziehl'scher Carbolfuchsinlösung erscheinen die Bacillen von der Kapsel umgeben.

Bei der Gram'schen Methode tritt eine theilweise Entfärbung ein.

Pneumobacillus. Friedländer.

Friedländer war der erste, der aus pneumonischem Sputum einen Mikroorganismus in Reincultur züchtete. Vor ihm haben

schon Klebs, Eberth, Koch bei der Pneumonie bestimmte Mikroorganismen gesehen.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Unbewegliche Stäbchen von wechselnder Grösse. Sie kommen häufig paarweise vor, zuweilen finden sich auch Verbände von 3—4 an einander gereihten Elementen. In der Lunge findet man sie von einer Kapsel umschlossen.

Sporenbildung ist nicht mit Sicherheit beobachtet worden, die Culturen sind aber selbst nach einem Jahre im Stande zu gedeihen. Die Bacillen wachsen auf den gebräuchlichen Nährböden, sowohl bei Zimmer- als bei Bruttemperatur.

Auf Gelatineplatten entstehen in der Tiefe kleine gelbliche Colonien von leicht körnigem Gefüge; sie dringen bald an die Oberfläche und entwickeln sich zu porzellanartig schimmernden Auflagerungen. Die Gelatine wird niemals verflüssigt.

Stichculturen (Gelatine) Bei Zimmertemperatur entsteht an der Oberfläche nach 24 Stunden eine schneeweisse schimmernde halbkugeligartig gewölbte Masse, welche im Zusammenhang mit dem dichten weissen Impfstich, das Bild einer Nagelcultur darbietet. Nach einer Zeit entsteht leichte Bräunung der Gelatine und es kommt zur Entstehung von Gasblasen.

In Strichculturen (Agar-Agar) ist das Wachstum ähnlich dem auf Gelatine.

Auf Kartoffeln bildet sich ein gelblichweisser schmieriger Rasen, in welchem Gasbildung auftritt, besonders bei Bruttemperatur.

Traubenzuckerlösungen werden durch den Pneumobacillus vergohren, wobei Kohlensäure und Wasser entbunden wird.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Der Pneumobacillus kommt nur selten bei der menschlichen Pneumonie vor. In 83 Fällen von Pneumonie fand ihn Weichselbaum nur 6mal. Er kommt hier entweder allein vor oder in Gemeinschaft mit anderen Mikroorganismen. Der Pneumobacillus wurde auch bei Schnupfen im Nasensecret, bei Otitis media acuta gefunden.

Was die Pathogenität des Pneumobacillus anbetrifft, so fand Friedländer, dass Hunde, Meerschweinchen, die er verstäubte Culturen inhalieren liess, oder ihnen Culturen intrapleural oder intraabdominal beibrachte, zu Grunde gingen. Manchmal kam es zur Bildung pneumonischer Processe.

Färbungsmethoden.

Deckglaspräparate kommen in eine Mischung von Aq. 100, Alkohol 50, Eisessig 12,5 mit Dahlia in der Wärme gesättigt auf eine kurze Zeit, dann in Wasser abgespült und untersucht. Die Kapsel wird nach der Friedländer'schen Methode zur Darstellung gebracht. Die Gram'sche Methode ist hier nicht anwendbar.

Schnitte werden 24 Stunden in essigsaurer Gentianaviolett-lösung gefärbt. (Conc. alkohol. Gentianaviolett 50,0, Aq. dest. 100,0, Acid. acetic. 10,0), worauf in 0,1% Essigsäure entfärbt.

Diplococcus pneumoniae. A. Fränkel, Weichselbaum.

Wie bereits erwähnt, kommt dem Pneumobacillus keine ausschliessliche Bedeutung zu, vielmehr kommt hier im grössten Theil der Fälle ein Mikroorganismus vor, den schon Klebs und Eberth beobachtet haben und der von A. Fränkel und Weichselbaum näher untersucht wurde.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Den Diplococcus pneumoniae stellen unbewegliche ovale Diplokokken dar, deren Glieder etwas in die Länge gezogen und einer Lanzette ähnlich sind. Bei stärkeren Vergrößerungen erweisen sie sich also als kurze Stäbchen mit spitzen Enden. Sie kommen in der Regel paarweise vor. Man findet sie aber auch oft zu 5—6 beisammen, nur durch eine Zwischenschicht getrennt. Die aus dem Körper entnommenen lassen eine Kapsel nachweisen, welche man in den den Culturen entnommenen niemals findet. Im ausgetrockneten Sputum bleibt der Diplokokkus lange Zeit lebensfähig und virulent. Er ist bedeutend kleiner als der Pneumobacillus Friedländer's. Er wächst auf den künstlichen schwach alkalischen Nährböden jedoch nicht bei Zimmertemperatur. Unter 22° C. kommt kein Wachstum zu Stande. Am besten gedeiht er bei Bruttemperatur.

Auf Gelatineplatten. Man muss dazu 15% Gelatine verwenden und eine Temperatur nicht unter 22° C. Es entstehen kleine weissliche Colonien, welche den Nährboden nicht verflüssigen.

In Sticheculturen (15% Gelatine): In der Richtung des Stiches treten kleine weisse Pünktchen auf, welche deutlich von einander getrennt sind. Auf der Oberfläche kommt eine schwache, durchscheinende Vorrangung zu Stande.

Auf Agarplatten bei 35° C. bilden sich feine tropfförmige Colonien.

In Strichculturen (Agar-Agar) entstehen grauweissliche Streifen von gelatinöser Beschaffenheit.

Auf Blutserum entsteht ein dünner, durchscheinender schleimiger Belag. Die Culturen gehen in wenigen Tagen zu Grunde, sie verlieren aber schon vorher seine pathogenen Eigenschaften.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Der Diplokokkus kommt nicht blos im Sputum der croupösen Pneumonie, im Lungensaft und in der erkrankten Lunge selbst vor, sondern man findet ihn auch im Blut und bei manchen anderen Erkrankungen. So findet man sie nach Weichselbaum in Exsudaten in der Paukenhöhle und im Siebbeinlabyrinth. Nach Foà und Bordow kommen sie auch bei Cerebrospinalmeningitis vor. Klein, Biondi, A. Fränkel und Miller fanden sie auch bei gesunden Individuen in der Mundhöhle und im Nasenrachenraum. Esmarch fand sie auch im Staube eines Zimmers, in welchem sich Pneumoniker aufhielten.

Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse sind für den Diplococcus empfänglich. Injicirt man eine frische virulente Cultur — am besten eignet sich hierzu eine Bouilloneultur — einem Kaninchen unter die Haut, so geht das Thier in 1—2 Tagen unter Erscheinungen einer Septikämie zu Grunde. Man findet dann im Blut und in den Organen die Kokken mit ihren Kapseln. Entzündungserscheinungen an den Lungen kommen nicht bei subcutanen Injectionen zu Stande. Bei Infectionen der Pleura entstehen Entzündungen derselben und in den Lungen. Bringt man einem Kaninchen in die Trachea eine Reincultur von den Diplokokken, so kommt eine charakteristische Pneumonie zu Stande.

Färbungsmethode.

Färbt sich mit allen Anilinfarben, am besten mit Methylviolett und Fuchsin, auch ist die Gram'sche Methode zum Unterschiede vom Pneumobacillus Friedländer's anwendbar. Die Kapsel bleibt bei den gewöhnlichen Färbungen ungefärbt. Sie wird nur mit der Kapselfärbungsmethode zur Darstellung gebracht.

Der Influenzabacillus.

Bei der Influenza wurde von Babes, Canon, Pfeiffer und Kitasato ein Stäbchen gefunden, welches diese Autoren als den Erreger dieser Affection bezeichnen.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Der Influenzabacillus stellt ein unbewegliches kleines und dünnes Stäbchen dar, welches einzeln oder paarweise vorkommt. Sporenbildung kommt nicht vor. Der Bacillus ist auch demgemäss gegen äussere Einflüsse ausserordentlich empfindlich. Besonders schädigend wirkt auf ihn Austrocknung ein. Feucht gehalten kann er längere Zeit leben.

Der Influenzabacillus gedeiht nur bei Vorhandensein von Sauerstoff und nur bei Bruttemperatur. Das Temperaturminimum liegt bei 26—27° C., das Temperaturmaximum bei 42° C.

Auf den gewöhnlichen Nährböden lässt sich der Bacillus nicht züchten. Am besten wächst er auf frischem Blut, welches man auf die Agarfläche austreicht. Es kann zu diesem Zweck Blut von Menschen, Kaninchen, Meerschweinchen, Tauben, Fröschen verwendet werden. Das bronchiale Sputum wird mit Bouillon verrieben und auf den erwähnten Nährböden ausgestrichen. Nach 24 stündigem Aufenthalt im Brutapparat erscheinen äusserst winzige nur mit der Lupe bemerkbare Colonien, die, mikroskopisch untersucht, structurlos erscheinen.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Der Influenzabacillus findet sich in der Schleimhaut der Luftwege, wo er entweder frei im Schleim, oder in den Eiterzellen eingeschlossen vorkommt. Auch im Blut wurden er beobachtet, das scheint jedoch äusserst selten vorzukommen.

Der Influenzabacillus scheint ein Gift zu produciren, welches die allgemeinen Erscheinungen bei der Influenza hervorruft. Bei Affen konnte eine der Influenza ähnliche Erkrankung experimentell hervorgerufen werden. Kaninchen sind sehr empfindlich für das Gift, welches der Influenzabacillus producirt.

Färbungsmethoden.

Sie färben sich mit den gewöhnlichen Farbstofflösungen. Die Gram'sche Methode ist nicht anwendbar.

Zum Nachweis der Influenzabacillen im Blut legt Canon das Deckglaspräparat auf 5 Minuten in Alkohol und färbt durch 3–6 Stunden in einer Methylenblaucosinlösung, welche folgende Zusammensetzung hat:

Conc. wässer. Methylenblaulösung	40,0
1/2%iger alkohol. (70%) Eosinlösung	20,0
Wasser	40,0

Die Präparate werden in Wasser abgespült, getrocknet, eingeschlossen. Die rothen Blutkörperchen sind roth, die weissen und die Bacillen blau.

Gonococcus. Neisser.

Im Jahre 1879 fand Neisser im Trippersecrete eigenthümliche Mikroorganismen, die er als Gonokokken bezeichnet hat. Die Bedeutung derselben als Erreger der Gonorrhöe wurde anfangs zwar angezweifelt — es steht jedoch gegenwärtig fest, dass die Gonokokken als die Erreger der Gonorrhöe anzusehen sind.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Es sind das grosse Kokken von 1,25 μ im Durchmesser, ohne Eigenbewegung, welche in der Regel als Diplokokken auftreten. Die Berührungsfächen sind abgeflacht, so dass sie die Gestalt einer Semmel oder einer Niere annehmen. In grösseren Verbänden kommen sie nicht vor. Sie vermehren sich durch Theilung.

Auf Gelatine, Agar-Agar, Kartoffeln gedeihen sie nicht. Von Bunsen wurden sie zuerst auf menschlichem Blutserum, welches aus Placenten gewonnen wurde, gezüchtet. Auf diesem Nährboden entstehen zarte durchsichtige Beläge mit scharf geschnittenen Rändern. Die Cultur stirbt aber sehr bald — schon nach 3 Tagen — ab, so dass dasselbe jedesmal überimpft werden muss.

