

**A r c h i v**  
für  
**pathologische Anatomie und Physiologie**  
und für  
**klinische Medicin.**

---

Bd. CVI. (Zehnte Folge Bd. VI.) Hft. 2.

---

**IX.**

**Ueber Syphilis- und Smegmabacillen nebst Bemerkungen über die färberischen Eigenthümlichkeiten der Smegma- und Tuberkelbacillen.**

Von Dr. med. Heinrich Bitter in Osnabrück.

(Aus dem Laboratorium der Syphilidoklinik zu Würzburg.)

(Hierzu Taf. III.)

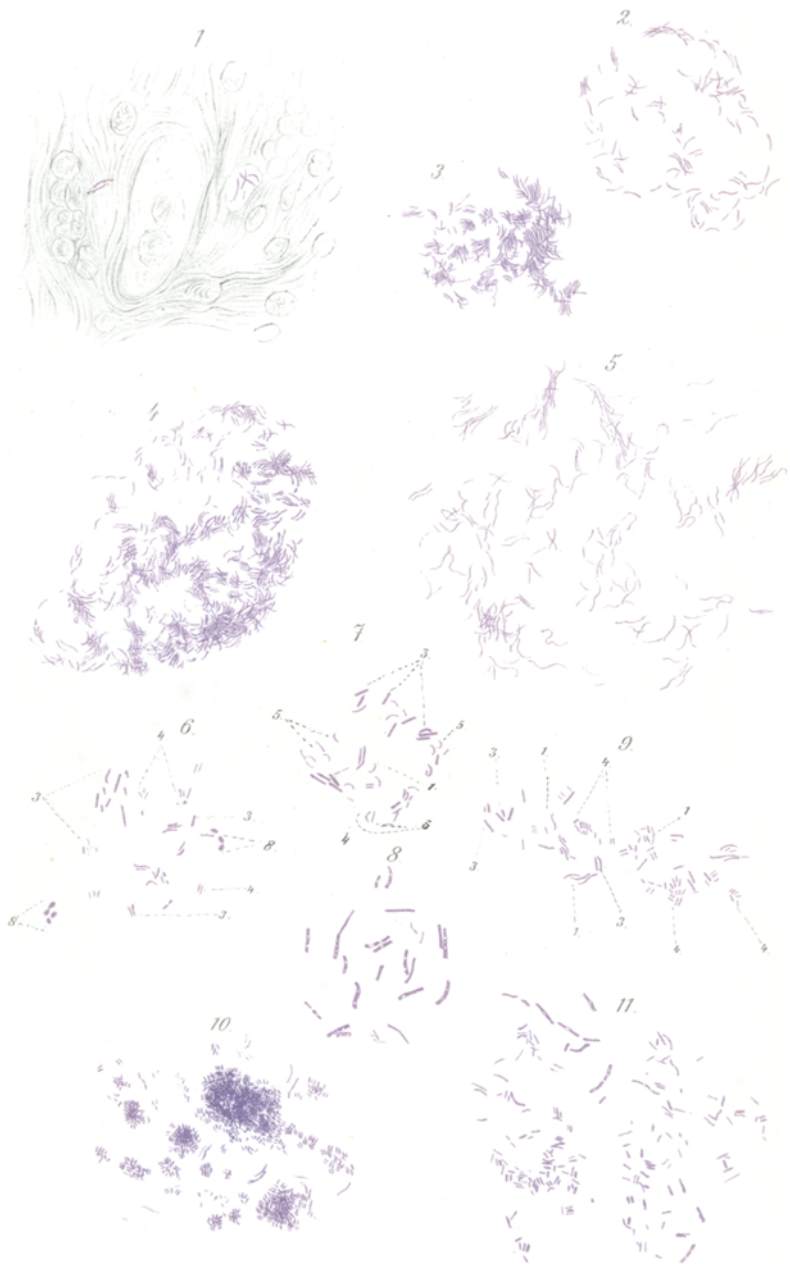
---

Nachdem Lustgarten<sup>1)</sup> seine Befunde über Bacillen in syphilitischen Krankheitsproducten veröffentlicht hat, sind von einer Anzahl von Autoren die Lustgarten'schen Befunde nachcontrolirt, und theils mit denen des genannten Autors übereinstimmende, theils im Widerspruch stehende Resultate erhalten worden.

Die Literatur über den Lustgarten'schen Syphilisbacillus ist dadurch schon ziemlich angewachsen; und es möchte bei den differenten Untersuchungsergebnissen auch dem Zwecke dieser Arbeit nicht so fern liegen, in kurzen Zügen nach den vorliegenden Publicationen einen Ueberblick zu geben über den Stand der Frage nach der ätiologischen und diagnostischen Bedeutung des Lustgarten'schen Bacillus für die Lehre von der Syphilis.

Lustgarten selbst berichtet über die Ergebnisse seiner

<sup>1)</sup> Vorläufige Mittheilung. Wiener med. Wochenschr. 1884. S. 816. — Die Syphilisbacillen. Separatabdruck aus den medicinischen Jahrbüchern der k. k. Gesellschaft der Aerzte. Wien 1885.



Untersuchungen, die 1884 im Weigert'schen Laboratorium zu Leipzig begonnen, später in Wien an der Klinik von Kaposi fortgesetzt wurden, kurz Folgendes.

Durch eine besondere Methode sei es ihm gelungen, in syphilitischen Krankheitsproducten und in den Secreten derselben, specifische, bisher nicht beschriebene durch Form, Färbungsverhalten und Lagerungsverhältnisse ausgezeichnete Bacillen aufzufinden, die er für das Contagium der Syphilis hält.

Seine Methode besteht in Folgendem:

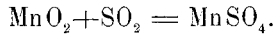
Von den in Alcohol absolutus gehärteten und dann in Celloidin eingebetteten Stücken syphilitischer Krankheitsproducte werden mit dem Mikrotom etwa 0,02—0,03 mm dicke Schnitte angefertigt; das Celloidin wird durch Aetheralkohol entfernt, und die Schnitte dann in absolutem Alkohol aufbewahrt.

Um die Schnitte zu färben bringt sie Lustgarten in die Ehrlich-Weigert'sche Anilinwassergentianaviolettlösung (11 Theile concentrirte alkoholische Lösung von Gentianaviolett auf 100 Theile Anilinwasser), in der sie 12—24 Stunden bei Zimmertemperatur und im Anschluss daran 2 Stunden im Wärmekasten bei etwa 40° C. verbleiben.

Betreffs Entfärbung werden die Schnitte, nachdem sie aus der Farblösung genommen, zuerst einige Minuten in absolutem Alkohol gelassen, dann mit einer rechtwinklig gebogenen Glas- oder Platinnadel in eine 1½ procentige Lösung von übermangansaurem Kalium in Wasser übertragen und hierin etwa 10 Secunden belassen. Dann kommt der Schnitt in eine Lösung von reiner schwefliger Säure (bereitet durch Behandeln von metallischem Kupfer mit Schwefelsäure). Hierin löst sich das Präcipitat von Mangansuperoxyd, das sich in der Lösung von Kaliumpermanganat auf dem Schnitte niedergeschlagen hat, fast momentan auf, und der Schnitt erscheint schon jetzt an einigen Stellen farblos. Er wird jetzt in destillirtem Wasser abgespült und kommt dann wieder in die Kaliumpermanganatlösung, in der er jetzt jedoch nur 3—4 Secunden verweilt; darauf wieder in schweflige Säure und so fort, bis er farblos ist, was bei nicht zu dicken Schnitten nach 3—4maligem Turnus der Fall zu sein pflegt. Er wird dann in Alkohol entwässert, mit Nelkenöl aufgehellt und in Xylolcanadabalsam eingelegt.

Mit Ausnahme der verhornten Epidermis erscheinen so behandelte Schnitte auch mikroskopisch meist ganz farblos, d. h. wie ungefärbte Schnitte.

Der Entfärbungsvorgang ist so zu denken, dass das übermangansaure Kalium den Farbstoff oxydirt, und dabei selbst zu Mangansuperoxyd reducirt wird, welches letztere späterhin in der schwefligen Säure unter Bildung von Mangansulfat aufgelöst wird:



Von Secreten hergestellte Deckglaspräparate werden in der gleichen Weise wie Schnitte gefärbt, mit Wasser abgespült (nicht mit Alkohol, weil dieser zu viel Farbstoff auszieht) und dann ebenfalls der abwechselnden Einwirkung des übermangansauen Kaliums und der schwefligen Säure ausgesetzt, nur entsprechend der dünneren Schicht während einer kürzeren Zeit.

In nach dieser Methode hergestellten Präparaten gelang es nun Lustgarten, gefärbte Bacillen nachzuweisen, während sich das Gewebe (mit Ausnahme der verhornten Epidermis) farblos präsentirte. Die Bacillen waren relativ selten, Lustgarten fand sie in Schnitten nur in Zellen liegend und zwar einzeln oder zu mehreren. Was ihre Form anlangt, so hatten sie grosse Aehnlichkeit mit den Bacillen der Tuberculose. Sie stellen gerade, mehr oder minder gebogene, mitunter auch mehr oder minder schwach S-förmig gekrümmte oder geknickte Stäbchen dar. Ihre Länge bewegt sich meistens zwischen  $3\frac{1}{2}$ — $4\frac{1}{2}$   $\mu$ , doch kommen auch kürzere oder längere von 3—7  $\mu$  vor. Sie sind meist intensiv dunkelblau gefärbt, doch finden sich daneben auch blassere, die Lustgarten für im Absterben begriffene hält. Der Contour der Bacillen erscheint bei genauerer Betrachtung oft eigenthümlich wellig und mit leichten Einkerbungen versehen. Das Ende ist oft knopfförmig angeschwollen. Auch Sporenbildung will Lustgarten in den Bacillen beobachtet haben.

In Secretpräparaten sollen die gleichen Bacillen vorkommen, doch blasser gefärbt und nur selten in Zellen eingeschlossen.

Die Bacillen wurden gefunden in Schnitten von 2 Sclerosen, 1 Lymphdrüse, 1 nässenden Papel, 1 gross- und 1 kleinpapulösem Syphilid, 4 gummösen Infiltraten und zwar der Haut des Oberarms, des Periostes der Schädelknochen, der Dura mater, der Leber.

Negativ blieb die Untersuchung von Schnitten zweier *Ulcera molli* und der verschiedensten normalen und pathologischen Gewebe und Secrete.

Lepra- und Tuberkelbacillen sind nach der genannten Methode ebenfalls färbbar.

Gegenfärbungen sollen bei syphilitischen Producten nicht gelingen.

Doch sagt Lustgarten in der 2. Auflage seiner Schrift, dass Mannaberg und Fürth damit gute Resultate in Secretpräparaten erzielt hätten.

Nach dem Erscheinen der ersten vorläufigen Mittheilung von Lustgarten veröffentlichte Doutrelepont<sup>1)</sup> seine in Gemeinschaft mit seinem Assistenten Schütz in Schnitten syphilitischer Krankheitsproducte erhaltenen positiven Bacillenbefunde. Die Methode, nach der die Bacillen gefunden waren, wurde damals nicht angegeben, vielmehr wurde dieselbe kurz nach dem Erscheinen der Lustgarten'schen Arbeit zugleich mit den erhaltenen Resultaten veröffentlicht<sup>2)</sup>.

Doutrelepont und Schütz färben die dünnen Schnitte während 24—48 Stunden in einer einfachen 1procentigen wässrigen Lösung von Gentianaviolett. Entfärbt werden die Schnitte dann zuerst in dünner Salpetersäure (1:15 Wasser), dann etwa 5—10 Minuten in 60procentigem Alkohol. „Blassveilchenblau geworden, wurden die Schnitte behufs Gegenfärbung in eine schwache, frisch bereitete wässrige Saffraninlösung gebracht, dann einige Secunden in 60procentigem Alkohol abgespült, in absolutem Alkohol rasch entwässert, in Cedernöl aufgehellert und in Canadabalsam untersucht.“

Doutrelepont und Schütz fanden in auf diese Weise behandelten Präparaten (Schnitten von 2 Sclerosen, 2 breiten Condylomen, 1 Papel des Kinnes, 1 Gumma) Bacillen, die sie in Form und Lagerungsverhältnissen nach Einsicht der inzwischen erschienenen Lustgarten'schen Arbeit mit Tafeln, für mit dem

<sup>1)</sup> Sitzungsberichte der niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde. 1884. S. 263 und: Berliner klinische Wochenschr. 1885. No. 10. S. 160.

<sup>2)</sup> Deutsche medicinische Wochenschrift. 1885. No. 19.

Lustgarten'schen Bacillus identisch erklären mussten, was auch Lustgarten selbst zugiebt<sup>1)</sup>.

Nachdem von der Bonner Klinik aus so die Lustgarten'schen Befunde im Wesentlichen bestätigt waren, war es zunächst die Würzburger Syphilidoklinik, in der durch umfangreiche Nachuntersuchungen nach der Lustgarten'schen Methode ähnliche Befunde in syphilitischen Producten constatirt werden konnten, wie sie Lustgarten angiebt. Zugleich konnte bestätigt werden, dass in nicht von Syphilis stammenden Präparaten der verschiedensten Provenienz nach der Lustgarten'schen Methode keine Bacillen nachweisbar seien. Ueber diese Befunde, verbunden mit Demonstration der Bacillen in verschiedenen Präparaten, wurde am 16. Mai 1885 der physikalisch-medizinischen Gesellschaft zu Würzburg kurz Folgendes referirt<sup>2)</sup>:

Ende October 1884 waren von Herrn Dr. Matterstock, Leiter der Syphilidoklinik in Würzburg in Gemeinschaft mit dem Verfasser dieser umfangreiche Untersuchungen auf Mikroorganismen in syphilitischen Krankheitsproducten begonnen worden. Es wurden hierbei nach langem Hinundherprobiren mit den verschiedensten Farbstoffen in Gewebsschnitten syphilitischer Producte, die mit schwach sauer gemachten Anilinfarben (meist Gentianaviolett) oder mit Carbolfuchsin längere Zeit in der Wärme gefärbt, und dann mit Alkohol von dem überschüssigen Farbstoff befreit waren, schlanke Bacillen aufgefunden, die jetzt nach Form und Lagerungsverhältnissen mit den Lustgarten'schen Bacillen für identisch erklärt werden müssen. Indessen waren die Bacillen so spärlich, dass man dieselben nicht als Erreger der Syphilis ansprechen zu dürfen glaubte. Sie fanden sich in einer Sclerose und mehreren breiten Papeln.

Nach dem Erscheinen der Lustgarten'schen Arbeit wurden die Untersuchungen nach der dort angegebenen Methode fortgesetzt.

In etwa 100 genau untersuchten Schnitten von breiten Condylomen des Schenkels und der Genitalien, Sclerosen und excidirten Hautgummen, und mehr als 150 Secretuntersuchungen

<sup>1)</sup> Die Syphilisbacillen. 2. Aufl. S. 23 Anm.

<sup>2)</sup> Sitzungsberichte der physikalisch-medizinischen Gesellschaft zu Würzburg. IX. Sitzung vom 16. Mai 1885.

von syphilitischen Krankheitsproducten und über 50 Untersuchungen von Secreten nichtsyphilitischer Natur war der Befund ein derartiger, dass der Vortragende die Lustgarten'schen Untersuchungen im Wesentlichen bestätigen konnte.

