

XVII.

Ueber diagnostische Mittel und Methoden zur Erkennung von Bakterien.

Von Dr. Arnold Hiller,
Assistenzarzt in Berlin.

Die Schwierigkeit, die Bakterien in ihrer einfachsten Vegetationsform als kleinste Kugelchen (Monaden, Kugelbakterien, Micrococcen) von anderen, morphologisch ununterscheidbar ähnlichen Körnern nicht vitaler Natur im Körper zu diagnosticiren, wird zwar im Allgemeinen zugegeben, doch bei der mikroskopischen Untersuchung meistens nur wenig berücksichtigt oder in genialer Weise vernachlässigt. Die Mehrzahl der zahlreichen Beobachtungen über das Vorkommen von Schizomyzeten in den verschiedensten Organen der Leiche begnügt sich zur Legitimation des Befundes einfach mit der Angabe des mikroskopischen Sehens, begründet auf gewisse optische Merkmale, ohne dass die Anziehung weiterer Kriterien für nothwendig erachtet wird. Die Häufigkeit anderweitiger körniger Bildungen aber als Producte manichfacher pathologischer Prozesse, und andererseits die Tragweite, welche eine einzige mit zweifeloser Sicherheit constatirte Thatsache auf parasitologischem Gebiete haben kann, haben bereits mehrfach das Bestreben wachgerufen, exactere Unterscheidungsmittel aufzufinden. Eine Umschau über die Ergebnisse der sonst mit emsigem Eifer auf diesem Gebiete betriebenen Arbeiten aber lehrt, dass das Verlangen, überall nur kleinste Organismen aufzufinden, grösser war, als die Fähigkeit, sie von andren isomorphen Verwechselungskörperchen distinct zu unterscheiden, dass somit auch die Kenntniss diagnostischer Mittel für Bakterien weit hinter dem Umfang der bereits aufgehäuften Befunde zurückgeblieben ist.

Die spärlichen Mittel, deren man sich bei der mikroskopischen Forschung bisher bediente, lassen sich in zwei Gruppen theilen, in optische und chemische. Die Reihe der erstenen Zeichen umfasst die morphologischen Eigenschaften, Bewegungs- und

Vermehrungerscheinungen. Die zweite Reihe von Zeichen bilden Reagentien auf Fett und Eiweiss.

Was die morphologischen Kennzeichen anbetrifft, so ist ersichtlich, dass dieselben nur für höhere und charakteristische Vegetationsformen der Bakterien, wie Stäbchen und Leptothrixketten, von entscheidendem Gewicht sein können; für die einfache Kugelform aber und deren Aggregation zu Thallusformationen (*Zoogloea* der Autoren) — und diese sind unter den im menschlichen Körper gefundenen Bildungen weitaus die häufigsten — lassen Grösse, Gestalt und Ansehen die Diagnose unter allen Umständen zweifelhaft, da gleichmässige Moleküle eiweissartiger oder fettiger Natur bekanntlich genau dasselbe Bild geben können. Es ist sicher, dass durch eine Reihe nekrotischer (diphtherischer) und nekrobiotischer Prozesse ebenfalls Körner und körnige Ansammlungen erzeugt werden, welche von Monadengebäuden zu unterscheiden mit den bisherigen Mitteln, oft nicht möglich ist.

Unter den letzteren verdient namentlich die acute Fettmetamorphose der Zellen hervorgehoben zu werden, wie sie, für sich allein oder als das Endresultat parenchymatöser Entzündung, auftritt unter der Einwirkung mannichfacher Gifte (Phosphor, Arsenik, Antimon, Kohlenoxyd u. a.), gleichwie auch im Verlaufe acuter Infectionskrankheiten. Sie betrifft vorzugsweise diejenigen Zellen, welche während des Lebens durch den lebhaftesten Stoffumsatz ausgezeichnet sind und daher durch nutritive Störungen am ehesten in Leidenschaft gezogen werden, die Epithelien der Schleimhäute und serösen Hämäte, die rothen und farblosen Blutzellen, und vor Allem die Drüsenzellen der Leber und der Nieren. Gerade an letzteren Organen ist es, an welchen in neuerer Zeit bei Pyämie, Puerperalfieber, Diphtherie und Septämie die feindselige Einwirkung jener Organismen mit besonderer Vorliebe demonstriert wird. Wer aber könnte bei vorurtheilsfreier und objectiver Vergleichung der bezüglichen Angaben mit den einzelnen Phasen jenes Prozesses läugnen, dass die neuerdings mehrfach als „micrococchenhaltige und stark vergrösserte Zellen“, als „rundliche Plaques von Micrococcen“ oder „Bakteriencolonien“, endlich als „ganz mit Micrococcusmassen erfüllte“ Lebergänge und Harnkanälchen oder „mit Kugelbakterien injizierte Lymphgefässe“ (Heiberg) beschriebenen Zustände den bekannten Bildern der, oft um das

Zwei- bis Vierfache vergrösserten, Körnchenzellen, sowie den aus letzteren hervorgegangenen membranlosen Körnchenhaufen und schliesslich der molecularen Auflösung in fettigen Detritus entsprechen?

Wenn als unterscheidendes Merkmal zwischen Fettdetritus und *Micrococcus*-massen das Vorhandensein grösserer, deutlicher Fett-tropfen in jenem angeführt wird, so ist das nicht für alle Fälle zutreffend. Das Zusammenfliessen der kleinsten Fettmoleküle zu Tropfen ist vielleicht ein häufiger (namentlich intracellulärer), aber durchaus kein nothwendiger Vorgang, sondern kann vielmehr, zumal wenn der körnige Zerfall ziemlich rapide erfolgt, verhindert werden durch die albuminöse Zwischensubstanz, welche die Fettmoleküle umgibt und in Emulsion erhält. — Den beregten Zweifel hebt aber auch nicht die so vielfach urgirte Anwendung fettlösender Agentien, wie Aether, Alkohol und Chloroform; ihre Wirkung ist in diesen Fällen, wie auch von anderer Seite schon hervorgehoben, geradezu illusorisch, mit Rücksicht auf den Eiweissgehalt des Serums, in welchem sie Coagulation erzeugen und so jede Einwirkung auf die Fettkügelchen selbst hindern. Man kann sich mit Leichtigkeit hiervon an ähnlichen Emulsionen, z. B. der Milch, überzeugen. — Als ein drittes Kriterium wird das Auftreten kürzerer oder längerer Glieder von lepto-thrixähnlichen Ketten angezogen. Allein auch von Fettkörnchen ist bekannt, dass sie sich zu mehrgliedrigen Reihen aneinander legen können. Ja Heiberg selbst, der sich vorzugsweise auf dieses Kriterium stützt, giebt sogar an einer und derselben Stelle, wo er von solchen Bakterienketten redet, gleichzeitig von Fettkörnchen an, dass sie „nicht selten zu 2—6 in längeren Reihen lagen“. — Ueber diese diagnostische Schwierigkeit hilft endlich auch nicht die „Gleichmässigkeit des Korns“ und das Lichtbrechungsvermögen hinweg, da feinkörniger emulgirter Fettdetritus sowohl hinsichtlich der Grösse und der Form, als auch des Glanzes und der Contour der einzelnen Granula genau das gleiche Bild geben kann¹⁾.

¹⁾ Ich kann die volle Berechtigung solcher Zweifel an der Stichhaltigkeit der Diagnose von Monaden (*Micrococci*) nicht besser beweisen, als indem ich einige Belegstellen aus Heiberg (die puerperalen und pyämischen Prozesse. Leipzig, 1873) anfühere, aus welchen das Willkürliche oder doch zum mindesten Gewagte einer solchen Deutung auf das Evidenterste hervorgeht.

Was namentlich das Lichtbrechungsvermögen anbetrifft, so findet man vielfach in den neueren Mittheilungen den „starken“

Heiberg schildert zwar seine Befunde meistentheils in ziemlich objectiver Weise, doch wird diese Objectivität seiner Darstellung durchweg getrübt durch die beständige Beimengung der subjectiven, präjudicirten Auffassung gerade an den fraglichen Punkten, ohne dass hinreichende oder überhaupt Beweise dafür beigebracht werden.

