

- Fig. 9. Horizontaler Schnitt der Haut aus Vers. 2: a stark erweiterte und mit Micrococcen erfüllte Lymphgefässe, b quer getroffene Haarbälge. Oc. 3, Ob. 8.
- Fig. 10. Verticaler Schnitt von der Wundstelle beim Kaninchen (Vers. 8.): a Reste von faulendem Fleisch, b Saftkanäle mit darin eingelagerten Micrococcen, c Blutcapillar. Oc 3, Ob. 8.
- Fig. 11. Verticaler Schnitt aus der mittleren Schicht der erysipelatösen Haut des Kaninchens (Vers. 8.). Im unteren Theil der Zeichnung in allen Saftkanälen zahlreiche Micrococcen, im oberen Theil Eiterkörperchen.
- Fig. 12. Verticaler Schnitt aus der Kaninchenhaut (Vers. 11.). Auf der Cutis lagern grosse Colonien von Micrococcen und sind in den Haarbalg eingedrungen. Oc. 3, Ob. 8.

---

## XXI.

### Ueber Coccobacteria septica (Billroth) im gesunden Wirbelthierkörper.

(Aus dem physiologischen Institut des Herrn Prof. Kühne in Heidelberg.)

Von Dr. E. Tiegel.

---

Der wesentliche Theil der hier angegebenen Versuche war schon niedergeschrieben, als ich das Buch von Billroth: „Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica“ bekam. Ich hatte die Freude zu sehen, dass viele meiner Beobachtungen schon in übereinstimmender Weise von Billroth gemacht worden sind. Mehrere Gründe jedoch bewogen mich zu einer ausführlichen Darstellung des von mir Gesehenen. Einmal ist der Ausgangspunkt der Untersuchungen bei mir ein wesentlich anderer gewesen als bei Billroth, dann betrifft die ganze Sache ein Gebiet, auf dem wesentlich übereinstimmende Beobachtungen nur wünschenswerth sein können und endlich wandte Billroth unter Anderen auch eine Untersuchungsmethode an, die mit der meinigen zwar principiell übereinstimmt, in deren Technik ich jedoch sicherer geworden zu sein glaube als Billroth.

Die folgende Darlegung meiner Beobachtungen werde ich im Interesse der Sache mit ständiger Rücksicht auf Billroth's Buch durchzuführen suchen. Den ursprünglichen Zweck meiner Untersuchungen will ich kurz als folgenden bezeichnen:

Doctrinen der neueren Pathologie brachten Pilze, und, wie man nach Billroth's Untersuchungen jetzt weiß, Algen, die in Leichen gefunden wurden, in einen causalen Zusammenhang mit den Krankheiten, denen die betreffenden Individuen erlegen waren. Um aus allen hierher gehörenden Beobachtungen einen solchen Schluss ziehen zu können, ist als logische Prämisse der Nachweis nothwendig, dass in gesunden Körpern entweder keine oder andere Pilz- oder Algenformen vorkommen, als in erkrankten. Ich stellte es mir zur Aufgabe, die erste Seite dieser Frage, ob keine Pilze oder Algen im gesunden Organismus vorkommen, zu untersuchen. Eine ausführliche Discussion darüber, ob und in wiefern diese Frage begründet sei, will ich dem Leser und mir ersparen, indem ich auf S. 26, 57 und 58 des Billroth'schen Buches verweise, wo auch mehrerer hierher gehöriger Versuche gedacht ist. Das beste Argument für die Nothwendigkeit der Behandlung der Frage ist wohl das, dass eben das Resultat der Untersuchung positiv, d. h. in dem Sinne ausfiel, dass auch im gesunden Körper Keime der von Billroth Coccobacteria septica genannten Alge vorhanden sein können.

Eine Besprechung der hierher gehörenden Literatur umgehe ich, weil der wesentliche Theil derselben schon (a. a. O.) von Billroth besprochen ist und weil die meisten Beobachtungen an Blut gemacht wurden, während meine Untersuchungen sich wesentlich auf festes Gewebe beziehen.

Wie überall da, wo es sich darum handelt zu entscheidenden Resultaten zu kommen, lag auch in der vorliegenden Frage die Hauptschwierigkeit im Auffinden einer geeigneten Methode. Das Princip dieser Methode wurde mir von Herrn Prof. Kühne gegeben, es war wohl ein Resultat der auch von Billroth S. 152 angeführten Correspondenz zwischen Kühne und Billroth. Den ersten Anlass dazu gab eine vor einigen Jahren in England patentierte Methode der Fleischconservirung, bei der man Fäulniss des Fleisches durch Abschluss mit Paraffin zu hindern suchte. Die Methode scheint wieder verlassen zu sein, und wie die folgenden Versuche zeigen werden, mit Recht, denn sie könnte nur bei vorher gekochtem Fleisch ihren Zweck erreichen. Die in den verschiedenen Versuchen befolgte Technik war folgende:

Die zu untersuchenden Organe oder durch einen glatten

Messerschnitt getrennte Stücke derselben wurden einem eben getöteten, meist durch die Carotis entbluteten Thiere entnommen und möglichst rasch an einen vorher gut ausgekochten Seidenfaden gebunden, in 110—150° C. heißes geschmolzenes Paraffin je nach Grösse des Stückes längere oder kürzere Zeit eingetaucht. Nachdem das beim Herausziehen an der Oberfläche haften gebliebene Paraffin erkaltet war, wurde das Eintauchen wiederholt, das Präparat jedoch sehr rasch wieder herausgenommen, um die erst angeschmolzene Paraffinschicht nicht wieder zu schmelzen. Nur in der Absicht, die Paraffineruste zu verstärken, wurde das Eintauchen noch einige Male wiederholt. Nachdem auch die letzte Schicht erkaltet war, wurde das ganze Präparat in eine grössere, eben im Erstarren begriffene, (52° C. warme) Paraffinmasse versenkt und mit dieser erkalten gelassen. Wenn sie so weit fest geworden war, dass das Präparat nicht mehr in ihr untersinken konnte, wurden die Fäden nahe am Paraffin angezündet, und wenn sie bis auf dieses heruntergebrannt waren, eine neue heiße Paraffinschicht zugegossen, bis die Fadenstücke von derselben vollkommen bedeckt waren. Die so erhaltenen Klötze wurden nach ihrem Erkalten eine bestimmte Zeit lang in bestimmten Temperaturen aufbewahrt, dann zerschlagen und ihr Inhalt untersucht.