In Schnitten fanden sich die Bacillen selten. Etwa in jedem 3. oder 4. Schnitt vereinzelte oder selten zu zweien liegend. Doch waren nicht alle Bacillen in Zellen eingeschlossen.

Von Secreten von syphilitischen Producten waren folgende untersucht:

- 1) Von 2 ulcerirten Sclerosen. Die meisten Präparate positiv.
- 2) Von 8 Fällen nässender breiter Condylome, etwa 70 Präparate, alle positiv.
- 3) 5 Fälle von Wangen- und Rachenpapeln; davon 2 positiv.
- 4) 1 Fall von Papeln des äusseren Gehörganges. Ungemein reichliche Bacillen.
- 5) Von 2 Fällen von Zehenpapeln. Spärliche Bacillen.
- 6) Von einer schon geplatzten Pustel am Kinn mit eitrigem Inhalt. Reichliche Bacillen.
- 7) Vom Inhalt geschlossener Pusteln. Spärliche Bacillen.

Es wurde die Beobachtung gemacht, dass in Secreten die Bacillen oft ungemein viel reichlicher seien, als es nach den Lustgarten'schen Angaben scheine.

Es wurde ferner betont, dass die Bacillen in den Secreten oft ziemlich bedeutende Formendifferenzen erkennen lassen.

Hinsichtlich der Färbetechnik waren damals folgende Punkte gefunden:

1) In Secretpräparaten gelingt die Färbung in der Wärme während einiger Minuten, wie sie Rindfleisch für Tuberkelbacillen angegeben hat, vollständig. Die auf diese Weise hergestellten Präparate stehen den ganz nach Lustgarten gefärbten in nichts nach.

2) In Carbofuchsin in der Wärme gefärbte Präparate geben nach Anwendung des Lustgarten'schen Entfärbungsverfahrens vorzügliche Bilder.

3) Musste betont werden, dass trotz der gegentheiligen Angabe von Lustgarten Gegenfärbungen in Secretpräparaten gut gelingen, und zwar bei blaugefärbten Präparaten mit Vesuvin, bei rothgefärbten mit Malachitgrün.

Es wurden der Gesellschaft derartige Präparate demonstrirt.

Am 6. Juni war Herr Dr. Matterstock im Stande, der Gesellschaft über einen Befund zu berichten<sup>1)</sup>, der geeignet war, die diagnostische Bedeutung der Lustgarten'schen Bacillen sehr in Frage zu stellen. Es war uns nehmlich inzwischen gelungen, in 7 Fällen von Genitalsmegma nichtsyphilitischer Personen Bacillen aufzufinden, die in ihren tinctoriellen und zum Theil morphologischen Eigenschaften vollständig den Lustgarten'schen Bacillen glichen. Es wurden Präparate von zwei Fällen, in denen die Bacillen sehr reichlich waren, demonstrirt.

Kurze Zeit darauf kam eine Mittheilung von Giocami<sup>2)</sup>, worin derselbe eine neue Färbungsmethode für die Lustgarten'schen Bacillen angab, jedoch nur für Deckglaspräparate. Dieselben werden in Fuchsinlösung einige Minuten erwärmt, dann in Wasser, dem einige Tropfen Eisenchlorid hinzugefügt sind, abgespült und darauf in concentrirter Eisenchloridlösung entfärbt. Die Bacillen bleiben roth, alle anderen Bakterien werden farblos. Das Präparat kann gegengefärbt werden.

Gottstein<sup>3)</sup> hat die Methode auch für Schnitte verwendbar gefunden. Er fand mittelst derselben in einer Sclerose und 2 Gummen ziemlich zahlreiche Bacillen.

Eine bald darauf erschienene grössere Arbeit von Alvarez und Tavel<sup>4)</sup> enthält auf Cornil's Veranlassung angestellte umfangreiche Nachuntersuchungen der Lustgarten'schen Befunde.

In Gewebsschnitten (es wurden untersucht 5 Sclerosen, 2 breite Condylome und 1 Gumma der Lunge) fanden Alvarez und Tavel bei genauester Beobachtung des Lustgarten'schen Verfahrens niemals Bacillen.

Secretuntersuchungen hatten unter 55 Fällen bei syphilitischen Producten 33mal positiven, 22mal negativen Erfolg. Dagegen fanden sie ebenfalls nach Anwendung des Lustgarten'schen Verfahrens gefärbt bleibende Bacillen in drei Fällen von

<sup>1)</sup> Sitzungsberichte der physikalisch-medizinischen Gesellschaft. X. Sitzung vom 6. Juni.

<sup>2)</sup> Correspondenzblatt der Schweizer Aerzte. 1885. No. 12.

<sup>3)</sup> Fortschritte der Medicin. 1885. No. 14.

<sup>4)</sup> Recherches sur le bacille de Lustgarten. Arch. de physiologie normal et path. 1885. No. 7.



weichen Geschwüren, zwei Fällen von Herpes praeputialis und einem Falle von Pemphigus.

Ferner fanden diese Autoren unter 14 Fällen von Smegma an den Genitalien und am Anus von Nichtsyphilitischen 10mal Bacillen, die in Form und Farbenreaction mit den Lustgarten'schen übereinstimmten. Es war dies also eine Bestätigung der von uns schon früher erhobenen und veröffentlichten Befunde.

Culturversuche gaben kein brauchbares Resultat.

Einiges Neue fanden Alvarez und Tavel für die Färbetechnik. Der schwefligen Säure substituirtten sie eine 2procentige Oxalsäurelösung, bei deren Anwendung sie allerdings nicht ganz so gute Bilder erhielten, als bei Verwendung der schwefligen Säure. Es gelangen ihnen ferner Gegenfärbungen mit Safranin, Pikrocarmin und Eosin.

Da sie mit der Lustgarten'schen Methode nicht immer zufriedenstellende Resultate erhielten, so versuchten sie andere Methoden. Die Doutrelepont-Schütz'sche Methode ergab stets negative Resultate. Mit der Giocami'schen Methode erhielten sie nur brauchbare Bilder, wenn sie das Eisenchlorid mit Salzsäure stark ansäuerten, und glauben sie deshalb, dass es eigentlich die Salzsäure ist, welche bei dieser Methode entfärbt.

Sie versuchten dann, trotz der von Lustgarten erhaltenen negativen Resultate die Säuren als Entfärbungsmittel und fanden, dass, wenn die Präparate mit Anilinwasserfuchsin gefärbt waren, die Bacillen bei Anwendung des Ehrlich'schen Entfärbungsverfahrens gefärbt blieben. Die gefärbten Deckgläser bleiben in der Salpetersäure etwa 15—20 Secunden. Wenn Alvarez und Tavel nach dieser Methode arbeiteten, haben sie stets die Bacillen gefärbt behalten, wo nach der Lustgarten'schen Methode solche gefärbt blieben; und wo sie bei Anwendung des Lustgarten'schen Verfahrens negative Resultate hatten, fanden sie auch nach ihrer Methode keine Bacillen gefärbt. Salzsäure und Schwefelsäure zur Entfärbung verwandt geben ähnliche Resultate.

Gegenfärbungen gelingen sehr gut.

Von den Tuberkelbacillen sollen sich die beschriebenen Bacillen durch folgende Punkte unterscheiden:

1) Eissig entfärbt, wenn er 2 Minuten einwirkt, alle Smegmabacillen, während Tuberkelbacillen gut gefärbt bleiben.

2) Sollen sich die meisten Bacillen entfärben, wenn man auf mit Anilinwassergentianaviolett gefärbte Smegmapräparate die Salpetersäure (1:2 Wasser) 15—20 Secunden einwirken lässt. Vollständige Entfärbung tritt ein, wenn man nach der Salpetersäureeinwirkung die Präparate mit absolutem Alkohol behandelt, wobei Tuberkelbacillen gut gefärbt bleiben.

Bei mit Fuchsin gefärbten Präparaten, die mit Salpetersäure entfärbt wurden, blieben auch nach Anwendung des Alkohols oft noch Bacillen gefärbt.

Nach ihren Befunden halten es die beiden Autoren für wahrscheinlich, dass der Lustgarten'sche Bacillus mit dem Smegmabacillus identisch sei, und dass, wenn Bacillen in Schnitten gefunden werden, es die Smegmabacillen seien, welche secundär in die syphilitischen Producte eingedrungen wären.

Auf der Naturforscherversammlung in Strassburg berichtete Dautrelept<sup>1)</sup> über weitere Resultate mit seiner oben angegebenen Methode. Er fand in Schnitten von 12 weiteren syphilitischen Krankheitsproducten Bacillen.

Die Smegmabacillen konnte Dautrelept in 2 Fällen nachweisen.

Auch im Blute konnte er Bacillen demonstrieren.

Er zieht aus Allem den Schluss, dass durch die Entdeckung des Smegmabacillus, dem Lustgarten'schen Bacillus insofern wenigstens seine Specificität genommen sei, als in Secreten nach der Lustgarten'schen Methode gefärbte Bacillen vorläufig nicht mehr als mit Syphilis zusammenhängend anzusehen seien.

In der Discussion über diesen Vortrag betonten Lichtheim und Neisser, dass die Entdeckung der Smegmabacillen mehr die Lustgarten'sche Färbungsmethode, als die thatsächlichen Befunde tangire. Die Bacillen in Schnitten seien das Maassgebende.

Finger macht gegen die Bacillenbefunde in Schnitten von Gummen geltend, dass nach seinen zahlreichen Versuchen Gummen nicht infectiös seien.

M. v. Zeissel<sup>2)</sup>, der an 9 Sclerosen und einer nässenden Papel Untersuchungen nach der Lustgarten'schen und Dou-

<sup>1)</sup> S. Deutsche med. Wochenschrift. 1885. No. 47.

<sup>2)</sup> Wiener medicinische Presse. 1885. No. 48.

trelepont'schen Methode anstellte, konnte nur in zwei Schnitten Bacillen auffinden.

Auch in syphilitischen Secreten waren die Befunde oft negativ. Waren Bacillen vorhanden, so schwankten ihre Grössenverhältnisse bedeutend. Nach den Befunden von Alvarez und Tavel seien die positiven Bacillenbefunde in Secreten für das Vorhandensein von Syphilis nicht mehr beweisend. Dagegen glaubt Zeissel, dass in Schnitten, weil hier die Bacillen in Zellen liegen, noch die Möglichkeit vorhanden sei, dass sie zur Syphilis in Beziehung ständen.

Klemperer<sup>1)</sup> hat in einem Vortrage, der am 2. November 1885 im Verein für innere Medicin zu Berlin gehalten wurde, die bisherigen Untersuchungsergebnisse vergleichend besprochen und auf einige Verschiedenheiten der Lustgarten'schen Bacillen in Gewebsschnitten und der Smegmabacillen aufmerksam gemacht.

Lustgarten lasse seine Schnitte vor der Einwirkung der Entfärbungsmittel minutenlang in Alkohol liegen; die Smegmabacillen entfärbten sich nach kurzer Alkoholeinwirkung.

Die Lustgarten'schen Bacillen vertrügen ferner Säuren nicht. Salzsäure, Salpetersäure und besonders Schwefelsäure entfärbten sie nach der Angabe von Lustgarten sofort.

Ferner seien die Smegmabacillen ebenso wenig, wie die Bacillen in syphilitischen Secreten, nach der Doutrelepont-Schütz'schen Methode färbbar.

Bei seinen eigenen Untersuchungen von Smegma praeputiale und vulvare fand Klemperer im Wesentlichen die Befunde von Alvarez und Tavel bestätigt. Betreffs der Differentialdiagnose von Tuberkelbacillen und Smegmabacillen betont er, dass Tuberkelbacillen die Säureeinwirkung bedeutend länger ertragen; ferner dass nach der Säureeinwirkung Smegmabacillen durch absoluten Alkohol sehr rasch entfärbt werden.

In Secreten von breiten Condylomen (4 Fälle) fand Klemperer Bacillen, die mit den Smegmabacillen Form und Farbenreaction gemeinsam hatten. (Sie färbten sich nach Lustgarten, vertrugen Säuren, entfärbten sich in Alkohol und waren nach der Methode von Doutrelepont und Schütz nicht färbbar.)

<sup>1)</sup> Deutsche med. Wochenschrift. 1885. No. 47.

In Schnitten konnte Klemperer niemals Bacillen nachweisen.

Köbner betont in der Discussion über diesen Vortrag, dass er ebenfalls in Schnitten syphilitischer Producte selten Bacillen gefunden habe.

Herr G. R. Gerhardt hatte die Güte, am 16. November im Verein für innere Medicin eine briefliche Mittheilung von Herrn Dr. Matterstock zu verlesen, worin unsere Befunde, wie sie theils in den oben genannten Mittheilungen der physikalisch-medicinischen Gesellschaft veröffentlicht waren, theils bald darauf in der gleich zu besprechenden Arbeit von Herrn Dr. Matterstock veröffentlicht wurden, in kurzen Zügen skizzirt waren.

Anlässlich des Vortrages von Klemperer wandte sich der Verein für innere Medicin an Prof. Weigert in Frankfurt a. M., unter dessen Leitung Lustgarten seine ersten Untersuchungen angestellt hatte, mit der Bitte, sein Urtheil über die Lustgarten'sche Entdeckung mittheilen zu wollen.

Weigert's<sup>1)</sup> Antwort lautete dahin, dass er die Lustgarten'schen Bacillen für die Ursache der Syphilis halte, dass denselben aber eine diagnostische Bedeutung, besonders in Secreten, nicht zukomme. Er betont, dass der Umstand, dass in Gummen von Stellen, die niemals mit Smegma in Berührung kämen, die Bacillen gefunden seien, und ferner die Lage der Bacillen in Zellen und die immerhin seltene Farbenreaction etwas so Beweisendes hätten, dass für ihn kein Zweifel bestehe. Angehend die negativen Befunde einzelner Forscher in Schnitten macht er auf die grosse Schwierigkeit der Untersuchung aufmerksam.

Eine Arbeit von Disse und Taguchi<sup>2)</sup> in Tokio über das Contagium der Syphilis, in welcher die Verfasser behaupten, nach der Gram'schen Methode im Blute Syphilitischer Bacillen und Sporen gefunden, aus diesem Blute Culturen sporenbildender Bacillen erhalten und mit positivem Erfolg auf Hunde, Schafe und weisse Mäuse übergeimpft zu haben, muss mit grossem Misstrauen betrachtet werden, da es bis jetzt trotz zahlreicher Versuche Niemandem gelungen ist, die Syphilis auf Thiere zu

<sup>1)</sup> Verlesen in der Sitzung vom 7. December 1885. S. Deutsche medic. Wochenschr. 1885. No. 51.

<sup>2)</sup> Deutsche medic. Wochenschr. 1885. No. 48,

übertragen. Den Verfassern der Arbeit waren die Resultate Lustgarten's zur Zeit ihrer Versuche noch unbekannt.

Herr Dr. Matterstock<sup>1)</sup> hat neuerdings die von ihm in Gemeinschaft mit dem Verfasser dieses auf der Syphilisklinik zu Würzburg bei Nachprüfung der Lustgarten'schen Befunde erhaltenen Resultate in einer umfangreichen Arbeit veröffentlicht.

Nachdem er zuerst das schon in den Sitzungsberichten der physikalisch-medicinischen Gesellschaft Enthaltene kurz recapitulirt hat, berichtet er über die Erfolge der fortgesetzten Untersuchungen.