So findet er (a. a. O. S. 12) in einem Falle von Pyämie in den Pyramiden der Nieren „ziemlich verbreitete Fettdegeneration des Epithels“ und daneben wieder eine grosse Menge Nierenkanälchen, in zunehmender Menge von der Basis nach den Papillen hin, „mit sehr feinen ganz gleichen Körnchen gepropft“, welche mit Rücksicht auf die eigen-thümliche Art ihrer Lichtbrechung als Kugelbakterien gedenkt werden. Gegen Essigsäure und Kalilauge verhielt sich diese Inhaltsmasse resistent. Aber bei längerer Einwirkung von Alkohol waren die cylindrischen Pfröpfe, in welchen die Kugelbakterien durch eine schleimige Masse zusammengehalten waren, durch Coagulation des Bindemittels ganz starr, spröde und rissig geworden. An mikroskopischen Schnitten „zeigte sich kein Zeichen einer Auflösung der Körnchen, im Gegentheil traten sie noch schöner und deutlicher hervor“. Damit war für H. die Diagnose auf Bakterien über allen Zweifel erhoben.

Ich habe hiergegen einzuwenden:

1) Grosse Bakterienmassen, deren Glieder durch ein schleimiges coagulables Bindemittel zusammengehalten werden, sind nach allem bisher Beobachteten eine ganz ungewöhnliche Erscheinung; Lager- oder Zooglä-Bildungen, zu welchen es bei einer so enormen dichten Anhäufung von Einzelwesen nothwendig hätte kommen müssen, werden durch Alkohol, wie auch Billroth von der Glia angiebt, niemals coagulirt, vielmehr wirkt derselbe, zumal bei längerer Dauer, schrumpfend bis zur Unkenntlichkeit auf sie ein.

2) Eine so gleichmässig vertheilte, solitäre Entwicklung innerhalb eines colloiden Menstruums ist für Kugelbakterien aus botanisch-physiologischen Gründen, sowie auf Grund directer Versuche, unmöglich. In einem Nährmaterial, welches unter der Einwirkung von Gerinnung machenden Mitteln sofort erstarrt, können Kugelbakterien in solcher Menge nicht fortkommen, da sie des Wassers (und der Luft) zu ihrer Ernährung in hohem Maasse bedürfen. Sie werden bei einem solchen Nährboden (Hühnereiweiss) immer vorzugsweise an der Oberfläche gefunden.

3) Das gleichzeitige Vorhandensein von fetiger Metamorphose der Epithelien in den Harnkanälchen einer und derselben Niere, das häufig übereinstimmende Bild einer feinkörnigen, molecularen Fetteulsion mit jenem bakterischen Körnermeer, legen die Annahme einer Identität jener Massen, einer gemeinschaftlichen Genese eines übereinstimmenden

Glanz“ oder das „starke Lichtbrechungsvermögen“, sowie den „scharfen Contour“ der Körnchen als specifische Kriterien

Prozesses in allen Harnkanälchen (acute Fettmetamorphose) überaus nahe.

4) Die Widerstandsfähigkeit jener fraglichen Körnchen gegen Essigsäure und kaustische Alkalien spricht für ihre fettige Natur.

5) Das Verhalten des Alkohols spricht nicht dagegen, da die mit dem Eiweisscoagel umkleideten Kügelchen von der lösenden Eigenschaft desselben unberührt bleiben mussten. —

Ein anderes Mal (S. 13) finden sich bei einer Endometritis puerperalis in der Uterusmusculatur „4—5 länglichrunde, gelbliche Foci, wie von eingetrocknetem halbzerfallenem Eiter gebildet“, desgleichen in den retroperitonealen Lymphdrüsen im Innern kleine gelbliche Punkte. Mikroskopisch zeigen sich jene aus kleinen feinen Körnchen von unregelmässiger Grösse bestehend, welche „ganz dem Fettdetritus gleichen“, letztere dagegen sind „feinkörnig, deutlich bakterienhaltig; sowie ein Paar ungewöhnlich deutliche Bakteriencolonien (Zooglökämumpfen) zwischen den Retikelfäden“. Die Angabe näherer Beweise fehlt hier gänzlich. — Schon die gelbe Farbe spricht gegen die Bakteriennatur der letzteren, vielmehr für ihre Uebereinstimmung mit dem ersteren gelblichen Fettdetritus. Auch können die Bakteriencolonien zwischen den Retikelfäden gekörnte Lymphzellen gewesen sein.

In einem Falle von Puerperalieber ferner (S. 16) werden in der Niere „eine Menge Harnkanälchen mit zahlreichen feinen Körnchen angefüllt, von denen ein Theil deutlich Fettträpfchen sind, während andere an Bakterien erinnern“ und wieder andere in den Pyramiden, die „als Kugelbakterien gedeutet werden müssen“. Also Fettkörnchen und Kugelbakterien vertraulich neben einander! —

In dem graulich-gelben halbcoagulirten Fluidum eines Lymphgefäßthrombus (S. 21) findet H. unter Anderm „Rundzellen in der Fettdegeneration“, daneben gleichzeitig „zahlreiche Körnchen, wovon ganz einzelne Ketten von 4—5 Gliedern bilden“, — mithin Bakterien. (Unmittelbar vorher war jedoch auch von den Fettkörnchen gesagt, dass von ihnen „nicht selten 2—6 in längeren Reihen lagen“!) —

In Milzinfarcten endlich und in der halbzerfallenen Thrombe einer Nierenarterie (S. 26) constatirte H. „einen ganzen Theil Rundzellen zwischen den Nierenkanälchen, deren Epithel theils deutlich fettkörnig, theils mit feinen, gleichen Bakterien-ähnlichen Körnchen gefüllt ist“.

In derselben willkürlich interpretirenden Bakterien und Fett confundirenden Weise geht es durch die ganze Schilderung hindurch. Und damit soll „auf eine selten deutliche Weise das Eindringen und der Angriff dieses gefährlichen Feindes auf den Organismus demonstriert“ worden sein!

für Monaden resp. „Micrococcen“ angegeben und darauf die Diagnose begründet. Dem gegenüber muss darauf aufmerksam gemacht werden, dass jene optischen Erscheinungen den Bakterien durchaus irrtümlich beigelegt werden, dass sie niemals Eigenschaften der Monaden, wohl aber Eigenschaften molecularer Fettkörnchen sind. So schwierig auch bei der Kleinheit der in Betracht kommenden Granula eine rein optische Unterscheidung beider Körnchen oft ist, so giebt es doch einige, bei guter Beleuchtung und stärkeren Linsen sehr wohl erkennbare, recht wesentliche Kennzeichen, durch welche molecularare Fettkörnchen und Monaden von einander trennbar sind. Für jene zeigt sich nehmlich bei sorgfältiger Beobachtung ein scharfes Lichtbrechungsvermögen, dadurch bedingter starker Glanz und präzise, scharfe Contourirung, also jene vielfach für die „Micrococcen“ fälschlich usurpirten Eigenschaften, charakteristisch; für diese dagegen das schwache Lichtbrechungsvermögen, demzufolge matter Glanz (Opacität) und wenig markirte, oft schwer erkennbare Begrenzung eigenthümlich, Eigenschaften, welche die blosse Sichtbarkeit dieser Organismen in eiweißhaltigen Flüssigkeiten oft so sehr erschweren. Man kann sich von dem Vorhandensein dieser Unterschiede leicht überzeugen, wenn man, was sich schon der diagnostischen Uebung halber empfehlen dürfte, legitime Monaden aus Züchtungen vergleicht mit imitirten „Micrococcen“, d. h. Fettkörnchen, welche man darstellt durch Mischung in Alkohol gelöster ätherischer Oele.

Ich enthalte mich jeden weiteren Commentars über die angezogenen Beispiele moderner parasitologischer Forschung und überlasse es dem selbständigen Urtheil jedes Einzelnen, ob er es in diesen Fällen vorziehen will, jene kleinsten Körnchen, bei dem Durcheinander und Nebeneinander derselben mit Fettkörnchen, nicht ebenfalls als Producte derselben fettigen Metamorphose aufzufassen, wie sie in allen Organen neben Bakterien stets gleichzeitig constatirt wurde, oder ob er mit Heiberg glaubt, dieselben „ohne Weiteres mit Bestimmtheit“ (sic! S. 21) für Kugelbakterien erklären zu müssen. Exact jedenfalls — darüber kann nur eine Stimme sein — wird man letztere naturwissenschaftliche Methode nicht nennen können. —

[Die Existenz feinster gleichartiger Fettmoleküle scheint H. gar nicht anzuerkennen. Aber auf welche Weise denkt er sich denn beispielsweise die Fettresorption im Darm zu Stande kommen, bei der wir doch auch nothwendig annehmen müssen, dass das Fett nicht etwa in Tropfen, sondern in feinster molecularer Form die Porengänge unserer Epithelien passirt?]

mit Wasser und Gummi (etwa Liq. Ammon. anis. und Mucil. Gummi arab. $\ddot{\text{a}}$ 1 Tropfen, Aq. destill. 5,0—10,0). — Diese Unterschiede in der Lichtbrechung sind in der That so hervorstechend, dass sie sich auch auf gewisse makroskopische Unterschiede beider Substanzen übertragen: eine durch molekulare Fettkörnchen bedingte Trübung einer an sich wasserhellen Flüssigkeit ist immer milchweiss, selbst bei stärkeren Verdünnungen, die durch Bakterien bedingte dagegen schwach grauweiss, bei stärkerer Trübung immer deutlicher grau werdend; jene ferner wird durch grössere Concentration immer undurchsichtiger weiss, vollkommen milchartig, in dieser scheiden sich bei stärkerer Zunahme der Vegetation die Bakterien in Gestalt opaker Häufchen oder eines trübgrauen, erdigen Absatzes am Boden ab. Beide Substanzen zeigen überdies auch ein verschiedenes specifisches Gewicht: Fettkügelchen haben die Neigung, sich an der Oberfläche der Flüssigkeit zu sammeln, Bakterien sinken dagegen im Verlauf ihrer Vegetation nach und nach zu Boden. Diese gröberen optischen Merkmale gewähren unter Umständen vielleicht die Möglichkeit, Monadenvegetationen von Fettkörnchenemulsionen in Flüssigkeiten schon makroskopisch zu unterscheiden.

