

larpathologie ausgegangen ist und dass sie auch nachher den deckenden Schild geliehen hat, um jeden Angriff principiell abzuwehren.

Und so möge denn dieses Archiv fortfahren, seine Stellung in der Welt zu behaupten, in der Fortführung des begonnenen Werkes und in der Zuversicht steten Fortschrittes.

II.

Ueber Reincultur des Actinomyces und seine Uebertragbarkeit auf Thiere.

Von Prof. Max Wolff und Dr. James Israel

in Berlin.

(Hierzu Taf. I—VIII.)

Die nachfolgenden Untersuchungen beschäftigen sich mit der Aetiologie der Actinomykose, einer Krankheit, welche seit längerer Zeit bereits in hohem Grade die Aufmerksamkeit der ärztlichen Welt in praktischer, wie wissenschaftlicher Hinsicht auf sich gezogen hat. Trotzdem im Laufe der letzten Jahre eine Anzahl von Veröffentlichungen über gelungene Reinculturen des Strahlenpilzes erschienen sind, können dieselben doch keineswegs als entscheidende Lösungen des Problems betrachtet werden, da bei den vielfach widersprechenden Angaben der verschiedenen Forscher über wichtige Punkte der Entwicklung des Pilzes gerade der einzige zwingende Beweis für die Richtigkeit der mitgetheilten Züchtungsergebnisse in einwandfreier Weise bisher aussteht, nemlich die Hervorbringung typischer Impfactinomykose durch Uebertragung der angeblich gewonnenen Reinculturen auf Thiere. — Als wir unsere seit dem 22. December 1889 begonnenen Versuche im Wesentlichen zum Abschlusse gebracht und die Resultate derselben in der Berliner Medicinischen Gesellschaft am 12. März 1890, — in der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie am 11. April 1890 und auf dem internationalen Congress zu Berlin am 5. August 1890 demonstriert hatten, waren Mit-

theilungen über Versuche, den *Actinomyces* zu cultiviren, von O. Israel¹⁾, von Boström²⁾, von Paltauf³⁾, von Kischensky⁴⁾, von Afanassiew und Schulz⁵⁾, sowie von Bujwid⁶⁾ erschienen. Von allen diesen Autoren finden sich angeblich erfolgreiche Thierversuche nur bei Afanassiew erwähnt, während Boström bezüglich derselben auf eine spätere Publication verweist, welche bis zum Abschlusse unserer Untersuchungen noch nicht erschienen war.

Die mitgetheilten Uebertragungsversuche des russischen Forschers, die bis zur Fertigstellung unserer Erfahrungen veröffentlicht worden waren, können wir nun aber durchaus nicht als überzeugende betrachten, da die diesbezüglichen ganz aphoristischen Mittheilungen keinen Einblick in den anatomischen Befund der angeblich bei den Thieren erzeugten Krankheit gestatten, andererseits in ganz wesentlichen Punkten mit unseren durchaus constanten Versuchsergebnissen im Widerspruch stehen. Sie scheinen übrigens auch dem Autor nicht genügend beweiskräftig gewesen zu sein, da er in seiner ausführlichen Publication⁷⁾ für das Frühjahr eine neue Reihe von Impfungen an solchen Thieren in Aussicht stellt,

„welche, wie Kälber, Schweine u. a., die grösste Empfänglichkeit für Actinomykose zeigen.“

Ueber die vorausgegangenen Culturversuche anderer Forscher (Kischensky, Boström) äussert sich Afanassiew sehr abfällig. Er erkennt Boström's Resultate nicht an, indem er meint, dass die Bacillen und Kokken in Boström's Culturen Verunreinigungen, die dichotomisch verzweigten Fäden aber augenscheinliche Ueberreste des bei der Impfung eingeführten Materiales seien.

¹⁾ Dieses Archiv Bd. 95. S. 140.

²⁾ Bericht über die Verhandlungen des IV. Congresses für innere Medicin. Wiesbaden 1885.

³⁾ Sitzungsberichte der k. k. Gesellschaft der Aerzte. Wien 1886.

⁴⁾ Medicinische Rundschau Moskau. Bd. XXIX. 1888. S. 989 (russisch) u. Archiv f. Pathologie u. Pharmacie. Bd. XXVI. 1889. S. 79.

⁵⁾ Bericht über die Sitzungen des III. medicin. Congresses Russlands. Wratsch 1889. No. 2. p. 47 (ref. in der Münch. Med. Wochenschr. 1889).

⁶⁾ Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenkunde. 1889. No. 23.

⁷⁾ Journal d. III. Congresses russ. Aerzte. No. 6. S. 183 — 186 (russisch).

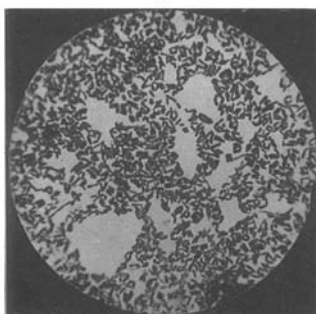
1.



2.



5.



6.



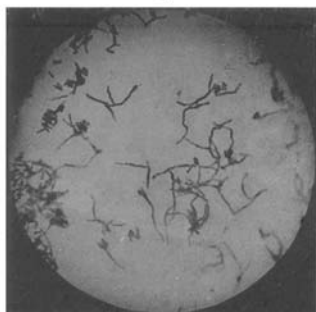
3.



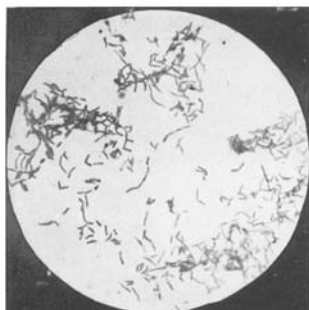
4.



7.



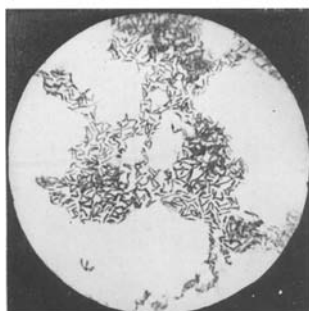
1.



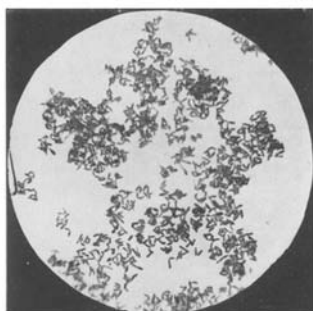
2.



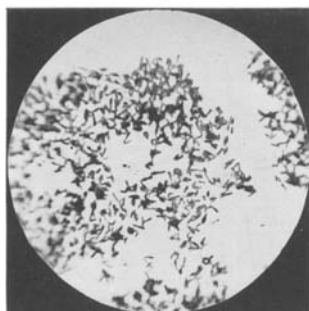
3.



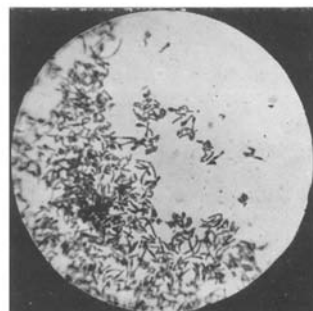
4.



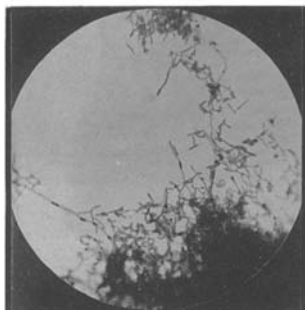
5.



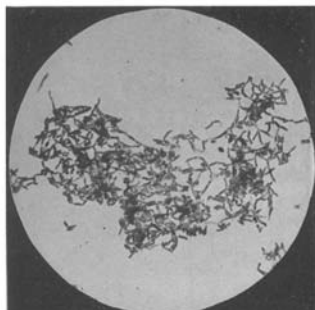
6.



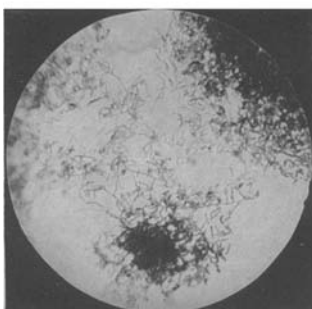
1.



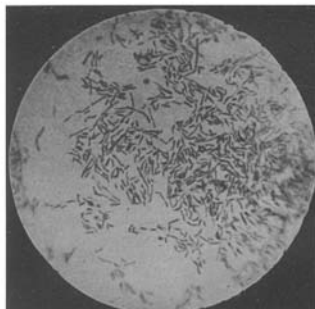
2.



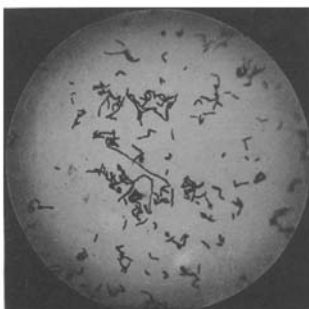
3.



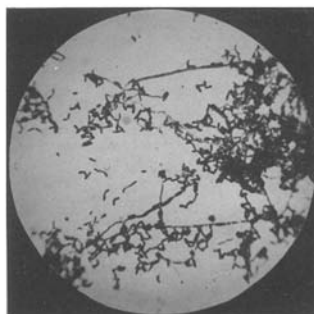
4.



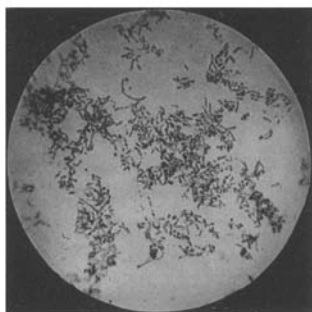
5.



6.



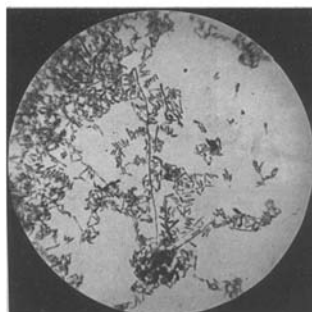
1.



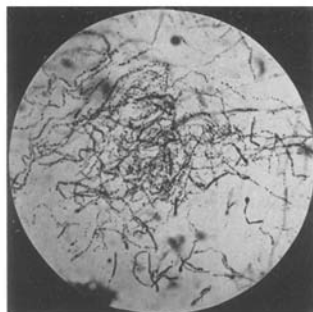
2.



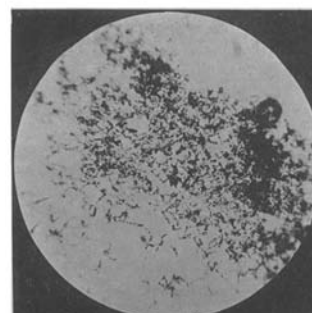
3.



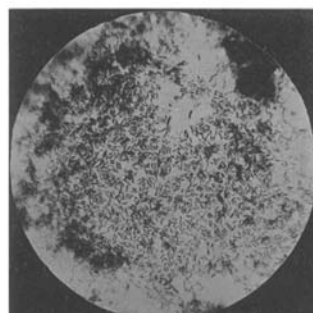
4.



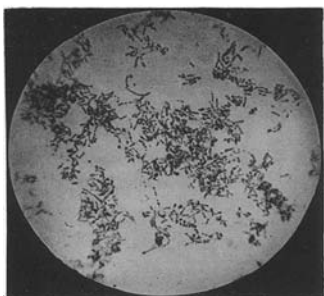
5.



6.



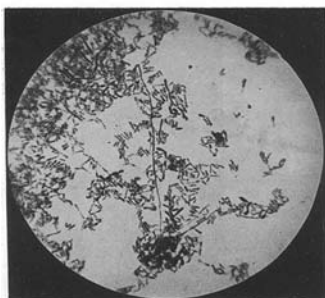
1.



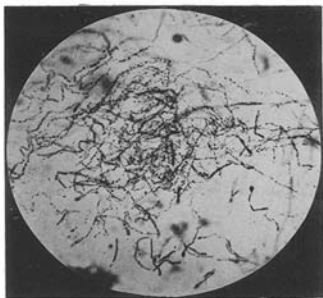
2.



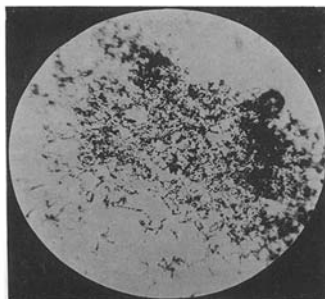
3.



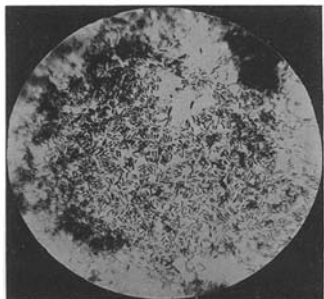
4.



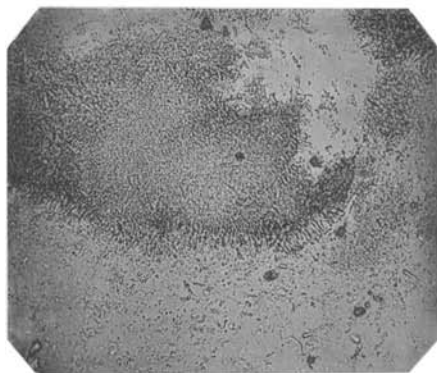
5.



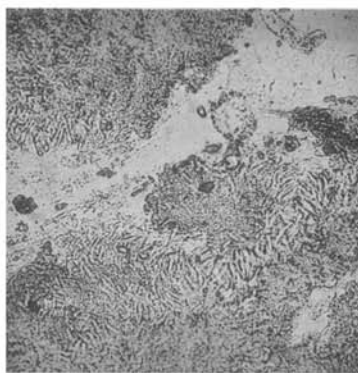
6.



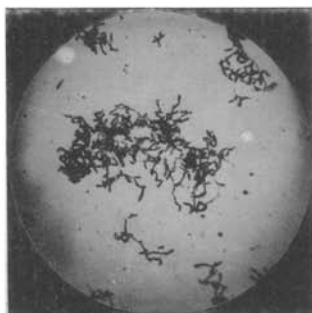
1.



2.



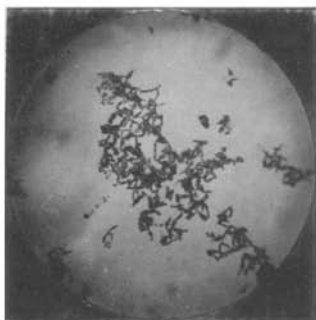
3.



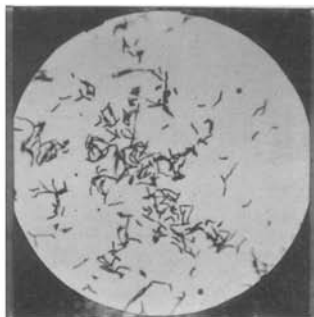
4.



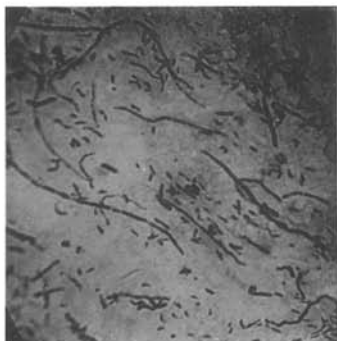
5.



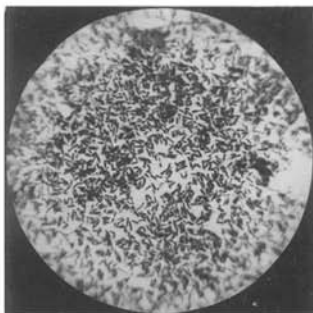
6.



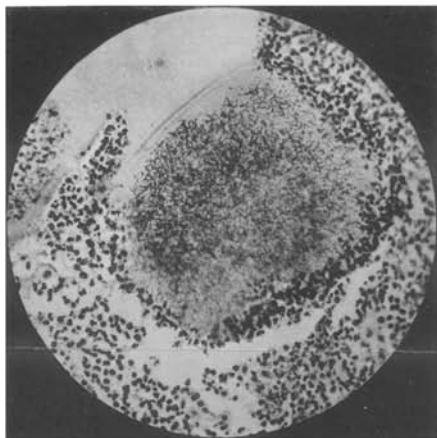
1.