Viel dauerhafter erweisen sich die Züchtungsversuche, die Wertheim angestellt hat. Er benützte dazu eine Mischung von Blutserum und Nähragar und verfährt dabei folgendermaassen:

Eine Eprouvette mit menschlichem Blutserum wird mit Trippersecret in gewöhnlicher Weise inficirt und von derselben zwei Verdünnungen gemacht. Die Epruvetten kommen in ein Wasserbad von 40° C. Zu jeder derselben wird hierauf die gleiche Menge eines 2%igen, geschmolzenen und nachher auf 40° C. abgekühlten

Nähragar hinzugefügt. Der Inhalt der Eprouvetten wird in Petri'sche Schalen ausgegossen und in den Brutapparat gebracht. Schon nach 24 Stunden treten Gonokokkencolonien auf. Die meisten Colonien entwickeln sich in der Substanz des Nährbodens; die tiefen Colonien erscheinen im auffallenden Licht weisslichgrau, im durchfallenden gelbbraun; nach drei Tagen ist ihre höckerige Beschaffenheit so gleichmässig, dass sie den Eindruck einer Brombeere machen. Die oberflächlichen Colonien haben in ihrer Mitte ein central gelegenes compactes Pünktchen, das in seinem Bau mit den tiefen Colonien übereinstimmt und nach allen Seiten von einem anfangs sehr zarten, durchsichtigen, feinkörnigen, farblosen Oberflächenbelag umgeben ist, der nach 3 Tagen um die centrale Masse zahlreiche kleine haufenartige Verdichtungen von bräunlich-gelber Farbe zeigt.

Aus den Plattenculturen kann man dann oberflächliche Impfstichculturen herstellen. Man mischt 1 Theil menschlichen Blutserums mit 2—3 Theilen Nähragar und lässt die Mischung schräg erstarren. Schon nach 24stündigem Aufenthalte treten Colonien auf.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Sie kommen grösstentheils in den Eiterzellen bei gonorrhöischer Schleimhautentzündung vor, selten frei. Ferner wurden sie im submucösen Gewebe gefunden.

Impfungen der Harnröhre einer gesunden Frau sollen nach den Angaben von Bumm, welche Wertheim bestätigt hat, heftige Gonorrhöe hervorgerufen haben.

Bei Thieren ist es bis jetzt nicht gelungen, Gonorrhöe experimentell hervorzubringen. Bei manchen Thieren, wie bei weissen Mäusen, Meerschweinchen, Kaninchen, Ratten, wenn man ihnen in die Bauchhöhle eine Gonokokkencultur einspritzt, lässt sich eine eitrige Peritonitis erzeugen, die aber nicht letal verläuft.

Färbungsmethoden.

1. Nach Neisser.

Die mit Eiter angestrichenen Deckgläser kommen auf eine kurze Zeit in erwärmte concentrirte alkoholische Eosinlösung. Das überschüssige Eosin wird mit Fliesspapier aufgesaugt und das Deckglas kommt dann für eine $\frac{1}{4}$ Minute in concentrirte alkoholische Methylenblaulösung. Abspülen in Wasser. Die Gonokokken sind blau.

2. Nach Schütz.

Die Präparate werden 5–10 Minuten in einer kalten, gesättigten Lösung von Methylenblau in 5%igem Carbolwasser gefärbt, dann mit Wasser ab gespült und kurz in folgende Lösung getaucht: 5 Tropfen Acid. acet. dil. auf 20 cem. Aq. dest. und nachher wieder mit Wasser ab gespült und mit einer verdünnten Safraninlösung nachgefärbt. Die Gonokokken erscheinen blau, während die Zellen und Kerne lachsfarben sind.

3. Pick's und Jacobsohn's Methode.

Zu 20 cm³ destillirten Wassers werden nach einander 15 Tropfen Ziehl'scher Carbofuchsinlösung und 8 Tropfen concentrirter alkoholischer Methylenblaulösung hinzugefügt. Mit einigen Tropfen dieses Farbegemisches wird das Präparat durch 8–10 Secunden gefärbt, dann kurz im Wasser ab gespült und getrocknet. Darnach erscheinen im Präparate die Bakterien tiefblau, die Zellkerne hellblau, Plasma, Schleim etc. roth. Zu lange darf man nicht färben, sonst nehmen auch die Bakterien eine Mischfarbe oder eine reine Fuchsinfarbe an. Durch den Farbencontrast treten die Bakterien leichter hervor, so dass die Gonokokken leichter gefunden werden können.

4. Schäfer's Methode.

Das auf den Objectkörper möglichst dünn ausgestrichene und gut fixirte Präparat wird 5–10 Secunden lang mit einer verdünnten Carbofuchsinlösung (Fuchsin 0,1, Alkohol 20 cm³, 5%iger Carbolsäure 200 cm³, wobei es sich empfiehlt, das Fuchsin zuerst in der entsprechenden Menge heißen Wassers zu lösen, dann die Carbolsäure und zuletzt den Alkohol hinzuzufügen) gefärbt, ab gespült und mit einer hellblauen Aethylendiaminlösung (ungefähr 2–3 Tropfen einer wässrigen Methylenblaulösung auf 10 cm³ einer 1%igen Aethylendiaminlösung) so lange nachgefärbt, bis neben dem röthlichen Farbenton sich eben eine deutliche blaue Farbennuance bemerklich macht, was ungefähr 40 Secunden dauert, sodann mit Wasser ab gespült und getrocknet. Dann sieht man das Protoplasma der Leukocyten zart hellroth, die Kerne schwach hellblau, die Gonokokken schwarzblau, so dass dieselben sich ausserordentlich scharf von den übrigen Zellelementen abheben, optisch niemals gedeckt werden können und sich ungemein leicht auffinden lassen.

5. Die einfachste Methode,

die sich besonders für den praktischen Arzt eignet, ist folgende Trippersecret wird auf den Objectträger verstrichen — fixirt und mit einer starken alkoholischen oder wässerigen Methylenblaulösung gefärbt. Es wird hierauf abgespült in Wasser, getrocknet und eingeschlossen. Die Kerne und die Gonokokken sind blau gefärbt und treten sehr deutlich hervor. Die Lagerung in den Eiterzellen und die charakteristische Gestalt sind in der Regel ausreichend, um die Diagnose zu stellen.

6. Nach Steinschneider und Galewski. (Differenzirung von anderen Kokken.)

Diese Methode beruht darauf, dass die Gonokokken sich nach Gram nicht färben.