Als ein zweites, vielfach angezogenes optisches Kriterium gilt die Eigenschaft der Bewegung. Wenngleich sich auch im Allgemeinen gegen die diagnostische Verwerthung charakteristischer Bewegungserscheinungen von Monaden und Stäbchen nichts einwenden lässt, so werden sie doch nur eine beschränkte Anwendung finden können. Denn einertheils sind die in den verschiedenen Organen des Körpers aufgefundenen Körner und Körnermassen bei Weitem zum grössten Theil bewegungslos, (sogen. ruhende Bakterien), anderentheils machen nur beschränkte Excursionen wirklich beweglich gefundener Körperchen eine Unterscheidung von der Molecularbewegung auch unbelebter Körnchen geradezu unmöglich.

Nur wo ausgiebig kreiselnde, mit Ortsveränderung verbundene Bewegungen, wie sie den Monaden eigenthümlich sind, wahrgenommen werden, scheint mir die Annahme belebter Körperchen erlaubt. Hierzu ist natürlich immer das Vorhandensein eines strengflüssigen Mediums erforderlich, da in colloiden Flüssigkeiten die Bakterien locomotorische Bewegungen, vermutlich aus physikalischen Gründen, nicht zeigen, sondern fast nur in

strengen Flüssigkeiten bewegt gefunden werden. So sieht man sie vorzugsweise im Harn, Zuchtwasser, Macerationsjauche, Infusionen, in flüssigen Exsudaten und Transsudaten, im Serum faulenden Blutes u. s. w. Dagegen sah ich sie fast nie, oder doch nur äusserst selten, und dann immer wenig ausgiebig, im Eiter und eitriegen Exsudaten verschiedenen Ursprungs, überhaupt in Theilen der Leiche (Billroth u. A.), sowie auch niemals in zahlreichen Fällen frischer Blutproben bei acuten Infectionskrankheiten vom Lebenden.

Letzterer Umstand ist einigermaassen wichtig. Er beweist entweder, dass die im Serum häufig angetroffenen, zum Theil auch beweglichen, solitären Körperchen keine Monaden waren¹⁾, oder dass, wo es sich wirklich um Bakterienelemente handelt, dieselben sich in einem indifferenten Zustande befinden, d. h. vegetative Lebenserscheinungen, Stoffwechsel, Wachsthum, Vermehrung, im strömenden Blut nicht zu äussern vermögen²⁾.

Noch in anderer Beziehung aber scheint mir das Phänomen der Bewegung von diagnostischem Werth. Ich habe nehmlich im Verlaufe meiner botanischen Studien über die Schizomyceten wiederholt die Beobachtung gemacht, dass die Bewegungerscheinungen der Bakterien mit ihrer Vermehrung in innigem Zusammenhang stehen: ihre Eigenbewegungen fehlten, wo keine Vermehrung mehr stattfand, dagegen traten sie regelmässig in die Erscheinung, wo in flüssigen Medien ein numerisches Wachsthum der Bakterien zu constatiren war; ihre Excursionen wurden hier immer am lebhaftesten angetroffen auf der Höhe der Proliferation, und endlich gelang es, ihre Bewegungen zu sistiren durch alle diejenigen Einflüsse, welche Wachsthum und Vermehrung hemmen, ohne sie tödten, z. B. Entziehung oder Erschöpfung von Nährmaterial (in ausgefaulten Flüssigkeiten), abnorm niedrige Temperatur, Transplantation in destillirtes Wasser u. dergl. Die Verfolgung der morphologischen Entwicklungsgeschichte in einer faulenden

¹⁾ Dies ist für einige Fälle sogar durch das Experiment mit aller Sicherheit erhärtet worden von Klebs (Archiv f. exp. Path. I. 1. S. 31) und Clementi-Thin (Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1873. 45).

²⁾ Vergl. über diesen Gegenstand meine früheren Abhandlungen: „Untersuchungen über die Bakterien etc.“ (Allg. med. Centr. 1874. 1 u. 2) und „Die Veränderungen der rothen Blutkörperchen durch Sepsis und septische Infection“ (Centralbl. 1874. 21—24).

Flüssigkeit bestätigt diesen Zusammenhang; man findet zu der Zeit, wo die Flüssigkeit (Harn; Fleischwasser, Blutserum) von Monaden und Stäbchenbakterien förmlich wimmelt, stets die ausgesprochensten Eigenbewegungen; erst später, wenn, augenscheinlich in Folge von Nahrungseinflüssen, das Wachsthum weniger energisch, die Bewegungen weniger ausgiebig werden oder gänzlich erlöschen, kommt es zur Bildung von Ketten, Fäden und Lagern, welche dem Gesetz der Schwere folgend sich zumeist in den unteren Schichten der Faulflüssigkeit ansammeln, während oben allerdings noch Einzellemente, aber gewöhnlich bewegungslos, vorhanden sein können.

Die gewöhnlich primär und schon frühzeitig auf der Oberfläche einer Flüssigkeit sich bildenden Bakterienhäutchen sind, das muss ich ausdrücklich bemerken, keine Vegetationserscheinungen, d. h. keine Thallusformationen (Zooglöa der Autoren), sondern in der Regel durch Verdunstung und dichte Ansammlung an der Oberfläche bedingte mechanische Agglutinationen, die in derselben Weise zu Stande kommen wie die Häutchen auf kochender Milch oder auf erwärmtem Hühnereiweiss. Gegen ihre Deutung als Thallus (Zooglöa) spricht schon der Umstand, dass dieselben bereits zu einer Zeit sich bilden, wo die Lebhaftigkeit der Eigenbewegungen jede freiwillige Aggregation der Elemente hindert, dass sie ferner blos an der Oberfläche sich bilden, nie in tieferen Schichten, und endlich ihre Bildung sich verhindern lässt durch gänzlichen Luftabschluss von der Faulflüssigkeit. Andererseits kann man auch auf einem mit Organismen gesättigten Bakterientropfen auf dem Objectglase des Mikroskops sich von dem Zustande kommen dieser Agglutination durch Verdunstung leicht überzeugen.

Wie aber die Eigenbewegungen der Bakterien ein continuirliches Wachsthum und Coloniebildung hindern, so begünstigt andererseits Mangel an Bewegung das Zustandekommen von Aggregatbildung. Den sprechendsten Beweis hierfür liefert die Mundhöhle, wo zwar nicht Nahrungsmangel das Wachsthum, aber doch Wassermangel die Beweglichkeit hindert, und in Folge davon fast ausschliesslich jene massigen dichten Leptothrix- und Monadenlager sich bilden, welche in Form eines consistenten Breies die geschützteren Theile der Mundhöhle überziehen.