In ca. 300 sorgfältig durchgesehenen Schnitten von 3 Sclerosen, 2 Hautpapeln vom Oberschenkel, 7 breiten Condylomen des Anus und der Genitalien, sowie von 4 Hautgummen, wurden ungefähr in jedem 3. bis 4. Schnitte Bacillen gefunden. Sie waren meist vereinzelt, seltener zu zweien liegend, einige Male bis zu 4 Exemplaren. Die Form anlangend, so stimmte dieselbe mit der Lustgarten'schen Beschreibung überein, doch wurden Sporen seltener gesehen. Controluntersuchungen nicht-syphilitischer Gewebe ergaben stets negative Resultate. Danach scheint ebenfalls das Vorkommen der Bacillen in syphilitischen Producten zwar selten, aber immerhin ziemlich constant zu sein.

In etwa 1500 Secretuntersuchungen syphilitischer und nicht-syphilitischer Natur wurden folgende Befunde erhoben:

Die Bacillen wurden gefunden in allen Fällen von ulcerirten Sclerosen.

Fast in allen Präparaten breiter Condylome der Analgegend und der Genitalien waren die Bacillen mehr oder weniger reichlich vorhanden. Im Ganzen war der Eindruck der, dass die Bacillen an Stellen, die viel Eiter secerniren, viel spärlicher sind, als in zäh-schmierigen Secreten.

Positive Resultate ergaben ferner: 2 Fälle von Zehenpapeln (spärliche Bacillen).

3 Fälle von breiten Condylomen des äusseren Gehörganges (in einem Fall ungemein reichliche Bacillen).

Einige wenige Fälle von Rachen- und Wangenpapeln (sehr wenige Bacillen).

<sup>1)</sup> Ueber Bacillen bei Syphilis: in den Mittheilungen aus der med. Klinik zu Würzburg. Bd. II.

2 Fälle von Syphilis pustulosa. (Eine geplatzte und mit einer Borke bedeckte Pustel am Kinn enthielt ungemein reichliche Bacillen; in geschlossenen Pusteln waren die Bacillen ungemein spärlich.)

In einem Fall, wo während der Eruption des maculösen Syphilids am Oberschenkel einer Kranken Herpesbläschen entstanden waren, deren Grund und Rand sich bald darauf in eine derbe Papel umwandelte, wurden im Inhalt der intacten Bläschen einige wenige typische Bacillen gefunden.

Im Secrete gummöser Ulcerationen sowie im Blute konnten Bacillen niemals nachgewiesen werden.

Weiterhin wird über die fortgesetzten Controluntersuchungen berichtet.

Nachdem die erste Entdeckung der Smegmabacillen der physikalisch-medicinischen Gesellschaft am 6. Juni berichtet war, wurden dieselben bei späteren Untersuchungen im Smegma praeputiale und vulvare in etwa  $\frac{3}{4}$  der Fälle bei etwa 100 männlichen und weiblichen Personen mehr oder weniger reichlich gefunden.

Versuche, welche Bacillen, (Syphilis- oder Smegmabacillen) der Lustgarten'schen Entfärbungsmethode gegenüber den Farbstoff länger halten, führten, obwohl sie mit minutiösester Genauigkeit und in grosser Zahl angestellt wurden, zu keinem für die Differentialdiagnose brauchbarem Resultate. Nur soviel stellte sich heraus, dass es sehr langer Einwirkung der Chemikalien bedurfte (mindestens  $15 \times 10$  Sekunden übermangansaures Kalium abwechselnd mit schwefliger Säure), bis nahezu alle Bacillen entfärbt waren.

Nach ihrer Form hätte man beide Concurrenten in vielen Fällen differenzieren können, wenn nicht auch im Smegma häufig Formen vorkämen, die sich in nichts von den Lustgarten'schen Stäbchen unterscheiden.

Gegen die Annahme, dass Alles, was in Secreten von nach der Lustgarten'schen Methode färbbaren Bacillen sich findet, etwa Smegmabacillen seien, werden in's Feld geführt die positiven Bacillenbefunde in geschlossenen Pusteln, die grosse Wahrscheinlichkeit, dass aus zerfallenen syphilitischen Producten Bacillen an die Oberfläche gelangen, dann dass sich die Bacillen

fast in allen klinisch als infectiös bekannten Secreten finden und endlich, dass in Präparaten von syphilitischen Secreten die typische Lustgarten'sche Form sehr selten fehlte, während sie im Smegma nicht jedesmal gefunden wurde.

„Es ist also der Schluss gerechtfertigt, dass die ätiologische Bedeutung des Lustgarten'schen Bacillus mit Rücksicht auf sein constantes Vorkommen in den Geweben der Krankheitsproducte aller drei Stadien der Syphilis und in den Secreten der beiden ersten Stadien durch die Existenz der Smegmabacillen nicht erschüttert wird“<sup>1)</sup>.

Der IV. Theil der Arbeit beschäftigt sich mit den Resultaten, die mit verschiedenen Färbungs- und Entfärbungsversuchen erhalten waren. Schnellfärbung in der Wärme, Färbung mit Carbofuchsin, Entfärbung mit verschiedenen Säuren werden in ihren Resultaten kurz besprochen. Da ich mich mit diesen Versuchen später noch eingehend beschäftigen muss, so kann ein genaueres Eingehen darauf an dieser Stelle unterbleiben.

Reinculturversuche waren, was Syphilisbacillen anlangt, vollständig erfolglos.

Culturversuche mit Smegmabacillen ergaben besonders auf Agar-Agarplatten (bei Körpertemperatur manchmal Formen, die morphologisch mit einigen Smegmabacillenformen übereinstimmten, aber nach der Lustgarten'schen Methode nicht färbbar waren.

Es wurde daher die Vermuthung ausgesprochen, dass die im Smegma enthaltenen Fette und Fettsäuren die Ursache der Farbenreaction der Smegmabacillen sein könnten. Es wurden Entfettungsversuche vorgenommen, jedoch mit inconstantem Erfolg.

Ueberblickt man die von den verschiedenen Autoren erhaltenen Untersuchungsergebnisse, so scheint allerdings der Lustgarten'sche Bacillus in Geweben syphilitischer Natur ziemlich constant vorzukommen. Die grössere Anzahl der Untersucher hat positive Befunde gehabt. Die constant negativen Resultate einzelner Forscher sind wohl auf verschiedene Umstände zurückzuführen. So ist gewiss nicht gleichgültig, wie lange die untersuchten Producte, Sclerosen, Condylome, Gummen, schon be-

<sup>1)</sup> l. c. S. 23.

standen haben. Doutrelepont und Schütz<sup>1)</sup> wenigstens scheint es nach ihren Beobachtungen wahrscheinlich, dass sich nur in recenten Syphilisproducten Bacillen reichlicher finden. In einer länger bestehenden Sclerose fanden sie keine Bacillen.

Ferner hat bei der relativen Seltenheit der Bacillen auch ihre Auffindung in dem Schnitte, in dem durch den Abbé'schen Beleuchtungsapparat das Structurbild fast vollständig ausgelöscht ist, etwas ungemein Schwieriges.

Am meisten wird die Annahme, dass es sich um zufällige Eindringlinge handle, bekämpft durch das von fast allen Autoren gesehene constante Vorkommen der Bacillen in Zellen, und zwar nicht nur einzelner, sondern ab und zu auch sehr vieler Bacillen in einer Zelle.

Ebenso spricht dagegen der Befund in Gummien.

Auch den Befund von Bacillen in pustulösen Syphiliden wird man kaum so deuten können, dass die Bacillen von aussen in die intacte Pustel eingedrungen sein sollten.

Wenn nun auch die ätiologische Bedeutung des Lustgarten'schen Bacillus für die Syphilis festzustehen scheint, so ist dagegen die diagnostische Verwerthbarkeit desselben in Secretpräparaten, wofern es sich nicht um geschlossene Pusteln handelt, vollständig hinfällig.

Es soll nicht behauptet werden, dass Alles, was in Secretpräparaten sich von Bacillen findet, Smegmabacillen seien. Das ist nicht einmal wahrscheinlich, wie besonders Herr Dr. Matterstock<sup>2)</sup> ausgeführt hat. Aber es ist bis jetzt unmöglich, Syphilisbacillen und Smegmabacillen morphologisch und tinctoriell sicher zu unterscheiden.

Die Bacillen im Secret syphilitischer Producte und die Smegmabacillen halten den Farbstoff der Lustgarten'schen Entfärbungsmethode gegenüber mit der gleichen Energie fest, wie unsere<sup>3)</sup> weitgehenden Versuche in dieser Richtung beweisen<sup>3)</sup>.

In beiden Fällen werden die Bacillen durch das Lustgarten'sche Verfahren entfärbt, wenn man die Präparate vor-

<sup>1)</sup> S. Deutsche med. Wochenschrift. 1885. No. 19.

<sup>2)</sup> Ueber Bacillen bei Syphilis, in den Mittheilungen aus der med. Klinik zu Würzburg. S. 388.

<sup>3)</sup> l. c. S. 384 ff.



her längere Zeit mit absolutem Alkohol behandelt. Die Empfindlichkeit gegen Alkohol ist durchschnittlich bei beiden Formen die gleiche.

In beiden Fällen sind die Bacillen nach der Doutrelepont-Schütz'schen Methode nicht färbbar.

Bei Entfettungsversuchen der Präparate, die wir vor der Färbung vornahmen, (siehe später) blieben zwar in syphilitischen Secreten die Bacillen nach der Lustgarten'schen Methode gut gefärbt, aber im Smegma wurden sie nicht in allen Fällen entfärbt.

Auch Säuren gegenüber halten sowohl die Bacillen syphilitischer Secrete, als auch die Smegmabacillen den Farbstoff fest, wenn auch erstere meist viel kürzere Zeit. Doch scheint auch hieraus kein allgemein gültiges Unterscheidungsmerkmal hergeleitet werden zu können.

Es ist nach Allem bis jetzt keine Möglichkeit gegeben, mit Sicherheit zu entscheiden, ob die in syphilitischen Secreten nach Anwendung der Lustgarten'schen Methode gefärbt bleibenden Bacillen zur Syphilis in Beziehung stehen oder nicht.

Bei den Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Smegmabacillen gegen Säuren war uns schon früh aufgefallen, dass diese Bacillen gegen die Säuren oft ausserordentlich tolerant waren. Wir hatten diese Sache, welche für die Tuberkelbacillenfrage ein gewisses Interesse zu haben schien, damals aus verschiedenen Gründen nicht so weit verfolgt, als wohl wünschenswerth gewesen wäre. Als jedoch Alvarez und Tavel ebenfalls derartige Befunde veröffentlichten und sagten, dass die Aehnlichkeit im Verhalten der Tuberkelbacillen und Smegmabacillen gegen Säuren eine sehr grosse sei, zugleich auch Mittel angaben, durch die man beide Bacillenarten unterscheiden könne; da ferner auch Klemperer die Resultate der französischen Forscher bestätigte, so schien es uns an der Zeit zu sein, unsere früheren Untersuchungen wieder aufzunehmen, zumal wir damals einige Befunde machten, die von den der ebengenannten Untersucher abwichen.

Bevor ich auf die Ergebnisse dieser Untersuchungen, die ich im Laufe der letzten zwei Monate angestellt habe, genauer eingehe, sei es mir gestattet, einige allgemeine Bemerkungen

vorauszuschicken über Vorkommen, Form und allgemeine tinc-torielle Eigenschaften der Bacillen in Secreten syphilitischer und nicht syphilitischer Natur.

Die nach der Lustgarten'schen Methode färbbaren Bacillen finden sich an folgenden Stellen:

- 1) Im Secret ulcerirter Sclerosen.
- 2) Auf breiten Condylomen.
- 3) Im Smegma vulvare und praeputiale und im Smegma in der Umgebung des Anus.
- 4) In dem schmierigen Secret zwischen den Zotten der spitzen Condylome.

5) Gelang es uns einmal im Cerumen spärliche Bacillen von atypischer Form nachzuweisen. Dagegen behauptet Gottstein<sup>1)</sup> sie in einem Falle sehr reichlich gefunden zu haben.

In den meisten dieser Fälle findet sich, dass die Bacillen auffallend vielgestaltige Formen aufweisen. Herr Dr. Matterstock hat darauf schon sehr frühzeitig aufmerksam gemacht<sup>2)</sup>.

Entweder herrscht die eine oder die andere Form mehr vor, oder aber es kommen alle oder einige Formen mehr oder weniger gleichmässig durch einander gemengt vor.

Unsere Befunde über Bacillen, welche die angeblich specifische Farbenreaction des Lustgarten'schen Bacillus zeigen, wurden was Smegma anbetrifft von Alvarez und Tavel, wie oben angegeben, im Wesentlichen bestätigt. Auch diese Autoren sprechen von einer Polymorphie der im Smegma gefundenen Bacillen; doch scheinen sie dieselbe nicht in dem weitgehenden Maasse gesehen zu haben, wie wir<sup>3)</sup>. Wenigstens entnehme ich das aus ihren Abbildungen, die nur eine oder zwei Formen zeigen. Die Abbildungen sind übrigens, was die absolute Grösse der Bacillen betrifft, wohl sämmtlich viel zu gross gerathen.

Was nun die Formen der Bacillen anbetrifft, die sich sowohl in Secreten syphilitischer, wie nicht syphilitischer Natur nach der Lustgarten'schen Methode färben, so ist ihre Zahl

<sup>1)</sup> Fortschritte der Medicin. 1886. No. 4. Ref. über die Arbeiten von Alvarez und Tavel und Klemperer.

<sup>2)</sup> Sitzungsberichte der physik.-med. Ges. 1885. IX u. X.

<sup>3)</sup> Sie haben nur 14 Fälle untersucht und stellenweise nach einer anderen Methode gearbeitet.

eine sehr grosse. In syphilitischen Secreten, wenn wir von breiten Condylomen, welche besondere Verhältnisse darbieten, vorläufig absehen, kommt, wenn Bacillen überhaupt gefunden werden, nach unsern Erfahrungen meist nur die von Lustgarten beschriebene Form vor, welche ja auch, was Längen- und Breitenverhältnisse anlangt, in gewissen nicht zu engen Grenzen variirt.

Derartige Secrete sind vorzüglich Eiter von ulcerirten Sclerosen und Pusteleiter. Dabei macht man zugleich die Beobachtung, dass in allen diesen Fällen, also in eitrigen Secreten, die Menge der Bacillen, gegenüber den massigen Befunden auf der Oberfläche nässender breiter Condylome, meist eine auffallend geringe ist.

Diese Bacillen stimmen, wie gesagt, in ihrer äusseren Form ziemlich genau mit den von Lustgarten beschriebenen und abgebildeten, sowie auch mit den in Schnitten gesehenen überein und haben auch mit Tuberkelbacillen eine ziemlich weitgehende Aehnlichkeit. Da finden sich ganz kurze etwa 2—3  $\mu$  lange, ganz gerade; etwas längere gerade oder leicht gebogen; noch längere leicht gebogen oder winklig geknickt; endlich solche von mehr oder weniger ausgesprochener S-form. Die Conturen sind oft leicht wellig oder eingekerbt, die Enden der Stäbchen öfters knopfförmig angeschwollen.