Die gut verstrichenen Objectträgerpräparate werden 25—30 Minuten in Anilinwassergentianviolett belassen, 5 Minuten der Legel'schen Jodjodkaliumlösung ausgesetzt und dann so lange in Alkohol belassen, bis die von dem Objectträger abtropfende Flüssigkeit keinen bläulichen Schimmer mehr zeigt. Dann wird nach Czaplewski mit einer verdünnten Fuchsinlösung nachgefärbt. Czaplewski empfiehlt 1 gr. Fuchsin mit 5 cm³ Ac. carbol. liquef. mässig zu verreiben, sodann unter beständigem Verreiben 50 cm³ Glycerin zuzusetzen und diese Lösung mit 100 cm³ Aq. dest. zu verdünnen. Die so bereitete Stammlösung, welche unbegrenzt haltbar ist, bei Verdünnung mit Wasser keinen Niederschlag giebt, auch kein Häutchen auf der Oberfläche bildet, wird mit der zehnfachen Menge Wassers verdünnt, durch 20—30 Secunden auf dem nachzufärbenden Präparate belassen.

Streptococcus erysipelatis. Fehleisen.

Fehleisen hat diesen Mikroorganismus zuerst rein gezüchtet und seine pathogene Bedeutung bei der Entstehung der Erysipelas festgestellt.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Kleine Kokken, die in der Cultur und im Gewebe in rosenkranzähnlichen Verbänden auftreten. Die Grösse der einzelnen Glieder dieser Verbände ist häufig eine schwankende.

Die Erysipelkokken bilden keine Sporen.

Dieser Streptokokkus wächst auf den gebräuchlichen Nährböden sowohl bei Zimmer-, als bei Bruttemperatur.

Auf Gelatineplatten lassen sich erst am dritten oder vierten Tage in der Tiefe der Gelatine kleine Colonien erkennen, die bei schwacher Vergrößerung eine gelbliche Verfärbung zeigen; die älteren Colonien sind von bräunlichem Colorit und besitzen unregelmässige Contouren. Eine Verflüssigung der Gelatine tritt niemals ein.

In Sticheulturen (Gelatine) entstehen längs des Impfstiches weisse, kugelige Colonien, die zu einem weisslichen Streifen sammentreten. Oberflächlich lässt sich entweder gar kein, oder nur ein geringes Wachstum constatiren. Eine Verflüssigung der Gelatine tritt niemals ein. Nach 4 Monaten ist die Cultur abgestorben.

Auf Agarplatten lässt sich das Wachstum bei Bruttemperatur beschleunigen. Es erscheinen am zweiten Tage grauefarbte, tropfenartige Auflagerungen.

In Strichculturen (Agar-Agar) erscheinen in der aller-nächsten Umgebung des Impfstiches schmale bandförmige Höfe, die aus weisslichgrauen kleinen Colonien bestehen.

Auf Kartoffeln scheint er nicht zu wachsen.

Auf Bouillon bei Bruttemperatur wächst er sehr rasch.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Man findet die Erysipelkokken in den Lympfbahnen der Haut an Erysipelas Erkrankter. Uebertragungen auf den Menschen haben in manchen Fällen Erysipelas hervorgerufen. Mäuse sind nicht empfänglich, dagegen Kaninchen. Impfungen am Ohr rufen Erysipelas hervor, welche aber nur auf das Ohr beschränkt bleibt.

Es wurden auch Erysipelasfälle beobachtet, die nicht durch den Streptococcus hervorgerufen wurden, sondern man fand Staphylococcus pyogenes aureus.

Färbungsmethoden.

Sie färben sich mit verschiedenen Anilinfarbstoffen. Die Gram'sche Methode ist hier anwendbar.

Streptococcus pyogenes. Rosenbach.

Bei phlegmonösen Eiterungen gelang es Rosenbach einen als Streptococcus pyogenes beschriebenen Mikroorganismus zu züchten.

Dasselbe dürfte höchstwahrscheinlich mit dem von Fehleisen bei Erysipel gefundenen identisch sein. Sowohl bei der Züchtung auf künstlichen Nährböden als bei Thierversuchen ist sein Verhalten mit dem letzteren vollkommen identisch.

Man findet diesen Streptococcus bei eiterigen Processen, bei puerperalen Pyämien, bei Gelenksentzündungen, bei acuter Endocarditis. Nach dem Vorgang von Lingelsheim und Behring unterscheiden wir einen Streptococcus longus und brevis. Diese Unterschiede ergaben sich bei Cultivierung der Streptokokken auf Bouillon.

Dem Streptococcus brevis scheint keine pathogene Bedeutung zuzukommen. Mäuse gehen nach subcutanen Injectionen von Culturen des Streptococcus in 3—6 Tagen zu Grunde. Es entsteht eine typische Septicämie. Auch Kaninchen gehen nach subcutanen Injectionen des Strept. longus an Septicämie zu Grunde.

Die Virulenz des Streptococcus longus ist nicht immer die gleiche. Die grösste Virulenz kommen denjenigen Bouillonculturen zu, in denen der Streptococcus verfilzte Haufen bildet.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Rosenbach.

Dieser Mikroorganismus wurde zuerst von Rosenbach aus Abscessen cultivirt.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Die Staphylokokken sind unbewegliche, völlig runde Kokken von ungleicher Grösse, die sich zu unregelmässig traubenförmig gestalteten Haufen ordnen. Die mittlere Grösse beträgt ca. 0,87 μ .

Sporen wurden bis jetzt nicht beobachtet, doch zeigen sich die Kokken verschiedenen Angriffen gegenüber ziemlich widerstandsfähig. Zehntägiges Austrocknen hebt die Lebensfähigkeit nicht auf; nur stark concentrirte Reagentien vermögen sie zu tödten und siedendes Wasser erst nach einigen Minuten.

Die Staphylokokken wachsen auf den gewöhnlichen Nährböden schon bei Zimmertemperatur. Besser gedeihen sie bei Bruttemperatur.

Auf Gelatineplatten entstehen kleine Pünktchen, die allmählig die umgebende Gelatine verflüssigen und einen orange gelben Farbstoff produciren.