Alle diese Beobachtungen lehren Zweierlei, nehmlich erstens, dass die Eigenbewegungen der Bakterien kein selbständiges, auto-

matisches Phänomen, sondern höchstwahrscheinlich ein Ausfluss der Stoffwechsel- und Wachstumsvorgänge innerhalb dieser winzigen und äusserst labilen Pflanzenzellen sind¹⁾; und zweitens dass der Vorgang der Bewegung auf das Zustandekommen der Theilung von bestimmendem Einfluss ist, dass also überall, wo Monaden und Stäbchen in lebhafter Bewegung sich mehrend angetroffen werden, ihre Vegetation immer wieder zur Bildung von Einzelwesen (Schwärmern), d. h. Monaden und Stäbchen, führt, und dass andererseits, wo Monaden bewegungslos vegetiren, sei es aus Flüssigkeits- oder partiell Nahrungsmangel oder anderen Ursachen (Mundhöhle, Darm, Vagina), durch continuirliches lineäres Wachsthum stets nur Leptothrixketten oder Thallus sich bilden. Diese Gesetzmässigkeit in den Wachsthumerscheinungen der Bakterien gestattet für die pathologische Diagnostik nicht unwichtige Rückschlüsse. Wir können mit Hülfe dieses Gesetzes nunmehr behaupten:

1. Grössere Ansammlungen bewegungsloser Einzelkörnchen im Körper, welche morphologisch Monaden (*Micrococci*) gleichen, aber die dichte Aggregation zum Thallus oder zur Leptothrix nicht zeigen, können niemals Monaden sein, da letztere sich zu dieser Menge von Einzelindividuen nur auf dem Wege der Theilung, also unter Bewegungserscheinungen, hätten fortipflanzen können;

2. Einzelne stäbchenförmige Gebilde, welche bewegungslos in einem pathologischen Object gefunden werden, sind entweder keine Bakterien, sondern vielleicht Krystalle (Fettsäurenadeln), oder es sind Bakterien, welche sich intra vitam und vielleicht auch noch post mortem im Object nicht hatten vermehren können, mithin indifferent sind.

3. Kurzgliedrige Ketten inmitten grosser Körneransammlungen (cf. 1 — häufiger Fall!) sind keine Bakterien, wenn ihr Zusammenhang ein mehr zufälliger, lockerer ist. Für das Vorhandensein wirklicher und bereits intra vitam vegetirender Leptothrixketten spricht nur der Befund entsprechend langer und entsprechend zahl-

¹⁾ Ich werde diesen nicht uninteressanten Gegenstand, für den ich einige positive Anhaltspunkte gewonnen zu haben glaube, an einer anderen Stelle ausführlicher abhandeln. Jedenfalls erhellt, dass die Aufsuchung mechanischer Bewegungskräfte der erstaunlichen Einfachheit und dem botanischen Charakter dieser Gebilde offenbar weit besser entspricht, als die (wohl unüberlegte) Annahme automatischer, thierisch bewusster Bewegungskräfte (!), welche bisher fast allgemein als das unveräußerliche Vorrecht des höher organisierten thierischen Lebens galten.

reicher Fäden. Andernfalls handelt es sich um Trugbilder oder um postmortale Vegetationen.

4. Einzelne bewegungslose Körnchen in einem Gewebe, welche morphologisch den Kugelbakterien ähnlich, jedoch weder Bewegungs- noch lineäre Wachstumserscheinungen zeigen, sind entweder keine, oder nicht vermehrungsfähige (indifferente) Bakterien. —

Was nun das dritte optische Kennzeichen anbetrifft, so ist die Eigenschaft der Vermehrung direct diagnostisch zu verwerthen bisher nur ein Mal gelungen, nehmlich in einem Falle von puerperaler Peritonitis ¹⁾), bei welchem Orth im Exsudat angeblich noch unter dem Deckglase Wachstumserscheinungen seiner „Micrococci“ wahrnehmen konnte. Ich glaube, dass sich dieser Präcedenzfall zur wirklich brauchbaren Methode erheben lässt, wenn man das Object durch vorsichtige Präparation vor dem Hineinfallen von Monaden aus der Luft schützt und durch Verkitten am Rande des Deckgläschen mittelst Collodium, Leimlösung und dergl. Verdunstung hindert. Da die organischen Substanzen der Leiche gewöhnlich schon Nährmaterial genug enthalten, so bedarf es gar keinen weiteren Zusatzes nährender Stoffe. Allein der Mangel freien Sauerstoffs, der für die Vegetation von Monaden unbedingt nothwendig ist, und dessen geringer Vorrath im Object sehr bald erschöpft sein wird, könnte bei dem vollkommenen Luftabschluss eine ausgiebige Entwicklung von Organismen leicht hindern. Dies ist der einzige und vielleicht nicht un wesentliche Nachtheil dieser Methode. Immerhin mag es möglich sein, durch eine genaue Vergleichung des frischen Objects mit dem Culturpräparat auch geringfügige numerische und morphologische Veränderungen der fraglichen Körperchen zu erkennen.

Die zweite Gruppe der chemischen Mittel umfasst die Reagentien auf Fett und Eiweiss, auf der einen Seite kaustisches Kali und Essigsäure, auf der anderen Alkohol, Aether und Chloroform. Diese Reagentien haben sich in letzterer Zeit einen gewissen Ruf als diagnostische Mittel erworben, auf die theoretisch richtige Ansicht hin, dass durch jene Albuminkörnchen, durch diese

¹⁾ Untersuchungen über Puerperalfieber. Dieses Archiv Bd. LVIII. Heft 3 u. 4. Desgleichen auch Cohn, welcher frische Vaccinellympe zwischen Deckgläsern und Objectträger einschloss, mit Asphalt verkittete und eine Weiterentwicklung der Körnchen bis zu rosenkranzähnlichen Fäden beobachtete (a. a. O. Fig. 2 Taf. III.).

Fettkügelchen zur Lösung gebracht würden, während Bakterien sich gegen beide indifferent verhalten — allein mit Unrecht. Durch kalte Kalilauge werden zwar frische Albuminate (junge Zellen, Lymphkörperchen, Blutscheiben und deren körnige Fragmente) gelöst, ältere Proteïnsubstanzen dagegen nicht. Heisse Kalilauge oder Kochen des Objects mit derselben ist aber deswegen unanwendbar, weil, was an Formelementen hierdurch wirklich gelöst wird, durch Coagulation des flüssigen oder gelösten Eiweisses in Form von Gerinnseln wieder erzeugt wird; überdies unterliegen die Bakterien selbst durch dieses Verfahren einer wesentlichen Veränderung, indem junge Monaden und Stäbchen nach mehrstündigem Kochen durch Lösung schwinden, Thallusbildungen dagegen zu einer formlosen Gallerte aufquellen.

Von den fettlösenden Agentien vollends hat bereits Riess¹⁾, gegenüber Birch-Hirschfeld, (der mit ihrer Hülfe „Micrococcen“ im Blute diagnosticirte!) die Unzulänglichkeit derselben dargethan. Einerseits ist ihre Einwirkung auf freie oder intracellulare Fettkügelchen in flüssigen Medien, wie Blut, Eiter Exsudaten u. a., sowohl aus theoretisch-chemischen Gründen, als auch nach praktischen Versuchen unmöglich, andererseits erzeugen sie in den albuminösen organischen Parenchymflüssigkeiten selbst festerer Gewebsthile Gerinnungen, welche die Fettkörnchen umschließen und vor Lösung schützen. Dies ist wenigstens, wie der oben (s. Anmerk.) citirte Fall von Heiberg beweist und wie ich mich durch Versuche wiederholentlich überzeugt habe, in fast allen pathologischen Bildungen in inneren Organen der Fall, bei denen es sich um den Nachweis von Bakterien handelt, bei Abscessen, miliaren Herden, dem Inhalt der Lymphgefässe, in dem feinkörnigen Detritus diphtherischer Massen, in der aus der Degeneration der Epithelien hervorgegangenen feinkörnigen Fettémulsion in Leber- und Harnkanälchen u. s. w. Gerade in den letzteren Fällen, glaube ich, kann man sogar, wenn durch Alkohol Coagulation, durch Alkalien Erweichung und Verflüssigung des Inhaltes erzeugt wurde (wie oben), mit ziemlicher Sicherheit behaupten, dass die im Eiweiss suspendirten körnigen Massen zum Mindesten nicht Monaden, sondern höchstwahrscheinlich emulgirte Fettkörnchen sind, um so mehr, wenn unzweiflhbare Zeichen von Fettmetamorphose des Epithels gleichzeitig im Organ vorhanden sind (cf. Fall 1 in der Anm.).

¹⁾ Ueber sogenannte Micrococcen. Centralbl. 1873.

Die Hauptschwierigkeit also, welche der Anwendung chemischer Reagentien entgegen steht, liegt in der Beseitigung der Fettkörnchen innerhalb eines eiweissreichen Substrates, welches bei der Einwirkung der gewöhnlichen Lösungsmittel coagulirt. Ich habe diesem Uebelstande abzuhelfen versucht, indem ich eine Lösung von Kali hydric. in absolutem Alkohol (1 : 5) zur Anwendung zog, eine Combination, welche den doppelten Vortheil gewähren sollte, einmal die Gerinnung des Eiweisses durch Gegenwart des Alkali zu verhindern, sodann Albumin- und Fettkörnchen im Präparat gleichzeitig zu eliminiren. Allein es ergab sich bei Versuchen mit Milch, fetthaltigem Eiter und ähnlichen Emulsionen, dass die Coagulation niemals ganz verhindert wurde, allenfalls etwas weniger reichlich erfolgte.