Der Sinn dieser Methode ist folgender: Bis jetzt fand man laut der schon erwähnten Angaben nur im Blute normaler Thiere Pilze oder Algen, nicht auch in anderen Geweben. Dass im Allgemeinen ausgebildete Algenformen in einigermaassen bedeutender Menge in normalen Geweben vorhanden sein können, ist unwahrscheinlich, denn es ist nicht einzusehen, warum sie der Beobachtung bis jetzt ständig entgangen wären. Jedem mit der Mikroskopie der Pilze einigermaassen Vertrauten ist es bekannt, wie meines Wissens zuerst Cohn hervorgehoben hat und wie auch auf S. 5 Billroth ausführt, wie schwer unter gewissen Umständen Elemente, die man mit Billroth's Nomenclatur als Micrococci bezeichnen muss, als solche erkannt werden können. Ferner wussten wir aber vor Billroth's Untersuchungen über die Genese der einzelnen Pilz- und Algenformen so wenig, dass ich eben beim Beginn meiner Versuche, es als möglich annehmen musste, dass, was ja Billroth eben bewiesen hat, leicht und deutlich erkennbare Bacterienformen sich aus nur schwer erkennbaren Coccoformen entwickeln. Es

können also sehr wohl in einem Gewebe Algenkeime als Coccoi oder in anderen für uns nicht immer mit Sicherheit als Algen erkennbaren Formen vorhanden sein, die sich dann unter gewissen Umständen zu Bakterien oder anderen mit Sicherheit als Algen erkennbaren Formen entwickeln. Umgekehrt, wenn wir im Stande sind ein frisches Gewebe, ohne dass Algenkeime von aussen her in dasselbe eindringen können, längere Zeit unter dieser Bedingung aufzubewahren, und wir sehen nachher in ihm entschiedene Algenformen auftreten, so müssen nach Allem, was wir bis jetzt überhaupt über die Genese organischer Wesen wissen, Algenkeime in diesem Gewebe vorhanden gewesen sein. Diese Bedingungen zu realisiren bezweckt die angegebene Methode. Das starke Brühen der Organe soll die von aussen her auf die Oberfläche aufgefallenen Keime zerstören und ebenfalls solche, die möglicherweise in der Zeit von der Eröffnung des Thieres bis zum Brühen schon bis zu einer gewissen Tiefe in das Organ eingedrungen sind. Wie der Erfolg zeigte gelingt es sehr leicht, das Brühen nur auf die obersten Schichten zu beschränken und die im Innern des Organs eventuell vorhandenen Keime zu erhalten, wie man andererseits ein Organ ebenfalls vollkommen verbrühen kann, so dass, obgleich es wahrscheinlich ist, dass es Algenkeime enthalten hat, doch nie Algen in ihm sich entwickeln. Das Einschmelzen der gebrühten Präparate in grosse Paraffinmassen soll einfach die Hülle bis zu einer handlichen Festigkeit verstärken.

In dem Zeitraum zwischen 4 und 12 Tagen nach dem Einschmelzen wurden die Paraffinklötzte zerschlagen und die eingeschmolzenen Theile einer mikroskopischen und chemischen Untersuchung unterworfen. Bei ersterer liess ich als Algen nur gut ausgebildete Formen von Bakterien gelten, obgleich ich nun nach den Beobachtungen Billroth's nicht mehr zweifele, auch andere Algenformen vor mir gehabt zu haben. Ich erinnere mich deutlich, feine, besonders bei künstlicher Beleuchtung in complementären Farben je nach der Einstellung schillernde Körnchen gesehen zu haben, in denen ich jetzt unschwer Billroth's Dauersporen wiedererkenne. Damals glaubte ich diesen Gebilden meine Anerkennung als Pilze versagen zu müssen, einmal, weil ich neben ihnen in denselben Präparaten nie Bakterien fand und weil es mir auch nicht gelang, in kurzer Zeit Bakterien aus ihnen zu gewinnen. Ich glaube

nicht, dass hierdurch meine Resultate wesentlich beeinträchtigt werden, denn entweder hatte ich Keime vor mir, die wegen besonderer Umstände nicht, oder noch nicht zur Entwickelung gelangt waren, oder es waren die Reste eines schon abgelaufenen Vegetationsprozesses, der, eben weil der Klotz zu spät geöffnet wurde, nicht mehr zur Beobachtung kam. In beiden Fällen hätte ich nur das Beweismaterial meiner Behauptung, dass Algenkeime im gesunden Organismus vorkommen können, verstärkt.

Unzweifelhaft die häufigste Algenform, die mir zu Gesicht kam, war die nach Billroth Megalo- und Mesobacteria zu bezeichnende. Unzweifelhafte Coccoformen sah ich nur in einem später genauer anzugebenden Fall. In Bezug auf Bakterien habe ich folgendes allgemeine Resultat gewonnen. In Pancreas, Leber, Milz, Speicheldrüsen, Lymphdrüsen, Hoden, im Muskelfleisch und im Blut können sich, wenn die Klötze in einer Temperatur zwischen 20° und 30° C. gestanden haben, in der angegebenen Zeit von 4—12 Tagen Bakterien entwickelt haben. Am häufigsten ist dies der Fall mit dem Pancreas und finden sich in ihm verhältnissmässig auch die meisten Algen; am seltensten und in der geringsten Anzahl finden sie sich in Blut vor. Die anderen Gewebe und Organe stehen in der Reihenfolge, in der sie aufgeführt sind, dazwischen. Die in den einzelnen Organen entstandenen Bakterien zeigen einen inconstanten und unregelmässigen Grössenunterschied, sonst aber eine, wie es scheint durch die Behandlungsmethode verursachte Uebereinstimmung. Im Allgemeinen ist über sie Folgendes auszusagen.