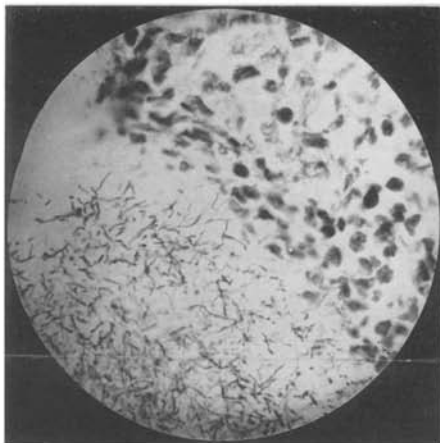
2.



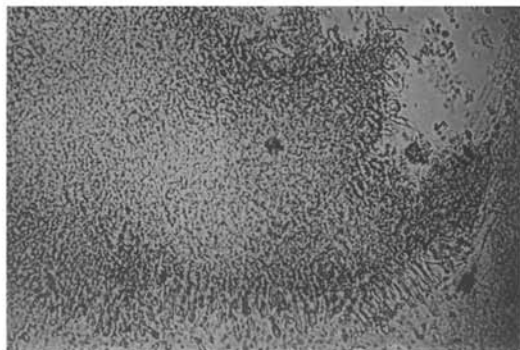
3.



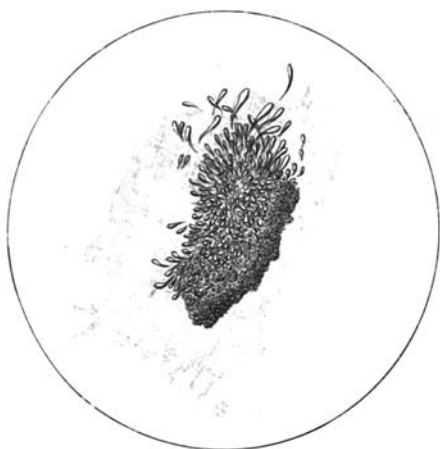
4.



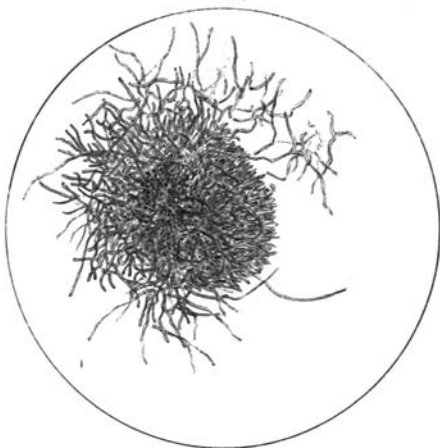
5.



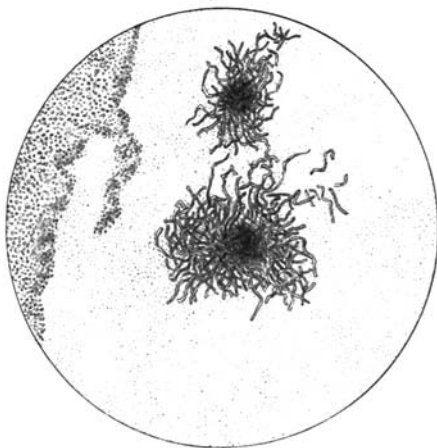
1.



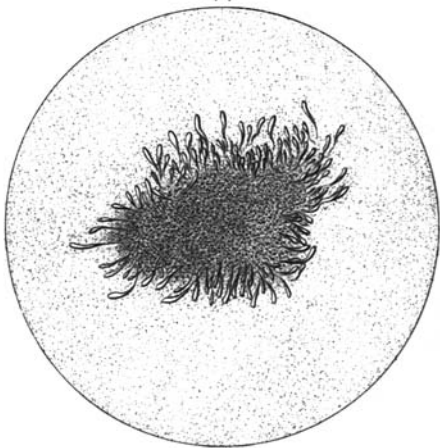
2.



3.



4.



Im Gegensatze hierzu sieht Baumgarten¹⁾ in Afanassiew's Resultaten eine Bestätigung der von Afanassiew selbst nicht anerkannten Versuche Boström's. — Bujwid's Mittheilung, dass es ihm gelungen sei, den Pilz auf Agar nach Buchner's Methode anaerob in Gestalt krummer, selten verästelter Fäden mit Kolbenbildung zu züchten, lässt wegen ihrer Kürze, dem Mangel einer genaueren Beschreibung der makroskopischen und mikroskopischen Befunde und dem Fehlen der Thierexperimente kein Urtheil zu, ob der von ihm cultivirte Organismus wirklich der *Actinomyces* war, — wenngleich wir nicht das Gegentheil behaupten wollen. Er kommt zu dem Schlusse, dass seine Culturen Schimmelpilze seien, ohne dafür einen anderen Grund anzugeben, als die Bildung von Mycelien und Aesten.

Erst nach gänzlichem Abschlusse unserer Versuche erschien die ausführliche Publication von Boström²⁾. Das Studium dieser Arbeit liess in sehr wesentlichen Punkten Abweichungen von unseren Resultaten erkennen, welche uns bei der Werthschätzung der Boström'schen Publication zu einer sorgfältigen Nachprüfung eines Theiles unserer Versuchsergebnisse veranlasste. Diese nochmalige Prüfung hat unsere von Boström abweichenden Resultate nur zu bestätigen vermocht.

Die Differenzpunkte gegen Boström's Angaben werden sich des Genaueren aus unserer Arbeit ergeben. Wir führen hier nur kurz an, dass sich dieselben beziehen auf das makroskopische Verhalten der Culturen, auf die Schnelligkeit der Entwicklung, auf den Unterschied der Wachstumsenergie zwischen den unter aeroben und anaeroben Bedingungen angestellten Culturen, auf das mikroskopische Bild der Culturen innerhalb der ersten Tage, auf die Frage nach der Sporenbildung. Ein ganz wesentlicher Unterschied unserer Resultate gegenüber Boström's liegt ferner in den Ergebnissen der Thierversuche nach Inoculation der Reinculturen des Strahlenpilzes. Während Boström seine einschlägigen Versuche als nicht gelungen bezeichnet, glauben wir im Folgenden den vollgültigen Beweis zu

¹⁾ Lehrbuch der patholog. Mykologie. 1890. Bd. II. S. 876.

²⁾ Untersuchungen über die Actinomykose des Menschen. Beiträge zur patholog. Anatomie und allgem. Pathologie, redigirt von Dr. E. Ziegler. Bd. IX. Hft. 1. 1890.

erbringen, dass die unsrigen als gelungen zu bezeichnen sind. — Wir vermochten fast jedes Mal durch Uebertragung unserer Culturen auf das Thier typische Actinomykose mit Drusen zu erzeugen. Durch Ueberimpfung auf künstliche Nährböden wie auf Thiere haben wir ferner die Lebensfähigkeit und die pathogenen Eigenschaften der in den Impftumoren unserer Experimentalthiere gefundenen Pilze erweisen können. — Auf das Gelingen dieses schon sehr frühzeitig von uns angestellten Versuches ist ein entscheidender Werth zu legen, wie auch Boström in seiner letzten Publication anerkennt, wenngleich er selbst einen solchen auszuführen bisher unterlassen hat. Während Boström nun seine Culturen für identisch mit denen Afanassiew's hält, müssen wir doch constatiren, dass zwischen den Angaben beider Autoren so wesentliche Unterschiede in Bezug auf Wachstumsgeschwindigkeit, Verkalkung, Zeitpunkt des Auftretens von Stäbchenformen und Sporenbildung sich finden, dass wir nicht sicher in der Lage waren, die eine Arbeit als eine Bestätigung der anderen aufzufassen.

Auch die weitere Fortführung der Afanassiew'schen Versuche durch Protopopoff und Hammer¹⁾, welche eine von Afanassiew ihnen gelieferte Cultur auf verschiedenen Nährböden weiterzüchteten, lässt in wesentlichen Punkten Differenzen mit den Ergebnissen Boström's erkennen. So fanden sie z. B. bei einer 14tägigen Cultur auf schräg erstarrtem Glycerinagar ausser einem Gewirr von Fäden mit unzweifelhaft dichotomischen Verzweigungen keine andere Formen und konnten Stäbchen- und Streptokokkenformen erst bei 1—1½ Monate alten Culturen finden, während Boström schon am 3. Tage an der Oberfläche seiner Culturen nichts weiter, als isolirte oder in Ketten zusammenliegende kokkenartige Bildungen und dazwischen nur wenige leer erscheinende Luftfäden fand.

Ebenso geben sie Theilungen der Stäbchen in der Längsrichtung an, welche von Boström nie gesehen wurden. Auch weichen ihre Angaben über Form und Färbbarkeit der Sporen von denen Boström's ab. — Bei dieser grossen Divergenz der bisher gewonnenen Anschauungen, und vor Allem dem

¹⁾ Ein Beitrag zur Kenntniss der Actinomykose. Zeitschr. f. Heilkunde. XI. Bd. 4. Hft. S. 255 (August 1890).

Mangel beweisender Thierversuche, als des entscheidenden Punktes, waren neue Untersuchungen über die Aetiologie der Actinomykose dringend nothwendig. Durch erfolgreiche Einimpfung der von uns cultivirten Pilze ist es uns gelungen, gerade jene auch von anderer Seite als wesentlich anerkannte Lücke hinsichtlich der Thierversuche auszufüllen. Bei der Ausführung dieser Untersuchungen ist der eine von uns (Wolff) in der Lage gewesen, Mittel aus der Gräfin Bose-Stiftung verwenden zu können, für deren Bewilligung derselbe dem Curatorium der Stiftung seinen verbindlichsten Dank ausspricht.

Züchtungsversuche des *Actinomyces*.

I. Das Material zu der ersten Aussaat für unsere Culturen lieferten zwei Fälle von menschlicher Actinomykose, von denen der erstere insofern für Züchtungsversuche besonders günstig lag, als es sich um eine geschlossene, noch überall von unverletzter Haut bedeckte retromaxillare actinomykotische Geschwulst handelte, während im zweiten Falle die Verhältnisse für Züchtungsversuche weniger günstig lagen, insofern es sich hier um eine offene Actinomykose handelte, um einen Fall von primärer Lungenactinomykose mit Propagation auf die rechte Mamma und multiplen Durchbrüchen durch die Haut. Auch unter diesen erschwerten Verhältnissen sind sofort Reinculturen erhalten worden. Die Züchtungsversuche wurden nun in der Weise eingeleitet, dass die bekannten Actinomyceskörnchen sofort nach der unter allen Cautelen vorgenommenen Entleerung einerseits auf Agar-Agar, andererseits auf Hühnereier übertragen wurden. Die Röhrchen mit Agar wurden unter anaeroben Bedingungen ange stellt, und zwar theils nach der von Buchner angegebenen Methode, die bekanntlich in der Absorption des O durch alkalisches Pyrogallol besteht, theils unter Zusatz von 1 pCt. ameisen-saurem Natron zu dem Nährboden.

Das Resultat der ersten Aussaat der menschlichen Actinomyceskörnchen war nun kurz Folgendes: Vom Falle I (Retromaxillartumor) wurden 3 Stichculturen in Agar, 1 Cultur auf der Oberfläche von schräg erstarrtem Agar, sowie 2 Culturen in rohen Hühnereiern angelegt. Von diesen Culturen ergaben eine Eiercultur, eine Stichcultur und eine Ober-

flächencultur sofort völlige Reinculturen. In 2 Stichculturen hatte sich neben dem *Actinomyces Staphylococcus albus* entwickelt. Diese Culturen wurden nicht weiter verwerthet. Die zweite Eiercultur gab einen Befund, dessen richtige Deutung als Reincultur uns anfangs entging, aber aus späterer Erfahrung klar wurde; auch diese Cultur wurde zu weiteren Abimpfungen nicht benutzt.

Von Fall II (Actinomykose der Lunge und Brustdrüse) gingen sämtliche 4 geimpfte und anaerob angestellte Agarröhrchen (1 Stichcultur, 1 Oberflächencultur auf schräg erstarrtem Agar, zwei Oberflächenculturen auf schräg erstarrtem Agar mit Zusatz von ameisensaurem Natron) sofort als Reinculturen an.

Makroskopisch ging die Entwicklung auf den Oberflächenculturen in den Fällen, in denen das vom Menschen herstammende Impfmateriel gut verrieben worden war, in Gestalt einer reichlichen Neubildung erst hyaliner, später opak werdender Knötchen von eben sichtbarer bis zu Linsengrösse im Innern und in der Umgebung der verriebenen Masse vor sich. War das Impfmateriel ohne weitere Verreibung aufgetragen worden, so kam es zu erheblicher Vergrösserung der eingetragenen Actinomyceskörnchen unter Bildung eines weissen Hofes in ihrer Umgebung. In den Stichculturen entwickelte sich neben Vergrösserung der eingetragenen Körnchen, der ganzen Länge und Breite des Impfstiches entsprechend, eine zarte graue schleierartige Trübung, innerhalb deren ausserordentlich zahlreiche Knötchen von der Grenze der Sichtbarkeit bis zu Stecknadelkopfgrösse erkennbar waren.

II. Aus der eben beschriebenen ersten Generation, die nach Aussaat der isolirten Actinomyceskörnchen des Menschen sowohl in Fall I, als in Fall II erhalten war, gelang nun die Fortsetzung der Culturen ohne besondere Schwierigkeiten. Das weitere Wachstum wurde zunächst wieder in Reagenzgläsern auf schräg erstarrtem Agar anaerob nach der von Buchner angegebenen Methode bei einer Temperatur von 36,5—37° C. beobachtet.

Verreibt man mit der Platinnadel neu gebildete Colonien aus den primären Culturen auf der Oberfläche von schräg erstarrtem Agar, oder legt man einen einfachen Impfstrich an, so bildeten sich bei dieser zweiten Aussaat unter den angebe-

nen Bedingungen am 3., bzw. 4.—5. Tage zahlreiche kleinste isolirte thautropfenartige Knötchen bis höchstens Stecknadelkopfgrosse. Ausser diesen disseminirten Knötchenbildungen konnte innerhalb der durch Impfung übertragenen Masse selbst der Beginn einer Differenzirung zu Knötchen erkannt werden. Auch bei den weiteren Oberflächenculturen, die in dem ersten vom Menschen herrührenden Falle bis heute in vielen Exemplaren bis zur 15. Generation, bei dem zweiten bis zur 20. Generation fortgeführt worden sind, ist die vorherrschende und am meisten in die Augen springende Erscheinung die Bildung isolirter Knötchen an der Oberfläche des Agar gewesen (s. Taf. I. Fig. 1). Die ersten Andeutungen dieser Knötchenbildung in Gestalt feinster, mit der Loupe eben erkennbarer Pünktchen haben wir bei den späteren Aussaaten bisweilen, aber selten, etwas früher, nemlich bereits am 2. Tage gesehen. Vor dem 2. Tage hingegen konnte ein Wachsthum in den Reagenzglasculuturen weder mit blossem Auge noch mit der Loupe erkannt werden.

Betrachtet man nun die erwähnten Knötchen selbst in ihrer Entwicklung genauer, so treten dieselben anfangs als kleinste, mit der Loupe eben wahrnehmbare thautropfenartige durchsichtige Pünktchen in die Erscheinung. Allmählich werden diese Pünktchen grösser und bilden dann meist kuglige, bisweilen auch nicht ganz runde, über die Oberfläche des Agar hervortretende Knötchen, deren Grösse zwischen der einer Stecknadelspitze, eines Stecknadelkopfes und Hirsekorns schwankte; nur in vereinzelten Fällen, worauf wir noch später zurückkommen, erreichten dieselben die Grösse einer Linse und darüber. Das Wachsthum der einzelnen Knötchen geht zwar nicht in allen Culturen gleichmässig, aber doch in den meisten ziemlich langsam vor sich. Wir haben wiederholt gesehen, dass Knötchen erst 5 Tage, nachdem sie mit der Loupe bereits kenntlich waren, für das blosse Auge sichtbar wurden, nach weiteren 8 Tagen erst die Grösse eines Stecknadelkopfes hatten und dann überhaupt nicht weiter wuchsen. Die Knötchen selbst hatten in sehr vielen Fällen keine Tendenz zu confluire; sie blieben Wochen und Monate lang völlig isolirt auf der Oberfläche; sogar in solchen Fällen, in denen nach der Impfung ein continuirlicher Belag über der ganzen Agaroberfläche entstanden zu sein schien,

erwies sich dieser bei durchfallendem Licht mit Hülfe der Loupe oft noch nach Wochen aus zahllosen dicht gedrängt liegenden Knötchen zusammengesetzt. In anderen Fällen flossen nun aber thatsächlich die benachbarten Knötchen in grösster Ausdehnung zusammen, so dass man an dem dann entstandenen weisslichen Ueberzug der Agaroberfläche eine Differenzirung in Knötchen nur noch am Rande vereinzelt zu erkennen im Stande war. War das Impfmaterial weniger sorgfältig auf der Agaroberfläche durch Verreiben vertheilt, so kam eine disseminirte Knötchenbildung nicht zu Stande, wohl aber konnte wiederholt innerhalb der dickeren eingetragenen Masse selbst eine Differenzirung in Knötchen wahrgenommen werden; in anderen Fällen erfolgte unter diesen Umständen eine Zunahme des eingetragenen Impfmateri als in toto.