Rücksichtlich dieser gänzlichen Unzulänglichkeit aller der bisher gebräuchlichen chemischen Mittel war das Bestreben, specifische mikrochemische Reactionen an den Bakterien aufzufinden, begreiflicherweise ein sehr brennendes, jedoch bis jetzt resultatloses. Ich selbst habe, jenen Mangel oft empfindend, diese Versuche Wochen hindurch mit Ausdauer betrieben und alle nur möglichen Reagentien, oft in den theoretisch plausibelsten Combinationen, auf charakteristische Beziehungen zu den Bakterien geprüft, bin jedoch im Einklang mit anderen Forschern zu der Ueberzeugung gelangt, dass es ein wirkliches mikrochemisches Reagens auf Bakterien bei unseren jetzigen Mitteln nicht giebt, vielmehr die übertriebene Anwendung solcher Substanzen durch feinkörnige Niederschläge aller Art häufig genug nur Täuschungen urgirt. Zwar zeigen auch Schizomyceten die bekannte Reaction der Proteinsubstanzen (Zucker und Schwefelsäure), wie man sich an den Bakterien der Mundhöhle leicht überzeugen kann, doch erscheint ihre Anwendung bei den gerinnungsfähigen Objecten des menschlichen Körpers unthunlich, selbst dann, wenn man etwa vorhandene Albuminkörnchen durch Kalilauge zuvor gelöst hat. Sehr naheliegend war bei der pflanzlichen Natur dieser Gebilde der Gedanke an die bekannte Cellulose-Reaction (Jod-Schwefelsäure) der Pflanzenzellen; doch ist dieselbe trotz vielfacher Versuche bisher Keinem gelungen, auch mir nicht. Nur Letzterich¹⁾ macht hiervon eine Ausnahme, indem er diese Reaction neuerdings für die Mikrosporen und Micrococcen seines eigenartigen „gezüchteten“ Diphtheriepilzes angibt. Angenommen, dass Versuch und

¹⁾ Berl. klin. Wochenschrift, 1874. 6.

Beobachtung in allen Punkten exact sind (was übrigens, wie weiter unten gezeigt werden wird, im hohen Grade bezweifelt werden muss), so folgt hieraus mit Nothwendigkeit zweierlei, nehmlich 1) dass es sich bei seinen „Microsporen und Micrococcenmassen“ nimmermehr um Schizomyceten handeln kann, sondern um ganz eigenartige, exceptionelle Gebilde, und 2) dass Letzterich sich somit im Widerspruch befindet mit allen denjenigen parasitologischen Autoren, welche die Entstehung der Diphtherie von Monaden (Micrococci) oder anderen Schizomycetenformen ableiten.

Unter den chemischen Mitteln gibt es jedoch eine Reihe solcher, welche, wenn sie auch keine specifische Reaction abgeben, doch dazu dienen können, die Bakterien durch Färbung erkennbarer zu machen, eine Eigenschaft, die bei der Durchsichtigkeit dieser Gebilde oft sehr erwünscht ist. Als solches Färbungsmittel hat sich mir das Jod als das vorzüglichste bewährt. Die Bakterien nehmen, wie alle Proteinsubstanzen, Jod leicht auf, und werden durch dasselbe orangegeiß bis tief braun gelb gefärbt. Ich bediene mich einer alkoholischen Lösung von 1:25, von welcher einige Tropfen auf einen flach ausgebreiteten Bakterientropfen fallen gelassen werden; nach 1—2 Minuten Einwirkung haben sich die Organismen mit dem Farbstoff imprägnirt, während das Menstruum durch Verdunstung des überschüssigen Jods, welche man durch Hinwegblasen eines Luftstromes über das Object noch beschleunigen kann, sich vollständig entfärbt. Es erscheinen alsdann unter dem Mikroskop die Bakterien schön gelb bis braun gefärbt, inmitten des wasserhellen Serums sich scharf abhebend. Ich habe auf diese Weise so überraschend schöne Bilder dieser sonst so durchscheinenden Organismen erhalten, dass ich das Verfahren den Fachgenossen nicht genug empfehlen kann. Es eignet sich durch grosse Klarheit und Schärfe des Objectes besonders für das morphologische Studium dieser Organismen, für mikroskopische Demonstrationen, Zeichnungen und besonders auch mikrophotographische Darstellungen¹⁾. Zu

¹⁾ Die Versuche einer mikroskopisch-photographischen Darstellung der Bakterien habe ich in den verflossenen Sommermonaten in Gemeinschaft mit Herrn W. Knott in Minden, einem trotz der Fülle der Jahre durch jugendlichen Sinn und geistige Frische, wie durch den Umfang seiner naturwissenschaftlichen Kenntnisse gleich ausgezeichneten Manne, mit grossem In-

bedauern ist nur, das bei der coagulirenden Eigenschaft des Alkohols die Anwendung dieser Jodirung auf diejenigen Fälle beschränkt bleiben muss, in welchen Schizomyceten in mehr wässrigen eiweiss-freien Medien suspendirt sind, wie in der Mundhöhle, im Darm, Harn und in Züchtungsflüssigkeiten. Dieser Umstand hindert auch ihre allgemeine diagnostische Verwerthung, in welcher Hinsicht sie sonst zur Unterscheidung von Fettkörnchen, nach vorheriger Lösung der Albuminate durch Alkalien, werthvolle Eigenschaften besäße.

Nur in einzelnen Fällen ist diese Jodirung dennoch anwendbar, nehmlich bei solideren Gewebsteilen, als Leber, Nieren, Muskeln u. s. w., von denen man in zweifelhaften Fällen feine mikroskopische Schnitte auf dem Objectglase 24 Stunden in Kalilauge macerirt. Das Gewebe wird dadurch aufgehellt, frische Albuminate gelöst, während Fettkörnchen und Bakterien unberührt bleiben. Man lässt alsdann die Flüssigkeit vom Objectglase möglichst vollständig ablaufen und behandelt nun den Schnitt mit der 4 procentigen Jodtinctur in der angegebenen Weise. Eine Unterscheidung von Monaden und Fettkörnchen wird hierdurch in der Mehrzahl der Fälle exact möglich sein.

Die Anwendung des Jods erfordert immer gewisse Vorsichts-

teresse betrieben, mit Rücksicht auf die unleugbaren Vorteile, welche eine treue und ganz objective Reproduction pathologischer Bilder solcher Organismen vor einer, von der subjective Auffassung niemals ganz freien, Darstellung durch Zeichnung hat. Der Apparat war von Herrn Knodt schon vor Jahren ganz selbständige erfunden und construirt, Linsen und Präparate wurden von mir geliefert. Die Gelbfärbung der Objecte war für diese Versuche ausserordentlich erwünscht, da Gelb bekanntlich die chemischen Strahlen des Sonnenlichts absorbiert und bewirkt, dass die so gefärbten Organismen auf dem Negativ vollkommen durchsichtig, auf dem Positiv daher ganz schwarz erscheinen. Dennoch sind die Schwierigkeiten bei der Kleinheit der Organismen, besonders was Sorgfalt der Präparation und Genauigkeit der Einstellung anbetrifft, so erstaunlich grosse, dass die bis jetzt erhaltenen Photographien doch an Uebersichtlichkeit und gleichmässiger Schärfe noch Manches zu wünschen übrig lassen. Den Vergleich mit einer schematischen, scharf umrissenen Handzeichnung halten sie bis jetzt nicht aus, da letztere gewöhnlich alle durch verschiedene Einstellung des Objects nach einander gewonnenen mikroskopischen Ansichten gemeinschaftlich wiedergiebt, während die Photographie aus der Reihe jener Ansichten, welche zusammen zu einem stereoskopischen Bilde verhelfen, immer nur eine bei einer ganz bestimmten Einstellung reproduciren kann.

maassregeln, auf welche aufmerksam gemacht werden muss. Wenn man auf dem Objectglase einen Tropfen der officinellen Jodtinctur (1 : 10) mit einem Tropfen Wasser oder einer wässerigen Lösung mischt, tritt (da 1 Theil Jod nur in einem Minimum von 10 Th. Alkohol gelöst bleibt) augenblicklich Entfärbung der Flüssigkeit ein und Ausscheidung von metallischem Jod, welches theils als Spiegel von graphitähnlichem Glanz die Oberfläche überzieht, theils als fester Beschlag am Boden des Glases haftet. Mikroskopisch zeigt sich das Jod entweder in Form zahlreicher, äusserst kleiner, stahlblauer oder blauvioletter Körnchen, oder in Gestalt sehr charakteristischer schwarzblauer Nadeln, welche in der Mitte des Schaftes eine spindelförmige oder scharf ringförmige Verdickung besitzen (Lanzenspitze). Auch eine Mittelstufe von grobkörniger Ausscheidung kommt vor. — Ob das Jod körnig oder in Form von Nadeln ausgefällt wird, scheint theils von der relativen Menge des vorhandenen Jods, theils von dem jedesmaligen Grade der Verdünnung abhängig, so dass im Allgemeinen bei spärlichem Wasserzusatz die körnige, bei reichlicher Verdünnung die nadelförmige Ausscheidung erfolgt.