Die Dicke variirt nicht bedeutend, doch kommen ähnlich wie bei den Tuberkelbacillen Kaliberschwankungen vor und zwar häufig so, dass bei Färbung mit Anilinwassergentianaviolett die blasseren Bacillen feiner erscheinen, als die intensiv gefärbten. Ebenso erscheinen in mit Carbofuchsin gefärbten Präparaten sämtliche Bacillen bei Weitem graciler als in den mit Gentianaviolett gefärbten. Vielleicht ist das mit der Beobachtung Koch's<sup>1)</sup> in Einklang zu bringen, dass Tuberkelbacillen mit Methylenblau gefärbt graciler erscheinen, als mit Gentianaviolett gefärbte, und dass man bei direct unter dem Mikroskop vorgenommener Entfärbung sieht, dass bei mit Gentianaviolett gefärbten Tuberkelbacillen aus dem intensiv gefärbten dickeren Bacillus ein blasserer und zugleich mehr graciler entsteht und

<sup>1)</sup> Ueber die Aetiologie der Tuberculose. Mittheilungen aus dem kais. Gesundheitsamt. Bd. II. S. 16.

dann dieser feinere Bacillus, ohne noch weiter an Kaliber abzunehmen, immer blasser wird und schliesslich verschwindet.

Im Secret von nässenden breiten Papeln sind je nach der Localisation derselben die Bacillenbefunde verschiedene. Während auf Rachenpapeln selten Bacillen gefunden, und diese, wo einmal vereinzelte gesehen werden, der Lustgarten'schen Beschreibung entsprechen, kommen auf Papeln, die am Scrotum und der äusseren Haut des Penis sich localisiren, schon mehrere Formen von Bacillen vor. Auch auf diesen Papeln sind indess meist die Bacillen spärlich.

Anders verhält es sich mit breiten Condylomen geschützter Standorte, in der Analfalte, an der Vulva etc., wo das schmierige Secret vor Austrocknen geschützt, sich zu grossen Mengen ansammeln, und wo zugleich die hier herrschende hohe Temperatur der Vermehrung etwa vorhandener Bacillen nur günstig sein kann.

In derartigem Secret fanden wir in manchen Fällen ganz erstaunliche Mengen von Bacillen, wobei entweder eine Form vorherrschte oder viele der gleich zu beschreibenden Formen in buntem Durcheinander dem Auge des Beobachters sich präsentirten.

Dieselben Formen, wie sie auf breiten Condylomen dieser Art vorkommen, finden sich auch im Smegma und zwischen den Zotten der spitzen Condylome.

In diesem Formengewirr kommen von der einen zur anderen Form alle möglichen Uebergänge vor, so dass es schwer hält, ja unmöglich ist, aus der äusseren Form allein zu bestimmen, was physiologische oder auch pathologische Wuchsformen einer Art, und was wirklich differente Arten sind. Zeigt doch fast jede Bakterienart, und die Bacillen nicht zum mindesten, je nach Alter, Lebensbedingungen etc., einen mehr oder weniger umfangreichen Formenkreis.

Ueber den Punkt, wie viele verschiedene Arten von Bacillen es sind, welche das Smegma bewohnen und auf das Lustgarten'sche Verfahren in gleicher Weise reagiren, darüber können nur ausgedehnte Culturversuche mit dem bacillenhaltigen Material befriedigenden Aufschluss geben. Es wurden zwar von uns Versuche zur Herstellung von Reinculturen der Smegmabacillen

unternommen, jedoch, wie schon erwähnt, mit nicht verwerthbarem Resultat.

Wenn ich es trotzdem unternehme, die verschiedenen Formen der Smegmabacillen zu schildern, so geschieht dies nicht, um jede Form als einer bestimmten Art eigenthümlich zu statuiren, sondern nur deshalb, um bei der später folgenden Beschreibung des Verhaltens der Bacillen gegen Farbstoffe und Entfärbungsmittel, wobei sich einzelne Formen oft wesentlich different verhalten, ein Schema zu haben, nach dem diese Formen kurz bezeichnet werden können.

Dass unter den Smegmabacillen übrigens auch ganz differente Arten vorkommen, wird bei der Specialbeschreibung der einzelnen Formen sofort in's Auge springen.

Die erste Form der im Secret breiter Condylome und im Smegma vorkommenden und in der Farbenreaction dem Lustgarten'schen Bacillus gleichenden Bacillen ist die, deren Repräsentanten auch in der Form mit dem Lustgarten'schen Bacillus übereinstimmen.

Diese Form kann auf breiten Condylomen ungemein reichlich sein, ja so vollständig über alle anderen Formen prävaliren, dass man kaum einen einer anderen Form angehörenden Bacillus auf findet. Diese Bacillen liegen entweder unregelmässig verstreut oder aber in eigenthümlich verschlungenen Klumpen oder vielmehr Ringen. Die Abbildung macht dieses deutlich.

Dieselbe Form findet sich zwischen den Zotten der spitzen Condylome und im Smegma. Doch kommen im Genitalsmegma des Weibes nach unseren bisherigen Erfahrungen in der Regel im Vergleich zu den übrigen Formen wenig zahlreiche Exemplare vor, während sie zuweilen im Secret zwischen den Zotten der spitzen Condylome und in einzelnen Fällen von Präputialsmegma in ungeheurer Menge und als fast ausschliessliche vorkommen. Ebenso war hier die Lagerung in ringförmigen Haufen öfter ausgesprochen, während wir die letztere im weiblichen Genitalsmegma gut ausgeprägt nie gefunden haben.

In einem Falle von breiten Condylomen des Penis fand sich im phimotischen Präputialsack reichliches smegmaartiges Secret. Dasselbe enthielt ungemein reichliche Bacillen, die an Form und Dicke mit der Form 1 übereinstimmten, dagegen mit Gentiana-

violett sehr blass gefärbt wurden, während sie bei Färbung mit Carbofuchsin während weniger Minuten und nachheriger Anwendung des Lustgarten'schen Verfahrens intensiv gefärbt blieben. Dieselbe merkwürdige Thatsache fanden wir bei den gleichgeformten Bacillen, wie sie im Präputialsack jüngerer Leute mit geringfügigen papillomatösen Wucherungen an der Corona glandis öfters gefunden werden. Haufenbildung war auch in diesen Fällen, trotz ungeheurer Anzahl der Bacillen, nicht vorhanden.

In wie fern es sich bei diesen letzten Fällen um von der eigentlichen Form 1 differente Arten handelt, lasse ich dahingestellt.

Zweite Form. Besonders im Smegma aus dem Präputialsacke kommen Bacillen vor, die ungefähr die doppelte Länge haben, wie Tuberkelbacillen, jedoch feiner sind und oft aalartig gewunden. Manchmal gelingt es bei genauer Betrachtung nachzuweisen, dass es sich um zwei vor einander liegende gebogene oder S-förmige Stäbchen handelt.

Im Präputialsack älterer Leute, in dem sich eine grosse Menge mehr trockenen Smegmas angehäuft hatte, fanden wir diese Gebilde oft mit Gentianaviolett blasser, wie wir es sonst an den Bacillen gewohnt waren, sich färbend. Dieselben erschienen weit graciler als die Repräsentanten der Form 1, der die kürzeren Stäbchen sonst glichen. Die Bacillen waren fast ohne Haufenbildung in ungeheurer Menge in jedem Gesichtsfelde verstreut. Es ist leicht denkbar, dass es sich um eine von der Form 1 differente Art handelt.

Eine dritte Form, welche sich sowohl auf breiten Condylomen, als auch vorzüglich im Smegma der Weiber, in letzterem oft vorwiegend, findet, sind Bacillen von etwa  $4-6\ \mu$  durchschnittlicher Länge, etwa  $\frac{1}{2}$  mal so dick wie Tuberkelbacillen, entweder (meistens) gerade oder (seltener) leicht gebogen. Dazwischen kommen Stäbchen von derselben Dicke, aber nur etwa  $1\frac{1}{2}-2\ \mu$  Länge ziemlich reichlich vor.

Bei dieser Form kann man zweierlei Arten von Sporenbildung beobachten.

Im einen Falle finden sich Sporen nur an einem Ende des Stäbchens, das dann an dieser Stelle etwas knopfförmig aufgetrieben erscheint. Im anderen Falle finden sich in der ganzen

Länge des Stäbchens Sporen, jedoch sind die betreffenden Stellen nicht aufgetrieben. Die sporentragenden Stäbchen wurden bisher nur in ganz wenigen Fällen beobachtet, und waren in diesem Falle fast alle Stäbchen der Form 3 sporentragend. In den weitaus meisten Fällen jedoch sieht man bei dieser Form von Sporenbildung nichts.

Dass man es hier mit verschiedenen Arten zu thun hat, ist wahrscheinlich, jedoch ohne Culturversuche nicht ohne Weiteres festzustellen.

Eine vierte Form sind ganz kurze Stäbchen etwa von der Dicke der Tuberkelbacillen, oder etwas feiner, etwa 3—4mal so lang wie breit. Sie finden sich sowohl im Smegma der Männer, wie der Weiber. Sie kommen dort oft in colonienartigen Ansammlungen vor und zeigen unter einander leichte Differenzen in der Dicke. Einmal fanden wir sie im Secret von breiten Condylomen zu dicken zooglöartigen Klumpen zusammengeballt, so dass man nur an den Rändern der Haufen erkennen konnte, dass diese Klumpen überhaupt aus Bacillen bestanden.

Eine fünfte Form sind feine meist halbtuberkelbacillenlange Stäbchen, die entweder gerade oder leicht gebogen sind und im letzteren Falle oft eine auffallende Aehnlichkeit mit den sogenannten Kommabacillen besitzen.

Die Kommaform wollen auch Alvarez und Tavel<sup>1)</sup> gesehen haben. Sie kommt nicht gerade häufig zur Beobachtung. Einmal sahen wir sie in grosser Menge im zähen mehr trockenen Präputialsmegma. Die Stäbchen sind oft an den Enden mit knopfförmigen Anschwellungen versehen.

Eine sechste Form, welche sich nach unseren bisherigen Erfahrungen nur im Vulvarsmegma findet und bis jetzt (unter etwa 120 Fällen von Smegmauntersuchungen) erst zweimal in der Weise gesehen wurde, dass sie fast ausschliesslich und sehr reichlich in den nach Lustgarten behandelten Präparaten vorhanden war, sind dicke Stäbchen mit scharf abgeschnittenen Ecken. Ihre Länge schwankt bedeutend. Von solchen, welche etwa 4mal so lang sind, wie breit, kommen alle Zwischenstufen bis zur Bildung von kurzen Fäden vor. Die Stäbchen sind ent-

<sup>1)</sup> l. c. S. 314,

weder gerade oder leicht gebogen, oder geknickt, oder auch schwach S-förmig. Die Fäden zeigen unregelmässige Krümmungen und Knickungen. Die Dicke der Stäbchen ist ungefähr so gross oder etwas grösser, wie bei Milzbrandbacillen in Culturen. Sie sind fast in allen Exemplaren reichlich sporentragend. Manchmal findet man kurze Fäden, die am einen Ende reichlich Sporen tragen und hier dicker erscheinen, als am anderen, nicht sporentragenden Ende.

Die siebente Form ist ein Bacillus von derselben Dicke wie der vorige, jedoch meist kurz mit abgerundeten Ecken. Man beobachtet diese Form in ganz vereinzelt Exemplaren im Smegma und auf breiten Condylomen. Sporenbildung wurde bei ihm nicht gesehen.

Die achte Form ist ein ovoides Gebilde, im grössten Breiten-durchmesser etwa von der Dicke der vorigen Bacillen, von dem man zweifelhaft sein kann, ob man es als Stäbchen oder als Coccus bezeichnen soll. Es liegt entweder vereinzelt oder zu zweien nach Art eines Diplococcus (oo) oder auch zuweilen in kleinen Häufchen. Es hält der Lustgarten'schen Methode gegenüber oft von allen Formen den Farbstoff am längsten fest.

Wenn ich jetzt mit der Beschreibung der Formen aufhöre, so soll damit durchaus nicht gesagt sein, dass mit vorstehender Beschreibung der Formenreichthum der auf breiten Condylomen und im Smegma vorkommenden nach der Lustgarten'schen Methode gefärbt bleibenden Bacillen vollständig erschöpft sei, oder auch nur, dass man jeden Bacillus, der dort vorkommt, leicht seinen Platz in dem vorliegenden Schema anweisen könne. Dem ist nicht so.

Sieht man einen einzelnen Bacillus, so kann man oft zweifelhaft sein, zu welcher Form man ihn stellen soll, denn es kommen zwischen den einzelnen Formen auch Uebergänge vor. Im vorigen sind nur die differenten Formen beschrieben, welche zugleich meist in einer grösseren Anzahl von Exemplaren in einem Präparat vorkommen. Die grosse Menge der Bacillen wird man, so weit meine Erfahrungen reichen, stets bei irgend einer Nummer des Schemas unterbringen können.

Es bleibt mir noch übrig, einige Worte zu sagen über die Lagerung der Bacillen. Alvarez und Tavel und später Gott-



stein in seinem Referat über die Arbeit derselben legen bedeutendes Gewicht auf die, wie sie sagen, constante Beziehung der Bacillen im Smegma zu den Epithelzellen. Auch uns war schon im Anfange unserer Untersuchungen aufgefallen, dass sehr häufig die Bacillen entweder auf den Epithelzellen oder doch in der Nähe derselben liegen. Bald jedoch, als wir alle uns vorkommenden Fälle auf diesen Punkt hin prüften, fanden wir, dass besonders im Smegma, aber auch auf breiten Condylomen, oft ebensoviel und mehr Bacillen unabhängig von den Epithelzellen nur zwischen Kokken (die durch Gegenfärbung nachgewiesen wurden) liegend vorkommen, als solche auf den Epithelien. Ja die grossen verschlungenen Haufen von Bacillen der Form 1 sind meist völlig unabhängig von den Epithelien. Ausserdem giebt es eine Sorte von Smegma, das fast gar keine Epithelien enthält, fast nur aus Bacillen und verschiedenen Kokkenformen besteht, und doch in übergrosser Menge Bacillen enthält, welche sich tinctoriell genau verhalten, wie die Lustgarten'schen. Es ist also die Behauptung von Klémperer<sup>1)</sup>, dass sich die Bacillen „selten oder nie“ unabhängig von den Epithelzellen finden, nicht richtig.

Ich gehe jetzt etwas genauer ein auf die allgemeinen färbischen Eigenthümlichkeiten der in syphilitischen und nicht syphilitischen Secreten gefundenen Bacillen.

Nachdem wir eine Zeitlang mit der Lustgarten'schen Methode gearbeitet und im Ganzen gute Resultate damit erzielt hatten, machten wir bald einige Beobachtungen, welche mit den Lustgarten'schen Angaben theils einigermaassen im Widerspruch standen, theils uns auf Modificationen der Methode führten.

Zuerst musste es auffallend erscheinen, warum die Syphilisbacillen in Schnitten mehrere Minuten lang die Einwirkung des absoluten Alkohols vertragen sollten, in Secretpräparaten dagegen nicht. Wir stellten deshalb in dieser Hinsicht mit grosser Vorsicht Versuche an, indem wir auch Secretpräparate vor dem Einbringen in die Lösung von übermangansauerm Kalium mehr oder weniger lange Zeit mit absolutem Alkohol behandelten.

Zu diesen Versuchen gab uns insbesondere auch noch der

<sup>1)</sup> a. a. O.

Umstand Veranlassung, dass auf den Deckgläsern während des langen Aufenthaltes in der Farblösung sich Niederschläge von Farbstoff gebildet hatten, die auch bei noch so langer Einwirkung der entfärbenden Reagentien sich nicht lösten und die Beobachtung in unangenehmer Weise störten. In absolutem Alkohol waren diese Präcipitate mit grosser Leichtigkeit in wenigen Secunden löslich. Wir spritzten deshalb Präparate, die notorisch viele Bacillen enthielten, während weniger Secunden mit absolutem Alkohol ab und entfärbten dann wie gewöhnlich.