Die einzelnen Bakterien erscheinen als einfach contourirte, mit Hartnack's Linse 7 leicht erkennbare, schwach lichtbrechende, cylindrische Körperchen, deren Dimensionen wegen der fast stetigen, wenn zuweilen auch langsamen Bewegungen nicht leicht gemessen werden können. Die einzelnen Elemente verharren zuweilen längere Zeit in einem scheinbaren Zustande der Ruhe, indem sie sich dabei genau senkrecht auf das Gesichtsfeld stellen und zwar, wie es scheint, der unteren Fläche des Deckglases dicht anliegend. Sie können so doppeltcontourirte Gebilde vortäuschen und zeigen in diesem Zustand häufig eine Bewegung in einer Kegelfläche, deren Spitze das obere Ende der Bakterie ist. Häufig sieht man plötzlich die Elemente aus dieser Lage aufschnellen und sich der Länge nach in die Fläche des Gesichtsfeldes legen. Jedes zwischen Bakterien

vorkommende scheinbar kugelförmige Gebilde konnte auf diese Weise, wenn ich die Beobachtung nur lange genug fortsetzte, ebenfalls als eine Bakterie erkannt werden. Die Bakterien können sich mit sehr verschiedener Geschwindigkeit, durch mehr oder minder ausgeprägte schlängelnde Bewegungen ihres Körpers, in irgend einer Richtung geradlinig oder auch in Curven fortbewegen. Rotationen entweder auf der Stelle oder kombiniert mit beliebigen Vorwärtsbewegungen kommen um jede Axe ihres Körpers vor, die nicht durch die beiden Endflächen geht. Sehr häufig lagern sich zwei Bakterien mit ihren Enden unter einem annähernd rechten Winkel zusammen und bewegen sich dann diese beiden Elemente zusammen als Ganzes auf dieselbe Weise, wie ein Element allein sich bewegt. Anordnungen in Ketten habe ich nie gesehen, indessen zeigten einzelne Elemente ungefähr in ihrer Mitte eine deutliche Querlinie; Theilungen habe ich nie gesehen. Gruppierungen, wie ich sie vor mir gehabt, hat offenbar auch Billroth, wie aus der Bemerkung auf S. 23 (unten) hervorgeht, häufig gesehen. In der That pflegte ich allen meinen Präparaten, wenn Verdünnung nothwendig war, Kochsalzlösung zuzusetzen und zeigen so meine Zeichnungen mit Fig. 41a von Billroth bis auf die Grössenverhältnisse alle nur wünschenswerthe Uebereinstimmung. Wenn ich einen mit einer frisch geglühten Mikroskopirnadel aus dem zu untersuchenden Gewebe herausgeholt kleinen Brocken in einen Tropfen Kochsalzlösung auf einen Objectträger brachte, mit einem Deckgläschen leicht quetschte und nun beobachtete, so sah ich die Bakterien in dicken Colonnen aus dem meist sehr dunkeln Gewebe hervortreten, und sieh erst allmählich zu den beschriebenen Gruppierungen auflösen. Einmal fand ich im Muskel und in der Leber von einem und demselben Frosch sehr schöne ruhende Bakterien. Als ich die mikroskopischen Präparate 24 Stunden in einer feuchten Kammer zum Theil im Sonnenschein aufbewahrt hatte, fanden sich zwischen den einzelnen Bakterien sehr deutlich ausgebildete Krystalldrusen von Tyrosin. Diese Erscheinung ist ein Zeichen der Lebenstätigkeit der Algen, vorausgesetzt, dass im Muskel keine ungeformten, im Leben schon präformirten Fermente enthalten gewesen sind.

In Bezug auf die chemische Reaction, die in den eingeschmolzenen Organen auftritt, ist zu bemerken, dass sie immer mehr sauer wird, je länger die Organe eingeschmolzen sind. Schwach alkalisch

kann sie beim Pancreas immer noch gefunden werden, intensiv sauer dagegen wird sie bald in der Leber. Demgemäß verhalten sich die Gewebe, wenn die Fäulnissprozesse noch nicht zu weit in ihnen fortgeschritten sind, mikroskopisch wie mit verdünnten Säuren behandelt, und gelingt es namentlich, von nur kurze Zeit eingeschmolzenen Nieren sehr durchsichtige Schnitte zu gewinnen.

Wenn man ein frisch aus dem Paraffin genommenes, scheinbar auch nur wenige Bakteridien enthaltendes Organ mit etwas Wasser oder Kochsalzlösung zusammenreibt, so tritt in 1—2 Stunden eine rapide Vermehrung dieser Formelemente ein, und kann darum dieses Verfahren in zweifelhaften Fällen insofern zu einer Controle benutzt werden, als man bei negativem Ergebniss mit grosser Wahrscheinlichkeit entweder auf Abwesenheit von Algenkeimen schliessen kann, oder auch darauf, dass nur noch längere Zeit der Ruhe bedürftige Dauersporen vorhanden sind. Hat man in einem solchen Infus Bakterien constatirt, so sind diese nach 24 bis  $2 \times 24$  Stunden meistens vollkommen verschwunden und findet man an ihrer Stelle kleinen und mittelgrossen Mono- und Diplococcus in lebhafter Bewegung. Billroth findet S. 5, dass diese Bewegungen von Molekularbewegungen abgestorbener Pflanzenteilchen nicht zu unterscheiden seien. Durch einen kleinen Kunstgriff glaube ich jedoch im Stande zu sein, einen deutlichen Unterschied constatiren zu können. Wenn man sich nehmlich mit zwei möglichst gleichen Tröpfchen derselben Flüssigkeit zwei Präparate macht und das eine derselben einen Augenblick über eine Flamme hält, so findet man in ihm auch bei nachherigem Wasserzusatz die Bewegungen der sonst nicht sichtbar veränderten Micrococci wesentlich anders, besonders weniger ausgiebig und bei jedem einzelnen Körnchen mehr um einen festen Punkt schwingend als im unversehrten Präparat. Es ist wohl möglich, dass dabei eine Coagulation des Eiweisses, eine Wärmestarre, eintritt, ähnlich derjenigen, von der Billroth S. 19 (unten) und S. 20 für Bakterien spricht. Ein Aufhören der Bewegungen der Bakterien tritt bei  $60^{\circ}$  ein und glaube ich auch nicht, dass meine Präparate viel wärmer geworden sind, denn ich sah nie Gasblasen unter dem Deckglase und hielt die Objectträger mit den Fingern über den Cylinder eines leuchtenden Rundbrenners.