Wenn so die Knötchenbildung in den meisten Fällen dasjenige war, was vorwiegend in die Augen fiel, so erregte eine Art von Bildung, die wir wiederholt auf den Oberflächenculturen gesehen haben, wegen ihres charakteristischen Aussehens noch ein ganz besonderes Interesse. Es waren das oft überlinsengrosse weisse Knoten mit abgestumpft kegelförmigem prominirendem Centrum, die nach der Peripherie zu sich abdachten und hier häufig in ganz regelmässigen Abständen mit rundlichen Ausbuchtungen versehen waren. Ein sehr exquisites Bild solcher Knoten in Rosettenform giebt Taf. I. Fig. 2, die von einer Cultur auf Agar mit ameisensaurem Natron her stammt.

Wie in dem hier abgebildeten Falle, so war stets das Centrum dieser grossen Knoten prominent und zeigte die Peripherie fast immer die Tendenz zu Ausbuchtungen, wenn auch nicht immer in so regelmässiger Anordnung, wie in Taf. I. Fig. 2; vielmehr waren die Knoten in der Peripherie bisweilen mehr unregelmässig zerklüftet, bisweilen nur andeutungsweise ausgebuchtet (s. Taf. I. Fig. 3 u. 4). Ausser dem eben beschriebenen höchst auffälligen Wachsthum auf der Oberfläche ist eine andere sehr charakteristische Eigenschaft dieser grossen Knoten ihr Hineinwachsen in die Substanz des Nährbodens selbst. Man sieht meistens vom Centrum derselben, aber auch mehr peripherisch einzelne, bisweilen zahlreiche längere oder kürzere, manchmal auch getheilte Fortsätze wurzelartig in die Substanz des Agar hinein-

wuchern. Die eben beschriebene Bildung dieser grossen Knoten ist nicht häufig und gewöhnlich nur auf wenige Exemplare in je einer Cultur beschränkt. Dieselben bildeten entweder die alleinige Wachstumsform, oder es fanden sich daneben auch kleinste Knötchen von der früher beschriebenen Art, sowie ferner auch Uebergangsformen zu den eben beschriebenen grossen Knoten. Ebenso gelangten wiederholt kleinere Knötchen mit centralen kurzen in die Substanz des Agar eindringenden Fortsätzen zur Beobachtung. Wir müssen demnach die beschriebenen grossen so charakteristischen Knoten nur als die höchste makroskopische Ausbildungsform der geimpften Actinomycespilze auf der Oberfläche des Agar ansehen.

III. Auch in Stichculturen wächst der Actinomyces vorwiegend in Gestalt isolirter Knoten und Knötchen; das Wachsthum geht sowohl längs des ganzen Impfstiches, sowie bisweilen an der Einstichsstelle vor sich. Die erste Entwicklung eben sichtbarer Knötchen im Impfstich und grösserer flacher weisser plaquesartiger Bildungen an der Oberfläche bemerkten wir am 4. Tage nach der Impfung. Die Bildungen nahmen alsdann im Impfstich sehr langsam an Grösse zu, sie wuchsen jedoch fast niemals über die Grösse eines Stecknadelkopfes hinaus. Ein Zusammenfliessen der Knötchen in dem Impfstichkanal hatte oft auch nach Monaten nicht stattgefunden; selbst da, wo die Knötchen sehr zahlreich und sehr dicht bei einander lagen, konnte man noch nach 6 Monaten mit blossem Auge allerfeinste bis stecknadelkopfgrosse runde oder mehr eckige Knötchen mit Leichtigkeit von einander trennen.

IV. Nachdem das Wachsthum des Actinomyces „anaerob“ in den durch alkalisches Pyrogallol von Sauerstoff befreiten Reagenzgläsern gelungen war, wurde eine neue Reihe von Versuchen auf Agar mit Zusatz von 1 pCt. ameisensaurem Natron angestellt. Nach den neueren Angaben von Kitasato und Weyl¹⁾ soll das ameisensaure Natron das Wachsthum von Anaeroben beschleunigen und begünstigen. In solchen auf dem genannten Nährboden angelegten Oberflächenculturen nun kamen ausser der gewöhnlichen Knötchenbildung besonders häufig die

¹⁾ Zeitschr. f. Hygiene. 1890. Bd. 8. S. 41.

auf Taf. I. Fig. 2—4, reproducirten Bildungen zur Entwicklung. Bei gleichzeitig angelegten Oberflächenculturen haben wir im Ganzen den Eindruck gewonnen, dass das Oberflächenwachsthum in den mittelst alkalischer Pyrogallussäure anaerob gemachten Culturen leichter von Statten geht, als in den mit ameisensaurem Natron versetzten Gläsern. In den Stichculturen hingegen der mit ameisensaurem Natron versetzten Gläser ist das Wachsthum ganz ebenso wie in den Stichculturen der vorigen Versuchsreihe vor sich gegangen.

V. Nachdem wir die Versuche mit den unter Sauerstoffabsorption angestellten Culturen besprochen haben, wenden wir uns jetzt zu den unter den Bedingungen des aeroben Wachstums bei 37°C . angelegten Culturen. Die letzteren waren Abkömmlinge primär anaerob gewachsener Culturen. Hier ist zunächst hervorzuheben, dass wir mit den aeroben Oberflächenculturen auf schrägem Agar keine besonders günstigen Resultate erzielt haben. Das Oberflächenwachsthum war nur in seltenen Fällen ein ergiebiges, häufiger ein wenig reichliches, verlangsames, ja wiederholt kam gar keine Entwicklung an der Oberfläche zu Stande. Es war nun sehr bemerkenswerth, dass in letzteren Fällen, in denen auch nach Wochen an der Oberfläche nichts zu sehen war, sich öfter unter der Oberfläche des Condensationswassers, sowohl am Boden des letzteren, als an der von dem Condensationswasser bedeckten schrägen Agarfläche, eine ansehnliche Menge von charakteristischen Knötchen entwickelt hatte. Dieses mangelhafte Oberflächenwachsthum ging auch aus dem Verhalten aerober Stichculturen deutlich hervor. Es machte sich hier vielfach eine Beschränkung der Entwicklung auf die tieferen Theile des Impfstiches bemerklich; in anderen Fällen nahm entschieden die Intensität des Wachstums von der Tiefe des Impfstichs nach der Oberfläche ab. Das Wachsthum in diesen tieferen Theilen des Impfstichs selbst war meist ein reichliches und zeigte in Bezug auf Knötchenbildung keine besonderen Abweichungen von den unter anaeroben Bedingungen angelegten Stichculturen. Wiederholt sind gleichzeitig mit derselben Aussaat Oberflächen- und Stichculturen unter aeroben Bedingungen, sowie Oberflächenculturen unter anaeroben Bedingungen angelegt worden. Der mangelhafte Impf-

erfolgender aeroben gegenüber den anaeroben Oberflächen-culturen war in die Augen springend, während die aeroben Stichculturen in ihrer Entwicklung unter der Oberfläche wenig hinter den anaeroben Oberflächenculturen zurückstanden.

VI. Als flüssigen Nährboden für die Züchtung des *Actinomyces* benutzten wir alkalische Bouillon. Die Bouillonculturen wurden theils in Reagenzgläsern, vorwiegend aber in Erlenmeyer'schen Kölbchen angelegt, deren Boden etwa 1 cm hoch mit Flüssigkeit bedeckt war. Die Reagenzgläser und die Kölbchen wurden theils unter den Bedingungen des aeroben, theils des anaeroben Wachstums angestellt. Die Aussaat geschah aus sehr ergiebig wachsenden anaeroben Oberflächen-Agarculturen, die Impfung wurde in einigen Fällen so vorgenommen, dass die Organismen mit der Platinnadel möglichst an die Oberfläche der Bouillon gebracht wurden unter thunlichster Vermeidung von Bewegung, während in anderen Fällen das eingesäte Material durch Schütteln in der Bouillon auf das feinste vertheilt wurde. Nach beiden Methoden haben wir trotz sehr lebensfähiger Einsaat kein besonders ergiebiges Wachstum bei unseren allerdings nicht sehr zahlreichen Versuchen gesehen. Es entstanden in den nächsten 3—5 Tagen kleinste weisse Pünktchen und Schüppchen in der Bouillon, die theils in letzterer herumschwammen, theils sich am Boden der Kölbchen ablagerten. Auch hier erschien in den anaeroben Culturen die Entwicklung etwas reichlicher, als in den aeroben. Die Bouillon selbst blieb im Uebrigen klar und durchsichtig.

VII. Ein Wachstum auf Nährgelatine in Reagenzgläsern, bei Zimmertemperatur von 16—20° C., ist nicht eingetreten. Auch in Oberflächen-, sowie in Stichculturen mit Nähragar, die bei Zimmertemperatur angestellt waren, gingen die eingebrachten *Actinomyces*spilze nicht auf. Es sind wiederholt Controlversuche mit Agarculturen bei Zimmertemperatur und bei einer Temperatur von 37° C. angestellt worden. Die letzteren entwickelten sich sehr kräftig, während in den ersteren innerhalb 4- bis 5wöchentlicher Beobachtung mit der Loupe ein Wachstum nicht bemerkt werden konnte.

Fassen wir zum Schluss noch einmal die wichtigsten

Eigenschaften der von uns auf Agar zur Entwicklung gebrachten *Actinomyces*spilze zusammen, so sind dies folgende. Die *Actinomyceten* haben eine ausgesprochene Neigung zur Knötchenbildung. Die Knötchen treten selten vor dem 3., 4., 5. Tag in die Erscheinung, wachsen meist ziemlich langsam und verharren, selbst wo sie dicht bei einander liegen, in sehr vielen Fällen wochen- und monatelang in isolirtem Zustande.

Die grossen Bildungen unter diesen Knoten haben nicht nur ein sehr bemerkenswerthes Oberflächenwachsthum (prominentes Centrum, ausgebuchtete Peripherie), sondern treiben auch in sehr charakteristischer Weise Wurzeln in die Substanz des Nährbodens selbst hinein. Die Oberflächenculturen sind oft, namentlich in dünnen Lagen auffallend trocken und haften der Unterlage sehr fest an. Grössere und ältere Knoten sind nicht selten schwachgelblich gefärbt. Das Condensationswasser bleibt in toto klar und durchsichtig; hineingelangte Colonien entwickeln sich am Boden desselben weiter. Was die Temperaturen anbetrifft, bei denen ein Wachsthum des *Actinomyces* vor sich ging, so müssen wir Temperaturen zwischen 35—37° C. als sehr günstig für die Entwicklung bezeichnen; bei Zimmertemperatur zwischen 16 bis 20° C. kam eine sichtbare Entwicklung nicht zu Stande. — Das Wachsthum des *Actinomyces* ist unabhängig von der Anwesenheit von Sauerstoff; das beweisen die unter den Bedingungen des anaeroben Wachsthums kräftig zur Entwicklung gelangten Culturen. Der *Actinomyces* ist allerdings kein strenger Anaerobe, sondern er gedeiht auch in den ohne Sauerstoffabschluss gezüchteten Culturen, wenngleich sich auch in letzteren die vorwiegende Neigung zu Wachsthum unter der Oberfläche vielfach bemerklich machte. — Der *Actinomyces* bleibt unter Umständen sehr lange lebensfähig, wie erfolgreiche Abimpfungen von 9 Monate alten Culturen beweisen (s. Taf. V. Fig. 1 und 2).

Untersucht man nun die eben beschriebenen Culturen mikroskopisch, so kann man in den verschiedenen Culturen Pilzformen von sehr verschiedener Gestalt und Grösse erkennen. Es finden sich kurze und längere Stäbchen, lange, solide oder gegliederte, einfache oder auch dichotomisch getheilte Fäden von geradlinig gestrecktem oder wellig gebogenem Verlauf, deutlich schraubenartig gewundene Organismen und schliesslich kokken-

artige Elemente vor. Es fragt sich nun, ob alle diese verschiedenen Wuchsformen einem und demselben Pilzindividuum, dem *Actinomyces*, angehören und welches die genetischen Beziehungen derselben zu einander sind.

VIII. Zur Entscheidung dieser Fragen wenden wir uns zunächst an den mikroskopischen Befund bei unseren nach Hunderten zählenden Agarculturen. Hier haben wir als einfachste und häufigste Form kurze und gleichmässig protoplasmatische, meist gerade, öfter auch kommaartig oder noch stärker gebogene Stäbchen angetroffen, wie dieselben z. B. in den Photogrammen, Taf. I. Fig. 5, Taf. II. Fig. 3, 4, 5 u. s. w., abgebildet sind. Die Länge und Breite der Stäbchen ist nicht immer dieselbe; es kommen hier Schwankungen innerhalb mässiger Grenzen vor. In manchen Culturen überwiegen sehr kurze und plumpe Stäbchen (Taf. I. Fig. 5), in anderen sehr kurze und schwächliche Stäbchen (Taf. V. Fig. 6), in anderen wiederum sind etwas längere, dickere (Taf. II. Fig. 6) oder dünnere Individuen (Taf. II. Fig. 3) zahlreicher vertreten. Die Bildung der Enden dieser Stäbchen erscheint oft sehr bemerkenswerth. Die letzteren sind nemlich nicht immer in ihrer ganzen Länge von gleichmässiger Stärke, sondern an einem Ende oft deutlich angeschwollen, mit einer kugligen oder olivenförmigen Anschwellung versehen. Taf. II. Fig. 1, 4, 5, 6, zeigen mehrfach derartige Exemplare; es giebt aber auch Culturen, in denen fast sämtliche Stäbchen mit solchen Endanschwellungen versehen sind. Diese eben beschriebenen Kurzstäbchen, die wir sowohl aus actinomykotischen Herden des Menschen, als aus künstlich erzeugten Actinomycestumoren von Kaninchen und Meerschweinchen in den ersten, sowie in den weiteren Culturen vielfach gezüchtet haben und die die einfachste Form der zur Beobachtung gelangten Organismen darstellten, dienten also als Ausgangspunkt für die Frage, in welcher Weise die weitere Entwicklung und Vermehrung der *Actinomyces*pilze vor sich geht. Eine solche Entwicklungsreihe stellen die Photogramme auf Taf. I. Fig. 6, 7, Taf. II. Fig. 1, 2, 3, 4, 5 dar, auf die wir jetzt kurz einzugehen haben. — Die Aussaat dieser Entwicklungsreihe stellt die Abbildung Taf. I. Fig. 5 dar; dieselbe stammt von einer 13 Tage alten anaerob angelegten

Agarcultur her; in letzterer hatte ein sehr reges Wachstum stattgefunden, wie die Entwicklung sehr zahlreicher mit blossen Auge sichtbarer Knötchen an der Oberfläche der Cultur zeigte. Das mikroskopische Bild, Taf. I. Fig. 5, von einem solchen Knötchen herrührend, zeigt die eben beschriebenen soliden, meist sehr kurzen und plumpen, vielfach an einem Ende verdickten Stäbchen in exquisitester Weise. Auch andere Präparate derselben Cultur ergaben fast ausschliesslich dieselben Kurzstäbchen; nur sehr selten traf man in einzelnen Präparaten ein um das zwei- bis dreifache längeres ausgewachsenes Stäbchen, bisweilen mit wellenförmiger Biegung, an.