Das Resultat war, dass nicht nur die Entfärbung ungemein viel rascher vor sich ging, als in den nicht mit Alkohol behandelten Präparaten, sondern dass auch die Zahl der Bacillen, weit entfernt vermindert zu sein, oft sogar vermehrt erschien, welcher letzterer Umstand sich leicht dadurch erklärt, dass grosse Stellen, die bei nicht mit Alkohol behandelten Präparaten von undurchsichtigen Farbstoffpräcipitaten eingenommen wurden und die in oder unter ihnen liegenden Bacillen verdeckten, nun durch die combinirte Wirkung des Alkohols und der übrigen Entfärbungsmittel entfärbt waren und die Bacillen zum Vorschein kommen liessen.

Die Bacillen selbst waren ebenso intensiv dunkelblau gefärbt, als in nicht mit Alkohol behandelten Präparaten.

Bei Einwirkung des Alkohols bis zu einer halben Minute blieben die Verhältnisse in den meisten Fällen dieselben. Liessen wir den Alkohol länger als 30 Secunden einwirken, in manchen Fällen jedoch auch schon früher, so wurde die Zahl der Bacillen geringer und es traten viele blasse zwischen ihnen auf. Wir beschränkten deshalb die Einwirkung des Alkohols, wo wir ihn überhaupt anwandten, und das geschah nie in Fällen, wo es uns darauf ankam, Bacillen mit Sicherheit nachzuweisen, auf einige wenige Secunden.

Bei Untersuchung eitriger Präparate ist die Anwendung des Alkohols überhaupt überflüssig, da dieselben auch ohne denselben sich sehr leicht entfärben, ungemein viel leichter, als z. B. Präparate von nicht ulcerirten, nässenden breiten Condylomen.

Die Grenze, bis zu welcher man den Alkohol einwirken lassen muss, um nach Anwendung des Lustgarten'schen Ver-

fahrens keine Bacillen mehr gefärbt zu finden, haben wir nicht genauer ermittelt.

Eine zweite Beobachtung, die wir bald machten, war die, dass man mit der Anwendung des Lustgarten'schen Verfahrens durchaus nicht so vorsichtig umzugehen braucht, wie Lustgarten selbst angiebt, ja in vielen Fällen, wenn man anders brauchbare Präparate erhalten will, nicht einmal darf.

Die vorsichtige Anwendung genügt wohl für Präparate von eitrigen Secreten, die dabei allerdings meistens ganz farblos werden; in keiner Weise dagegen in den meisten Fällen bei Secretpräparaten von nässenden breiten Condylomen, welche so ungemein viel Epithelzellen enthalten. Hier bedarf es oft des Zehnfachen der von Lustgarten angegebenen Zeit, um ein gutes Präparat zu erhalten; und doch sind dann die Bacillen nicht weniger und auch nicht schlechter gefärbt, als in den kurz entfärbten Präparaten.

Wie lange man die Entfärbung fortsetzen kann, ohne die Bacillen in ihrer Farbe zu schädigen, ist nicht genau zu ermitteln, da sich Präparate verschiedener Provenienz verschieden verhalten. Doch waren sowohl in Präparaten von Smegma, als auch von spitzen und breiten Condylomen nach dreissig mal 10 Secunden übermangansauerm Kalium abwechselnd mit schwefliger Säure noch gefärbte Bacillen vorhanden, obwohl der weit aus grösste Theil entfärbt war.

Weiterhin schien es uns angezeigt, zu versuchen, ob man nicht das unbequeme und ungemein zeitraubende Färbungsverfahren, wie es Lustgarten übt, durch ein kürzeres ersetzen könnte. Wir versuchten deshalb die Deckglaspräparate in der Weise zu färben, wie es Rindfleisch für Tuberkelbacillen angegeben hat, nemlich indem wir die Deckgläschen auf der Farblösung schwimmen liessen, die durch eine untergesetzte Gasflamme erwärmt wurde. Nur liessen wir die Farblösung nicht kochen, sondern eine Temperatur von 65°—70° C. annehmen und bei dieser etwa 5—10 Minuten verweilen.

Das Resultat war durchaus zufriedenstellend. Nicht nur, dass sich die Präparate leichter entfärbten, dass Niederschläge von Farbstoff viel seltener und in viel geringerem Maasse eintraten, sondern auch die Bacillen waren, wie wir an hundert

von Controlpräparaten nachwiesen, ebenso reichlich und ebenso gut gefärbt, als in ganz nach der Lustgarten'schen Methode gefärbten Präparaten.

Ausgehend ferner von der Erwägung, dass Tuberkelbacillen ebenfalls bei Anwendung des Lustgarten'schen Verfahrens gefärbt bleiben, dieselben aber ausser mit Anilinwassergentianaviolett auch noch mit anderen Farbstoffen tingirbar sind, versuchten wir auch die Lustgarten'schen Bacillen mit andern Farbstoffgemischen zu färben. Versuche mit Anilinwasserfuchsin und Methylenblau ergaben uns ebenso, wie Lustgarten, keine brauchbaren Bilder. Vorzüglich gelang dagegen die Färbung mit Carbolsäurefuchsin.

Die Präparate wurden, wie oben angegeben, im Uhrschildchen oder auch ganz nach Lustgarten 24 Stunden bei Zimmertemperatur und 2 Stunden bei 40° C. gefärbt. Darauf Entfärbung mit Kaliumpermanganat und schwefliger Säure. Die Entfärbung ging meist etwas rascher vor sich, als in den mit Anilinwassergentianaviolett gefärbten Präparaten. Die Bacillen waren leuchtend roth und erschienen graciler als die mit Gentianaviolett tingirten. Ihre Zahl war, wie wir in zahlreichen Präparaten controlirten, nie geringer, als in ganz nach Lustgarten behandelten Präparaten. Andere Mikroorganismen blieben ebenso wenig gefärbt, als in den mit Gentianaviolett tingirten Präparaten.

Gleich in der ersten Zeit unserer Versuche bemühten wir uns auch, Gegenfärbungen zu erhalten, da Lustgarten behauptete, dass solche nicht gelingen. Mit Gentianaviolett gefärbte Präparate wurden mit Vesuvin oder Crocëin, die mit Fuchsin behandelten mit Malachitgrün gegengefärbt. Die Resultate waren sehr zufriedenstellend.

Bei den mit Vesuvin behandelten Präparaten erschienen die Bacillen schwarzblau auf braunem Grunde, Kokken und Kerne gut braun gefärbt; bei den mit Crocëin, einem ähnlich wie Eosin diffus färbenden Stoffe, gegengefärbten leuchtend blau auf schön rothem Grunde. Ebenso schöne Bilder zeigten die mit Malachitgrün gegengefärbten Präparate. Auch mit Methylenblau gelingen bei Fuchsinpräparaten Gegenfärbungen. Herr Dr. Matterstock<sup>1)</sup> war schon am 16. Mai vorigen Jahres im Stande, derartige mit Vesuvin und Malachit gegengefärbte Präparate zu demonstrieren.

<sup>1)</sup> a. a. O.

Wenn wir uns trotzdem späterhin nicht immer der Gegenfärbung bedienen, so geschah dies deshalb, weil in dickeren Präparaten oft der stark gefärbte Grund die feinere Form der Bacillen etwas verschleiert und so das genaue Studium der Beschaffenheit des Conturs etwas erschwert.

Dass es nicht nothwendig ist, dass der Farbstoff, mit dem die Lustgarten'schen Bacillen sich färben, alkalisch reagirt (wofern man von Phenol oder Anilin dieses etwa behaupten möchte), haben wir dadurch nachgewiesen, dass auch in einer Lösung von Gentianaviolett in Wasser, welches 1:2000 Salzsäure enthielt, die Bacillen bei 70° C. sich sehr gut färbten und bei Anwendung des Lustgarten'schen Entfärbungsverfahrens ihre Farbe mit grosser Energie festhielten.

Diese sämmtlichen färberischen Eigenthümlichkeiten, die wir bei den damals von uns noch für mit den Lustgarten'schen identisch gehaltenen Bacillen fanden, gelten auch für die Smegma-bacillen.

Da das Arbeiten mit schwefliger Säure für die Respirationsorgane nicht sehr angenehm ist, die Säure auch im Allgemeinen umständlich zu beschaffen ist und leicht verdirbt, so haben wir uns bald nach einem Ersatzmittel für dieselbe umgesehen.

Wir haben dasselbe in fast vollkommener Weise gefunden in der Oxalsäure, die wir in concentrirter wässriger Lösung verwandten. Der Oxalsäure gehen die obengenannten üblen Eigenschaften des Schwefeldioxydes vollständig ab. Sie löst die Präcipitate von Mangansuperoxyd fast mit derselben Schnelligkeit, wie die schweflige Säure ( $\text{MnO}_2 + 2\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 = \text{MnC}_2\text{O}_4 + 2\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ ) und schädigt bei der kurzen Zeitdauer, während welcher sie mit dem Präparat in Berührung kommt, die Bacillen in keiner Weise.

Auch Alvarez und Tavel haben diese Eigenschaft der Oxalsäure erwähnt. Sie benutzen dieselbe in 2procentiger Lösung. Doch sind sie in ihrer Anwendung offenbar zu vorsichtig, wenn sie verlangen, dass das Präparat nur einmal zehn Sekunden in die Lösung von übermangansaurem Kalium kommen dürfe und dann in Oxalsäure, bis die Präcipitate aufgelöst seien. Auf diese Weise wird man in den allerwenigsten Fällen ein brauchbares Präparat erhalten. Man kann ruhig genau so verfahren, wie bei der Lustgarten'schen Methode, also mehrere

Male abwechselnd übermangansaures Kalium und Oxalsäure verwenden. Die Präparate werden dann ebenso gut entfärbt und die Bacillen sind ebenso reichlich und ebenso gut gefärbt, als in nach der Lustgarten'schen Methode behandelten Präparaten.

Auch auf Carbofuchsinpräparate ist die Oxalsäureentfärbung anwendbar, doch heben sich die rothen Bacillen, da der Untergrund einen gelben Farbenton annimmt, nicht so gut ab, als die blauen Bacillen auf gelblichem Grunde.

In weniger vollkommener Weise können die schweflige Säure ersetzen: Citronensäure, Bromwasserstoffsäure, Aepfelsäure und wahrscheinlich noch manche andere.

Wie schon oben angegeben, gelten diese färberischen Eigenthümlichkeiten auch für Smegmabacillen. Es schien also keine Möglichkeit vorzuliegen, Syphilisbacillen und Smegmabacillen in tinctorieller Beziehung von einander zu unterscheiden.

Lustgarten hatte angegeben, dass sich seine Bacillen in Säuren rasch entfärben. Wir suchten deshalb zu ermitteln, ob nicht Smegmabacillen den Säuren grösseren Widerstand entgegensetzten als die Lustgarten'schen Bacillen.

Schon die Anwendung der Oxalsäure und der übrigen Säuren, welche wir der schwefligen Säure zu substituiren suchten, hatte uns gelehrt, dass die Bacillen offenbar gewisse Säuren eine Zeitlang vertragen.

Wir gingen also daran, systematische Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Bacillen gegen Säuren der verschiedensten Art anzustellen und da kamen wir denn zu dem Ergebniss, dass einzelne Formen eine enorme Widerstandskraft selbst gegen sehr starke Säuren besitzen. Die Sache wurde wie gesagt später aus verschiedenen Gründen vorläufig liegen gelassen und erst die Ergebnisse von Alvarez und Tavel und Klempner veranlassten mich, die Untersuchungen wieder aufzunehmen und durch eingehende Versuchsreihen festzustellen, wie sich die Widerstandsfähigkeit der Smegmabacillen zu der der Tuberkelbacillen verhält. Es ist dies bisher allerdings noch nicht mit wünschenswerther Genauigkeit gelungen, was hauptsächlich seinen Grund darin hat, dass sich nicht jedes Smegma gleich gut zu diesen Versuchen eignet, weil man im Smegma verschiedener Provenienz oft ganz differente Befunde erhält.

Ich glaubte zunächst feststellen zu sollen, wie sich die Bacillen gegen das Ehrlich'sche Verfahren, welches als das beste wohl am meisten verbreitet ist, verhalten.

Die Färbung wurde in der Ehrlich-Weigert'schen Gentianaviolettlösung, wie wir es für Tuberkelbacillen gewohnt sind, im Uhrsälchen bei einer Temperatur von 65°—70° C. während 5—10 Minuten vorgenommen. Dann kamen die mit Wasser abgespülten Präparate in die verdünnte Salpetersäure (1 Theil officinelle Salpetersäure zu 2 Theilen Wasser), und blieben hierin verschieden lange Zeit. Darauf wurden sie mit destillirtem Wasser abgespült, getrocknet und in Xylolcanadabalsam untersucht.

Einige der jedesmal gefärbten Präparate wurden nach der Lustgarten'schen Methode behandelt, um ihren Gehalt an gegen diese Entfärbungsmethode widerstandsfähigen Bacillen zu ermitteln.

Wenn die Präparate etwa  $\frac{1}{2}$ —1 Minute in der Salpetersäure hin und her bewegt waren, nahmen sie einen matt graugrünen Farbenton an und gaben von da an den noch übrigen Farbstoff nur sehr langsam ab.

Wurden sie nach Verlauf weniger Minuten aus der Salpetersäure herausgenommen, und mit destillirtem Wasser gewaschen, so nahmen sie wieder einen ziemlich stark violetten Ton an.

Die ersten Versuche wurden mit einem Smegma angestellt, das sehr viele Epithelzellen enthielt. Bacillen, die bei Anwendung des Lustgarten'schen Verfahrens gefärbt blieben, waren sehr reichlich vorhanden. Unter ihnen hatten einige in ihrer Form eine ziemlich grosse Aehnlichkeit mit Tuberkelbacillen (cfr. oben Form 1). Die übrigen sehr reichlichen gehörten der Form 3 und 4 an; auch von der Form 8 waren einige vorhanden. Eine von diesem Smegma hergestellte und wie oben angegeben gefärbte Serie von Deckglaspräparaten wurde nun verschieden lange Zeit der Einwirkung der Ehrlich'schen Salpetersäuremischung ausgesetzt.

Die Befunde waren folgende:

1) Hatte das Präparat 1 Minute in der Salpetersäuremischung gelegen, und wurde es dann, nachdem es mit Wasser

abgespritzt und getrocknet war, in Canadabalsam untersucht, so fand sich, dass noch fast alle Epithelzellen ziemlich stark violett gefärbt waren. Die auf ihnen liegenden Bacillen waren tiefdunkelgefärbt, ebenso fast alle die unabhängig von den Epithelzellen freilagen. Die Gesamtzahl der Bacillen war nicht geringer als in den nach Lustgarten behandelten Präparaten des gleichen Smegmas. Die von den Epithelzellen unabhängigen Bacillen repräsentirten die weitaus grösste Menge. Was die Formen anbetrifft, so waren sie die oben angegebenen.

2) Das Präparat hat 3 Minuten in der Salpetersäuremischung verweilt. Die Bacillen sind ebenso reichlich und ebenso gut gefärbt, als in dem vorigen Präparat. Die Epithelzellen sind bedeutend blasser geworden. Der weitaus grösste Theil der Bacillen liegt unabhängig von ihnen.