Wenn man eine bakterienhaltige Flüssigkeit stark alkalisch macht — ich wählte dazu kohlensaures Natron — so sieht man in

ihr sehr rasch die Bakterien verschwinden, dann findet man spärliche Micrococcen und schliesslich nur noch unkenntliche Detritusmassen. Diese Angabe stimmt mit den Versuchen Paschutin's (dieses Archiv Bd. LIX. S. 509) überein. Es gelang Paschutin das Auftreten von Bakterien durch Zusatz von Ammoniak und kohlensaurem Ammoniak zu Fleischflüssigkeiten zu hindern.

Was nun im Speciellen das Verhalten der einzelnen Organe bei dem angegebenen Verfahren betrifft, so habe ich darüber folgende Erfahrungen gemacht.

**Pancreas.** Untersucht wurde nur das Pancreas von Hunden. Wenn man die Paraffinklötze, in denen solche Präparate eingeschmolzen sind, in einer Temperatur zwischen 5° und 10° C. aufbewahrt, so findet man, dass gewöhnlich nur sehr wenig Bakterien sich entwickelt haben, hingegen scheint die Selbstverdauung des Pancreas, wenn auch der Zeit nach sehr bedeutend verlangsamt, so doch nicht wesentlich alterirt zu werden, indem ich die Oberfläche von so behandelten Präparaten nach dem Herausnehmen aus dem Paraffin mit einer Krystallkruste von Leucin und Tyrosin bedeckt fand, und beide Substanzen auch aus einem Tropfen Flüssigkeit, den ich von einem frischen Querschnitt auf einen Objectträger fallen liess, herauskrystallisierten. Bakterien fanden sich in der von selbst ausfliessenden Flüssigkeit gar keine und konnten nur wenig solche gewonnen werden, als ich kleine Stücke des Gewebes in einem Tropfen  $\frac{1}{2}$  prozentiger NaCl-Lösung zerzupfte. Stücke dieses Pancreas zerrieb ich mit etwas Wasser zu einem Brei und liess denselben bei ungefähr 30° C. 2 Stunden stehen. Nach dieser Zeit hatte sich eine Menge Bakterien entwickelt.

Eingeschmolzene Präparate, die bei Zimmertemperatur, oder noch besser im Brütofen, gelegen hatten, zeigten sehr häufig beim Zerschlagen des Klotzes einen intensiven Fäcalgeruch. Beim Zerschneiden derselben wurde dann eine bräunliche Flüssigkeit gewonnen, die von Bakterien wimmelte und in der sich Leucin, Tyrosin, Indol und Naphthylamin nachweisen liessen. Wenn die Fäulniss noch nicht zu weit fortgeschritten war, konnte man auf Durchschnitten leicht erkennen, wie breit die äussere stark verbrannte Zone war. Ihre Breite betrug annähernd 2—3 Mm., mitunter aber über die Hälfte des Radius eines Durchschnittes.

Wenn ein Pancreas sehr stark gebrüht war, so konnten in

ihm auf chemischem Wege keine Zeichen der Selbstverdauung und meistens auch keine Bakterien gefunden werden. Die nachträgliche Probe mit Wasserzusatz fiel dann ebenfalls in der angegebenen Zeit von zwei Stunden negativ aus. Nichtsdestoweniger war bei diesen Präparaten der Geruch häufig sehr intensiv, jedoch schien er mir mehr ein rein fauliger, kein fäcaler zu sein. Einen Fall möchte ich hier besonders hervorheben, in dem die Proben auf Selbstverdauung negativ, die auf Algen hingegen positiv ausfielen. Dass ich beim Pancreas den umgekehrten Fall, wo Selbstverdauung ohne Algen vorhanden gewesen wäre, nie finden konnte, halte ich vorläufig für rein zufällig. Wo Selbstverdauung zu finden war, trat auch Fibrinverdauung rasch und sicher ein, sonst aber entweder gar nicht oder nur nach so langer Zeit, dass Fäulniss nicht mehr ausgeschlossen werden konnte.

Es ist hier der Ort anzuführen, dass, wie Herr Prof. Kühne die Güte hatte mir mitzutheilen, er bei seinen Untersuchungen über Pancreasverdauung, bei denen die Drüsen im Wesentlichen dieselbe Behandlung erfuhren, wie sie hier angegeben ist, selten ein bakterienfreies Pancreas fand.

Aus diesen Erfahrungen kann ich als wahrscheinlich folgenden Schluss ziehen. Im Pancreas lebender (normaler) Thiere können Pilzkeime vorhanden sein. Es gibt eine gewisse niedrige Temperatur (unter 10° C.), die ausserhalb des Körpers ihre Weiterentwicklung verhindert, nicht aber die Wirkung der ungeformten Fermente des Pancreas. Umgekehrt gibt es eine gewisse höhere Temperatur, die hinreicht die ungeformten Fermente zu zerstören, nicht aber die Pilzkeime.