In Sticheulturen erfolgt das Wachsthum längs des ganzen Impfstiches, wobei es zur Verflüssigung der Gelatine kommt. Anfangs ist die Cultur etwas trüb. Sie wird aber nach 2—3 Tagen gelblich, um dann im weiteren Verlauf des Wachstums orange zu werden.

Auf Agarplatten zeigen sich etwa nach 3 Tagen kleine gelbe oder orangefarbene Colonien.

In Strichculturen (Agar-Agar). Längs des Striches entsteht ein gelblicher bis orangegelber feuchtglänzender Rasen, „als wenn man die Oberfläche mit Oelfarbe überzogen hätte“.

Auf Kartoffeln bildet sich ein weisslicher Belag, der allmählig dicker wird und eine orangegelbe Farbe annimmt.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Der *Staphylococcus* ist in der Natur sehr verbreitet.

Man findet ihn in der Luft, in der Erde und bei Eiterungen.

Die Versuche, die Garré an sich selbst anstellte, haben dargethan, dass der *Staphylococcus pyog. aur.* eiterige Entzündungen hervorzurufen im Stande ist.

Impfungen bei Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen bleiben wirkungslos; subcutane Injectionen verursachen Abscessbildungen, dagegen führen Injectionen in die Bauchhöhle den Tod herbei.

In die Blutbahn gebracht verursachen sie Gelenkentzündungen und Nierenaffectionen. Nach Laedirung der Herzklappen entsteht, wie es Orth, Wyssokowitsch und Ribbert nachgewiesen, eine typische *Pericarditis ulcerosa*.

Leber isolirte aus den Culturen den wirksamen Bestandtheil in der Form eines krystallinischen Körpers, den er mit dem Namen Phlogesin bezeichnete. In geringer Menge injicirt, ruft er ohne Mikroorganismen Eiterungen hervor. Christmas erhielt aus den Culturen einen pyogenen Körper in Form einer enzymartigen Substanz, die bei der Einbringung in die vordere Augenkammer eines Kaninchens eine Eiterung veranlasste.

Färbungsmethoden.

Sie färben sich gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben, auch ist die Gram'sche Methode hier anwendbar.

Als Varietäten des *Staphylococcus aureus* ist der *Staphylococcus pyogenes albus* und *citreus* anzusehen.

Actinomyces (Strahlenpilz). Bollinger, J. Israel.

Den Actinomycespilz hat Langenbeck im Jahre 1845 gefunden. Im Jahre 1878 hat ihn zuerst Israel genau beschrieben. Beim Rind wurde der Actinomycespilz von Bollinger (1877) gesehen.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Die verschieden grossen körnchenförmigen Colonien bestehen aus wiederholt dichotomisch sich verzweigenden Fäden, die von einem Mittelpunkte nach allen Richtungen hin ausstrahlen und gegen den Rand zu kolben- oder birnförmig anschwellen.

Paltauf bezeichnet den Actinomycespilz als einen Spaltpilz und hält die keulenförmigen Auftreibungen für Degenerationsformen. Ebenso halten ihn Israel und Wolff für einen polymorphischen Strahlenpilz.

Sie lassen sich am besten nur bei Bruttemperatur züchten.

Auf Agar-Agar beobachtet man bei 30° C. nach 48 Stunden eine Schwellung der geimpften Pünktchen; sie vergrössern sich allmählig und nach einigen Wochen entstehen grosse gelblichweisse Körnchen, welche in die Tiefe des Nährbodens hineinwachsen.

Auf Blutserum bildet sich ein dünner, sammtartig rauher Rasen mit zackigen Conturen.

In Bouillon entwickeln sich in kurzer Zeit miliare Knötchen, die bis zu Haselnussgrösse anwachsen können.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Den Strahlenpilz findet man bei Actinomycose am Kiefer des Rindes in besonderen Geschwülsten und beim Menschen.

Der Actinomyces ist auf den Menschen leicht übertragbar. Er siedelt sich unter anderem gern in hohlen Zähnen an, kann dann zur Entstehung von abscedirenden Kiefergeschwülsten Veranlassung geben, als auch Actinomycose der inneren Organe erzeugen.

Die mit Actinomycose in die Bauchhöhle geimpften Kaninchen zeigen Tumoren am Parietalperitoneum, an der Darmoberfläche. Die Tumoren enthalten in sich den Strahlenpilz.

Färbungsmethoden.

Deckglaspräparate.

Man zerdrückt Pilzkörner zwischen zwei Deckgläschen und färbt sie nach Gram.

Schnitte.

Nach Rütmeyer.

Die Granulationen werden mit Celloidin behandelt, mit Ammoniacarmin oder Pikrocarmin gefärbt und dann nach Gram gefärbt.

Nach Lindt.

Die nach Gram gefärbten Schnitte werden mit alkoholischer Pikrinsäurelösung nachgefärbt; die Fäden sind blaugrün auf gelbem Grunde.

Nach Weigert.

Längere Zeit an der Luft gelegene Orseille wird aufgelöst in einem Gemisch von 20 cem. Alk. absol., 5 cem. Essigsäure und 40 cem. destillirt. Wasser aber nur so viel, dass man nach dem Filtriren eine rubinrothe Lösung erhält. In dieser Lösung bleiben die Schnitte eine Stunde, dann werden sie in Alkohol ab gespült und in einer 1% wässrigen Gentianaviolettlösung gefärbt.

Die weitere Behandlung ist wie bei der gewöhnlichen Bakterienfärbung. Die Kerne sind blauviolett, das Bindegewebe schwach orange, die inneren Partien der Pilze bläulich, die äusseren rubinroth.

Bacillus der Beulenpest. Yersin.

Als Heimath der Bubonen- oder Beulenpest gilt China. Ueber das erste Auftreten derselben besitzen wir keine verlässlichen Nachrichten. Genaue Kenntniss über die Seuche besitzen wir erst aus dem 14. Jahrhundert. In den folgenden Jahrhunderten kamen nur vereinzelt Ausbrüche der Seuche in Europa vor; die letzten in den Jahren 1827 in Odessa und 1878 in Wetljänka.