3) Aehnlich gestalten sich die Befunde, nachdem die Präparate 6—8 ja oft 10 Minuten mit der Salpetersäuremischung behandelt sind. Von der 6. Minute an etwa, manchmal auch schon etwas früher, treten zwischen den dunkelvioletten Bacillen solche auf, die etwas blasser sind, und einen mehr der Methylenblaufärbung nahestehenden Ton angenommen haben. Daneben finden sich dann meist auch noch ganz blasse, manchmal nur noch eben schattenhaft angedeutete in ganz geringer Anzahl.

4) Verweilt das Präparat 10—12 Minuten in der Salpetersäure, so wird die Zahl der Bacillen allmählich geringer. Zuerst treten mehr blasse auf und die meisten der noch vorhandenen gutgefärbten Bacillen sind von einer nicht mehr dunkelvioletten, sondern mehr lichtblauen, dem Methylenblau nahestehenden Färbung. Ebenso erscheinen die Epithelzellen ganz blassblau.

5) Nach etwa 15 Minuten dauernder Einwirkung des Säuregemisches ist der grösste Theil der Bacillen verschwunden. Doch sind gutgefärbte immer noch nichts Seltenes. Es finden sich noch meist in jedem Gesichtsfelde ein oder mehrere sehr gut gefärbte Stäbchen, meist der Form 3 angehörig. Aber auch solche der Form 1 (tuberkelbacillenähnliche) kommen ab und zu vor.

6) Bei noch länger fortgesetzter Säureentfärbung werden die Epithelzellen allmählich ganz farblos; die Bacillen werden



weniger und weniger, doch gelingt es noch in Präparaten, welche 20 Minuten in der Säure verweilt haben, ziemlich gut gefärbte Bacillen in mässiger Anzahl nachzuweisen. Die Färbung derselben ist allerdings blasser, als bei Präparaten, die geringere Zeit der Säure ausgesetzt waren, aber immerhin noch ziemlich gut blau. Wenn zwar bei so langer Säureeinwirkung die meisten noch gefärbten Bacillen auf den Epithelzellen liegen, so sind doch auch unabhängig von den letzteren vorkommende nicht ganz selten.

Aus diesen an einem sehr reichlichen Vulvarsmegma in einer sehr grossen Anzahl von Präparaten erhaltenen Befunden geht hervor, dass die Smegmabacillen in diesem Falle mit sehr grosser Energie den einmal aufgenommenen Farbstoff festhielten. Der grösste Theil der Bacillen blieb bis zu etwa 10 Minuten langer Einwirkung der Säure gut gefärbt. Dann waren bis zu etwa 15 Minuten die gefärbten Bacillen immer noch reichlich, während sie von da ab immer seltener wurden, aber selbst nach 20 Minuten langer Dauer der Säureeinwirkung nicht vollständig fehlten.

In mehreren anderen Fällen von ähnlichem Smegma waren die Befunde fast die gleichen, nur mit dem Unterschiede, dass in einem Falle die Hauptmasse der Bacillen etwas früher entfärbt wurde, im andern etwas später. So war in manchen Fällen noch nach 15 Minuten fast die ganze Menge der Bacillen gut gefärbt, während in anderen Fällen schon nach 7—8 Minuten der grössere Theil der Bacillen sehr blass geworden war und der noch gefärbt gebliebene Theil die dem Methylenblau nahestehende Färbung angenommen hatte. Der Uebergang aus der dunkelvioletten in die Methylenblaufarbe ist aber, wie wir noch später genauer sehen werden, das erste Stadium der beginnenden Entfärbung.

Die Formen der Bacillen, die in allen bisher besprochenen Smegmapräparaten trotz Säureeinwirkung gut gefärbt bleiben, waren meistens mit den oben als Form 3 und 4 beschriebenen übereinstimmend. Es waren kurze oder mittellange Stäbchen, von derselben oder etwas grösserer Dicke wie Tuberkelbacillen; entweder gerade oder leicht gebogen. In einigen Präparaten mehr, in anderen weniger waren ausserdem solche vorhanden,

welche ihrer Form nach fast vollständig den Tuberkelbacillen gleichen (Form 1). In ganz geringer Anzahl fanden sich in einigen Präparaten die ovoiden Gebilde, die ich als Form 7 beschrieben habe. Die Energie, womit diese Formen Säuren gegenüber den Farbstoff festhielten, war bei allen dreien anscheinend die gleiche.

In einem Fall von ziemlich zähem und trockenem Smegma aus dem Präputialsacke hielt der grösste Theil der Bacillen seinen Farbstoff Salpetersäure gegenüber bis zu 20 Minuten energisch fest. Die Bacillen, welche ihrer Form nach zum grösseren Theil der Gruppe 5, zum kleineren den Gruppen 3 und 4 angehörten, waren nach der angegebenen Zeit noch fast sämmtlich dunkelviolet. Dieselben lagen entweder frei, bald in grösseren, bald in kleineren Haufen, oder in manchmal sehr grossen Gruppen auf den Epithelzellen.

Interessant war fernerhin ein Fall von Smegma, das sehr wenig Epithelzellen enthaltend, fast nur aus Mikroorganismen, Kokken und Stäbchen, bestand. In Präparaten von diesem waren nach 7 Minuten langer Dauer der Einwirkung der Salpetersäure, wonach das Präparat bis auf einen leichten blassblauen Schimmer vollständig farblos erschien, noch eben so viele Bacillen gut gefärbt nachzuweisen, als in einem nach der Lustgarten'schen Methode behandelten.

Der Form nach gehörten die Bacillen meistens der Gruppe 3 an, doch kamen auch Repräsentanten der ersten Gruppe nicht selten vor.

Leider war es nicht möglich, die Widerstandsfähigkeit der Bacillen in diesen Präparaten gegen Salpetersäure noch weiter zu prüfen, da bei der geringen Menge des vorhandenen Smegmas nur wenige Deckgläser damit präparirt werden konnten, von denen ein Theil andern, später zu erwähnenden, ebenso wichtigen Versuchen dienen musste.

Es gelang mir ferner, ein Smegma aufzufinden, das fast nur die 6. Form enthielt, nemlich dicke sporentragende Bacillen. Diese Form ist, wie schon oben bemerkt, anscheinend selten im Smegma; wenigstens haben wir sie unter etwa 120 Fällen nur wenige Male gesehen.

Diese Form ist gegen die Lustgarten'sche Methode kaum

weniger widerstandsfähig, als die andern Formen; weniger aber gegen die Einwirkung der Salpetersäure. Doch leistet sie auch dieser immerhin verhältnissmässig lange Widerstand. Nach 5 Minuten dauernder Einwirkung des Säuregemisches sind noch die meisten Bacillen intensiv gefärbt. Dieselben sind sehr reichlich sporentragend. Dort, wo die Sporen sehr dicht stehen, der ganze Bacillus (etwa wie bei älteren Milzbrandbacillen) eine Sporenkette mit etwas tingirbarer Zwischensubstanz darstellt, ist diese letztere meist blass gefärbt. Stehen dagegen die Sporen weniger dicht, sind nur 4—5 in einem längeren Stäbchen vorhanden, so ist die Zwischensubstanz meistens gut gefärbt. Gar keine Sporen enthaltende Bacillen dieser Form, die allerdings selten sind, finden sich sehr intensiv gefärbt. Dieselben erscheinen zugleich graciler, als die sporentragenden, was, sowie auch die mangelhafte Tingirung der Zwischensubstanz bei sporentragenden Stäbchen, darauf hindeutet, dass letztere, im Absterben begriffen pathologische Quellungszustände zeigen, wie man solches ja auch bei andern Mikroorganismen nicht selten beobachtet.

Nach 10 Minuten langer Salpetersäurewirkung auf Präparate, welche diese Bacillen reichlich enthielten, waren letztere vollständig entfärbt, und nur noch gut gefärbte Bacillen der (überhaupt in den Präparaten in geringer Menge vorkommenden) Form 3 gut gefärbt.

Was die Untersuchung des Secretes von breiten Condylomen anbetrifft, welches die Form 1 reichlich und fast ausschliesslich enthielt, so zeigten in derartigen Präparaten die Bacillen eine grössere Empfindlichkeit gegen die Säure. Schon nach einer Minute war ein grosser Theil der Bacillen entfärbt.

Smegma, welches die Form 1 ausschliesslich in grosser Menge enthalten hätte, war ebenso wie solches, dass die aalartigen Gebilde (2) führte, in den letzten Wochen, als diese Versuche angestellt wurden, nicht aufzutreiben, konnte also nicht auf das Verhalten seiner Bacillen gegen Salpetersäure geprüft werden.

Aus allen diesen Versuchen geht hervor, dass im Genital-smegma männlicher und weiblicher Personen Bacillen vorkommen, welche sich bei Anwendung des Ehrlich'schen Verfahrens ähnlich verhalten, wie die Tuberkelbacillen. Das Verhalten der

letzteren gegen Salpetersäure wurde ebenfalls in mehreren Versuchsreihen an tuberculösen Sputis nachcontrolirt. Dabei wurde gefunden, dass sich immerhin Differenzen geltend machen.

Welche von beiden Bacillenarten, Tuberkelbacillen oder Smegmabacillen, die gegen Salpetersäure widerstandsfähigste sei, ist nicht so ganz leicht mit Bestimmtheit zu sagen.

Denn während bei 20 Minuten langer Einwirkung der Säure auf Präparate von tuberculösem Sputum, welches enorme Mengen von Bacillen enthielt, kaum noch Andeutungen von gefärbten Bacillen aufzufinden waren, fand sich in dem oben erwähnten Smegma aus dem Präputialsack nach 20 Minuten langer Säureeinwirkung der grössere Theil der Bacillen noch gut gefärbt.

Doch scheinen im Allgemeinen Tuberkelbacillen die grössere Widerstandsfähigkeit zu besitzen. In den meisten Fällen von Smegmauntersuchungen war, nachdem die Säure 15 Minuten gewirkt hatte, der grösste Theil der Bacillen entfärbt, während in tuberculösen Sputis nach der gleichen Dauer der Säureeinwirkung fast immer noch zahlreiche ziemlich gut gefärbte Bacillen nachgewiesen werden konnten. Bemerkenswerth ist der Umstand, dass bei Tuberkelbacillen die Entfärbung im Grossen und Ganzen eine mehr gleichseitige ist. Das soll heissen:

Nach einer gewissen Dauer der Säureeinwirkung pflegen in einem gleichmässig vertheiltem Präparat wohl zuerst einige Bacillen blass zu werden, während die Mehrzahl noch intensiv gefärbt ist. Dann aber wird bei längerer Säureeinwirkung die ganze Zahl der vorhandenen Bacillen auf einmal blasser und das um so mehr, je länger die Säurewirkung dauert, bis schliesslich fast gleichzeitig alle Bacillen verschwunden sind.

Anders verhält sich die Sache bei Smegmabacillen. Hier hält zwar ebenfalls die grosse Menge der Bacillen der Säure gegenüber bis zu einem gewissen Punkte den Farbstoff fest; dann aber bei weiterer Säurewirkung werden successive immer mehr Bacillen blassblau bis farblos, wobei immer noch eine mehr oder weniger grosse Zahl gut gefärbter zwischen den blassen liegt. Und so wird die Bacillenzahl immer geringer, bis schliesslich kein Bacillus mehr gefärbt erscheint.

Aber auch in Präparaten, in denen bei oberflächlicher Durchmusterung keine gefärbten Bacillen mehr zu sein scheinen,

findet man oft bei genauem Suchen noch eine kleine Gruppe gut gefärbter Bacillen, welche nicht einmal immer auf den Epithelzellen liegen, obgleich sonst im Allgemeinen die hier gelagerten Bacillen den Farbstoff am längsten festzuhalten pflegen.

Diese Beobachtungen, welche man auch bei Entfärbung unter dem Mikroskop direct machen kann, deuten darauf hin, dass bei den Tuberkelbacillen die Bedingungen, welche die Entfärbung durch Säuren verhindern, mehr gleichartige sind, während sie bei den Smegmabacillen offenbar variiren.

Die sprungweise Entfärbung bei den Smegmabacillen ist kaum so zu erklären, dass eine der Formen den Farbstoff früher abgibt, als die andere. Denn unter den jeweilig gut gefärbten Bacillen sowohl, als auch unter den blassen sind fast stets alle die Formen vertreten, welche von gegen Säure widerstandsfähigen Bacillen überhaupt im Präparat vorhanden sind. Bei der Form 6 allerdings, welche erheblich früher, als die anderen Formen den Farbstoff fahren lässt, ist eine Ausnahme von dieser Regel zu constatiren.

Ich werde auf diesen Punkt genauer bei Besprechung der muthmaasslichen Ursache der Farbenreaction der Smegmabacillen zurückkommen.

Alvarez und Tavel haben ihre Hauptversuche über die Widerstandsfähigkeit der Smegmabacillen gegen Salpetersäure an mit Anilinwasserfuchsin gefärbten Präparaten angestellt und behaupten, dass man bei Färbung mit Gentianaviolett oder Methylviolett das Ehrlich'sche Verfahren auf Smegmabacillen nicht wohl anwenden könne. Es blieben wohl einzelne Bacillen gefärbt, aber ebenso gut auch andere Mikroorganismen<sup>1)</sup>. Dass dieses nicht zutreffend ist, wird man aus dem Vorstehenden sehen können.

Die Einwirkungsdauer der Säure geben sie sehr gering an, etwa 15—20 Secunden. Nach meinen Erfahrungen muss ich bezweifeln, ob man in einem Trockenpräparate, das nur einigermaßen viel Epithelzellen enthielt, bei so kurzer Einwirkung der Säure überhaupt brauchbare Bilder erhalten kann. Mir blieben bei so kurzer Einwirkungsdauer fast stets alle Epithelzellen und viele Kokken intensiv gefärbt. Nur beim Secret von

<sup>1)</sup> a. a. O. S. 314.

breiten Condylomen, wo die Bacillen gegen Säuren empfindlicher sind, muss man etwa so vorsichtig mit der Säureentfärbung umgehen.

Wie sich mit Anilinwasserfuchsin gefärbte Smegmabacillen gegen Salpetersäure verhalten, habe ich, da es besser ist, bei derartigen Versuchsreihen zuerst einen bestimmten Farbstoff vollständig nach allen Richtungen hin zu prüfen, noch nicht festgestellt. Das Gentianaviolett glaubte ich in erster Linie berücksichtigen zu müssen, weil R. Koch, die berufenste Autorität in diesen Fragen, bei Tuberculoseuntersuchungen mit demselben arbeitet.

Es galt nun noch festzustellen, ob ausser der sprungweisen Entfärbung, welche Smegmabacillen zeigen, und welche natürlich nur gesehen werden kann, wenn viele Präparate mit reichlichen Bacillen untersucht werden, noch andere Differenzen im Verhalten der Smegmabacillen und Tuberkelbacillen gegen Farbstoffe und Entfärbungsmittel zu Tage träten.

Es wurde in erster Linie die Gegenfärbung versucht.

Nach der bisherigen allgemeinen Annahme wird ja, wenn etwa in mit Salpetersäure entfärbten Präparaten noch etwas blau gefärbt sein sollte, nach Gegenfärbung mit Vesuvin ausser Tuberkelbacillen, stark verhornten Epithelien, Pflanzenfasern, Haaren und den Sporen einzelner Schimmelpilze alles braun gefärbt.