Lebern wurden untersucht von Kaninchen, Meerschweinchen und Hunden. Beim Kaninchen wurde anfangs eine ganze an der Porta aufgehängte Leber samt Gallenblase eingeschmolzen. Dieses Verfahren zeigte sich jedoch als nicht correct, indem beim Brühen die Leberlappen sich gegen die Gallenblase hin zusammenklappten und so eine Falte bildeten, von der es nicht sicher war, ob sie mit verbrüht wurde. Später wurden dann immer durch einen glatten Messerschnitt getrennte und möglichst compacte Stücke gebrüht und eingeschmolzen.

Die Lebern der verschiedenen Thiere zeigten keine Verschiedenheiten. Algen fand ich bei im Brütofen aufbewahrten Lebern

nur in 8 Fällen von 10, in 2 nicht. In der Kälte aufbewahrte Lebern verhielten sich ganz ähnlich wie solche Pancrease, es kann ihr sämmtliches Glycogen in Zucker umgewandelt sein, ohne dass irgend welche Algenformen zu finden wären, die indessen sehr rasch in der gewöhnlichen Weise beim Stehen mit Wasser an einem warmen Orte auftreten. Eine andere Aehnlichkeit mit dem Pancreas besteht noch darin, dass es mir sehr häufig gelang, ein Leberstück so stark zu brühen, dass in demselben nach 12 Tagen sich noch kein Zucker gebildet hatte, obwohl Glycogen und Pilze in reichlicher Menge sich fanden. Wurden solche Leberstücke mit Wasser oder verdünnter Kochsalzlösung zerrieben in den Brütopfen gebracht, so trat bald unter Vermehrung der Bakterien intensiver Buttersäuregeruch auf. Proben wurden von Zeit zu Zeit auf Zucker untersucht, nie aber solcher gefunden, obgleich das Glycogen sichtlich mehr und mehr schwand. Das Glycogen scheint demnach ohne vorherige Umwandlung in Zucker der Milch- und Buttersäuregährung unterliegen zu können. Merkwürdigerweise gelang es mir nie, Buttersäuregährung in Leberstücken zu erzeugen, bei denen das saccharificirende Ferment nicht zerstört war, und bei denen darum nach dem Herausnehmen aus dem Paraffin alles Glycogen in Zucker umgewandelt war.

Die Milzen von entbluteten Hunden und Kaninchen, die ich in ganz bestimmter später anzuführender Absicht ohne Blutverlust erstickte, unterband ich vor dem Herausschneiden am Hilus und brühte sie so. Im Allgemeinen zeigten sich bei ihnen dieselben Verhältnisse, wie bei den Lebern, nur kann hier natürlich nicht constatirt werden, dass eine Temperatur, die schon genügt, die ungeformten Fermente zu zerstören, den Algen noch nicht schadet. In der Milz sind noch keine Fermente nachgewiesen; will man jedoch eine postmortale faulige Zersetzung, die nach meinen Erfahrungen nicht immer ausschliesslich von Pilz- oder Algenbildungen herrühren kann, in Beziehung zu präformirten ungeformten Fermenten setzen, so dürfen diese in der Milz in nicht geringer Menge vorhanden sein, da, soweit meine Erfahrungen reichen, bei keinem Organ die rein faulige Zersetzung bei verhältnissmässig geringer Menge von Algen eine so fortgeschrittene zu sein pflegt, wie bei der Milz.

Von einem ganz besonderen Interesse sind die an Speichel-

und Lymphdrüsen, Nieren und Hoden gewonnenen Beobachtungen. Die anfänglichen Untersuchungen dieser Organe fielen entschieden negativ aus. Später kamen einige Drüsen, bei denen wenige Bakterien gefunden wurden. Als aber diese Drüsen von einem Hunde eingeschmolzen wurden, bei dem 24 Stunden vor dem Einschmelzen behufs anderer Versuche ungefähr  $\frac{1}{4}$  Stunde lang die Bauchhöhle geöffnet und der Darm während der folgenden 24 Stunden unterbunden gewesen war, zeigte sich in Zeit von 6 Tagen in allen Drüsen eine solche Menge von Pilzen, wie ich sie sonst nur beim Pancreas zu erhalten pflegte. Später trat dieselbe Erscheinung noch einmal in den Speicheldrüsen eines Hundes auf, bei dem ebenfalls vorher eine Operation in der Bauchhöhle gemacht worden war. Andere Organe dieses letzteren Thieres wurden zu diesen Untersuchungen nicht benutzt.

Anfangs ebenfalls negativ war das Resultat in Bezug auf das Muskelfleisch, mit Ausnahme eines einzigen von 6 Fällen. Der selbe betraf ein Stück Bauchmuskulatur des Hundes mit unterbundenem Darm. An zwei Kaninchen wurden die Versuche in der Art gemacht, dass dem ganz unversehrten Thiere der vorher mit Seifenwasser und Alkohol gewaschene Unterschenkel eines Hinterbeines exarticulirt, gebrüht und eingeschmolzen wurde. Die negativen Resultate am Muskelfleisch waren mir lange um so auffallender, als alle Präparate in Wasser gelegt, in ungefähr  $1\frac{1}{2}$  Stunden deutliche Zeichen der Fäulniss und zahlreiche Pilzformen der gewöhnlichen Art zeigten. Meistens ein positives Resultat hingegen ergaben die ziemlich zahlreichen Versuche, die ich mit den Gastrocnemii von Fröschen anstellte.

Bei diesen wie bei allen Versuchen, bei denen, obgleich ein zu starkes Brühen nicht wahrscheinlich ist, das Ergebniss ein negatives war, ist immer zu bedenken, dass ich eben vor der Lectüre von Billroth's Buch nur auf gut ausgebildete Bakterien Rücksicht nahm und darum möglicherweise kleinere Formen überschen habe und dass, wie aus Billroth's und auch aus Paschutin's Versuchen hervorgeht, diese Algen keineswegs ein so unverwüstliches Wachsthum besitzen, als man hätte glauben können, sondern die Bedingungen für die Entwicklung ihrer Keime eben in nicht allzuweiten Grenzen eingeschlossen sind. Bei der schlechten Behandlung, der ich die Algen nothwendig unterwerfen musste, sind

meine Vegetationen durchaus — um Billroth's Beispiel (S. 17) zu gebrauchen — dem auf Watte gesäten Hafer vergleichbar.