Als Ursache der Bubonenpest dürfte der im Jahre 1894 von Yersin entdeckte Bacillus zu betrachten sein.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Der Pestbacillus stellt ein plumpes, an beiden Enden abgerundetes Stäbchen dar, welches mitunter eine Kapsel aufweist. Er besitzt weder Eigenbewegung noch Geissel. In der Form weist er eine grosse Variabilität auf: wir finden kurze gedrungene Exemplare, daneben längere Fäden, von denen die Gliederung kaum wahrnehmbar ist, ferner diplokokkenähnliche Formen. Je älter die Cultur ist, desto mehr Degenerationsformen findet man vor; in

jungen Culturen fehlen sie gänzlich. Die Vermehrung dürfte auf dem Wege der Theilung vor sich gehen. Sporen wurden nicht beobachtet, obwohl sie gegen Austrocknung ziemlich widerstandsfähig sind, dagegen lassen sie sich mit den gewöhnlichen desinficirenden Mitteln leicht und rasch abtöden.

Der Pestbacillus lässt sich auf allen gebräuchlichen Nährböden züchten.

Auf der Gelatine entstehen glattrandige Colonien, die eine feine Körnung aufweisen, wobei die Gelatine nicht verflüssigt wird.

Auf Agar-Agar beobachtet man nach 24 Stunden zarte Tröpfchen, die nach 48 Stunden blassgraue, leicht irisirende Knöpfchen darstellen.

In alkalischer Bouillon ist das Wachsthum spärlich; es bilden sich zarte Flöckchen, die zu Boden sinken. Setzt man zu der Bouillon Traubenzucker hinzu, so wird das Wachsthum üppiger.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Den Pestbacillus findet man bei den an der Seuche Erkrankten im Blut und in den Drüsen. Die Eingangspforte desselben bildet im grössten Theil der Fälle die Haut, in einer kleineren Reihe von Fällen die Lunge, in einer weiteren Anzahl die Tonsillen. Vom Darm aus kommt niemals eine Infection zu Stande.

Es entstehen Drüsenschwellungen — Bubonen — in den Weichen, Achselhöhlen und an anderen Körperstellen. Die Bubonen werden von sehr hohem Fieber, hochgradiger Prostration, gastrischen und cerebralen Symptomen, von Karbunkeln, von Blutungen in der Haut begleitet.

Pathologisch-anatomisch lassen sich folgende Formen unterscheiden:

1. die septicämisch-hämorrhagische Form,
2. die septisch-pyämische Form und
3. die Form der primären Pneumonie.

Es ist sichergestellt, dass die Ausbreitung der Bubonenpest lediglich durch Uebertragung von an ihr Erkrankter auf Gesunde und durch Zwischenträger, wie Kleider, Wäsche etc. erfolgt. Eine wichtige Rolle bei der Verbreitung der Epidemie scheint auch den Mäusen und Ratten zuzukommen, die für den Pestbacillus sehr empfänglich sind. Man findet sie auch vor dem Ausbruche der Epidemie massenhaft in den Strassen und in den Häusern.

Färbungsmethoden.

Sie färben sich leicht mit allen basischen Farbstoffen. Gram'sche ist nicht anwendbar.

Ganz eigenthümlich ist das Verhalten der Pestbacillen Methylenblau gegenüber. Färbt man sie mit Methylenblau, so kommt eine exquisite Polfärbung zu Stande, d. h. die abgerundeten Enden sind intensiv gefärbt, während die Mitte nur sehr leicht oder gar nicht gefärbt ist.

Trichophyton tonsurans. Eichstädt.

Malmsten und Gruby fanden diesen Pilz in den Schuppen bei Herpes tonsurans.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Vielfach verzweigte Fadenpilze mit deutlich gegliederten Hyphen. Besondere Fruchtwerkzeuge fehlen, es lässt sich jedoch auf Blutserum bei 30° C. ein Zerfall des Mycels in kleine rundliche, semmelartige Glieder beobachten.

In Stichculturen (Gelatine 7½%) schwimmt der Rasen auf der rasch verflüssigten Gelatine als eine dicke, oben wie mit Mehl bestreute, unten schwefelgelbe Decke.

In Strichculturen (Agar-Agar) bei 30° C. bilden sich im Mycellenlager linsengrosse orangegelbe Verdickungen, während auf der Oberfläche ein mehrlartiger Staub entsteht.

Auf Blutserum bei 30° bildet sich ein Ueberzug, der gelb wird und der den Nährboden verflüssigt.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Man findet ihn in den Schuppen von Herpes tonsurans.

Nach der Konidienbildung ist er im Stande beim Menschen Herpes tonsurans hervorzurufen.

Achorion Schönleini. Grawitz.

Der Favus wurde von Schönlein im Jahre 1839 entdeckt.

Morphologische und biologische Eigenschaften.

Ein vielfach verzweigter Fadenpilz mit gegliederten Hyphen, die eigenthümlich gewunden und durch rechtwinklige Verästelungen ausgezeichnet sind.

Besondere Fruchtwerkzeuge fehlen. Man findet aber auf Blutserum bei 30° C. kleine ellipsoide Konidien.

Unna unterscheidet drei Favusarten, das Achorion enthythrix mit gerade verlaufenden Pilzfäden und reichlicher Sporenbildung, das Achorion dikroon mit gabelig getheilten Hyphen und das Achorion atakton mit unregelmässig verlaufenden Hyphen, die eigenthümliche knorrige Verzweigungen besitzen.

In Sticheulturen (Gelatine) tritt die Verflüssigung langsamer ein als bei Trichophyton tons. und es bildet sich auch kein so mächtiger Rasen.

Auf Gelatineplatten entstehen weissliche runde Herde, die von verflüssigter Gelatine umgeben sind.

Vorkommen und pathogene Eigenschaften.

Man findet ihn in den Schuppen von Favus-Kranken.