Ich versuchte also, ob Smegmabacillen nach vorgängiger Entfärbung der Präparate mit Salpetersäure durch Vesuvin braun gefärbt würden.

Es wurde benutzt ein von König in Berlin bezogenes Vesuvin, zuerst in folgender Lösung:

Vesuvin 2,0  
Alkohol 20,0  
Wasser 80,0.

Dasselbe färbte in eitrigen Präparaten Kerne und Kokken gut braun, während es für Smegmapräparate nichts leistete. Es wurde deshalb nach der ursprünglichen Vorschrift von Weigert eine Lösung von Vesuvin durch Kochen mit destillirtem Wasser bereitet, welche, nachdem sie filtrirt war, unsere Ansprüche ziemlich befriedigte.

Es folgt Einiges über die Resultate dieser Gegenfärbungsversuche.

Bei Versuchen mit der erstgenannten Vesuvinlösung waren die Bilder meist fast dieselben, wie ohne Gegenfärbung. Nur an den dünnsten Stellen und in gut entfärbten Präparaten wurden Epithelzellen und Kokken schwach braun gefärbt, während die Bacillen überall ihre blaue Farbe behielten. Nur wenige Bacillen waren braun.

Bei Anwendung der concentrirten wässrigen Vesuvinlösung gestaltete sich das Verhältniss anders. Epithelschollen wurden je nach der Dicke braunviolett, grüngelb, gelb oder braun. Die Kokken färbten sich gut braun.

Was die Bacillen betrifft, so war die Zahl der gut blau gefärbten in den gegengefärbten Präparaten fast stets geringer, als in den nicht gegengefärbten. Vergleichende Untersuchungen an verschiedenen Präparaten, sowie direct unter dem Mikroskop vorgenommene Gegenfärbung mit Vesuvin ergaben, dass es die in Salpetersäure schon blass gewordenen Bacillen sind, welche den braunen Farbstoff aufnehmen. Sowie ein Bacillus einmal seine dunkelviolette oder dunkelblaue Farbe verloren und die blassere dem Methylenblau nahestehende angenommen hat, wird er zur Aufnahme des braunen Farbstoffes geeignet. Die dunkelvioletten und die intensiv methylenblau gefärbten Bacillen behalten dagegen ihre blaue Farbe.

Man findet also in Präparaten, die kürzere Zeit in der Salpetersäuremischung waren, und in denen noch die meisten Bacillen dunkelblau sind, auch nach der Gegenfärbung fast ebenso viele Bacillen noch blau. Wenn ihre Anzahl etwas geringer erscheint, so kommt dies daher, weil in jedem dieser Präparate doch wohl schon einige blassere Bacillen waren, welche den braunen Farbstoff aufnahmen.

Ist einmal die Salpetersäurefärbung so weit getrieben, dass nur noch der geringere Theil der Bacillen intensiv blau erscheint, so bekommt man nach der Gegenfärbung oft eigenthümliche Bilder. Während noch ein kleiner Theil der Bacillen intensiv blau ist, zeigt ein mehr oder weniger grosser Theil eine Färbung, von der man kaum sagen kann, ob sie dem Violett näher steht oder dem Braun; man kann sie als braunviolett bezeichnen.

Von ihr bis zur vollständig braunen Färbung der Bacillen kommen dann alle Uebergänge vor.

Alle diese Vorgänge gelten nur für Bacillen, welche unabhängig von den Epithelzellen zwischen Kokken etc. liegen, wie ich hier ausdrücklich bemerken will. Bei den auf den Epithelzellen liegenden Bacillen haben zwar oft dieselben Verhältnisse statt, doch nehmen noch stärker blau gefärbte Epithelzellen den braunen Farbstoff so schlecht an, dass sie höchstens braunviolett werden. Die auf ihnen liegenden Bacillen erscheinen dann meist tiefblau. Ebenso ein grosser Theil der auf den braunen Epithelzellen liegenden Bacillen, obwohl hier, besonders in länger entfärbten Präparaten oft dieselbe Farbenscala vom Violett zum Braun sichtbar wird, wie bei den freiliegenden Bacillen.

Diejenigen Bacillen also, die nach Salpetersäureentfärbung noch intensiv blau sind, behalten auch nach Gegenfärbung (welche ca. 1 Minute lang dauernd geübt wurde) ihre blaue Farbe. Die blasseren dagegen nehmen die Vesuvinfärbung an, indem sie, je nachdem sie noch mehr oder weniger blau waren, braunviolett oder braun werden.

Dadurch dass die blassblauen oder blassen Smegmabacillen sich beim Uebergiessen der Präparate mit Vesuvin färben, wird bewiesen, dass dieselben mit Vesuvin überhaupt tingirbar sind.

Nun sind zwar Tuberkelbacillen, wie Koch<sup>1)</sup> angiebt, unter gewissen Bedingungen auch mit Vesuvin anfärbbar. Unter gewöhnlichen Verhältnissen gelingt dies jedoch nicht. Weder gelingt es in einem Trockenpräparat ohne weitere Behandlung Tuberkelbacillen mit Vesuvin zu tingiren (wohl dagegen Smegmabacillen), noch nehmen Tuberkelbacillen, welche mit Anilinvassergentianaviolett gefärbt durch Salpetersäure zum äussersten Grade der Blässe gebracht sind, jemals bei Gegenfärbungsversuchen Vesuvin an.

Bei den intensiv blau gefärbten Smegmabacillen ist es wahrscheinlich der in grosser Menge in den Bacillen angehäuften blaue Farbstoff, der das Eindringen des braunen Farbstoffes hindert; bei Tuberkelbacillen liegt es in der Beschaffenheit des Bacillus an sich, dass sie sich mit Vesuvin nicht färben lassen.

<sup>1)</sup> a. a. O. S. 14.



Es wurde noch ferner der Versuch gemacht, ob es nicht möglich sei, aus mit Anilinwassergentianaviolett gefärbten Präparaten von tuberculösem Sputum und von Smegma den blauen Farbstoff durch einfache Einwirkung von Vesuvin zu verdrängen und so die Bacillen blau auf braunem Grunde zu erhalten. Als dahin gehende Versuche mit kaltem Vesuvin zu keinem Resultate führten, so wurde heisses Vesuvin, das eben im Reagensglas aufgeköcht war, verwendet. Der Erfolg war, dass die Präparate in kurzer Zeit braun wurden. Von Tuberkelbacillen war nichts mehr zu entdecken, obgleich sie in Controlpräparaten sehr reichlich vorhanden waren; die Smegmabacillen waren dunkelbraun geworden.

Tavel hatte bei Gelegenheit der Discussion zu dem Vortrage von Klemperer<sup>1)</sup> gesagt, Smegmabacillen seien auch dadurch von Tuberkelbacillen zu unterscheiden, dass sich erstere in concentrirter Salpetersäure sofort entfärbten. Das ist nicht richtig. Nachdem die concentrirte Säure eine Minute auf die Präparate eingewirkt hat, — eine Zeit, welche man Tuberkelbacillen gewöhnlich höchstens in der verdünnten Säure zu lassen pflegt, ergab sich in verschiedenen Fällen folgender Befund:

Sowohl in nicht gegengefärbten, wie in gegengefärbten Präparaten noch reichliche gut blau gefärbte Bacillen der Form 3. Tuberkelbacillen waren nach 1 Minute langer Einwirkung von Acidum nitricum purum concentratum noch ziemlich gut blau. Nach 2 Minuten langer Einwirkung waren Smegmabacillen nicht mehr gefärbt, die Tuberkelbacillen sehr blass geworden.

Ein letzter Punkt endlich, der Tuberkelbacillen von Smegmabacillen unterscheiden soll, ist die verschiedene Toleranz, welche beide Bacillenarten nach Entfärbung der Präparate mit Salpetersäure (1:2 Wasser) gegen Alcohol absolutus haben sollen. Sowohl Alvarez und Tavel, als auch Klemperer geben an, dass Smegmabacillen nach Entfärbung der Präparate mit Salpetersäure durch Behandlung mit absolutem Alkohol fast momentan entfärbt werden, während Tuberkelbacillen ohne an ihrer Farbe Schaden zu nehmen, längere Zeit den Alkohol vertragen.

Im Allgemeinen trifft das auch nach meinen Versuchen zu, doch habe ich auch in dieser Hinsicht manchmal Dinge gesehen,

<sup>1)</sup> a. a. O.

welche in der Verwendung dieses differentialdiagnostischen Moments zur Vorsicht mahnen.

In mit Anilinwassergentianaviolett gefärbten und mit Salpetersäure (1:2) entfärbten Präparaten von Smegma wird von den blaugefärbten Bacillen der Farbstoff fast momentan an absoluten Alkohol abgegeben. Mag das Präparat  $\frac{1}{2}$  Minute oder 20 Minuten in der Salpetersäure verweilt haben, mag es viele oder wenige blaugefärbte Bacillen enthalten, stets ist nach Einwirkung von absolutem Alkohol die allergrösste Menge der Bacillen entfärbt. Nur ganz selten begegnet man noch einem gutgefärbten Bacillus, der entweder frei oder auf einer Epithelzelle liegt und auch nach Gegenfärbung mit Vesuvin seine blaue Farbe behält. Lässt man den Alkohol eine Minute einwirken, so wird man in den meisten Fällen keinen Bacillus mehr blaugefärbt finden.

Behandelt man die gefärbten Smegmapräparate vor der Einwirkung der Salpetersäure etwa  $\frac{1}{2}$ —1 Minute mit absolutem Alkohol, so erhält man in den meisten Fällen nach noch so kurzem Verweilen des Präparates in der Salpetersäure keine gefärbten Bacillen mehr. Der grösste Theil der ursprünglich gefärbt gewesenen Bacillen war, wie Controluntersuchungen lehrten, schon im Alkohol fast farblos geworden.

Dies war der Befund in den meisten Fällen. Aber es giebt auch Smegma, in dem die Bacillen gegen Alkohol weit toleranter sind. Unter welchen Bedingungen dies statthat, lässt sich ohne weiteres nicht sagen, da wir ja überhaupt die Umstände, welche die Smegmabacillen befähigen, Säuren gegenüber den Farbstoff zu halten, nicht, oder doch nur unvollkommen kennen. Indessen die Thatsache steht fest, dass es Smegmabacillen giebt, oder besser dass es Smegma giebt, in dem die Bacillen eine ziemlich grosse Toleranz gegen Alkohol haben, wie folgende Versuchsreihen beweisen mögen.

Es handelt sich um Smegma von einer Person, bei welcher dasselbe zwischen grossen und kleinen Labien in bedeutender Menge sich angehäuft hatte und ungemein reichlich Bacillen enthielt, besonders solche von der Form 3, doch auch tuberkelbacillenähnliche.

Die Entfärbung wurde, nachdem die Präparate etwa 5 Mi-

nuten auf dem Uhrsälchen bei 70° C. gefärbt waren, in folgender Weise vorgenommen. Zuerst Einwirkung von

Salpetersäure (1 : 2 Wasser)

1 Minute.

Dann: Alcohol absolutus . 15 Sec.

Acid. nitric. (1 : 2) 15 -

Alcohol abs. . . . 15 -

Acid. nitric. . . . 15 -

Alcohol abs. . . . 15 -

Acid. nitric. . . . 15 -

Alcohol abs. . . . 15 -

Acid. nitric. . . . 15 -

Alcohol abs. . . . 15 -

Also in Summa 2 Minuten Salpetersäure und  $1\frac{1}{2}$  absoluter Alcohol. Das Präparat wurde in Wasser gewaschen und in Xylolcanadabalsam untersucht. Das über den Befund aufgenommene Protocoll lautet: Die dicken Züge des Präparates noch ganz schwach blassblau. In denselben, sowie in den fast farblosen Epithelzellen in kleinen Haufen mittelstark gefärbte Bacillen verschiedener Formen. Vereinzelt oder zu zweien und dreien findet man fast in jedem Gesichtsfeld tiefdunkelblaue Bacillen und zwar meistens freiliegend. Dieselben sind kurz oder mittellang, von Tuberkelbacillendicke oder etwas dicker.

Ebenso behandelte, aber mit Vesuvin gegengefärbte Präparate zeigen Folgendes: Epithelzellen meist gut braun. In denselben, sowie freiliegend zahlreiche Bacillen braun oder braunviolett bis zum vollständigen Ueberwiegen des braunen Tones. Ausserdem finden sich aber meist freiliegend, wenn auch nicht eben reichlich (etwa wie im vorigen Präparate) tiefdunkelblaue Bacillen vereinzelt oder in Gruppen von drei oder vier. Ihre Form ist verschieden, doch prävalirt die Form 3. Tuberkelbacillenähnliche werden ebenfalls gefunden.

Hierzu will ich noch bemerken, dass diese Präparate Anfang Juli 1885 angefertigt wurden, und in den aufbewahrten heute, also nach fast 8 Monaten, noch derselbe Befund zu constatiren ist.

Entfärbung von Präparaten desselben Falles mit salpetersaurem Alcohol (3 Th. Acid. nitric. pur. conc. auf 100 Th. Alcohol absolutus) während  $2\frac{1}{2}$  Minuten lässt noch ab und zu ein

schlankes Stäbchen gut gefärbt. Werden die Präparate  $\frac{1}{2}$  Minute mit Vesuvin gegengefärbt, so sind ebenfalls noch ab und zu blau gefärbte Stäbchen aufzufinden.

In einem anderen Falle von ebenfalls zwischen grossen und kleinen Labien entnommenem Smegma wurden folgende Befunde erhoben: Nach Einwirkung von  $33\frac{1}{3}$ procentiger Salpetersäure auf die mit Anilinwassergentianaviolett gefärbten Präparate während ca.  $1\frac{1}{2}$  Minuten alternirend mit Alcohol absolutus, im Ganzen etwa ebenso lange, waren noch zahlreiche Bacillen dunkelblau gefärbt. Die Befunde variirten indessen insofern, dass nach derselben Zeit bald mehr, bald weniger Stäbchen gut gefärbt blieben.

Nach Einwirkung des Orth'schen salzsauren Alkohols (1 Th. Salzsäure zu 100 Th. 70procentigem Alcohol) während  $2\frac{1}{2}$  Minuten waren noch zahlreiche Bacillen gut blau. Auch lange Leptothrixfäden blieben gut gefärbt, welche jedoch nach Einwirkung von Vesuvin sofort braun wurden, während die Bacillen meist ihre blaue Farbe behielten.

Bei längerer Einwirkung des Farbstoffes scheinen die Bacillen denselben gegen Alcohol noch länger zu halten. Wenigstens fand sich in einem Falle, in dem die Präparate zuerst vollständig, wie Lustgarten angiebt, gefärbt waren und dann noch 48 Stunden bei Zimmertemperatur auf der Farblösung gelegen hatten, dass nach Einwirkung von  $33\frac{1}{3}$ procentiger Salpetersäure anwechselnd mit absolutem Alcohol, bis die Präparate farblos erschienen, noch zahlreiche Bacillen tiefdunkelblau gefärbt waren.

Es ergiebt sich aus vorstehenden Versuchen, dass unter Umständen Smegmabacillen dem Alcohol einen ziemlich grossen Widerstand entgegensetzen, in der Regel aber durch ihn sehr rasch entfärbt werden. Aber auch Tuberkelbacillen scheinen nach der Salpetersäureeinwirkung empfindlicher gegen absoluten Alcohol zu sein, als man wohl anzunehmen geneigt ist.