Ich habe noch anzuführen Versuche über das Verhalten des Blutes. Sie wurden folgendermaassen ausgeführt. Herzen von Fröschen und Kaninchen wurden (bei letzteren während künstlicher Respiration) vor dem Herausschneiden in der Brusthöhle zuerst an ihren arteriellen, dann an ihren venösen Gefässen so unterbunden, dass sie sich möglichst mit Blut füllten. Herausgeschnitten wurden sie noch schlagend gebrüht und in gewöhnlicher Weise eingeschmolzen. Im Ganzen behandelte ich so zwei Kaninchen- und viele Froschherzen. Bei ersteren war das Resultat in beiden Fällen ein negatives. Im Blute von ungefähr der Hälfte der Froschherzen jedoch fand ich reichlich Bakterien.

Bevor ich nun auf eine Discussion dieser Erscheinungen eingehe, möchte ich über die von mir befolgte Technik und die möglichen Einwände, die gegen die Methode gemacht werden können, berichten.

Billroth bekam, wie aus S. 59 hervorgeht, sehr oft in seinen in Gläsern erkaltenen Paraffinklötzen Sprünge. Wenn man Paraffin in Gefässen mit starren Wandungen erkalten lässt, oder auch nur unter Verhältnissen, bei denen die Abkühlung der Masse eine stark unsymmetrische ist, so bekommen die festgewordenen Klötze allerdings sehr leicht Risse und Sprünge. Man darf namentlich nicht, wie ich es anfangs auch that, ein Organ, das man gut einschmelzen will, auf eine schon starr gewordene Paraffinschicht legen und nun flüssiges Paraffin zugießen, denn es fällt auch nach vollkommenem Erkalten die erst festgewordene Masse von der anderen leicht ab. Die Formen, die ich für die zweckmässigsten halte, und die ich in den als gelungen betrachteten Versuchen ausschliesslich angewendet habe, sind einfach aus gutem Schreibpapier gerade so gemacht, wie die Formen, in welche Apotheker Pflastermassen auszugießen pflegen. Die Zusammenziehung des Paraffins beim Erkalten und sein Ausdehnungskoefficient für die nach dem Erkalten noch in Betracht kommenden Temperaturen sind genügend, um Deformationen zu erzeugen, die allerdings zu Sprüngen führen, wenn die Masse in starre Wandungen eingeschlossen ist, die aber nicht gross genug sind, um die Continuität der Masse aufzuheben, wenn dieselbe frei oder von immer nur wenig Widerstand bietender Papierhülle um-

geben ist. Das hierbei in Betracht kommende krystallinische Gefüge des reinen Paraffin (resp. der Paraffinsäure) kann durch Zusatz von etwas Wachs amorpher gemacht werden. Um ein gebrühtes Organ gut einzuschmelzen, giesst man in eine passende Form beliebig heisses Paraffin hinein und wartet nun bis sich auf der Oberfläche eine dünne geronnene Kruste gebildet hat. Nun zieht man diese mit einem Glasstabe weg und versenkt rasch das Präparat bis auf die nöthige Tiefe in die noch flüssige Paraffinmasse. Sofort sieht man letztere in der Umgebung des Präparates sich trüben, sie gerinnt dort, zum Zeichen, dass die vom Brühen her am Präparat haften gebliebene Paraffinschicht nicht wieder geschmolzen ist.

Ich halte es für besser, die Präparate an ausgekochte Fäden, als an geglühte Drähte zu hängen, denn der Einwand, dass im Innern der ersten möglicherweise Keime vorhanden sein können, lässt sich durch rasches Manipuliren sehr unwahrscheinlich machen, und steht ihm für den Eisendraht der entgegen, dass zwischen diesem und dem Paraffin Keime zum Präparat gelangen können, bevor die obere, den Draht nach aussen abschliessende Paraffinschicht aufgegossen werden kann. Für Fäden ist dieser Einwand unwahrscheinlich, da dieselben sich mit Paraffin tränken. Das Abbrennen der Fäden scheint mir ebenfalls ein Vortheil zu sein, weil dadurch in ihrer unmittelbaren Umgebung das Paraffin wieder sehr heiss wird und man, um ganz correct zu verfahren, mit einer heissen Scheere unter dem durch die kleine Flamme geschmolzenen Paraffin den Faden abschneiden kann.

Bei den mikroskopischen Untersuchungen befleissigte ich mich ausser der selbstverständlichen äussersten Reinlichkeit einer möglichst grossen Einfachheit des Instrumentariums. Wo ich mit einer frisch gereinigten und geglühten Mikroskopirnadel auskommen konnte, wandte ich Scheere und Pincette nicht an. Wenn möglich umging ich Pipetten und nahm unter allen Umständen nur ganz frisch gemachte, die ich unmittelbar nach dem Gebrauch wieder oberhalb des gebrauchten Theiles abbrach. Wenn ich Wasser oder Kochsalzlösung zu verwenden hatte, wurden die Flüssigkeiten immer erst eine Zeit lang gekocht und dann durch 8faches Filter filtrirt. Da hierbei anfangs Unreinigkeiten aus dem Papier mitgerissen werden, wurden die erst abfiltrirenden Portionen nie benutzt.