Eine zweite häufig gleichzeitige Art körniger Ausscheidung besteht in einer gleichmässigen ockergelben Trübung, gebildet aus einer dichten Menge kleinster gelb glänzender Moleküle, von denen ich nicht habe ermitteln können, ob sie pures Jod oder krystallinische, nur gelb gefärbte Concretionen sind. Sie bilden sich entweder für sich allein, namentlich bei sehr rapider Verdunstung (in welchem Falle sie schliesslich durch Verdunstung wieder verschwinden können) oder neben blauen Jodkörnchen, so dass man bisweilen gelbe und blaue molekulare Körnchen nebeneinander findet, die häufig auch mit Molecularbewegung begabt sind. Die erwähnten Nadeln schiessen gern an festen Körpern, namentlich organischen Substanzen in der Flüssigkeit an, um welche sie alsdann ein dichtes schwarzblaues Gitterwerk bilden¹⁾. Um alle diese Ausscheidungen,

¹⁾ Ich möchte an diese Erscheinung die Hypothese knüpfen, dass die stark reizende Eigenschaft der Jodtinctur bei Anwendung auf die Haut zum Theil auf einer solchen Ausscheidung spitzer Jodnadeln beruhe, welche sich in die Forchen, Schweißsporen und Haarbälge einsenken und mit ihren Spitzen die Papillen des Corium mechanisch reizen. Hierfür spricht das lebhafte Gefühl von Prickeln und Stechen, welches wir bei der Application auf dünne oder exorierte Hautstellen empfinden. Natürlich läugne ich nicht auch eine gleichzeitige chemische Wirkung des gelösten Jods.

die theils stören, theils leicht Irrthümer herbeiführen, zu vermeiden, ist es nothwendig, wie ich in meinem Verfahren angegeben, einmal dass man sehr kleine Bakterientropfen oder möglichst wasserarme Objecte nimmt, und zweitens, dass man sich einer alkoholischen Lösung bedient, welche eine mässige Verdünnung durch Berührung mit Wasser noch verträgt (1 : 25). Unter diesen Cautelen habe ich bei meinen Präparaten körnige Trübungen niemals gesehen.

Dieselbe Zersetzung der Jodlinctur tritt auch ein, wenn man zum Wasser und der Jodlösung noch Schwefelsäure hinzusetzt, wie bei der Cellulose-Reaction.

Diese Thatsachen bestimmen mich, gegen die Angaben Letzterich's, betreffs der „mikrochemischen Reaction seines Diphtheriepilzes“, gewichtige Bedenken zu erheben, sowohl was die Methode der Ausführung, als was die Deutung der Erscheinungen anbetrifft. Den ersten Punkt anlangend finden wir, dass Letzterich, gerade den soeben als nothwendig bezeichneten Vorsichtsmaassregeln zuwider, in seinem Verfahren ausdrücklich vorschreibt, man solle den Schnitt erst „in wenig Wasser bringen, gerade soviel als nöthig ist, denselben mit Wasser zu umgeben“. Wozu hier überhaupt die Anwendung des Wassers dienen soll, wo möglichste Trockenheit gerade so erwünscht ist, ist gar nicht abzusehen; dass sie aber für das Zustandekommen der Reaction als nothwendig erachtet wird, erscheint mir für die Stichhaltigkeit derselben, mit Rücksicht auf die nun folgende Anwendung der Jodtinctur, geradezu bedenklich. Es heisst nehmlich in der Gebrauchsanweisung wörtlich weiter, man solle dem Wasser „mit einem ausgezogenen Glasstäbchen ein kleines Tröpfchen Tinct. Jod. zusetzen und dies langsam solange wiederholen, — bis das von dem Jod sich jedesmal färbende Wasser nicht mehr entfärbt wird“. Der Umstand, dass nach jedesmaligem Zusatz der Tinctur das Wasser sich wieder entfärbte, ist der sprechendste Beweis dafür, dass eine Zersetzung der Tinctur hier stattgefunden; denn gerade die augenblickliche Entfärbung, sahen wir, ist das makroskopische Symptom der *itio in partes*. Auch wurde bereits hervorgehoben, dass eine relativ geringe Menge des Jods und eine langsam vor sich gehende Verdünnung, wie man sich durch den Versuch direct überzeugen kann, im Allgemeinen der feinkörnigen Ausscheidung günstig ist, sodass hier also in

dem Letzerich'schen Verfahren alle Bedingungen gegeben sind, um jene Quelle der Täuschungen, welche wir gerade zu meiden für nothwendig erkannten, in vollendetster Weise zu provociren. Auch die nun folgende Sättigung des Präparats mit Acid. sulfur. pur. hebt diese Schwierigkeit keineswegs auf, sondern steigert sie vielmehr noch, indem nun auch anfänglich etwa vorhanden gewesene Nadeln in zahllose moleculare Körnchen von theils blauer, theils gelber Farbe zerfallen. — Bei der Einwirkung der Schwefelsäure entstehen ferner, in Folge des sehr differenten specifischen Gewichts des Alkohols und der Säure, durch das Mischungsbestreben beider Flüssigkeiten, eigenthümlich rollende Bewegungen auf dem Glase; als solche sind höchstwahrscheinlich auch die „rasch eintretende, höchst unregelmässig wellenförmige Contraction des Präparats“ zu deuten, welche Letzerich in einer für mich unverständlichen Weise für seine Schnitte angiebt.

Alle diese Gründe zusammengenommen zwingen mich anzunehmen, dass hier eine Täuschung vorliegt, dass die als „blau gefärbte Mikrosporen und Micrococcenmassen“ ausgegebene Gebilde nichts anderes sind, als die bei diesem Verfahren nothwendig auftretenden Jodkörnchen, und dies um so mehr, als Letzerich der letzteren mit keiner Sylbe Erwähnung thut.

Den thatsächlichen Nachweis, dass eine solche Täuschung bei diesem Verfahren nicht blos möglich, sondern nothwendig immer urgirt wird, sehe ich damit geführt, dass die Erzeugung ganz der selben blauvioletten Körnchen auch gelingt durch das Zusammenwirken der genannten 3 Reagentien allein, ohne alles Object. Ich habe wiederholt diese Reaction, genau nach Letzerich's Vorschrift, mit reinem destillirten Wasser ausgeführt und jedesmal das ganze Gesichtsfeld mit einem Heer blauvioletter, theils auch braungelber, Körnchen besät gefunden. Dasselbe Resultat erhielt ich auch, wenn ich, wie Letzerich, „zerschnittene Nieren- und Herzfleischstückchen“ — jedoch von Nichtdiphtherischen — als Object verwendete.

Hierzu kommt endlich noch ein nicht unwesentliches botanisches Bedenken. Ich will auf eine Kritik dieser „Züchtungen“, so verführerisch der Gegenstand auch ist, hier nicht näher eingehen; das Eine aber scheint mir ausser aller Analogie in der

Naturgeschichte, dass ein pflanzlicher Körper mit einem wichtigen Gewebsstoffe, den wir als den hervorragenden Bestandtheil gerade älterer Pflanzenteile, der Holzfaser, kennen, bereits im Jugendzustande begabt sei, ihn aber im weiteren Wachsthum wieder verliere¹⁾). Denn was anderes bedeutet es, wenn Letzerich seine „Microsporen und Micrococcen“ die Cellulose-Reaction zeigen lässt, die daraus sich entwickelnden Plasmakugeln und Pilzmycelien dagegen nicht, oder doch nur „unter Umständen“ und „kaum erkennbar“.