Nach 2 Minuten langer Einwirkung von Salpetersäure 1:2 auf ein Präparat von tuberculösem Sputum fanden sich in dem farblosen Präparat enorme Mengen vorzüglich gefärbter Bacillen. Wurden die Präparate dann 1 Minute in absoluten Alcohol gebracht, so waren die Bacillen wohl ebenso reichlich wie vorher, doch waren sie bedeutend blasser. Nach 4 Minuten Salpetersäure wurden sie durch 2 Minuten Alcohol noch weit blasser

und nach 3 Minuten Alkohol waren die meisten nur noch schattenhaft angedeutet. In weiterem Umfange wurden diese Versuche nicht angestellt, doch lehren sie, dass man auch bei Tuberkelbacillen mit absolutem Alkohol vorsichtig sein und lieber nach Koch's Angabe 70procentigen Alkohol verwenden soll, wenn man mit Salpetersäure und Alkohol entfärben will.

Und dieses letztere ist jedenfalls ausgiebig zu thun, wo es sich um Differentialdiagnose von Tuberkelbacillen und Smegmabacillen handeln könnte, wie bei Verdacht auf Urogenitaltuberculose.

Für Sputum- und Schnittuntersuchungen kommen die Smegmabacillen als Doppelgänger der Tuberkelbacillen wohl nicht in Betracht. Die ganze Sache hat überhaupt mehr theoretisches als praktisches Interesse. Wir sehen aus den färbereischen Eigenthümlichkeiten der Smegma- und Tuberkelbacillen, dass die Ursache der identisch scheinenden Farbenreactionen wahrscheinlich keine einheitliche ist, wie ich im Folgenden etwas näher zu begründen versuchen werde.

Es scheint, dass im einen Falle die Ursache der Reaction im Bacillus selbst liegt, im anderen dem den Bacillus umgebenden Medium die Schuld an derselben beizumessen ist. Es sprechen dafür mehrere Gründe.

Schon oben habe ich bemerkt, dass bei forcirter Anwendung der Salpetersäureentfärbung der Tuberkelbacillen in der Regel die Entfärbung so vor sich geht, dass die Bacillen bei je längerer Einwirkung der Säure um so blasser werden, ohne dass ihre Zahl merklich geringer wird und dass schliesslich fast alle Bacillen auf einmal verschwinden, dass dagegen bei den Smegmabacillen die Entfärbung mehr sprungweise eintritt, d. h., dass neben blassen und farblosen Bacillen in allen Phasen der Entfärbung noch gut gefärbte vorkommen, ohne dass man (mit der oben statuirten Ausnahme der Form 6) sehen kann, dass es gerade eine bestimmte Form ist, die sich früher entfärbt, als eine andere. Dieser Umstand macht es wahrscheinlich, dass bei den Tuberkelbacillen die Ursache der Reaction in den Bacillen selbst liegt, zumal sie in Schnitten und in Secreten jedweder Natur, auch in Reinculturen stets in fast gleicher Weise die Fähigkeit besitzen, Säuren gegenüber den Farbstoff zu halten.

Dass bei den Smegmabacillen das Medium, in dem sie gefunden werden, das die Widerstandsfähigkeit gegen Säuren abgebende Moment sei, macht ausser der sprungweisen Entfärbung, welche darauf hinweist, dass an der einen Stelle das die Entfärbung hindernde Moment stärker wirkt als an anderen (zumal gerade kleine Gruppen von Bacillen auffallend lange gefärbt bleiben), die Polymorphie der widerstandsfähigen Bacillen im Smegma wahrscheinlich. Acht oder noch mehr verschiedene Formen, welche vielleicht ebenso viel Arten entsprechen, sollten an einer bestimmten Stelle zusammen vorkommend alle dieselbe Farbenreaction zeigen, während bei unzähligen Bacillenarten, die anderswo vorkommen, nie diese Reaction gefunden wird!

Weiterhin ist bemerkenswerth, dass ganz dieselben Bacillenformen, wenn sie auf breiten oder spitzen Condylomen vorkommen, weit empfindlicher gegen Salpetersäure sind, als im Smegma. Es könnte sich ja hier trotz der übereinstimmenden Form der Bacillen in beiden Secreten um verschiedene Arten handeln; doch wäre dies vielleicht wohl bei Uebereinstimmung bloss der einen oder anderen Form wahrscheinlich, dagegen bei der constanten morphologischen Uebereinstimmung so vieler Formen in Smegma und den Secreten der Condylome kaum wahrscheinlich. Erklärt man aber die auf breiten und spitzen Condylomen vorkommenden, gegen Salpetersäure empfindlicheren Bacillen für identisch mit den Smegmabacillen, mit denen sie in ihren morphologischen Charakteren übereinstimmen, so kann man kaum umhin anzunehmen, dass die Resistenzfähigkeit dieser Bacillen nicht bestimmt wird durch den Bacillen stets immanente Eigenschaften, sondern durch Eigenthümlichkeiten des Nährbodens auf dem sie gedeihen.

Dann erklärt sich auch, warum im einen Smegma die Bacillen toleranter gegen Salpetersäure sind als im anderen.

Bei directer Untersuchung der gefärbten Smegmapräparate in Wasser sieht man oft, dass fast alle Bacillen einzeln oder zu kleinen Gruppen von unregelmässigen farblosen Höfen eingeschlossen sind. Entfärbt man das Präparat, so dass nur noch die Bacillen gefärbt bleiben, so sind diese Höfe bei erneuter Untersuchung in Wasser noch wahrzunehmen und zeigen dann ein ähnliches eigenthümliches Lichtbrechungs- und Zerstreuungs-

vermögen, wie man es an kleinen Fetttropfen unter dem Mikroskop wahrzunehmen gewohnt ist. Ob diese Einhüllung der Bacillen zu deren Resistenzfähigkeit gegen Säuren in ursächlicher Beziehung ist, kann ich nicht einmal vermuthungsweise sagen. —

Die Beeinflussung der Bacillen, in Bezug auf ihre Entfärbbarkeit durch das Medium, in dem sie vegetiren, kann man sich etwa folgendermaassen vorstellen.

Es ist denkbar, dass die äussersten Schichten der Bacillen, also ihre präsumtive Membran, im Smegma mit Stoffen durchtränkt ist, welche die Diffusion gewisser Substanzen durch dieselben erschweren. Einen solchen oder mehrere solche Stoffe könnte man sich im Smegma, wo so mannichfache Zersetzungs Vorgänge organischer Substanzen vor sich gehen, recht wohl vorhanden denken. Warum in verschiedenen Smegmaarten die Bacillen verschieden widerstandsfähig sind, könnte man dann so erklären, dass entweder der die äusseren Schichten der Bacillen durchtränkende Stoff in den verschiedenen Smegmaarten verschieden ist, oder aber derselbe Stoff in verschiedener Menge vorhanden ist, so dass im einen Secret die Aussenschichte damit stärker, im andern weniger stark damit imbibirt wäre. Auch die verschiedene Empfindlichkeit der Bacillen im Smegma und im Secret der Condylome liesse sich auf diese Weise deuten.

Warum im selben Smegma bei Bacillen derselben Form einige Bacillen früher, andere später entfärbt werden, würde einerseits vielleicht auf eine ungleichmässige Vertheilung des die Membranen imbibirenden Stoffes im Smegma zu beziehen sein, wofür spricht, dass die bis zuletzt gefärbt bleibenden Bacillen oft in kleinen Gruppen liegen, andererseits aber vielleicht auch auf Altersdifferenzen der Bacillen hindeuten, aus denen vielleicht geringere Aufnahmefähigkeit für Farbstoff oder auch eine mindere Imbibitionsfähigkeit der Membranen für den die Entfärbung hindernden Stoff bei den verschiedenen Altersstufen resultirte.

Es ist nun die Widerstandsfähigkeit der Bacillen im Smegma gegen Salpetersäure nicht in der Weise zu deuten, als ob die Salpetersäure überhaupt nicht in die Bacillen eindringen könnte. Das thut sie ganz gewiss.

Denn wie man sich bei directer Beobachtung des Entfärbungs-

vorganges unter dem Mikroskop überzeugen kann, zeigen die Bacillen gleich nach dem Zufließenlassen der Salpetersäure, ebenso wie die Epithelien, den bekannten Farbenwechsel, den eine wässrige Lösung von Gentianaviolett im Reagensglase beim allmählichen Zusetzen von Salpetersäure darbietet. Sie werden erst hellblau, dann grün, grüngelb, gelb und schliesslich farblos. Setzt man nun Wasser zu, so kehrt in umgekehrter Reihenfolge die violette Farbe zurück.

Der Farbstoff wird wahrscheinlich durch die Salpetersäure oxydirt; setzt man Wasser zu, so wird das gelbe oder farblose Product wieder in den ursprünglichen Farbstoff zurückverwandelt.

Der durch Salpetersäure veränderte Farbstoff ist aber in Salpetersäure selbst schwer löslich und wird daher erst allmählich von derselben aus den Bacillen ausgezogen. Denkt man sich nun die Aussenschichten des Bacillus durch den im Smegma supponirten Stoff in den Stand gesetzt, auch ihrerseits noch der Diffusion des gelösten Farbstoffes nach aussen hinderlich im Wege zu stehen, so wird man sich erklären können, warum auch nach langer Salpetersäurewirkung durch Wasserzusatz immer noch Bacillen wieder blau werden. Es bleibt eben noch lange in den Bacillen veränderter Farbstoff zurück, der bei Wasserzusatz in den ursprünglichen blauen Farbstoff zurückverwandelt werden kann.

Warum es gerade die Bacillen sind, und nicht die Kokken, welche den Farbstoff so lange halten, ist nicht so leicht zu sagen; möglich, dass die Kokken überhaupt weniger Farbstoff aufnehmen, wie die Bacillen. Dass letztere sich sehr stark mit Farbstoff vollsaugen, dafür spricht ihre tief dunkelblaue, fast schwarze Farbe, die mit der mehr lichtblauen Färbung der Kokken auffallend contrastirt. Uebrigens bleiben in manchen Präparaten auch Kockengruppen bei Salpetersäureentfärbung oft längere Zeit gut blau. Man hat im Allgemeinen den Eindruck, dass die Resistenz der gefärbten Kokken gegen Salpetersäure im Smegma erheblich grösser ist, als z. B. im tuberculösen Sputum, in welchem Kokken durch Salpetersäure fast momentan entfärbt werden.

Die Empfindlichkeit der nach Salpetersäureeinwirkung ge-



färbt gebliebenen Smegmabacillen gegen Alkohol kann man so erklären, dass vielleicht der in den Bacillen enthaltene Farbstoff, der in Alkohol ungemein leicht löslich ist, deshalb so rasch den Bacillus verlässt, weil Alkohol zugleich den der Diffusion ungünstigen Stoff in der Membran des Bacillus entfernt. Wenigstens spricht dafür eine gleich zu erwähnende Thatsache.

Welcher Natur der die Aussenschichten des Bacillus durchtränkende Stoff im Smegma sei, ist vorläufig nicht mit Sicherheit zu bestimmen. In manchen Fällen ist er vielleicht in Alkohol und Aether löslich.

Wenn man Deckglaspräparate von Smegma, ohne sie trocknen zu lassen, zuerst vorsichtig in absoluten Alkohol bringt und darin 12 Stunden verweilen lässt, dann dieselben in Aether überträgt, worin sie 24 Stunden verweilen, nach dieser Zeit die Deckgläschen nochmals in absolutem Alkohol abspült und trocknen lässt, so waren in vielen Fällen auch bei vorsichtigster Anwendung des Lustgarten'schen Verfahrens keine gefärbten Bacillen mehr zu sehen, obwohl sie in nicht mit Aether behandelten Controlpräparaten, die in derselben Farblösung gefärbt waren, sich reichlich fanden und auch in nur gefärbten aber nicht entfärbten Aetherpräparaten reichlich gut gefärbte Bacillen sich fanden.

In andern Fällen dagegen blieben in vor der Färbung mit Alkohol und Aether, wie angegeben, behandelten Präparaten nach der Lustgarten'schen Methode noch Bacillen gefärbt.

Im Smegma, das fast nur die Form 6 enthielt, waren in den mit Aether behandelten Präparaten nach der Lustgarten'schen Methode niemals mehr gefärbte Bacillen zu erhalten.

Wurden in ähnlicher Weise mit Aether behandelte Präparate von Smegma mit Salpetersäure entfärbt, so war in den bis jetzt untersuchten Fällen niemals mehr ein Bacillus auch bei nur 10 Secunden langer Salpetersäureeinwirkung gefärbt aufzufinden, obwohl die Epithelzellen noch tief dunkelblau waren und in Controlpräparaten reichlich gegen Salpetersäure widerstandsfähige Bacillen gefunden wurden.

Präparate vom Secret breiter Condylome, mit Aether behandelt, zeigten in ihrem Verhalten Entfärbungsmitteln gegenüber keinen merkbaren Unterschied. Die damit angestellten Versuche sind übrigens nicht zahlreich.

Vielleicht handelt es sich in den Fällen, in denen Aetherbehandlung die Entfärbbarkeit der Bacillen begünstigt, um einen fettähnlichen Stoff, der die Membranen durchtränkt.

In den Fällen, wo Aether nichts leistet, ist es wohl ein anderer durch Aether und Alkohol nicht ausziehbarer Stoff, der die Entfärbung hindert.

Aus den sämtlichen Versuchen geht also hervor, dass sowohl Smegma- als Tuberkelbacillen eine grosse Widerstandsfähigkeit gegen die entfärbende Kraft der Salpetersäure besitzen. Zugleich aber auch mit grosser Wahrscheinlichkeit, dass die Ursache dieser Widerstandsfähigkeit bei den beiden Bacillenarten eine verschiedene ist. Differentialdiagnostisch ist das verschiedene Verhalten gegen Alkohol am brauchbarsten.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, meinem verehrten Lehrer Herrn Dr. Matterstock für die mir stets bei meinen Arbeiten erwiesene freundliche Anregung und Hülfe so wie speciell für seinen Rath bei dieser Arbeit zu danken.

## Erklärung der Abbildungen.

### Tafel III.

- Fig. 1. Syphilisbacillen im Schnitt einer Sclerose, freiliegend auf den Bindegewebsfasern und in einer Zelle.
- Fig. 2. Bacillen aus dem Secret einer breiten Papel des Anus. Form 1. Anlage eines ringförmigen Haufens. (Lustgarten'sche Methode.)
- Fig. 3. Dasselbe. Dichte Gruppierung der Bacillen.
- Fig. 4. Dasselbe. Ausgebildeter ringförmiger Haufen.
- Fig. 5. Form 2. Aus dem Präputialsmegma eines 70jährigen Mannes. (Lustgarten'sche Methode.)
- Fig. 6. Verschiedene Formen von Smegmabacillen aus dem Vulvarsmegma. Die Zahlen geben die Form an. (Ehrlich'sche Methode.)
- Fig. 7. Form 3 und 5 aus Vulvarsmegma. (Ehrlich'sche Methode.)
- Fig. 8. Form 6 aus Vulvarsmegma. (Ehrlich'sche Methode.)
- Fig. 9. Form 1, 3 und 4 aus dem Secret eines breiten Condyloms des Anus. (Lustgarten'sche Methode.)
- Fig. 10. Form 4. Lagerung in dicken Haufen. Secret eines breiten Condyloms. (Lustgarten'sche Methode.)
- Fig. 11. Bacillen der verschiedensten Formen aus dem Vulvarsmegma. (Lustgarten'sche Methode.)