Von dieser kurzstäbigen Cultur wurden also strichförmige Aussaaten auf andere anaerob angestellte Agargläser gemacht und die Culturen nach 24, 48, 72, 120 Stunden und nach 14 Tagen untersucht. Wir wollen hier in Beziehung auf die Technik der Untersuchung bemerken, dass nach dem Zerschneiden der Agargläschen die Cultur in toto herausgenommen wurde und in allen Fällen von derselben theils Klatschpräparate von der Oberfläche angefertigt wurden, theils, nach Entfernung der Oberfläche mit dem Messer, aus den tieferen Schichten der Cultur Präparate so angelegt wurden, dass das Material mit dem Messer sehr vorsichtig ohne Verreibung in möglichst dünnen Schichten auf das Deckgläschen aufgetragen und das getrocknete Präparat alsdann in der bekannten Weise nach Gram gefärbt wurde. Das Verreiben der Culturen wurde absichtlich vermieden, um die natürlichen Formen nicht zu stören und grössere Individuen nicht zu zertrümmern.

a) 24 Stunden nach der Aussaat; in Taf. I. Fig. 6 u. 7 sind die mikroskopischen Verhältnisse zu dieser Zeit ersichtlich; mit blossen Auge oder der Loupe sichtbare Wachsthumsercheinungen fehlten noch in der Cultur. In Fig. 6 (Klatschpräparat) erkennt man fast ausschliesslich dieselben kurzen plumpen Stäbchen, wie in der Aussaat; nur in der Mitte liegt ein etwas längerer winklig geknickter Faden mit deutlichen Unterbrechungen, dessen Zusammensetzung aus kürzeren Stäbchen leicht kenntlich ist. — In Fig. 7 sind ausser vereinzelt Kurzstäbchen wellig gebogene Fäden und einige spiralig gedrehte Elemente von verschiedener, aber im Ganzen nicht bedeutender Länge sichtbar. Einzelne dieser Individuen sind, wie die Kurzstäbchen, an dem einen Ende verdickt, knopfförmig angeschwollen. Die Fäden sind meist solide, an manchen Präparaten ist die Zusammensetzung aus kleineren Elementen kennt-

lich. Bisweilen tritt der Eindruck einer ächten dichotomischen Verzweigung dieser Fäden hervor. Längere winklig geknickte oder wellige Fäden als in Fig. 7 oder reichlichere Verzweigungen nach dichotomischem Typus sind uns in dieser Entwicklungsreihe niemals vorgekommen. Nicht selten kann man aber an Klatschpräparaten diese welligen und geraden Individuen von mässiger Länge aus kurzstäbigen Colonien hervortreten sehen. Fassen wir aber gegenüber dem seltneren auf Fig. 7 wiedergegebenen Befunde das Durchschnittsergebniss aus sehr zahlreichen Präparaten, die sowohl aus den oberflächlichen als tiefen Lagen der Cultur 24 Stunden nach der Aussaat angefertigt worden sind, zusammen, so ergibt sich, dass die kurzen dicken, soliden oder unter einem Winkel zusammenliegenden, geraden oder kommaartig gekrümmten Stäbchen das weitaus überwiegende mikroskopische Bild abgeben.

b) 48 Stunden nach der Aussaat; die mikroskopischen Bilder sind in Photogramm Taf. II. Fig. 1 u. 2 fixirt; makroskopisch zeigt die Cultur weder mit blossen Auge noch mit der Loupe sichtbare Wachsthumerscheinungen. In beiden Abbildungen, sowohl in dem von der Oberfläche gewonnenen Klatschpräparat Fig. 2, als in dem durch vorsichtiges Auftragen von Material ohne Verreibung aus der tieferen Lage der Cultur gewonnenen Präparat Fig. 1 sind wiederum ganz vorwiegend Kurzstäbchen vorhanden. Diese Kurzstäbchen haben allerdings an Grösse ein wenig zugenommen und erscheinen im Ganzen auch etwas dünner, nicht mehr so plump als in der Aussaat und vor 24 Stunden. Die Stäbchen sind gerade, kommaartig oder häufiger leicht S-förmig gekrümmt. Einzelne längere mehrfach geknickte, gebogene oder wellig gekrümmte Fäden finden sich im unteren Abschnitt der Fig. 1 und ein sehr exquisites derartiges mehrfach gekrümmtes Exemplar in der Mitte der Fig. 2, an welchem letzteren die Zusammensetzung aus kürzeren Elementen sehr deutlich sichtbar ist. Wir haben auch an anderen Präparaten aus der Oberfläche und aus der Tiefe kein wesentlich anderes Bild angetroffen als das in den beiden eben genannten Abbildungen niedergelegte; Kurzstäbchen und nach längerem Suchen vereinzelte längere gerade oder wellige Fäden oder eine Spirille von mässiger Länge waren das Durchschnittsergebniss.

c) 72 Stunden nach der Aussaat; es zeigen sich heute zum ersten Male makroskopisch sichtbare Veränderungen der Cultur in Gestalt kleinster, mit der Loupe eben erkennbarer frischer Knötchen. Von einem solchen Knötchen stammt Taf. II. Fig. 3 ab. Man sieht in dieser Figur nur wieder die bekannten kurzen soliden, an einem Ende öfter verdickten geraden, kommaartigen oder leicht S-förmig gekrümmten Stäbchen, alle fast annähernd von derselben Grösse. Ein Wachsthum der Stäbchen in Bezug auf ihre Länge hat seit dem 2. Tage sicher nicht stattgefunden, wiewohl makroskopisch deutliche Wachsthumerscheinungen in Gestalt der Knötchen eingetreten sind. Unter 14 Präparaten, von den verschiedensten Stellen der Cultur, zum Theil sicher von den neu-

gebildeten Knötchen herrührend und theils durch Abklatschen, theils durch Abtragen mit dem Messer ohne Verreibung gewonnen, zeigen weitaus die meisten ganz dasselbe mikroskopische Bild wie Taf. II. Fig. 3; nur an sehr vereinzelter Stellen erkennt man, wie auch am Tage vorher, etwa 3- bis 5fach längere Fäden, die dann meist aus kurzstäbigen Colonien hervortreten, einen geraden oder welligen Verlauf haben, solide oder auch segmentirt erscheinen.

d) 120 Stunden nach der Aussaat; zahllose hyaline stecknadelspitzgrosse und etwas grössere Knötchen sind an der Agaroberfläche sichtbar geworden. Die Knötchen haben an Zahl bedeutend, auch an Grösse zum Theil etwas zugenommen. Klatschpräparate sowohl als in der bekannten Weise durch Auftragen von Knötchen gewonnene Deckglaspräparate zeigen sämmtlich die mikroskopischen Verhältnisse des Photogramms Taf. II. Fig. 4 (Klatschpräparat). Die Stäbchen erscheinen im Ganzen wieder kürzer und plumper als am 2. und 3. Tage; auch da, wo dicke Haufen liegen, erkennt man, dass es sich nur um Kurzstäbchen handelt. Vereinzelt, nur schwer aufzufindende ausgewachsenere Fäden und einzelne kurze Spirillen, fast immer aus kurzstäbigen Colonien hervortretend, sind auch in dieser Cultur vorhanden.

e) 14 Tage nach der Aussaat; die makroskopische Betrachtung der untersuchten Cultur zeigt an diesem Tage sehr zahlreiche steknadelspitzgrosse, mit blossen Auge sichtbare weissliche Knötchen. Zwischen diesen Knötchen liegt eine dicke weisse durch Confluenz der Knötchen entstandene Masse auf der Agaroberfläche. Das Photogramm Taf. II. Fig. 5 stammt von dieser 14 Tage alten Cultur her. Man erkennt überall nur kurze solide, zum Theil mit knopfförmiger Endanschwellung versehene Stäbchen, die an Grösse und Aussehen denen des am 5. Tage gewonnenen Photogramms ausserordentlich ähnlich sind.

In der vorstehenden Entwicklungsreihe sind also mit einer Aussaat, die, abgesehen von sehr seltenen etwas länger ausgewachsenen Stäbchen, ausschliesslich solide Kurzstäbchen von plumpem Aussehen, öfter mit einseitiger Anschwellung enthielt, verschiedene Culturen angelegt worden, welche 24, 48, 72, 120 Stunden und 14 Tage nach der Aussaat untersucht worden sind. Sowohl die Aussaat selbst, als die daraus gezüchteten Culturen zeigten eine rege Vermehrung, eine bedeutende Wachsthumsenergie der Organismen, welche ihren makroskopischen Ausdruck in der Entwicklung massenhafter mit blossen Auge oder der Loupe sichtbarer Knötchen fand.

Mikroskopisch ging die Entwicklung in dieser Versuchsreihe im Wesentlichen nicht über den kurzstäbi-

gen Charakter heraus. Aus den zahlreichen Präparaten, die sowohl aus den oberflächlichen, als tiefen Lagen der Cultur gewonnen sind, geht hervor, dass diese kurzen soliden geraden, kommaartigen oder S-förmig gekrümmten Stäbchen das weitaus überwiegende Bild an allen oben erwähnten Untersuchungstagen darstellen; nur ganz vereinzelt kommen daneben etwas längere fadenförmige und spirillenartige Elemente vor.

Eine zweite Entwicklungsreihe, die die Verhältnisse am 4., 5. und 6. Tag darstellt, stammt von einer 14 Tage alten Cultur, die nach Buchner angelegt war, her. Die mikroskopischen Elemente dieser zahlreiche stecknadelkopfgrosse Knötchen enthaltenden Aussaat sind auf Taf. II. Fig. 6 abgebildet: im Wesentlichen sind hier neben etwas längeren, geraden und gekrümmten, nur kurze dicke plumpe Stäbchen von derselben Art, wie sie in der Aussaat der vorigen Entwicklungsreihe vorhanden waren, sichtbar; die Stäbchen erscheinen an einem Ende oft knopfförmig angeschwollen, die Knöpfe nach Gram schön blau gefärbt. Die mit dieser wesentlich kurzstäbigen Aussaat angelegten Culturen ergeben folgende Resultate:

a) 4 Tage nach der Aussaat; die Photogramme Taf. III. Fig. 1 und 2 zeigen die mikroskopischen Verhältnisse an diesem Tage; makroskopisch war von sämtlichen 8 angelegten Culturen am 4. Tage nur in einem Rohr mit der Loupe eine eben sichtbare Differenzirung in feinste Knötchen erkennbar. In allen mikroskopischen Präparaten fanden sich als Hauptbild kürzere und mittlere gerade oder auch etwas gekrümmte Stäbchen, die entweder gleichmässig protoplasmatisch sind (Fig. 1), zum Theil aber auch eine körnige Beschaffenheit angenommen haben (Fig. 2). In letzterem Photogramm zeigen sich auch einzelne Fäden von mittlerer Länge, die aus ungleich grossen kürzeren stäbchenförmigen Elementen zusammengesetzt und durch eine blässere Pilzsubstanz zusammengehalten werden. Noch längere Fäden, meist aus kurzstäbigen Colonien hervorstachsend, finden sich in sehr vereinzelt Exemplaren in Taf. III. Fig. 1 vor.

b) 5 Tage nach der Aussaat; makroskopisch haben sich in der Cultur heute zahllose Knötchen entwickelt; von diesen frisch entwickelten Knötchen sind die Photogramme Taf. III. Fig. 3 u. 4 gewonnen. Man erkennt in dem Klatschpräparate von der Oberfläche, Fig. 3, kurze, einfache und Doppelstäbchen, häufig S-förmige, spiralförmige bisweilen fadenförmige Elemente, hier und da anscheinend dichotomische Formen; in dem mit dem Messer vorsichtig abgetragenen Knötchen Fig. 4 Kurzstäbchen und Stäbchen von mittlerer Länge, einzelne schrauben-

förmige Elemente. Meistens ist der Inhalt der Stäbchen protoplasmatisch, seltener granulirt. In allen anderen Präparaten sowohl aus der Oberfläche als aus der Tiefe der Cultur treten überwiegend kurze und mittlere Stäbchen in die Erscheinung.

c) 6 Tage nach der Aussaat; von den zahlreichen feinsten Knötchen, die sich an der Oberfläche der Cultur makroskopisch entwickelt haben, stammen die Photogramme Taf. III. Fig. 5 u. 6 her. Das Hauptbild sind wiederum einfache gerade oder im Winkel zusammenliegende oder gekrümmte kürzere Stäbchen, die zum Theil protoplasmatisch, zum Theil körnig erscheinen; äusserst selten finden sich lange Fäden, theils solide, theils deutlich in Kurzstäbchen gegliedert, theils von körniger Beschaffenheit des Protoplasma, theils endlich gleichzeitig aus körnigen und kurzen stäbchenförmigen Elementen zusammengesetzt. Auch die übrigen anaeroben Culturen dieser Versuchsreihe, die ein sehr reichliches Wachstum von stecknadelkopfgrossen Knötchen an der Oberfläche zeigten, ergaben bei der mikroskopischen Untersuchung nach 17 und 22 Tagen in überwiegender Anzahl nur kurze plumpe und mittlere gerade oder gekrümmte, oft an einem Ende verdickte, selten gekörnte Stäbchen; längere Fäden sind nur sehr selten auffindbar. Dasselbe mikroskopische Bild zeigten übrigens auch zwei unter aeroben Wachstumsbedingungen angestellte Culturen nach 9 Tagen, wenngleich ihr makroskopisches Wachstum hinter dem der anaeroben Culturen bedeutend zurückgeblieben war.

Die vorstehende Entwicklungsreihe vom 4., 5. und 6. Tag giebt also eine Ergänzung der vorigen Entwicklungsreihe, bei welcher die in den ersten 3 Tagen in die Erscheinung tretenden mikroskopischen Pilzformen beschrieben sind. Auch am 4., 5. und 6. Tag sind nach einer Aussaat, welche neben etwas längeren stäbchenförmigen Individuen im Wesentlichen nur kurze Stäbchen enthielt, bei der energischen Weiterentwicklung fast nur wieder dieselben kürzeren Elemente in die Erscheinung getreten, während lange einfache oder septirte Fäden, sowie kurze Spirillen nur sehr selten zur Beobachtung gelangt sind.

Dieselbe Entwicklungsart, wie die hier eben ausführlich für die ersten Tage nach der Aussaat beschriebene, nemlich die Vermehrung der Kurzstäbchen als solcher, haben wir auch sonst noch ausserordentlich häufig bei späteren Agarculturen mit lebhafter Wachstumsenergie zu sehen Gelegenheit gehabt. Bei Culturen, die von Woche zu Woche bis zum 9. Monat untersucht worden sind, ging vielfach die Entwicklung nicht über den kurzstäbigen Charakter heraus. Immerhin ist dieser

Wachsthumsmodus auch auf Agar nicht der allein vorkommende. Es erfolgt hier in einzelnen Fällen ein Auswachsen der kürzeren Stäbchen zu langen Fäden mit seltener geradlinigem, meist wellig gebogenem, oder auch spiraligem Verlauf, wie dies besonders schön in dem Photogramm Taf. IV. Fig. 1 sichtbar ist. Hier handelt es sich um einen Schnitt durch eine primäre mittelst Uebertragung von menschlichen Actinomyceskörnern (Fall I) auf Agar gewonnene Cultur, in welcher sich zahlreiche grössere und kleinere Colonien entwickelt hatten. Der Schnitt, Taf. IV. Fig. 1, geht durch einen makroskopisch sichtbaren grösseren älteren Knoten, und hier erkennt man die langen welligen und spiraligen baumförmig gruppirten protoplasmatischen Fäden; ein anderer Schnitt durch dieselbe Cultur in Taf. IV. Fig. 2 geht durch ein kleines jüngerer Knötchen, dessen Elemente aus Stäbchen und kürzeren Fäden bestehen. Andere kleinste Colonien bestehen daneben ausschliesslich aus kurzen dicken, theils geraden, theils etwas gekrümmten Stäbchen.