Nach der Konidienbildung lässt sich Favus bei den Menschen erzeugen.

Das Achorion enthythrix erzeugt beim Menschen voluminöse, graugelbe Scutula (Favus griseus), das Achorion dikroon schwefelgelbe Scutula (Favus sulfureus tardus) und des dritte Achorion schwefelgelbe Scutula, die sich schneller bilden (Favus sulfureus celereus).

Parasitische Protozoen.

Amoeba coli. Lösch.

Im Jahre 1873 fand Lösch in Petersburg in dysenterischen Stühlen eines Bauers neben anderen Mikroorganismen eine grosse Anzahl zellenartiger Gebilde, deren Grösse zwischen 0,02—0,37 mm schwankte. Die Gestalt war je nach der Bewegung eine rundliche, ovale, birnförmige etc. Das Ektosark ist ganz hyalin, im Entosark findet man zahlreiche, granula Blutkörperchen, Darmthelien etc. Die Vacuolen scheinen nicht contractil zu sein. Man beobachtete Encystirung, während welcher wahrscheinlich eine Vermehrung vor sich geht.

Ueber die Bedeutung dieser Amoeben ist man bis jetzt nicht im Klaren. Es liegen viele Angaben von einer grösseren Anzahl von Autoren aus verschiedenen Welttheilen vor über das Vorkommen dieser Amoeben in dysenterischen Stühlen. Kartulis z. B. fand sie in 500 Fällen, während sie bei anderen Darmkrankheiten nicht zu finden waren. Hingegen liegen Beobachtungen vor, nach welchen die Amoeben sowohl bei Dysenterikern, als auch bei Gesunden gefunden wurden und solche, denen zu Folge bei epidemisch auftretender Ruhr keine Amoeben gefunden wurden. Die Uebertragungsversuche, die gemacht wurden, gaben keine einwandfreien Resultate. Möglich ist es aber, dass sie dort, wo Laesionen und Affectionen der Darmschleimhaut bestehen, den pathologischen Process so zu sagen begünstigen. Quincke und Ross beschäftigten sich sehr eingehend mit der Amoebenfrage und gelangten zu folgenden Resultaten:

Man findet beim Menschen drei Amoebenformen, deren Bedeutung für Menschen und Thiere eine verschiedene ist.

1. *Amoeba intestini vulgaris.* 0,04 mm gross, grob granulirt. Beim Menschen und Katzen keine Wirkung.
2. *Amoeba coli mitis.* Für den Menschen pathogen, für die Katzen nicht.
3. *Amoeba coli Lösch.* Beim Menschen und Katzen Dysenterie erzeugend.

Für das Aufsuchen der Amoeben im Stuhl giebt Doch Folgendes an: Um die Bewegungen zu sehen, muss der Stuhl auf

einem erwärmten Objectträger untersucht werden. Blutige Schleimpfröpfchen ohne starke Pressung bei 400 Vergrößerung geben ein sicheres Resultat.

Ausser diesen Amoeben sind beim Menschen noch folgende bekannt:

Amoeba gingivalis. Gros 1879.

Amoeba buccalis. Sternberg 1862.

Amoeba urogenitalis. Baelz 1883.

Ausserdem fand man Amoeben in einem Abscess am Boden der Mundhöhle und an nekrotischen Knochenstücken.

Coccidium oviforme.

Leuckart beschreibt es folgendermaassen: Eiförmige Körperchen von 0,033—0,037 mm Länge und 0,05—0,02 mm Breite, mit dicker und glatter Schale, die an dem einen stark verjüngten Ende eine Oeffnung trägt. Der körnige Inhalt ist bald gleichmässig durch den ganzen Innenraum vertheilt, bald zu einer kugeligen Masse zusammengepackt. In diesem Zustand gelangen die Schmarotzer aus der Leber und Darm, die sie bewohnen, nach aussen, um hier in feuchter Umgebung eine weitere Entwicklung einzugehen. Der Inhalt zerfällt dabei in vier ovale Sporen, die sich mit einer nur wenig festen Hülle umgeben und so ein einziges c-förmig gekrümmtes hyalines Stäbchen ausscheiden, das mit dem der Concavität dicht anliegenden Körnerhaufen den ganzen Innenraum ausfüllt.

Das Coccidium, welches in der Leber vom Kaninchen lebt, wurde auch beim Menschen beobachtet. Der erste Fall wurde von Giebler beschrieben. Es wurde in diesem Fall ein *Echionococcus* der Leber diagnosticirt. Der Tod trat unter peritonitischen Erscheinungen ein, die Leber enthielt kastaniengrosse Geschwülste, deren Inhalt nach Leuckart Coccidien waren. Nach diesem Fall sind dann mehrere Fälle von Vorkommen der Coccidien beim Menschen bekannt geworden. Podwyssotzki fand sie auch öfter in der Leber verbreitet, besonders in den Leberzellen. Im Darm in einem pleuritischen Exsudat wurden ebenfalls Coccidien gefunden.

Trichomonas vaginalis.

Von ovaler Körpergestalt, etwa 0,015—0,02 mm lang, nach hinten in einem Schwanzfaden verlaufend. Vorne stehen drei peitschenförmige Geisseln, von hier bis in die Mitte des Körpers zieht eine undulirende Membran, die 6—7 Haare trägt.

Vorkommen. Im Vaginalsecret der Weiber oft gefunden, besonders bei Vorhandensein von Vaginalkatarrhen. Ob diesem Infusor eine pathogene Bedeutung zukommt, ist noch fraglich.

Trichomonas intestinalis.

Ebenso gross wie die vorherige Form, nur sollen sie keine Geissel besitzen. Die undulirende Membran trägt etwa 12 Härchen.

Vorkommen. Zuerst im Jahre 1875 in den Faeces eines Typhuskranken. Der Parasit sitzt in der Regel im unteren Abschnitt des Darmes.

Cercomonas intestinalis.