Angesichts der prinzipiellen Wichtigkeit des bereigten Gegenstandes kann ich somit nicht umhin, folgende beiden Fragen aufzuwerfen:

1) Hat Letzerich die gerügte Fehlerquelle bei seiner Cellulose-Reaction gekannt, und wenn er sie gekannt, warum hat er sie bei der Angabe seines Verfahrens nicht erwähnt, ev. die Mittel zu ihrer Vermeidung angegeben?

und 2) wenn sie ihm bekannt war, welcher Methoden hat er sich bedient, um die bei seinem Verfahren nothwendig auftretenden Jodkörnchen von seinen blau gefärbten Microsporen und Micrococcen zu unterscheiden? —

Es gibt noch eine Möglichkeit, die metallische Jodausscheidung aus der alkoholischen Lösung bei Berührung mit Wasser zu verhindern, nehmlich die Verbindung der Jodtinctur mit der Lösung eines Jodsalzes (Lugol'sche Lösung). Dieselbe gewährt jedoch keinerlei Vortheile für die Erkennbarmachung von Bakterien, da das überschüssige gelöste Jod aus dieser Lösung nicht verdunstet. Auch für Letzerich's Reaction eignet sie sich nicht, da bei der Berührung mit der Säure unter Bildung von löslichem schwefelsaurem Kali das Jod ebenfalls in körniger Form frei wird. Noch vielfache andere färbende Substanzen habe ich in Anwendung gezogen, sie jedoch im Allgemeinen wenig brauchbar gefunden. Cochenille, welche E. Vogl²⁾ in Prag als zur Pigmentirung geeignet erwähnt,

¹⁾ Die Annahme, dass dieser Unterschied durch eine verschiedene Imprägnation der Zellenmembran mit Proteinstoffen bedingt sei, scheint mir doch sehr wenig wahrscheinlich, da kein Beispiel aus der botanischen Entwicklungsgeschichte eine solche Annahme rechtfertigt.

²⁾ Ueber die pathogenetische Bedeutung der kleinsten Organismen bei Infektionskrankheiten, Arch. f. Dermatol. II. S. 393. — Centralbl. 1870. 701.

färbt Serum und Bakterien in gleicher Weise, ohne letztere schärfer hervortreten zu lassen. Das Gleiche gilt von den Eisensalzen (Eisensesquichlorid), auf welche ich die besondere Hoffnung setzte, sie würden mit dem Protoplasma der Organismen eine dauernde chemische Verbindung eingehen. Allein vergeblich; denn als ich das Serum durch Zusatz von Phosphorsäure zu entfärbten suchte, entfärbten sich die Bakterien mit. Ebensowenig gelingt auch eine Versilberung der Bakterien (zur Unterscheidung von Fettkörnchen), meist aus dem Grunde, weil das Silbersalz im Menstruum sich sehr schnell zersetzt und entweder Coagulation oder körnige, zu Täuschungen führende, Niederschläge hervorruft.

Blicken wir vorerst zurück auf die Ausbeute unserer Betrachtungen, so finden wir, dass gerade diejenigen diagnostischen Mittel optischer wie chemischer Natur, auf welche man sich bisher bei bakteritischen Forschungen vorzugsweise oder gar ausschliesslich stützte, die am wenigsten brauchbaren und die unzuverlässigsten sind; dennoch aber haben wir Methoden kennen gelernt, welche bei zweckmässiger Anwendung und bei ausreichender botanischer Kenntniß der Lebens- und Wachsthumsercheinungen dieser Organismen eine ziemlich grosse, wenn nicht volkommene Sicherheit gewähren, Bakterien als solche zu erkennen und von morphologisch ähnlichen Körpern zu unterscheiden. Es sind, um sie kurz zu recapituliren,

A) Optische Kennzeichen:

1) Charakteristische Vegetationsformen, wie Stäbchen und längere Leptothrixfäden. (Finden bei der relativen Seltenheit dieser Formen nur beschränkte Anwendung.)

2) Charakteristische Bewegungserscheinungen von Monaden und Stäbchen in strengflüssigen Medien. (Aeusserst selten im Organismus.)

3) Die Art ihres Wachsthums und ihrer Vermehrung, unter Anwendung des Gesetzes: dass freie Monaden und Stäbchen immer nur unter Bewegungserscheinungen sich wieder zu freien Individuen gleicher Art (Schwärzmern) entwickeln können, dass ferner eine Vegetation bewegungsloser, ruhender Bakterien immer eine continuirliche ist und nothwendig zur Leptothrix- oder Thal-lusbildung führen muss.

4) Die Art des Zusammenhanges körniger Haufen,

ob fest, continuirlich, hautartig (Thallus, Zooglöa) oder locker, beweglich, breiartig (Detritus, Emulsion).

5) Die directe Beobachtung von Wachsthum oder Vermehrung unter dem eingekitteten Deckglase des Mikroskops.

B) Chemische Kennzeichen:

1) Zooglöa-ähnliche Körnchenanhäufungen mit albuminöser Zwischensubstanz, als Producte der Zellennekrose oder Nekrobiose (diphtherischer Detritus, Fettkörnchenemulsion) werden a) durch Kalilauge erweicht, zerfliessend, b) durch unmittelbare Alkoholeinwirkung coagulirt; wirkliche Thallus- (Zooglöa-) Formationen nicht.

2) In Schnitten festerer Gewebtheile, welche 1 Stunde in 10procentiger Kalilauge macerirt worden sind, werden Monaden durch die Jodirung (siehe oben) braungelb, Fettkörnchen gar nicht gefärbt.

Hierzu kommt nun noch, als III. Gruppe diagnostischer Mittel:

C) ein physiologisches Reagens, dessen Princip darauf beruht, die Vitalität fraglicher Körnchen zu prüfen durch Züchtung.

Die Methode ist diejenige der gewöhnlichen Züchtung von Bakterien in einer chemischen Nährflüssigkeit, mit der Cautele jedoch, dass Flüssigkeit und Gefäss an sich von Keimen frei erhalten und zu dem Object der Zutritt von Keimen aus der Luft möglichst verhütet werde. Man braucht diese Sorgfalt indess nicht zu übertreiben, da die Gefahr einer Infection von der Luft her keineswegs eine so grosse ist, wie man vulgär annimmt. Sanderson hat durch Versuche gezeigt, dass faulnissfähige Substanzen (Speichel, Harn, Blut, Eiter, Milch, Hühnereiweiss), in reinen Gefässen offen der Luft exponirt, in der Regel vor Fäulniss bewahrt bleiben und eine Bakterienentwickelung nicht erfolgt; während die Oberfläche der Substanzen reichliche Schimmelvegetation bedeckt. Hiernach soll die Infection mit Bakterienkeimen vorzugsweise durch Hände, Instrumente und Gefässe erfolgen; die chirurgische und geburtshülfliche Erfahrung bestätigt dies. Jene Versuche sind auch von Cohn¹⁾ und Anderen, so auch von mir im Jahre 1872, mit dem-

¹⁾ Ueber Bakterien und deren Beziehung zur Fäulniss und zu Contagien. Schles. Ges. f. vaterl. Cult., den 12. Febr. 1872.

selben Resultate wiederholt worden: Vom Harn war die gleiche Erscheinung schon seit Längerem bekannt. Diese Thatsachen scheinen mir auch für die Theorie der Fäulniss von grosser Wichtigkeit⁴⁾.

Für chemische Salzlösungen kann man sich von der Richtigkeit dieser Thatsache jeden Tag überzeugen, und das ist für den vorliegenden Versuch von Bedeutung. Man braucht daher nicht bei völligem Luftabschluss zu präpariren — ein Plus von wenigen Keimen wäre überdies, wo es sich doch meistens um Tausende oder Milliarden fraglicher Körnchen handelt, offenbar keine sehr grosse Fehlerquelle —, sondern es wird im Wesentlichen wohl darauf ankommen, die Gefässe und Instrumente rein zu halten. Indess die Arbeit in guter Zimmerluft, womöglich unter einem schützenden Baldachin oder unter dem Nebel eines Carbol-sprai, würden vielleicht auch dem Skeptiker die Scrupel heben.

Die Desinfirierung der Instrumente geschieht am besten durch Einlegen in absoluten Alkohol und später in frisches destillirtes Wasser. Als Zuchtwasser bediene ich mich gewöhnlich der von Cohn modifizirten Pasteur'schen Lösung, welche auf 100 Theilen destill. Wassers, Ammon. tartar. 0,5, Kali phosphor. 0,1 und Spuren von Schwefelsäure, Kalk und Magnesia enthält. Man kann diese Flüssigkeit ganz beliebig variiren; nach Cohn (a. a. O.) entwickeln und vermehren die Bakterien sich vollkommen normal in jeder Flüssigkeit, welche ausser Salpetersäure und Ammoniak noch einen stickstofffreien, kohlenstoffreichen Körper enthält. In jedem Falle ist es jedoch, um über den Erfolg der Züchtung nicht getäuscht zu werden, nothwendig, sich zuvor oder gleichzeitig von der Wirksamkeit der Lösung durch Zusatz eines Bakterientropfens zu überzeugen. Ein drittes Gefäß endlich wird mit einer Lösung ohne Zusatz der Luft exponirt, um die Reinheit des Zuchtwassers zu controliren. Solche 3 Reagensglässchen, nehmlich a) mit dem Object, b) mit wirklichen Bakterien, c) mit reiner Lösung, mit einem Wattebausch verstopft, stellt man dann in einem Stativ auf bei möglichst gleichmässiger Temperatur (Sommertemperatur, im Winter Ofenwärme). Gleichmässig von oben nach unten fortschreitende lichtgraue Trübung im Glase a, sowie der mikroskopische Befund

⁴⁾ Vergl. hierüber meine inzwischen erschienene Experimentalarbeit: „Der Anteil der Bakterien am Fäulnissprozess, insbesondere der Harnfäulniss,“ Centralbl. 1874, 53 u. 54.

nach 1 — 3 Tagen werden mit aller Sicherheit die Frage, ob die in einem Organ gefundenen Körnchen belebte, mithin Bakterien waren, oder nicht, entscheiden¹⁾.