IX. Von grossem Interesse, weil in mancher Beziehung abweichend von der Entwicklung auf Agar ist das Wachsthum des Pilzes auf einem anderen Nährboden, nemlich in Eiern. Was auf Agar verhältnissmässig selten vorkommt, das ist in Eiern etwas sehr gewöhnliches, nemlich die Entwicklung prachtvoller langer Fadennetze, welche das bei menschlicher Actinomykose vorkommende Fadengeflecht oft an Mächtigkeit noch übertrifft. Wir verwendeten zu den Culturen Hühnereier und Taubeneier, theils roh, theils 3—4 Minuten gekocht, wobei das Weisse schon coagulirt war, das Gelbe noch zähflüssige Consistenz behielt, so dass es ausgegossen werden konnte. Es sei gleich hier gesagt, dass sich wesentliche Unterschiede der Resultate weder zwischen rohen und gekochten, noch zwischen Hühner- und Taubeneiern fanden. Doch sind gekochte im Allgemeinen vorzuziehen, weil die in ihnen entwickelten Pilzmassen leichter zu finden sind. Die Anbohrung der Eier geschah nach gründlicher Desinfection mittelst geglühter Nähnnadel an einem der Pole. Durch das feine Loch wurde der mit etwas Actinomycesmasse beladene Platindraht in die Tiefe des Eies geführt und mehrfach auf- und abbewegt. Nach der Impfung wurde die Oeffnung mit einem Tropfen Lack verschlossen und die Eier,

mit dem angebohrten Pole nach oben im Eierbecher stehend, im Brütofen bei 37° C. gehalten.

Die im Ei entwickelten Pilzrasen waren nun in manchen Fällen, in denen das Mikroskop reichliche Vegetation nachwies, für das blosse Auge nicht als deutliche Differenzirung von der übrigen Eimasse erkennbar. Meistens aber gelang es schon dem unbewaffneten Auge die Stellen zu entdecken, an denen eine Entwicklung stattgefunden hatte. Man konnte entweder opakere weisse Pünktchen und Klümpchen bis zu Stecknadelkopfgrösse erkennen, und zwar in rohen Eiern im Eiweiss und Eigelb; in gekochten meistens an der Grenzschicht dieser beiden Substanzen; — oder man fand Streifen und Züge einer trüben, Nasenschleim ähnlichen Masse im flüssigen durchscheinenden Eiweiss ungekochter Eier; oder endlich es zeigte sich eine schmierig-körnige Masse im Impffkanal und an der centralen Fläche der erstarrten Eiweisskuppe. Die Eier waren, nach einer Bebrütungsdauer von 9—28 Tagen untersucht, stets geruchlos, ohne Gasentwicklung und unverfärbt. Das Ergebniss der mikroskopischen Prüfung war im Wesentlichen in allen Fällen dadurch bemerkenswerth, dass sich aus den eingebrachten kurzen plumpen ziemlich gleichmässigen Stäbchen prachtvolle Fadennetze entwickelt hatten (Taf. IV. Fig. 4). Die langen Fäden waren zu dichten, auf das Engste verfilzten Rasen vereinigt, welche, im Centrum unentwirrbar, sich an der Peripherie in mehr oder weniger radiär ausstrahlende gerade oder leicht gebogene wellenförmige oder spiralige, bisweilen deutlich dichotomische Fäden auflösten; bald zeigten sie eine Anordnung, welche an die weichselzopfähnliche Verflechtung lang ausgewachsener Milzbrandbacillen in den Culturen erinnerte; bald bildeten sie, sich nach allen Richtungen durchkreuzend, weitmaschige Netze.

Die einzelnen Fäden waren nicht durchweg von gleichem Durchmesser; während die überwiegende Mehrzahl von sehr feinem Caliber und schwach lichtbrechend war, gab es auch dicke und glänzende, welche an elastische Fasern erinnern konnten; sowie endlich breite, mehr bandartige Elemente. Manche der feinen Fäden zeigten an ihrem peripherischen aus dem Rasen hervorstehenden Ende eine knopfförmige Anschwellung, welche

sowohl bei Gram'scher als bei Fuchsinfärbung ebenso intensiv den Farbstoff annahm, als die Fäden (s. Taf. V. Fig. 4). Eine Differenzirung des Protoplasma ist an keinem der Fäden in ungefärbtem Zustande zu erkennen. Wohl aber tritt an manchen der längeren Exemplare eine solche hervor, wenn sie entweder mit Fuchsin gefärbt, oder mit Carbolsäure-Fuchsin eine Stunde lang gekocht waren, oder der Einwirkung des Gram'schen Verfahrens unterlegen hatten. Alsdann differenziren sich manche lange Fäden zu Reihen längerer und kürzerer Stäbchen bis zu den kürzesten von Kokken in der Form nicht mehr unterscheidbaren Gebilden, welche in unregelmässiger Reihenfolge angeordnet und durch ungefärbte Zwischenräume von verschiedener Breite von einander getrennt sind (s. Taf. VII. Fig. 1 u. Taf. V. Fig. 4).

Neben den bisher beschriebenen Elementen fanden sich in der Mehrzahl der untersuchten Eier auch kurze Stäbchen, und zwar bisweilen in unmittelbarer Nachbarschaft der Fadennetze. Häufig bildeten diese kurzen Stäbchen dunkle Rasen, welche in der Mitte durch dichte Lagerung der Einzelindividuen ein feinkörniges Aussehen vortäuschten, an der Peripherie aber stets deutlich ihre Zusammensetzung aus Stäbchen erkennen liessen. Ueber kokkenartige Bildungen in den Eiern wird weiter unten berichtet werden.

X. Soviel über die in den Culturen des *Actinomyces* vorkommenden Stäbchen und fadenartigen Gebilde. Wir gehen nun auf einen zweiten Bestandtheil der Culturen ein, nemlich auf die „Kokken“, oder richtiger die „kokkenähnlichen Körperchen“. Auch bei dem menschlichen *Actinomyces* haben wir ebenso, wie andere Beobachter in den Drusen wiederholt neben dem Convolut von homogenen Pilzfäden kleine mehr oder weniger stark lichtbrechende rundliche mikrokokkenähnliche Körnchen, und zwar öfter in erheblicher Menge gesehen. Ueber diese kokkenähnlichen Bildungen bei menschlicher und thierischer Actinomykose stimmen jedoch die Anschauungen keineswegs überein. Eine ganze Reihe von Forschern (Baumgarten, Hanau, Klebs) konnte den Befund von mikrokokkenartigen Gebilden im Inneren der Actinomycescolonien nicht bestätigen.

Der körnige Eindruck, den das Centrum der Actinomyces colonien sehr häufig macht, soll bei genauerer Untersuchung schwinden, indem das scheinbare Körnchenlager sich als ein Filzwerk dicht verschlungener Fäden herausstelle. Diesen differenten Anschauungen gegenüber sind wir der Meinung, dass erst die Entwicklungsgeschichte des Actinomyces in den Culturen über die viel besprochenen Körnchenbildungen Aufschluss zu geben im Stande ist. Die hierauf gerichtete Untersuchung hat nun Folgendes gelehrt. Man sieht in den nach der Gram'schen Methode behandelten Deckglaspräparaten zunächst innerhalb der blasser blau gefärbten Stäbchen häufig theils in regelmässigen, theils in unregelmässigen Abständen intensiv blau gefärbte Körnchen von verschiedener Gestalt auftreten. Die Körnchen sind theils kuglig, theils oval, theils von mehr unregelmässig eckiger Gestalt; ausserdem erscheinen dieselben von verschiedener Grösse, die kleinsten geradezu staubförmig (s. z. B. Taf. V. Fig. 1 und Fig. 3).

Ganz dieselben mikrokokkenähnlichen Elemente finden sich auch in den langen Fäden der Eierculturen (s. Taf. V. Fig. 4) und in den breiten gewundenen Bändern der Agarculturen vor (Taf. IV. Fig. 3). Hier ist die Anordnung der Körnchen vielfach noch deutlicher sichtbar, als in den kürzeren Stäbchen. Es giebt Fäden, innerhalb welcher die rundlichen Körnchen in gleichmässigen Abständen reihenweise hinter einander angeordnet sind, andere, in welchen dieselben bald hier, bald dort nach der einen oder anderen Seite aus der Axe des Fadens heraustreten, endlich solche, welche ganz unregelmässig von Körnchen erfüllt sind, und zwar sind in manchen Fäden nur runde oder ovale, in anderen runde und mehr unregelmässig eckige Körnchen gleichzeitig vertreten. Die verschiedenen Körnchenarten färben sich alle mit gleicher Intensität in Gentianaviolett. — Ausser den bisher beschriebenen innerhalb der Pilzfäden gelegenen körnigen Elementen giebt es nun aber auch freie mikrokokkenähnliche Gebilde, theils in isolirtem Zustande, theils in Gestalt dichter Lager rundlicher oder mehr unregelmässiger Körnchen. Auch diese freien Elemente sind von verschiedenster Grösse, und färben sich nach der Gram'schen Methode ebenso intensiv, wie die im Inneren

der Fäden gelegenen körnigen Gebilde (Taf. V. Fig. 5, Taf. IV. Fig. 3).

Dass diese freien isolirten Körnchen und kokkenartigen Massen genetisch ausschliesslich aus körnig gewordenen Stäbchen und Fäden herzuleiten sind, davon haben wir uns vielfach überzeugt; man kann bisweilen in demselben Präparat alle Uebergänge von letzteren zu ersteren genau verfolgen. So erkennt man z. B. im Photogramm, Taf. V. Fig. 4, Reihen kugelliger Körnchen, bei denen die sie zusammenhaltende schwach gefärbte Substanz des Pilzfadens noch deutlich nachweisbar ist, während an anderen Körnchenreihen dieser Nachweis nur noch stellenweise gelingt; schliesslich kann der Pilzfaden als solcher vollkommen zu Grunde gehen, die kokkenartigen Glieder können auch dann noch öfter eine Zeit lang in Längsreihen angeordnet bleiben, bis schliesslich die Reihen zerfallen, die Körnchen frei werden und dann, wie oben beschrieben, theils in isolirtem Zustande, theils in Lagern gefunden werden (Taf. V. Fig. 5).

Soweit der objective Befund, welcher lehrt, dass innerhalb der Culturen thatsächlich sehr häufig kokkenähnliche Elemente innerhalb und ausserhalb der Stäbchen und Fäden vorkommen. Diese Körnchenbildungen in den Culturen erinnern nun aber vollkommen an die kokkenartigen Gebilde in den Drusen der menschlichen Actinomykose, wenngleich hier allerdings die Genese der Körnchen aus körnig gewordenen Stäbchen oder Fäden nicht immer so deutlich verfolgt werden kann, wie in den Culturen. Dass von verschiedenen Beobachtern der Befund derartiger kokkenähnlicher Gebilde im Inneren der Actinomyces-colonien nicht bestätigt werden konnte, spricht nicht gegen ihr Vorkommen überhaupt. Es brauchen nicht alle Bestandtheile einer Actinomycesvegetation immer gleichzeitig in jedem Pilzkörnchen oder auch in jedem einzelnen Falle von Actinomykose vorhanden zu sein. Ebenso wie bekanntlich gar nicht selten die Keulen an den Actinomycescolonien fehlen, so können in gleicher Weise auch die kokkenartigen Elemente gelegentlich ausfallen. Das hängt zum Theil gewiss von dem Alter der Drusen bzw. der Krankheitsdauer ab. Allerdings sind wir in Bezug auf die kokkenartigen Elemente nicht im Stande, nach Tagen anzugeben, wann dieselben in den Culturen auftraten. Wir haben Indivi-

duen mit körnigen Elementen schon ziemlich frühzeitig, innerhalb der 1. Woche, gesehen, wie die z. B. nach 48 Stunden, nach 4, 5 und 6 Tagen aufgenommenen Photogramme, Taf. II. Fig. 2, Taf. III. Fig. 2 und Fig. 5, zeigen. Allein im Allgemeinen waren es doch unsere älteren Culturen, in denen das Auftreten mikrokokkenähnlicher Körperchen in Stäbchen und Fäden am deutlichsten und reichlichsten in die Erscheinung trat. Wir verweisen hier auf die ausgezeichneten mikrokokkenähnlichen Körperchen der Photogramme, Taf. IV. Fig. 3, Taf. V. Fig. 4, Taf. V. Fig. 5, Taf. V. Fig. 1, welche von Culturen im Alter von 27, 30, 34 Tagen und beinahe 9 Monaten herkommen.

Wofür hat man nun diese kokkenartigen Elemente zu halten? Sind dieselben als legitime Kokken zu betrachten, oder stellen sie Zerfallsproducte der Stäbchen und Fäden dar, oder befinden sich unter diesen Körnchen die Sporen des *Actinomyces*? In Bezug auf den letzteren Punkt bemerken wir, dass wir die Deutung aller der rundlichen intensiv färbbaren kokkenartigen Gebilde als „Sporen“ des Pilzes, wie solche Boström als gesichert hinstellt (a. a. O. S. 127, S. 201 u. s. w.) für durchaus nicht einwandfrei halten. Wir haben zwar wiederholt Körperchen gesehen, welche durch ihre rundliche oder ovale Gestalt und gleichzeitig durch ihre stärker lichtbrechende Beschaffenheit an Sporen erinnerten, wir haben ferner, ähnlich wie Boström, in Culturen, die, soweit wir feststellen konnten, ausschliesslich mit Kokkenformen angelegt waren (s. unten), ein Auswachsen dieser Kokken zu Stäbchen constatirt, allein wir müssen doch folgende Bedenken gegen diese Auffassung anführen. Zunächst färben sich diese mikrokokkenähnlichen Körperchen, auch diejenigen, welche durch ihren Glanz und ihre Gestalt vor allen an Sporen erinnern könnten, mit *Anilingentiana* und besonders deutlich nach der einfachen Gräm'schen Methode. Boström selbst giebt an, dass sich die als Sporen des Pilzes zu deutenden Kokken „mit *Anilingentiana* sehr intensiv blau“ (a. a. O. S. 201) färben. Nun sind aber nach den bisherigen Erfahrungen Sporen keine so einfach zu färbenden Körper; um dieselben gefärbt darzustellen, bedarf es bekanntlich eingreifen der Methoden. Gerade diese haben sich aber bei unseren Ver-

suchen, Sporen innerhalb wie ausserhalb der Fäden und Stäbchen in die Erscheinung zu bringen, bisher immer erfolglos erwiesen. Sodann aber müssen wir gegen die Auffassung dieser Körperchen als Sporen bemerken, dass wir weder in Bezug auf ihre Färbbarkeit, noch in Bezug auf die Fähigkeit derselben zu Fäden auszuwachsen, Unterschiede constatiren konnten zwischen den runden oder ovalen durch ihr Aussehen an Sporen erinnernden Körperchen einerseits, und den mehr unregelmässigen eckigen körnigen Gebilden andererseits. Die verschiedenen Körnchenarten färbten sich, wie oben bemerkt, alle mit gleicher Intensität, und andererseits konnten wir aus Culturen, die fast ausschliesslich unregelmässige körnige Gebilde enthielten, ebenfalls bei weiteren Culturen die bekannten Stäbchenformen züchten.

Auf Grund unserer Erfahrungen halten wir den zwingenden Beweis, dass die mikrokokkenähnlichen Körperchen innerhalb, sowie ausserhalb der Pilzfäden in Beziehung zu der Sporenbildung stehen, für nicht erbracht; wir müssen vielmehr die Sporenfrage beim *Actinomyces* als eine noch offene betrachten.

Noch viel weniger aber kann man etwa alle diese kokkenähnlichen Körperchen nur als den Ausdruck der Degeneration der betreffenden Stäbchen und Fäden, als „Involutionsformen“ ansprechen, oder sämmtlich als abgestorbenen Pilzdetritus auffassen. Für einen Theil dieser Elemente, namentlich darunter für solche von mehr unregelmässig eckiger Gestalt sind diese Annahmen wohl zulässig, ein anderer Theil derselben aber ist sicher nicht in diesem Sinne zu deuten. Denn einmal haben wir, wenn auch spärlicher, derartige körnige Bildungen auch in ganz frischen Culturen, in der ersten Woche gesehen, unter Verhältnissen, welche dem Gedeihen der Organismen sehr zusagend waren, und zweitens ist es uns gelungen, durch Weiterimpfung von Culturen, welche ausschliesslich oder wesentlich nur derartige Kokkenformen enthielten, den Beweis zu liefern, dass es sich nicht um todtten Detritus handeln kann. So zeigte z. B. die 9 Monate alte Cultur, von der das Photogramm, Taf. V. Fig. 1, her stammt, körnige Stäbchen in exquisitester Form und Menge in allen angefertigten Präparaten, und bereits 7 Tage nach Aussaat einer zweiten Generation dieser Cultur hatten sich daraus makrosko-

pisch zahlreiche frische Knötchen und mikroskopisch ausschliesslich die schönsten protoplasmatischen leicht färbbaren Kurzstäbchen ohne kokkenartige Elemente entwickelt von der bekannten Form, wie wir sie in den jüngsten Knötchen zu finden gewohnt waren (Taf. V. Fig. 2). Es ist nun sehr lehrreich, zu sehen, wie 25 Tage später in derselben letztgenannten Cultur die Bildung von kokkenartigen Elementen in fast sämtlichen Stäbchen von neuem vor sich geht (Taf. V. Fig. 3), wenn auch noch nicht in der exquisiten Weise, wie in der 9 Monate alten Stammcultur. Wir verweisen hier ferner auf die hierher gehörigen Photographie Taf. IV. Fig. 6 u. 7, welche ebenfalls lehren, dass nach Aussaat einer neben Stäbchen auch vielfach kokkenartig gegliederte Fäden enthaltenden Cultur nach 7 Tagen wiederum rein protoplasmatische, nicht körnige kürzere Elemente entstanden sind.