Körper von birnförmiger Gestalt, welcher in einem Schwanzfaden verläuft, mit einer Geissel. Die Länge schwankt zwischen 0,004—0,010 mm. Davaine unterscheidet zwei Varietäten. Die grösseren wurden zuerst in den Faeces Cholerakranker gefunden, die kleineren bei Typhuskranken. Diese Form wurde dann in den Faeces auch bei anderen Darmaffectionen in grosser Zahl wiederholt beobachtet.

Balantidium coli.

Körper eiförmig, 0,07—0,10 mm lang und 0,05—0,07 mm breit, mit Flimmerhaaren bedeckt. Ekto- und Entoplasma deutlich von einander getrennt. Das trichterförmige Peristom führt in einen kurzen Schlund. Am hinteren Körperende befindet sich die Afteröffnung. Kern von bohnenförmiger Gestalt mit einem Nebenkern. Conjugation und Quertheilung.

Vorkommen. Zuerst im Dickdarm des Menschen gefunden. Nach Leuckart constant im Coecum und Colon des Schweines anzutreffen. Die encystirten Parasiten werden mit dem Koth abgesetzt und durch den Koth verstreut. Es wurden bis jetzt beim Menschen etwa 28 Fälle bekannt. Der Sitz ist im Blinddarm, Proc. vermiformis s. Romanum und in den übrigen Theilen des Colon. Es bestanden Dickdarmkatarrhe.

Plasmodium malariae.

Jugendform: farbloses, amöboid bewegliches Plasmaklumpchen, etwa 10mal so klein wie ein rothes Blutkörperchen, besitzt kleinen, färbbaren Kern. Im rothen Blutkörperchen wachsen die Organismen heran und füllen schliesslich das ganze Blutkörperchen aus.

das Hämoglobin in Pigment (Melanin) verwandelnd. Schliesslich Sporulation, Zerfall des rothen Blutkörperchens, Freiwerden der Sporen.

Man unterscheidet 3 verschiedene, den einzelnen Fiebertypen der Malaria entsprechende Varietäten der Malariaplasmodien:

1. den Quartanparasit, Erreger des Quartanfiebers,
2. der Tertianparasit, Erreger des Tertianfiebers und
3. der Quotidianparasit, Erreger der Quotidiana.

Vorkommen: Nachweisbar im Blut Malariakranker. Vegetation ausserhalb des Menschen noch unbekannt.

Uebertragung durch Insekten wahrscheinlich.

Die Untersuchung des Blutes auf Plasmodien.

Es wird *lege artis* ein Blutstropfen aus der Fingerkuppe oder aus dem Ohrläppchen entnommen. Der Blutstropfen wird entweder als solcher (*natives* Präparat), oder nach vorheriger entsprechender Präparation untersucht. Bei *nativen* Präparaten geschieht die Untersuchung wie bei einem gewöhnlichen Blutpräparat. Es empfiehlt sich nur in diesem Fall bei etwas gedämpfter Beleuchtung zu arbeiten.

Trockenpräparate werden wiederum in üblicher Weise hergestellt. Bei der Färbung verfährt Laveran in folgender Weise: Die gedörnten Präparate kommen auf eine kurze Weile in ein Gemisch von gleichen Theilen Aether und Alkohol; man macht das in der Weise, dass man einen Tropfen des Gemisches auf ein Deckglas bringt und ihn verdunsten lässt. Hierauf wird in einer wässrigen concentrirten Methylenblaulösung eine kurze Weile ($\frac{1}{2}$ Minute) gefärbt, in Wasser abgespült, getrocknet und eingeschlossen. Behufs Doppelfärbung kann man noch vorher in einer wässrigen Eosinlösung färben. Die Plasmodien, die Halbmond- und die Gänseblümchenform erscheinen blau gefärbt, die Geisselträger dagegen ungefärbt.

Nach Plehn verfährt man wie folgt: Die lufttrockenen Präparate kommen auf 3—5 Minuten in Alkohol und hierauf in folgendes Färbegemisch:

Conc. wässrige Methylenblaulösung	60
1/2%ige Eosinlösung in 75% Alkohol	20
Destillirtes Wasser	40

Hierzu kommen 12 Tropfen einer 20%igen Kalilauge.

Um die Strukturverhältnisse der Plasmodien darzustellen, schlägt Mannaberg folgendes Verfahren ein:

Die lufttrockenen Präparate kommen auf 12—24 Stunden in ein Gemisch von

Conc. Pikrinsäure
Aq. destill.
3—5% Eisessig.

Die Präparate werden in absolutem Alkohol entfärbt und dann in Alaun-Hämatoxylin überfärbt. Die Differenzirung wird entweder in 1/4%igem Salzsäure-Alkohol oder in schwachen Ammoniak-Alkohol vorgenommen. Bei dieser Methode sind die rothen Blutkörperchen ungefärbt, ebenso der Protoplasmaleib der weissen Blutkörperchen, während die Kerne der letzteren und das Chromatin der Plasmodien sehr gut gefärbt erscheinen.

Um **Leichentheile** auf Plasmodien zu untersuchen, hat Bigmann folgende Methode angegeben:

Die zu untersuchenden Gewebstücke werden in folgender Lösung fixirt: Zu 100 Theilen Alkohol, in dem aus einer Concentration von 1% Sublimat und 0,75% Kochsalz gelöst sind, werden 0,5% Essigsäure hinzugesetzt. Die zu untersuchenden Gewebstücke bleiben in dieser Lösung je nach ihrer Grösse 1/4 bis mehrere Stunden. Die Schnitte werden gefärbt in einer wässrigen Safraninlösung oder in einer Methylenblaulösung mit Zusatz von Kalilauge im Verhältniss von 1 : 10000. Auch wässrige Lösungen von Vesuvin, Magentaroth können angewendet werden.

Um das **Ekto- und Endoplasma** der Plasmodien darzustellen, färben Celli und Guarneri das frische Blut in Ascitesflüssigkeit, in welcher Methylenblau gelöst ist, in der feuchten Kammer etwa 1—3 Stunden.

igt

in

nn

er

hol

en

en,

o-

g-

er

n-

en

ss-

re

n-

ge

e-

n,

it,

va