Kommen wir nun zu einer Discussion der Einwände, welche

gegen diese Versuche erhoben werden können, so ist die erste Frage die, ob Paraffin wirklich das Eindringen von Pilzkeimen zu verhindern im Stande ist. Wenn man diese Frage auch im Allgemeinen von vorn herein bejahen wird, so will ich doch einen zweimal angestellten Versuch, den ich zur Untersuchung dieser Frage unternommen habe, anführen. Ich hatte eine Flasche voll einer stark schimmelnden Pasteur'schen Flüssigkeit. Von derselben füllte ich ein gewöhnliches Kochkölbchen so weit an, dass die Flüssigkeit den grössten Querschnitt noch nicht erreichte. Dann erhitze ich zum Sieden und warf während dessen kleine Stücke Paraffin auf die Flüssigkeit. Sie schmolzen und bildeten über die Flüssigkeit eine Decke, die nach dem Erkalten ungefähr 5 Mm. dick war. Das Sieden wurde 10 Minuten fortgesetzt und das Kölbchen dann ohne es weiter zu berühren erkalten gelassen. Nachher wurde es in den Brütofen gestellt und 4 Wochen neben pilzhaltigen Flüssigkeiten stehen gelassen. Nach dieser Zeit fand sich in den oberen Schichten der Flüssigkeit nichts Geformtes, am Boden liegen die Penicilliumleichen als feinkörnige trübe Masse. Absolut beweisen diese Versuche die Undurchdringlichkeit des Paraffins für Pilzkeime allerdings nicht, aber sie machen es doch sehr wahrscheinlich, dass ein vollkommener Verschluss zu Stande gekommen war, denn jede andere in den Brütofen gestellte Flüssigkeit schimmelte in der kürzesten Zeit.

Ein zweiter Einwand, den man gegen die Methode geltend machen kann, ist der, dass wegen Unregelmässigkeiten der Oberfläche und wegen Faltenbildungen möglicherweise nicht die ganze Oberfläche verbrüht wird, sondern nur ein Theil derselben. Hingegen kann man sich dadurch schützen, dass man nur kleinere glatt abgeschnittene Stücke der Organe nimmt, auf die Gefahr hin, ein solches kleineres Stück auf einmal ganz, oder was entschieden am günstigsten, bis auf einen kleinen in der Axe gelegenen Theil zu verbrühen. Eine nachträgliche Controle über den Grad der Verbrühung hat man immer daran, dass man auf Durchschnitten die verbrühte Zone erkennen kann.

In dem Augenblicke ferner, in dem man die verbrühten Organe aus dem Paraffin herauszieht, wo die anhängende Paraffinschicht noch nicht fest geworden ist, kann dieselbe von lufttrockenen Keimen durchdrungen werden, die dann in dem wasserarmen ver-

brannten Gewebe nicht durch ein zweites Brühen zerstört werden. Auch in diesem Falle würde möglicherweise die Methode der Forderung, auf der Oberfläche aufgefallene Keime zu zerstören, nicht genügen.

Ein anderer Einwand ist ferner der, dass beim Oeffnen des sich entblutenden Thieres Luft mit Pilzkeimen in die angeschnittenen und sich von Blut entleerenden Gefässe so weit eindringt, dass die Keime eben durch das Brühen nicht mehr zerstört werden. Wenn man z. B. an die vielen Venen denkt, die man auf der Schnittfläche eines Leberstückes hat, so erscheint dieser Einwand keineswegs unbedeutend. Bei anderen Organen jedoch, welche eine dickere Kapsel und einen Hilus besitzen, der leicht unterbunden werden kann, ist der Einwand wohl hinfällig. Am geeignetsten dürften hierzu Nieren und Speicheldrüsen sein. Aber gerade hier erhielt ich in der Regel negative Resultate, was indessen durch ganz andere Umstände bedingt sein kann. Von sehr geringer Bedeutung dürfte der Einwand jedenfalls bei Milzen sein und wurden zu diesem Zwecke jene Versuche mit den Milzen von erstickten Thieren angestellt.

Um den Einwand, dass nach dem Brühen noch lufttrockene Dauersporen auf das Präparat auffallen können zu beseitigen, lag es nahe, Versuche anzustellen, bei denen diese Gefahr eben eine möglichst geringe wäre. Sie wurden folgendermaassen ausgeführt. Das in gewöhnlicher Weise unterbundene Herz, die Leber und ein oder beide Gastrocnemii ein und desselben Frosches wurden in enge, sehr dünnwandige und unten frisch zugeschmolzene und darum auch ausgeglühte Glasröhren hineingestossen und letztere dann möglichst dicht über den Organen abgeschmolzen, so dass die Organe mit möglichst wenig Luft eingeschmolzen waren. Nun sorgte man erst für eine rasche Abkühlung des eben zugeschmolzenen Glases unter dem Strom einer Wasserleitung und dann wurden die Röhrchen 10—15 Secunden lang in kochendes Wasser gehalten. Der in dem Röhrchen eingeschmolzene Raum musste sich bald mit Wasserdampf sättigen und die in ihm enthaltenen Keime darum alle zerstört werden. Derselbe musste für die zum grössten Theil dem Glase dicht anliegende Oberfläche des eingeschmolzenen Organes — nicht aber, wenn die Versuche gelingen sollten — für das Innere desselben statt haben. Die Röhrchen, welche bei dieser

Behandlung nicht sprangen — es war allerdings ein geringer Bruchtheil — wurden 5—8 Tage im Brütöfen aufbewahrt, dann geöffnet und untersucht. Obgleich sehr häufig, besonders an Muskeln, eine deutlich verbrühte Zone constatirt werden konnte, so fand ich immer Bakterien, nur in einem Fall unverkennbare Coccoformen ohne Bakterien. Vorwurfsfrei sind diese Versuche allerdings nicht, indem immer ein Theil der Oberfläche des eingeschmolzenen Organs, welcher dem Glase nicht dicht anliegt, nicht genügend gebrüht wird. Es wäre aber immerhin ein sonderbares Unglück, wenn in allen Fällen gerade an diese Stelle Dauersporen von Coccobakterien gefallen wären. Ein bemerkenswerther Fall, der einen Wink dafür giebt, dass es von individuellen Verhältnissen abhängig sein kann, ob und in welchen Formen sich Coccobacteria in einer bestimmten Zeit in den Organen eines Thieres entwickelt, ist mir bei diesen Versuchen vorgekommen. Von zwei mit einander in das Institut gebrachten und hier mit einander aufbewahrten Fröschen schmolz ich Herz, Leber und Muskeln unmittelbar nach einander ein. Alle 6 Röhrchen hielten das Abkühlen und Kochen aus und wurden, nachdem sie 5 Tage im Brütöfen gelegen hatten, unmittelbar nach einander untersucht. In den Organen des einen Frosches fand sich nur beweglicher Mono- und Diplococcus — der einzige Fall der Art, den ich mit Sicherheit zu beobachten Gelegenheit hatte —, in den Organen des anderen Frosches waren nur ruhende Bakterien, deren Leben aber, wie ich schon anzuführen hatte, auf chemischem Wege, durch die Tyrosinbildung sich kund that, vorausgesetzt, dass keine präformirten ungeformten Elemente im Muskel enthalten waren. Wollte man in diesem Falle die beiden verschiedenen Formen auf verschiedene Pflanzen beziehen, deren Keime beim Einschmelzen mit zu den Organen gelangt wären, so müsste es wiederum als ein sonderbarer Zufall bezeichnet werden, dass zu den Organen des einen Frosches nur Coccokeime und zu denen des anderen wenige Secunden später nur Bakterienkeime gelangt wären.