Nach alledem können wir die mikrokokkenartigen Bildungen innerhalb wie ausserhalb der Pilzorganismen nicht insgesamt für Degenerationsformen, nicht für todte Detritusmassen halten, sondern müssen einen grossen Theil derselben für sehr lebensfähige Elemente ansprechen.

Auch als blosse künstliche kugelige Zusammenballungen des protoplasmatischen Inhaltes der Stäbchen oder Fäden, wie man solche nach zu starker Erhitzung der Deckglaspräparate oder unter dem Einfluss gewisser Reagentien (Jodlösung, starker Säuren) an Bakterienpräparaten nicht selten zu Stande kommen sieht, kann man diese kokkenartigen Elemente nicht auffassen. Gewiss mögen solche gefärbten Protoplasma-Anhäufungen mitunterlaufen; aber im Ganzen sind diese Elemente deshalb nicht als Effecte derartiger Behandlung hier anzusehen, weil ganz identische kokkenähnliche Bildungen auch in frischen, unbehandelten menschlichen Actinomycesdrusen vorkommen, und ferner auch ohne Anwendung von Jodlösung, bei alleiniger Färbung der vorsichtig erhitzten Deckglaspräparate mit Anilingentiana, dieselben kokkenartigen Elemente in den Stäbchen in die Erscheinung traten, andererseits aber dieselben Gebilde bei Anwendung der Gram'schen Methode und sogar bei absichtlich langer Jodeinwirkung durchaus nicht in allen Stäbchen und Fäden eines und desselben Präparates beobachtet wurden.

Sind nun schliesslich diese Bildungen für legitime Kokken zu halten? Auch diese Auffassung können wir nicht theilen. Sowohl das optische Verhalten vieler hierher gehöriger Körperchen, ihre mangelnde kugelige Gestalt, die unregelmässig eckige Form, als auch besonders ihr biologisches Verhalten sprechen gegen diese Annahme. Denn niemals haben wir eine Theilung dieser Gebilde als solcher, nie eine Vermehrung in irgend einer der bekannten Anordnungen, wie sie ächte Kokken zeigen, gesehen. Eine freie primäre Kokkenbildung ausserhalb der Stäbchen ist uns nicht vorgekommen, und, — worauf besonderer Werth zu legen ist — bei Züchtung solcher kokkenhaltiger Elemente gingen aus ihnen stets wieder Kurzstäbchen hervor.

Auf Grund aller unserer Erfahrungen können wir demnach die Gesammtheit der Körnchen weder als abgestorbenen Detritus, noch als Kunstproducte ansprechen, ebenso wenig das Vorhandensein legitimer Kokken anerkennen, wie den zwingenden Beweis von Sporen für erbracht halten. Da man die verschiedensten Uebergänge zwischen äusserst kurzen Stäbchen und diesen kokkenartigen Elementen vielfach zu sehen bekommt (s. z. B. Taf. IV. Fig. 6), so könnte man daran denken, die letzteren als durch weitere Gliederung aus den Kurzstäbchen hervorgegangene Gebilde aufzufassen. Doch halten wir die Frage nach der Natur aller dieser körnigen Bildungen vorläufig noch für eine offene.

XI. Wir kommen nun zu dem dritten auffälligsten Element im mikroskopischen Bilde des Actinomyces, zu den sogenannten Keulen.

In Bezug auf diese Gebilde können wir uns bei den hier in Rede stehenden Culturversuchen insofern kurz fassen, als wir in den Agar-, Eier- und Bouillonculturen, mit denen wir arbeiteten, keine Bildungen angetroffen haben, welche mit den bekannten grossen glänzenden, beim Menschen an der Peripherie der Actinomycesdrusen vorkommenden Keulen identisch gewesen wären. Dieser auch von Boström hinsichtlich der Agarculturen bestätigten Thatsache gegenüber ist es um so bemerkenswerther, dass wir durch Injection solcher Culturen ohne die grossen Keulen, im Thierkörper so häufig die Entwicklung ganz charakteristischer Keulen an der Peripherie typischer Dru-

sen zu Stande kommen sahen. Während die grossen ausgebildeten Keulenformen in unseren Culturen fehlten, haben wir in Eierculturen und besonders häufig in den Agarculturen kleinere Anschwellungen an dem einen Ende kurzer und mittlerer Stäbchen sowohl wie längerer Fäden gesehen, welche eine knopfförmige oder olivenförmige, oder auch noch etwas länger ausgezogene Gestalt zeigten (s. Photogramme). Boström beschreibt ähnliche kleine Endanschwellungen der Pilzfäden und deutet dieselben als die ersten Anfänge der grossen glänzenden Keulen, welche letztere durch allmähliche Vergrösserung der ersteren entstehen sollten. So ansprechend auch diese Auffassung ist, so sind doch auch wesentliche Unterschiede zwischen beiden Arten von Anschwellungen vorhanden. Die ausgebildeten Actinomyceskeulen verhalten sich den kernfärbenden Anilinfarbstoffen gegenüber ablehnend, während sich die kleinen knopfförmigen Endanschwellungen in den Culturen sowohl, als beim menschlichen Actinomyces nach der Gram'schen Methode stark blau färben, ja oft noch intensiver, als die Fäden, an denen sie sitzen. — Die ausgebildeten grossen Keulenformen sind wohl im Sinne Boström's als degenerative Bildungen, entstanden durch regressive Metamorphose an der Pilzscheide aufzufassen: die kleinen knopfförmigen Anschwellungen dagegen gleichfalls als Degenerationsformen, wenn auch nur im Beginne, zu deuten, wird uns, abgesehen von ihrer leichten und intensiven Färbbarkeit, deshalb schwer, weil wir wiederholt solche Bildungen auch in jugendlichen Culturen, innerhalb ganz frischer thautropfenartiger Knötchen, an Culturen, welche nicht die Zeichen des Niederganges, sondern lebhafter Wachsthumsenergie darboten, gesehen haben.

Nach diesen Auseinandersetzungen über die Entwicklung müssen wir noch einige kurze Bemerkungen über die ja bekanntlich strittige botanische Stellung der Actinomyceten hinzufügen.

Von einer Seite wurden die Actinomyceten für eine Schimmelpilzart gehalten, von anderer Seite zu den Spaltpilzen gerechnet. Wir müssen, wie wir das bereits am 11. April 1890 ausgesprochen haben (s. Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, Sitzung vom 11. April 1890), die Strahlen-

pilze auf Grund unserer fortgesetzten Untersuchungen gegenüber den eigentlichen einförmigen „monomorphen“ Bakterien in Uebereinstimmung mit Boström zu der höher organisirten Gruppe der sogenannten „pleomorphen“ Bakterien zählen, welche bei ihrer Entwicklung einen weiteren Formenkreis zu durchlaufen vermögen. Die verschiedenen Wuchsformen, die bei dem *Actinomyces* in den Culturen oder in den Krankheitsheerden zur Beobachtung gelangten, waren theils kurze stabförmige, theils fadenförmige Elemente mit geradlinig gestrecktem oder wellig gebogenem Verlaufe, theils deutlich spiralig gewundene Organismen, theils segmentirte oder „kokkenartig“ gegliederte Stäbchen und Fäden; im Thierkörper entwickelten diese Bildungen noch einen bestimmten architektonischen Aufbau in Gestalt der mit Keulen versehenen Drusen. Die Grundform aber für diese verschiedenen eben genannten Wuchsformen bildet, abweichend von Boström's Angaben, in dessen Culturen „ausschliesslich reichlich verzweigte Pilzfäden“ (a. a. O. S. 200) zuerst auftraten, nach den Resultaten unserer zahlreichen methodisch von Tag zu Tag angestellten Untersuchungen von Agarculturen das einfache gleichmässig protoplasmatische Kurzstäbchen, theils in gerader, theils in gekrümmter Form, aus dem dann die eben genannten weiteren Formen entstehen.

Für die früher vielfach, aber auch noch neuerdings (Bujwid) angenommene Schimmelpilznatur des *Actinomyces* liegen unseren fortgesetzten Untersuchungen zufolge keine Befunde vor.

XII. Wir gelangen schliesslich zu dem wichtigsten, weil entscheidenden Punkte unserer Untersuchung, nemlich den Ergebnissen unserer Thierexperimente, und lassen zunächst die Protocolle unserer Impfversuche folgen.

Versuch 1. Am 24. Jan. 1890 wird einem Kaninchen ein kleines Stück einer auf schräg erstarrtem Agar anaerob gewachsenen 14 Tage alten Cultur III durch eine kleine Incisionsöffnung in die Bauchhöhle gebracht. Mikroskopisch bestand das Impfmateriel nur aus Stäbchen, welche nach Einwirkung des Gram'schen Verfahrens vielfach gekörnt erschienen. Das Thier wurde am 2. März getödtet. Section: zwei bohnen-grosse Tumoren auf dem Peritonäum, welche auf dem Durchschnitt einen talgartigen Inhalt zeigen. Frisch angefertigte mikroskopische Präparate derselben zeigen mehrfach *Actinomyces*-colonien mit peripherischen Keulen, dagegen konnten letztere in gehärteten Schnittpräparaten nicht gefunden werden.

Da jedoch die Präparate 2—3 Tage in frischem Zustande vor der Härtung aufbewahrt wurden, ist dieser negative Befund vielleicht auf die mehrfach von uns, sowie auch von Weigert gemachte Erfahrung zu beziehen, dass ein Theil der Keulen schon nach eintägigem Stehenlassen actinomycesehaltigen Eiters nicht mehr sichtbar zu machen ist.

Versuch 2. Am 8. Febr. 1890 wurden einem Kaninchen Stücke von einer anäroben Oberflächencultur III auf Agar, welche von der primären Cultur im Ei abstammte, in die Bauchhöhle gebracht. Mikroskopisch enthielt dieselbe kurze dicke, oft an einem Ende kolbig verbreiterte Stäbchen, einige Doppelstäbchen. Das Thier wird am 8. März 1890 getödtet. Section: Diastase der Bauchmusculatur im Bereiche der Narbe. Auf dem Parietalperitonäum neben der Incisionsnarbe ein erbsen- und ein bohnergrosser höckeriger Tumor, der aus stecknadelkopf- bis hirsekorngrossen Knoten zusammengesetzt ist. Ausserdem finden sich zahlreiche isolirte stecknadelkopf- bis hirsekorn-grosse Knötchen von gelblichem Aussehen zerstreut auf dem Peritonäum und in der Bauchmusculatur im Bereiche des Muskelspaltes. Ganz getrennt hiervon sitzen 2 Tumoren von Erbsen- bis Bohnengrösse im Netz. Jeder Tumor zeigt eine bindegewebige Hülle, welche eine talgartige Masse umschliesst. In letzterer finden sich bei jedem kleinsten mikroskopisch frisch untersuchten Knötchen 2—3 gut ausgebildete Actinomycescolonien, von denen ein Theil in ausgezeichneter Weise an der Peripherie mit einem Strahlenkranz von Keulen besetzt ist¹⁾. Diese Colonien sind eingebettet in ein eitrig zerfallenes Granulationsgewebe. Schnitte durch einen erbsengrossen Tumor nach Einbettung in Photoxylin und Behandlung nach Gram ergeben folgenden Befund: In je einem Schnitte liegen 2—3 Actinomycescolonien. Dieselben bestehen grossentheils aus feinsten blau gefärbten Körnchen, deren Entstehung aus körnig zerfallenen Fäden nicht zweifelhaft ist, da man vielfach namentlich an der Peripherie des Haufens Fäden findet, welche aus reihenförmig angeordneten, durch eine äusserst feine Hülle mit einander verbundenen kugligen Körnchen bestehen. Während nun in solchen nach Gram behandelten Präparaten Keulen nicht zu constatiren sind, findet man solche intensiv roth gefärbt an der Peripherie der Schnitte desselben Tumors nach Färbung mit Säurefuchsin (Tafel VIII. Fig. 1). Die Pilzcolonien sind von einer Zone eitrig zerfallenden Granulationsgewebes umgeben. Nach Gram gefärbte Schnitte durch einen bohnergrossen Tumor, lassen ein dichtes Netz langer ziemlich breiter verfilzter, meistens welliger, häufig dichotomischer Fäden erkennen (s. Tafel VIII. Fig. 2). Eine deutliche Gliederung derselben ist nicht wahrnehmbar, doch hat sich der Inhalt stellenweise zu kugligen Körnchen verdichtet, so dass man glauben könnte, bisweilen Mikrokokkenketten vor sich zu haben. Derartige Fäden tauchen häufig aus dichten Haufen feinsten, nicht immer ganz runder Körnchen hervor und lassen sich eine

¹⁾ Diese Präparate wurden der Berl. med. Gesellschaft demonstrirt.

Strecke weit in diese Haufen hinein verfolgen; an anderen Körnchenlagern findet man nichts mehr von Fäden.

Versuch 3. Am 15. Febr. 1890 wurden einem Kaninchen 4 grössere Stücke einer anaerob angestellten Cultur III auf schräg erstarrtem Agar in die Bauchhöhle gebracht, welche mikroskopisch nur kurze dicke Stäbchen, im Condenswasser längere schlankere, auch mehrgliedrige Stäbchen enthielt. Ausserdem wurden noch zwei Platinösen voll von Culturmateriel ohne Agar tief in das subcutane Bindegewebe des Thorax eingeschoben. Getödtet 12. März 1890 ¹⁾. Entsprechend der Narbe finden sich auf dem Peritonäum der inneren Bauchwand zwei Tumoren von Erbsen- bis Bohnengrösse. Durchschnitten lassen sie eine bindegewebige Hülle und einen gelblichen talgartigen Inhalt erkennen. In der Umgebung des bohnengrossen Tumors liegen 6 kleinere etwas mehr als stecknadelkopfgrosse Knötchen, welche einen gelben Inhalt durchschimmern lassen. Ganz getrennt von der Incisionsstelle findet sich mit dem Colon ascendens durch eine bindegewebige Adhäsion verwachsen ein haselnussgrosser Tumor von weissgelber Farbe, der auf dem Durchschnitt durchweg aus einer talgartigen gelben Masse besteht. In der Umgebung dieses grösseren Tumors liegen ebenfalls disseminirte miliare gelbe Knötchen. Mikroskopische Untersuchung des talgartigen Inhalts der stecknadelkopfgrossen Knoten ergiebt reichliche, theils dunkle, theils glasig helle Actinomyceshaufen. An der Peripherie der ersteren treten vielfach deutliche Keulen hervor. In den aus dem bohnengrossen Tumor gewonnenen nach Gram behandelten Präparaten findet man ein körniges Mycel aus feinsten nicht ganz runden Körnchen bestehend, welches sich an der Peripherie hier und da in Fäden auflösen lässt, die aus Körnchenreihen bestehen.