Handelt es sich nur um die Diagnose einzelner zweifelhafter Körnchen oder sind vielleicht einer grossen Masse todter körniger Gebilde nur einzelne belebte Keime beigemengt — ein Fall, dessen Möglichkeit durchaus zugegeben werden muss —, so hat die exakte Entscheidung jener Frage, bei der Möglichkeit einer nachträglichen Inficirung des Objects mit Monaden, offenbar Schwierigkeiten. Indess meines Erachtens ist hier diese Frage überhaupt von keiner grossen Bedeutung, da man vereinzelte Bakterienelemente schwerlich für den pathologischen Zustand eines Organs, für embolische Heerde, miliare Abscesse, diphtherische Schorfe und dergleichen verantwortlich machen wird.

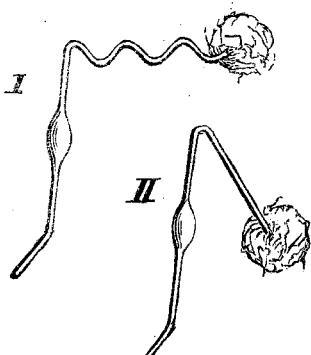
Wichtigkeit hat die sorgfältige Ermittelung eines solchen ver-einzelten Vorkommens²⁾ von Monaden nur für das circulirende Blut. Hier bedarf es allerdings der minutiosesten Sorgfalt, zumal mit Rücksicht auf die hohe Fäulnissfähigkeit des Blutes. Jenes Problem ist auch bereits für eine kleine Anzahl von Fällen von Klebs und Clementi-Thin³⁾ in ziemlich exakter Weise gelöst worden, und zwar beide Male zu Ungunsten der parasitären Auffassung. Ihre Methoden darf ich als bekannt voraussetzen. Diejenige der Letzteren ist ziemlich umständlich, ich habe daher bei meinen Versuchen nach Vereinfachung gestrebt.

Ich bediene mich einfacher Lymphröhren von Glas, wie sie jeder Arzt besitzt; das untere Ende wird über der Spirituslampe leicht stumpfwinklig umgebogen, das obere erhält entweder unter rechtwinkliger Biegung eine wellenförmige Krümmung (Fig. I) oder wird einfach unter spitzem Winkel nach unten geneigt (Fig. II).

¹⁾ Solche diagnostischen Züchtungsversuche sind, wie ich an einer anderen Stelle („Kritische Bemerkungen etc.“ Dieses Archiv) hervorgehoben habe, bereits von M. Wolff in erfolgreicher Weise betrieben worden.

²⁾ Die Annahme eines Vorkommens grösserer Mengen von Bakterien im Blut wird nach den neuerdings ermittelten Thatsachen wohl von Niemandem mehr ernstlich aufrecht erhalten werden.

³⁾ Centralbl. f. d. med. Wiss. 1873. 45. — Arch. f. exp. Pathol. I. 1. — Ähnlich verfahren auch Billing und Curtis, sowie Lüders und Hensen (Arch. f. mikr. Anat. Bd. III. S. 318).



Die Mündung des oberen Sticks wird mit Watte umhüllt, während das untere offen bleibt. Das Princip ist dasjenige der bekannten Fäulnissversuche von Chevreul (alias Pasteur): es soll durch jene Krümmungen und Abwärtsbiegungen das Hineinfallen von Keimen aus der Luft mechanisch verhindert werden, welchem Zweck auch der Wattebausch dient, während die Luft, speciell der Sauerstoff,

welcher für die Entwicklung von Monaden, (wie neuerdings auch Paschutin bestätigt hat) nothwendig ist, freien Zutritt hat. Die Röhrchen werden vor dem Gebrauch in Alkohol, darnach in destillirtes Wasser gelegt. Zur Füllung mit der Blutprobe wird die Mündung des unteren stumpfwinkligen Endes in die eröffnete Vene des Thieres oder des Menschen schräg hineingeschoben und nun schnell hintereinander mehrere solche Röhrchen bis zum oberen Winkel gefüllt, darauf das untere Ende entweder zugeschmolzen oder verkittet. Die Aufbewahrung geschieht in senkrechter Haltung, am einfachsten durch Ueberhängen über den Rand eines Reagensgläschens. Von Tag zu Tag wird alsdann der Inhalt je eines Züchtungsröhrchens mikroskopisch untersucht.

Die Methode ist sehr leicht ausführbar, dabei weder der Blutverlust, noch auch der operative Eingriff ein bedeutender. Da ferner Blut an sich bei freiem Zutritt von Luft ein gedeihliches Nahrungsmaterial für Bakterien bildet, wie die Fäulniss extravasirten Blutes beweist, so bedarf es gar keinen weiteren Zusatzes von chemischen Nährstoffen; eine Entwicklung von Bakterien in der Blutprobe wird immer erfolgen, wenn lebensfähige Keime darin vorhanden waren¹⁾). Ausgiebige Blutuntersuchungen bei Infektionskrankheiten habe ich mit dieser Methode wegen unzureichenden Beobachtungsmaterials bisher noch nicht ausführen können.

Eine zweite Methode der Blutuntersuchung, die ich ein Mal an der frischen Thierleiche ausgeführt habe, die sich aber, schon weil

¹⁾ Auch für das Studium des so complicirten Fäulnissprozesses des Blutes scheint mir diese Methode der Aufbewahrung unter Luftpzutritt, ohne Bakterien, eine geeignete.

sie nur an Leichen ausführbar, wohl weniger empfehlen dürfte, besteht in der Excision eines 2—5 Cm. langen Gefässabschnittes in continuo, nachdem an beiden Enden zuvor unterbunden worden. Das Stück wird durch Ueberziehen mit einer Lösung von Gummi arabicum, Leim oder besser mit Wasserglas vor exosmotischer Wasserabgabe und Schrumpfung geschützt. Nach einigen Tagen schlitzt man das Rohr auf und untersucht die seröse Schicht mikroskopisch auf Organismen. Die vollständige Sauerstoffsperrre von der Luft her ist nicht sehr hinderlich, da Bakterien auf Kosten des im Blute vorhandenen freien Sauerstoffs immerhin eine Zeit lang vegetiren können. Doch bietet die völlige Verhütung von Verdunstung am Gefässrohr Schwierigkeiten, während jedoch andererseits die Garantie der Reinheit der Züchtung bei diesem Verfahren offenbar die grösste ist. —

Um den Erfolg einer Züchtung von Bakterien in Nährflüssigkeiten auch makroskopisch sichtbar zu machen, kann man sich der Erzeugung künstlicher Pigmentfäule bedienen, wie sie Cohn¹⁾ gelungen ist. Cohn giebt für diese künstliche Pigmentbildung eine Nährflüssigkeit folgender Mischung an: Aqu. destillat., Ammoniae acetic., Kali tartaric., nebst Spuren von Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kali, Kalk und Magnesia. Solche Lösungen färbten sich unter Bakterienentwicklung nach einigen Tagen grünlich, dann blau-grün, zuletzt schön blau wie Kupfervitriollösung, wobei zugleich die bis dahin saure Reaction alkalisch wurde. Der blaue Farbstoff wird, gleich dem Lakmus, durch Säuren roth, durch Ammoniak wieder blau. — Ich habe diese Art Züchtung mehrfach versucht, doch ist mir die Pigmentbildung niemals gelungen. Vielleicht sind Andere im Erfolg glücklicher.

Man sieht, wir sind nicht gerade arm an Erkennungsmitteln für Bakterien. Durch die eine oder die andere der genannten Methoden wird man bei einiger Uebung gewiss immer zum Ziele kommen. Auch wird sich die Zahl diagnostischer Mittel ohne Zweifel noch vermehren, sobald nur die Nothwendigkeit eines subtilen diagnostischen Verfahrens auch auf gegnerischer Seite Anerkennung findet.

¹⁾ Beiträge zur Biologie der Pflanzen; Breslau 1872, 2. Heft: „Untersuchungen über Bakterien,“ S. 208.