Schliesslich wurde noch eine Reihe von Versuchen gemacht, bei denen alle Einwände möglichst vermieden waren und die ich wegen der Constanz des Resultates als beweisend betrachten möchte. An 1—1½ Cm. im Durchmesser haltende dünnwandige Glassröhrchen wurden möglichst dünnwandige, ungefähr 3 Cm. im Durchmesser haltende Kugeln eingeblasen. Die Kugeln und noch ein

Theil der Röhren wurden mit flüssigem Paraffin gefüllt und in ein 160° heisses Paraffinbad eingesetzt. Das Paraffin im Innern der Kugeln nahm bald dieselbe Temperatur an. Nun wurden die gewöhnlichen Präparate von einem Frosch möglichst rasch gewonnen, in die Kugeln verheilt und diese aus dem Paraffinbad herausgenommen. Von den in den Kugeln zu Boden sinkenden Organen steigen auffallend grosse Gasblasen auf, die anfangs vielleicht aus Luft, später entschieden jedoch aus Wasserdampf bestanden. Die Oberfläche der Präparate wird weiss, dann braun und wenn sie chocoladenbraun geworden ist, so ist es Zeit, eine rasche Abkühlung unter einem kalten Wasserstrahl vorzunehmen. Es ist wichtig darauf zu achten, dass das Präparat ringsum von Paraffin umgeben wird. Unmittelbar nach dem Abkühlen schmilzt man die Glasmäntel sehr nahe am Paraffin zu. Dieses selbst wird dabei an seiner Oberfläche wieder sehr heiss, entwickelt Dämpfe, die leicht zu kleinen, gefährlichen Explosionen Anlass geben und auf diese Weise den nach dem Zusammenschmelzen über dem Paraffin zurückbleibenden Luftraum gründlich desinfizieren. Nun wird das Präparat im Brütofen aufbewahrt und dann nach 5—8 Tagen untersucht. Hierbei fand ich allerdings häufig keine Algen, aber dann war immer das eingeschmolzene Organ in eine dunkelbraune, bröcklige formlose Masse verbrannt. War die Verbrennung aber nicht zu weit gegangen, so fand ich immer Bakterien, und müssen darum deren Keime in den lebenden Thieren mit eben der Wahrscheinlichkeit vorhanden gewesen sein, mit der man annehmen kann, dass Dauersporen Glas nicht durchbohren.

Ueberblicken wir diese Beobachtung, so wirft sich zunächst die Frage auf, wo kommen die in gewissen Drüsen mit so grosser Häufigkeit vorhandenen Algenkeime her. Nach den ausführlichen Auseinandersetzungen Billroth's liegt der Annahme nichts im Wege, dass sie durch die Nahrung vom Darm und vielleicht auch durch die Respiration von den Lungen aus aufgenommen werden. Dass namentlich der Darm eine Resorptionsstätte für diese niederen Organismen sein kann, dafür spricht, dass gerade die Leber, welche einen grossen Theil ihres Blutes vom Darm her empfängt, dann die mit dem Darm sehr nahe gelagerten Drüsen Pancreas und Milz die beschriebenen Erscheinungen am häufigsten und massenhaftesten zeigen. Die Nähe eines Organs an der Resorptionsstätte genügt schon, um

die Häufigkeit der Keime in ihm zu erklären, denn wir haben keinen Grund anzunehmen, dass die einmal resorbirten Keime bei ihrer weiteren Wanderung anatomisch präformirte Wege einzuhalten gezwungen sind. Noch wahrscheinlicher wird diese Auffassung durch die Beobachtung an den beiden Hunden, deren Leibeshöhle vor den Versuchen geöffnet war. Hier kann eine Resorption von Keimen von ungewöhnlicher Stelle aus oder in ungewöhnlicher Menge statt gehabt haben und wurden Bakterien darum auch da gefunden, wo sie gewöhnlich nicht zu sein pflegen.

Bei der grossen Häufigkeit der Coccobacteriakeime im Organismus der Thiere ist die wichtigste hier entstehende Frage vorläufig die, wärum die Keime, wenn sie einmal da sind, sich nicht auch im lebenden Thier weiter entwickeln, resp. wo sie in demselben vernichtet oder in welcher Weise sie wieder aus ihm entfernt werden.

Billroth hat diese Frage ausführlich besprochen und hat S. 141 Experimente angeführt, denen zu Folge Coccobacteria im Blute lebender Thiere nicht leben kann. Von sehr breiter und umfassender Basis ausgehend giebt er ferner eine Erklärung dafür, warum die Keime im gesunden lebenden Organismus sich nicht entwickeln. Diese Erklärung drückt er je nach den verschiedenen Anschauungen, von denen aus er die Sache discutirt, in verschiedener Weise aus. Zum Schluss möchte ich die S. 147 gegebene Form aufgreifen, die heisst: „Die Coccobacteriasporen sind nicht im Stande die Eiweisskörper in der Form, in welcher sie sich im lebenden Organismus befinden, zu assimiliren.“

---