Versuch 4. Am 16. Febr. 1890 wird ein Kaninchen mit einer in einem 3 Minuten gekochten Ei entwickelten Cultur III inficirt. Das noch flüssige Eigelb wird tüchtig verrührt und dem Kaninchen in die Bauchhöhle gegossen. Die eingebrachte Masse enthielt Rasen aus eng verfilzten, theils welligen, theils mehr gestreckten graden Fäden. Das Thier getödtet 16. März 1890. In der Incisionsnarbe liegen an einigen Punkten talgartige Massen frei zu Tage. Nach Trennung der Bauchdecken zeigt sich an der Peritonäalfäche der vorderen Bauchwand entsprechend der Narbe ein Tumor von Markstückumfang, von rosa Farbe mit gelben Einsprengungen. In der Umgebung dieses grösseren Tumors mehrere kleine gelbliche Knötchen. Ersterer geht durch den Muskelspalt hindurch bis auf die Haut; auf dem Durchschnitt besteht er aus einem derben Stroma, welches multiple etwas trockne talgartige Heerde umschliesst, ähnlich der Schnittfläche einer Tonsille, in welcher die bekannten Pfröpfe eingelagert sind. Die mikroskopische Untersuchung eines isolirten gestielten kleinsten Knötchens im frischen Zustande weist dunkle Pilzhaufen nach, welche

¹⁾ Präparate der Berl. med. Gesellschaft demonstrirt.

sich bei Zusatz von Kalilauge in prachtvolle helle Fadennetze differenzieren, und hier und da an der Peripherie gut ausgebildete, deutlich den Fäden endständig aufsitzende Keulen erkennen lassen. Ueber die Grenzen der Colonien hinauswachsend verzweigen sich zahlreiche Fäden netzförmig in den umgebenden Zellhaufen. Ein kleiner Theil dieser Fäden ist ungegliedert, ein anderer aus Stäbchen zusammengesetzt, ein dritter besteht aus ganz kurzen fast kokkenähnlichen Abschnitten. —

Von dem talgartigen Materiale der kleinen Knoten werden am 16. März zwei schräg erstarrte Agargläser geimpft und nach Buchner anaerob angestellt. Am 20. März haben sich in beiden Gläsern zahlreiche Knötchen entwickelt, welche zu einer weissen Masse confluirten. Die mikroskopische Untersuchung an diesem Tage zeigt kürzere und etwas längere Stäbchen, daneben kokkenartige Elemente. Mit dem in Stücke geschnittenen grössten Tumor wird ein Kaninchen inficirt. (S. Versuch 7.)

Versuch 5. Am 24. Februar 1890 wird ein Kaninchen mit einer auf schrägem Agar anaerob gewachsenen aus kurzen und etwas längeren Stäbchen bestehenden Cultur IV inficirt. Die Cultur, von der Oberfläche des Agars vorsichtig abgeschabt, wird mit 2 Pravazspritzen voll physiologischer Kochsalzlösung verrieben, durch ein enges Drahtnetz filtrirt und davon $1\frac{1}{2}$ ccm nach Laparotomie in die Leber injicirt. Am 30. März wird das Thier getödtet. Section: In der Bauchnarbe ein kirschengrosser Tumor mit eingeschlossenen gelben Heerden. In den ungefärbt untersuchten Präparaten sind an den Pilzhaufen weder Keulen noch Fäden zu finden. Nach Gram behandelte Eitertrockenpräparate lassen nur körnige Mycelien erkennen. An den Schnittpräparaten dieses Tumors findet man exquisite Eiterung in der Umgebung der Pilzhaufen, indem in nächster Nachbarschaft derselben ein Mantel von polynucleären Eiterkörpern liegt, an welchen sich eine Zone von Granulationsgewebe anschliesst. An vielen Stellen sind die Pilze im Bereiche der starken Eiterung zu Grunde gegangen.

Versuch 6. Am 5. März 1890 wird eine anaerob gewachsene Cultur IV von der schräg erstarrten Agaroberfläche abgeschabt, mit $1\frac{1}{2}$ Pravazspritzen einer physiologischen Kochsalzlösung verrieben und mit 6 Platinösen einer Cultur von *Staphylococcus aureus* vermischt einem Kaninchen in die Leber injicirt. — Getödtet 7. April 1890. Völlig vernarbte Bauchwunde. In der Peritonäalhöhle und der Leber nichts zu finden. In der Milz 5 stecknadelkopf- bis erbsengrosse gelbliche Heerde. Auf dem Durchschnitt zweier derselben zeigt sich eine Hülle mit gelbem talgigem Inhalt erfüllt; einer der Heerde wird mikroskopisch untersucht; er enthält 3 Actinomycesdrusen mit deutlichen peripherischen Keulen. Das die Colonien umschliessende Gewebe beherbergt reichliche sehr grosse Fettkörnchenzellen. In der Niere finden sich

2 streifige weisse Narben mit rother Zone als Residuen der ausgeschiedenen *Staphylococcus*heerde. —

Wahrscheinlich ist die in die Leber injicirte Masse unmittelbar in die Blutbahn und auf embolischem Wege direct in die Milz gelangt.

Versuch 7. Am 16. März 1890 wird der bei Kaninchen IV durch Einbringung einer Eiercultur erzeugte tonsillenartige Tumor vom Umfange eines Marktstücks in 4 Stücke geschnitten und diese einem Kaninchen tief in die Bauchhöhle hineingeschoben.

Das Thier wird am 10. April 1890 getödtet¹⁾: Entsprechend der Incisionsstelle an dem Parietalperitonäum ein mehr als bohnergrosser Tumor, ausserdem vier Tumoren von Haselnuss- bis mehr als Pflaumengrösse an der Unterfläche des linken und des rechten Leberlappens, am Colon, im Netz. Ebenda zwei erbsengrosse Geschwülste. Die Tumoren sind sämmtlich von rosenrother Farbe mit vielfachen gelblich durchscheinenden Einsprengungen. Die Gesamtmasse der geernteten Tumoren übertrifft um ein Vielfaches das Volumen des verimpften Stückes. Auf dem Durchschnitt erkennt man an den kleineren Tumoren eine derbe peripherische Zone und einen talgartigen Inhalt. Letzterer besteht aus *Actinomyces*colonien, eingebettet in zahlreiche polynucleäre Eiterkörperchen, die mit grossen Fettkörnchenzellen untermischt sind. In einem Präparate findet sich ein *Actinomyces*rasen mit exquisiten Keulen. Der Eiter, auf Deckglaspräparaten nach Gram enthält reichliche intensiv gefärbte körnige Mycelien.

Versuch 8. Am 24. März 1890 werden einem Kaninchen Stücke einer schrägen Agarcultur V in die Bauchhöhle gebracht. — Getödtet 25. April 1890. Mikroskopische Untersuchung eines frischen Quetschpräparates der talgartigen Masse aus einem grösseren Tumor ergibt folgenden Befund: Einer der isolirten Pilzrasen zeigt im Centrum ein fädig-körniges Mycel, dessen Körnchen nicht so deutlich unterscheidbar sind wie bei Gram'scher Behandlung. An der Peripherie treten die schönsten Keulen hervor, zum Theil auf sehr langen, zum Theil auf kürzeren Fäden aufsitzend. Der Rasen liegt eingebettet in ein Rundzellengewebe. Derartige Drusen mit exquisiten Keulen werden mehrfach in dem Präparate angetroffen. In dem talgartigen Inhalte eines zweiten Tumors findet man Colonien, an deren Umfang breite, meist wellig gebogene Fäden ausstrahlen, die sich zum Theil in das Centrum des Rasens hinein verfolgen lassen. Diese Fäden erscheinen bei Behandlung mit Salzwasser und Kalilauge hyalin ohne jede Körnung. In anderen Präparaten desselben Tumors sieht man an dem einen Rande eines Rasens nur Keulen, an dem andern nur Fäden ausstrahlen. Auch diese Rasen sind in ein aus

¹⁾ Präparate dem XIX. Congress der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie demonstriert.

grösseren und kleineren Rundzellen bestehendes Gewebe eingebettet. Dieselben Fäden, welche im frischen Zustande homogen und hyalin erscheinen, zerfallen bei der Behandlung nach Gram in unregelmässige Abschnitte. An Serienschnitten durch einen kleinen Tumor stellt man durch Färbung mit Säurefuchsin in prachtvoller Deutlichkeit die peripherischen Keulen dar, während die Rasen nicht weiter differenziert werden. An Schnitten durch einen grösseren Tumor, welche nach der von Weigert modificirten Gram'schen Methode gefärbt waren, sieht man auf das schönste reichliche Rasen, theils aus kürzeren spirillenartigen, theils längeren welligen Fäden bestehend (Taf. VIII. Fig. 3), von denen letztere vielfach in regelmässigen Abständen dunkle Körnchen beherbergen. Keulen finden sich in den Schnittpräparaten dieses Tumors nicht.

Versuch 9. Am 1. April 1890 werden einem Kaninchen 4 Stücke einer Agarcultur in die Bauchhöhle gebracht. — Tödtung und Section 21. Mai 1890. Auf dem Parietalperitonäum entsprechend der Narbe ein pflaumengrosser Tumor mit haselnussgrossem Appendix und mit rosarother von ziemlich zahlreichen Gefässen durchzogener Oberfläche. Dieser Tumor ist aus zahlreichen erbsengrossen Knoten zusammengesetzt, welche über die Oberfläche bucklig prominiren. Ausser diesem finden sich noch 2 haselnussgrosse und ein bohnergrosser Tumor in der Bauchhöhle von derselben Farbe und gebuckelten Oberfläche, sowie ein isolirter linsengrosser Knoten. In sämmtlichen Geschwülsten der bekannte talgartige Inhalt, welcher aus Rundzellen untermischt mit grossen Fettkörnchenkugeln besteht. In einem linsengrossen Tumor findet man die oft beschriebenen dichten Körnchenlager, an deren Peripherie deutliche Keulen wahrnehmbar sind. In nach Gram gefärbten Deckglaspräparaten erkennt man deutlich die Entstehung der Körnchenlager aus körnigen Fäden. Im Ganzen sind die Rasen spärlich in den grösseren Tumoren. Abimpfungen von dem talgartigen Inhalt eines derselben auf 5 Agargläser ergeben bis zum 8. Juni keine Entwicklung.

Versuch 10. Am 17. Mai 1890 wird die Bauchhöhle eines Kaninchens mit Stückchen einer anaerob nach Buchner gewachsenen Agarcultur III von Fall II inficirt, welche mikroskopisch meistens kurze, zum Theil körnige Stäbchen enthielt. Tödtung und Section 15. Juni. An 5 verschiedenen Stellen der Bauchhöhle im Ganzen 8 grössere Tumoren. Eine mehr als pflaumengrosse Geschwulst sitzt an der Incisionsnarbe des Peritonäums, zwei haselnussgrosse an verschiedenen Stellen des Mesenteriums, drei von Bohnen- bis Erbsengrösse im Netz, zwei in neugebildeten Pseudomembranen. In der Umgebung der grösseren Tumoren finden sich immer noch zahlreiche isolirte steknadelpkopfgrosse Knötchen vor. Sämmtliche grössere Tumoren haben die bekannte rosa Farbe mit gelblichen etwas prominenten Einsprengungen. Von zwei dieser Tumoren, die behufs Impfung durchschnitten werden, ergiebt der eine das wiederholt gesehene Bild einer Tonsille mit Pfröpfchen, in dem andern ist der talgartige Inhalt mehr con-

fluit. Besonders ergiebig ist die mikroskopische Untersuchung der kleinsten stecknadelkopfgrossen Knötchen. Hier finden sich in jedem Präparate die schönsten *Actinomyces*rasen sowohl mit exquisiten peripherischen Keulen (s. Taf. VI. Fig. 4), als auch prachtvolle Fadenmycelien ohne solche. In ersteren treten die Fäden in radiärer Richtung häufig zwischen den Keulen hervor.

Impfung des Tumoreninhalts von Versuch X auf künstlichen Nährboden.

15. Juni 1890. Mit der talgartigen Masse eines etwa erbsengrossen Tumors, in welcher Rasen mit Keulen nachgewiesen waren, werden 3 mit ameisensaurem Natron versetzte Agarröhrchen geimpft. — 26. Juni. Auf der schräg erstarrten Oberfläche eines Röhrchens haben sich 2 linsengrosse und 3 hirsekorn-grosse markigweise dicke runde Knoten entwickelt. Einer der ersteren zeigt mikroskopisch nur Stäbchenentwicklung, und zwar fast ausschliesslich nicht granulirte kurze und etwas längere, nur sehr vereinzelte granulirte Fäden, sowie öfter an einem Ende kolbig verbreiterte Stäbchen.

27. Juni. In einem zweiten durch Stich inficirten Rohre ist auf der der Oberfläche eine markigweise linsengrosse Masse zur Entwicklung gelangt, im Stichkanal eine zweifellose Zunahme der eingetragenen Masse. Die mikroskopische Untersuchung am 27. und 28. Juni ergibt nur kurze zum Theil körnige Stäbchen. Diese Culturen haben sich in schönster Weise fortgesetzt auf Agar, auf Agar mit ameisensaurem Natron und in Hühnereiern rein entwickelt. (Taf. VI. Fig. 5, Taf. VII. Fig. 1).

Versuch 11. Am 3. Juli 1890 wird ein Kaninchen intraperitonäal mit Agarstücken einer Cultur VIII inficirt. — Tödtung 6. August 1890¹⁾. An der Peritonäalnarbe ein pflaumengrosser Tumor, im Netz 2 pflaumengrosse, 5 haselnuss-grosse, an verschiedenen Stellen 13 linsen- bis boh-nengrosse, ferner zahlreichste stecknadel- bis hirsekorn-grosse Knötchen. Die Geschwülste sämmtlich von der oft beschriebenen Constitution. Mikroskopisch findet man in dem talgartigen Inhalt der kleinsten Knötchen bei Behandlung mit Kalilauge und Salzwasser sehr zahlreiche *Actinomyces*drusen mit peripherischen Keulen, welche zum Theil sehr langen Fäden aufsitzen.

Versuch 12. Am 8. Juli 1890 werden einem Kaninchen Stücke einer Agar-cultur IV in die Bauchhöhle gebracht, welche aus den Tumoren des Kaninchens 10 gezüchtet war. — Getödtet und secirt 12. August 1890. An der Peritonäalnarbe zahlreiche stecknadelkopfgrosse und ein boh-nengrosser aus kleinen gelben Knötchen conglomerirter Tumor. In Adhäsionen zwischen Colon ascendens und Dünndarmschlingen finden sich 10 erbsen- bis haselnuss-grosse Tumoren mit gelben an der Oberfläche prominirenden Einsprengungen; ferner in anderen Adhäsionen zahlreichste

¹⁾ Präparate vorgelegt auf dem internationalen Congress 1890.

miliare Knötchen. Von letzteren sind 6 untersucht worden. Ihr Inhalt zerklüftet in 3—4 Drusen, deren jede einen Kranz von peripherischen Keulen im Kalipräparate zeigt. (Taf. VIII. Fig. 4.) Die Keulen sitzen zum Theil langen Fäden auf. Jede Druse ist in einen Leukocytenhaufen eingebettet.

Versuch 13. Am 18. Juli 1890 werden einem Hammel 2 in Stücke geschnittene Agarculturen (IV und V) in die Bauchhöhle gebracht, ferner je eine vom Agar abgeschabte Cultur IV und V mit 10 Gramm physiologischer Kochsalzlösung verrieben nach Filtration durch ein enges Drahtnetz in die Vena jugularis injicirt. Die Culturen IV, von denen die eine 20, die andere 13 Tage alt war, zeigten makroskopisch zahlreichste Knötchen, mikroskopisch nach Gram behandelt kurze nicht körnige Stäbchen. Die Culturen V, 7 Tage alt, geben denselben Befund, daneben längere oft an einem Ende knopfförmig angeschwollene Stäbchen. — Tödtung nach 7 Wochen. Der Befund vollkommen negativ; nur 2 blande höchstens linsengrosse Agarstückchen durch eine durchsichtige Pseudomembran am Mesenterium fixirt. Es fehlen uns weitere Erfahrungen, ob der Hammel überhaupt immun gegen den *Actinomyces* ist.

Versuch 14. Am 26. Juli 1890 wird ein Kaninchen intraperitonäal inficirt mit Stückchen einer Agarcultur V, welche in zweiter Generation von einem Tumor des Kaninchens 10 abstammte. Die Cultur enthält laut Photogramm Taf. V. Fig. 6 nur kurze feine höchst selten granulirte Stäbchen. — Getödtet 9. September 1890. Es finden sich an der Peritonäalnarbe ein haselnussgrosser Tumor, der aus kleineren gelblichen Knoten zusammengesetzt ist, ferner auf einem von der Narbe ausgehenden fadenförmigen Stiel ein bohngrosser Tumor. Am Peritoneum parietale der vorderen Bauchwand mindestens 12 stecknadelkopfgrosse Knötchen innerhalb neu gebildeter Adhäsionen. Im Omentum 3 haselnussgrosse Geschwülste, im Mesenterium 5 stecknadelkopfgrosse gelbe Knötchen. Mikroskopische Präparate von kleinsten Knötchen zeigen im frischen Zustande dunkle scheinbar körnige Rasen, an der Peripherie vielfach mit schönsten Keulen besetzt. (S. Taf. VI. Fig. 1 und 2 und Taf. VII. Fig. 5.) Bei Behandlung mit 5procentiger Kalilauge lösten sich die dunklen Haufen in ein fadenförmiges Mycel auf.

Versuch 15. Am 14. October 1890 werden einem Meerschweinchen in die Peritonäalhöhle Stückchen einer von Fall II abstammenden Agarcultur VIII gebracht, welche fast durchweg aus kurzen plumpen nach Gram'scher Färbung nicht gekörnten Stäbchen bestand. — Getödtet 16. November 1890. 3 etwa haselnuss- bis bohngrosse Tumoren von dem bekannten tonsillenartigen Aussehen in der Bauchhöhle. Daneben mehrere stecknadelkopfgrosse Knötchen. In letzteren finden sich Drusen, deren centrale Masse aus einem fädigen Netzwerk besteht, peripherisch besetzt mit den bekannten Keulen, zwischen denen fädige Ausläufer hervortreten.

Rückimpfung vom Meerschweinchen, Versuch 15, auf künstliche Nährböden.

Von einem dieser Tumoren wird geimpft

a) ein Agarröhrchen durch Stich, welches unter aeroben Bedingungen angestellt wird,

b) 2 schräg erstarrte Agargläser durch Impfstrich, welche nach Buchner unter Luftabschluss cultivirt werden.

Ad a) 18. November mit der Loupe keine Entwicklung wahrnehmbar. — 21. November. In allen 3 Impfstichen kann man mit der Loupe sehr deutlich, aber auch schon mit blossem Auge eine Differenzirung in zahlreiche Knötchen erkennen. Ein Oberflächenwachsthum ist nicht vorhanden. — 24. November. Die Knötchen im Impfstiche wachsen weiter.

Ad b) Rohr 1. 18. November mit Loupe noch keine Entwicklung erkennbar. — 21. Nov. Entwicklung zahlreichster thautropfenartiger, bereits mit blossem Auge eben wahrnehmbarer Knötchen, zum Theil als deutliche periphere Aussaat in der Umgebung der eingetragenen Stücke des Tumors sichtbar. — 23. Nov. Mikroskopische Untersuchung zeigt nach Gram'scher Färbung nur kurze gleich lange nicht granulirte Stäbchen, nirgend Fäden. — Auch die ferneren Abimpfungen von dieser Cultur sind erfolgreich gewesen.

Rohr 2. 18. November. Bereits heute mit Loupe sichtbare Knötchenbildung. — 21. November. Mit blossem Auge sichtbare deutliche thautropfenartige Knötchen. Mikroskopisch wie Rohr 1.

Versuch 16. Am 21. October 1890 wird ein Kaninchen mit Stücken einer Agarcultur XIII von Fall I intraperitonäal inficirt. Das Thier lebt noch ohne Krankheitssymptome. Soweit durch die Bauchdecken fühlbar, ist die Entwicklung von Tumoren hier eine sehr mässige. Es sind nur 2 kleine Geschwülste zu palpiren.

Versuch 17. 22. October 1890. Kaninchen mit Cultur XIII von Fall I intraperitonäal inficirt. Getödtet 28. November 1890. Section ergibt abweichend von den anderen constanten Befunden keine Tumoren an den Bauchdecken; im Netz nur 4 etwa bohnergrosse Tumoren. In nach Gram gefärbten Deckglaspräparaten äusserst spärliche Fäden vorhanden; in anderen fehlen sie gänzlich. Eine Rückimpfung von einem der Tumoren auf 4 Agargläser (2 aerob, 2 anaerob angestellt) hatte bis zum 19. December 1890 keine Entwicklung ergeben. Wahrscheinlich hat bei dieser lange auf künstlichem Nährboden fortgesetzten und nicht wieder durch den Thierkörper hindurchgegangenen Cultur eine Abschwächung der pathogenen Wirkung stattgefunden.

Versuch 18. Meerschweinchen inficirt 25. October 1890 durch Einbringung von Stücken einer Agarcultur XI in die Bauchhöhle. Lebt noch; ein grösserer höckeriger Tumor durch die Bauchdecken hindurch fühlbar.

Versuch 19. Am 29. November 1890 werden einem Kaninchen Stücke einer Agarcultur X von Fall II in die Bauchhöhle gebracht. Die Cultur enthielt mikroskopisch gerade und etwas gekrümmte, meist kurze nicht gra-

nulirte Stäbchen, vereinzelte längere Fäden. — Getödtet 3. Januar 1891. Die Bauchwunde völlig ohne Knoten vernarbt. In der Bauchhöhle 4 haselnussgrosse Tumoren, zum Theil auf flottirenden Adhäsionen der Bauchwand, zum Theil dem Dickdarm aufsitzend. Die Tumoren erscheinen gelappt, ihre Oberfläche rosig gefärbt, mit zahlreichen gelb durchschimmernden etwas prominirenden Knötchen. Im Netz zahlreiche hirsekorn-grosse bis bohnen-grosse Knötchen; einzelne miliare auf dem Mesenterium zerstreut: ein bohnen-grosser Tumor mit der Unterfläche der Leber verwachsen. Die mikroskopische Untersuchung der talgartigen Massen in den kleinsten miliaren Knötchen ergiebt je 6—8 Drusen mit gut ausgebildeten peripherischen Keulen. Sie sind überall in ein Lager reichlicher Rundzellen eingebettet, die bei Essigsäure-zusatz sowie bei Hämatoxylinfärbung sich durch das Sichtbarwerden mehrfacher Kerne als zweifellose Eiterkörper documentiren. Hellet man dieses Lager von Eiterkörperchen durch Kalilauge auf, dann treten die Keulen viel deutlicher in die Erscheinung. —

Von zweien dieser Tumoren werden 4 Rückimpfungen auf Agar vorgenommen, davon 3 anaerob nach Buchner, eine aerob im Brütöfen angestellt.

Ad Rohr 1 (schräg erstarrtes Agar nach Buchner). 12. Januar 1891 zahlreiche stecknadelkopf- bis klein-linsengrosse Knötchen. — 23. Januar. Knötchen bis zur Grösse einer grossen Linse. Mikroskopisch: Ueberwiegend kurze dicke plumpe Stäbchen der bekannten Art neben längeren zum Theil körnigen Fäden. — Die weiteren Fortsetzungen von Culturen dieses Rohres gehen durchweg an.

Ad Rohr 2 (schräg erstarrtes Agar nach Buchner). 12. Januar 1891 zahlreiche stecknadelkopf- bis hirsekorn-grosse Knötchen. — 23. Januar zahlreiche linsengrosse Knötchen.

Ad Rohr 3 (Sticheultur nach Buchner). 12. Januar 1891. Vergrösserung der eingetragenen Masse. 23. Januar 1891. Die eingetragenen Stücke hirsekorn- bis linsengross geworden.

Ad Rohr 4 (schräg erstarrter Agar aerob angesetzt) bis 22. Januar keine Entwicklung.

Versuch 20. Meerschweinchen, geimpft in die Bauchhöhle am 16. December 1890 mit Cultur XI von Fall II, lebt noch; durch die Bauchdecken ein grösserer intraperitonäaler Tumor fühlbar.

Versuch 21. Kaninchen, geimpft in die Bauchhöhle 22. December 1890 mit Cultur XI von Fall II, lebt noch. In der Bauchhöhle mehrere kleinere Tumoren fühlbar.

Versuch 22. Am 28. Februar 1891 werden einem Kaninchen Stücke einer Agarultur XIII in die Bauchhöhle gebracht. Die Cultur enthält nur kurze plumpe, öfters an einem Ende verdickte Stäbchen. — Getödtet 5. April 1891 (auf dem XX. Chirurgencongress demonstrirt). 5 haselnuss- bis pflaumengrosse Tumoren mit gelben Einsprengungen. Mehrfache

erbsen- bis hirsekorn-grosse Knoten. Mikroskopisch in frischen Präparaten zahlreiche Drusen mit peripherischen Keulen, umgeben von einem exquisiten Leukocytenwall. Einen solchen in der Umgebung eines Rasens zeigt Taf. VII. Fig. 3 und 4.

Versuch 23. Als Controlversuch werden am 28. Februar 1891 einem Kaninchen eine grosse Anzahl reiner nicht inficirter Agarstücke in die Bauchhöhle gebracht, und zwar von demselben Agar, welches den Nährboden der Cultur gebildet hatte, mit welcher das Kaninchen in Versuch 22 inficirt worden war. — Section 6. April 1891. Sämmtliche Agarstücke bis auf zwei von kaum Bohnengrösse sind verschwunden. Von diesen ist das eine in toto von einer ganz dünnen, schleierartig durchsichtigen gefässlosen Hülle umgeben, das andere erweist sich auf dem Durchschnitt makroskopisch durchzogen von ganz zarten bindegewebigen Septis. Noch frappanter als die makroskopische Betrachtung lässt die mikroskopische Untersuchung den Unterschied der eingekapselten blanden Agarstücke in diesem Falle von den mit inficirtem Agar erzeugten Tumoren des Versuchs 22 hervortreten. Während bei letzteren, wie das Photogramm Taf. VII. Fig. 3 und 4 zeigt, ein exquisirter Leukocytenwall die Pilzdrusen umgiebt, in welchen hinein sich die von dem Mycel auswachsenden Fäden verfolgen lassen, hat man Mühe, in der Umgebung der blanden Agarstücke von Fall 23 hier und da spärliche Rundzellen zu finden, unter denen ab und zu eine Riesenzelle sichtbar ist. Der Charakter der Gewebsbildung in diesem letzteren Falle ist ein durchaus bindegewebiger. In dem einen der Agarklumpen sind die einzelnen Stücke von derberen Bindegewebszügen umschlossen, während die Bindegewebshülle bei dem anderen von äusserster Zartheit ist. In den Tumoren des Falles 22 dagegen schliessen sich die Bindegewebszüge erst peripherisch an die Leukocytenanhäufungen an, welche ihrerseits die Pilzhaufen direct umgeben. Diese histologischen Verhältnisse entsprechen völlig denen, die wir bei den actinomykotischen Geschwülsten des Rindes zu sehen gewohnt sind.

Zum Schlusse geben wir eine kurze Zusammenfassung der vorstehend ausführlich berichteten Thierexperimente und der aus ihnen hervorgehenden Folgerungen.

Im Ganzen wurden an 23 Thieren Versuche angestellt, davon 22 mit *Actinomyces* inficirt, einem wurden als Controlversuch reine Agarstücke in die Bauchhöhle eingebracht. Unter den 22 mit Strahlenpilzen inficirten Thieren befanden sich 18 Kaninchen, 3 Meerschweinchen, 1 Hammel. — 18 Thieren waren Stücke zerschnittener Reinculturen auf Agar, einem eine *Actinomyces*cultur, die in Eigelb gezüchtet war, in die Peritonäalhöhle eingebracht worden; ein Thier erhielt auf Agar gezüchtete Strah-

lenpilze mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben in die Leber injicirt, einem anderen war eine eben solche Suspension vermischt mit *Staphylococcus aureus* auf dieselbe Weise beigebracht worden, einem Thiere endlich hatten wir Stücke eines durch Impfung experimentell erzeugten Tumors in die Bauchhöhle einverleibt. Keines der Thiere zeigte *intra vitam* auffallende Krankheitserscheinungen; 18 wurden nach Ablauf von 4—7 Wochen getödtet, 4 leben noch heute, 7—9 Monate nach der Infection. Von sämmtlichen 22 Versuchen ergab nur der am Hammel ausgeführte ein negatives Resultat, während bei 17 Kaninchen und Meerschweinchen die Section eine Neubildung von Geschwülsten zeigte, und zwar 15mal nur in der Peritonäalhöhle, einmal ebendasselbst und in der Bauchmusculatur an der Incisionsstelle, einmal in der Milz. Bei den 4 noch lebenden Thieren sind die Tumoren durch die Bauchdecken hindurch zu fühlen. Die intraperitonäalen Tumoren, von Hirsekorn- bis Pflaumengrösse variirend, sassen theils der Bauchwand, theils den Därmen, dem Netz, den Mesenterien oder der Leber auf, bisweilen fanden sie sich in neugebildeten Adhäsionssträngen. Häufig fand sich in der näheren und fernerer Umgebung der grösseren Geschwülste eine grössere Anzahl hirsekorngrosser Knötchen, ein Verhalten, welches die Vorstellung einer Dissemination nahe legte. Während die Oberfläche der kleinsten Formen stets glatt war, zeigte die der grösseren Geschwülste vielfach kleine halbkuglige Prominenzen, so dass es den Anschein hatte, als sei aus vielen kleinen Tumoren durch Conglomeration ein grosser entstanden. Die Färbung der Oberfläche war eine rosige, vielfach mit gelben Einsprengungen insbesondere an den buckligen Hervorragungen. Auf dem Durchschnitte liessen die kleinsten Geschwülste eine bindegewebige Hülle und einen weichen talgartigen Inhalt erkennen. Bei den grösseren Geschwülsten war die Hülle derber und sendete vielfach anastomosirende Septa in das Innere zwischen die weichen talgartigen Massen. Aus dem wechselnden Verhältniss der beiden Bestandtheile resultirte eine verschiedene Consistenz der Geschwülste, vom pseudofluctuirenden Charakter bis zur Derbheit einer hypertrophischen Tonsille. Besonders bemerkenswerth war die mikroskopische Untersuchung, vorwiegend der kleinsten Knoten, welche mit einer

Ausnahme in allen Fällen das Vorhandensein der typischen Actinomycesdrusen mit allen den Varietäten nachzuweisen vermochte, wie wir sie von der menschlichen Strahlenpilzkrankheit kennen. Drückte man den talgartigen Inhalt aus der bindegewebigen Hülle solcher kleinsten Knötchen aus, so zerklüftete derselbe in eine Anzahl von Drusen, welche in ein Zellenlager eingebettet waren. Die Drusen erschienen ohne weitere Behandlung meistens dunkel, undurchsichtig, seltener mehr glasig durchscheinend, und liessen an ihrer Peripherie fast in allen Fällen das den Actinomyces am meisten auszeichnende Merkmal, nemlich die bekannten radiär angeordneten Keulen erkennen. Unter der Einwirkung verschiedener Behandlungsmethoden, wie Kalilauge, Gram'sches Verfahren, Säurefuchsin u. s. w. liessen sich die Drusen in ihre constituirenden Elemente auflösen. Theils fand sich ein Rasen aus vielfach verfilzten welligen Fäden, welche an der Peripherie radiär in den umgebenden Zellenmantel ausstrahlten oder an ihrem peripherischen Ende die Keulen trugen; theils fand sich ein körniges Mycel, aus welchem an der Peripherie körnchenerefüllte Fäden hervortraten. Nur selten waren an dem Umfange der Rasen die Keulen zu vermissen; häufig erstreckten sich die zwischen ihnen heraustretenden Fäden weit über die Grenze der Druse hinaus und bildeten in dem umgebenden Zellenlager weitmaschige Netze. Ebenso wie bei dem Menschen, fand man aber auch bei dieser experimentell erzeugten thierischen Actinomykose mehrfach Rasen ohne Keulen, bisweilen auch fanden sich letztere nur an einem Abschnitt des Umfanges, während an einem anderen lange Fäden hervortraten. Sowohl die Körnchenlager wie die fädigen Mycelien und die körnchenerefüllten Fäden liessen sich ausnahmslos intensiv blau nach Gram'schem Verfahren färben; mit Säurefuchsin nahm die ganze Druse eine dunkelrothe Färbung an, wobei die ebenso gefärbten Keulen an der Peripherie besonders deutlich in die Erscheinung traten.

Diese Drusen nun, von denen sich meistens 2—8 in einem kleinsten Tumor fanden, lagen eingebettet in einem Lager von Rundzellen, oft untermischt mit reichlichen grossen Fettkörnchenzellen. Die centralere Masse dieser Rundzellen, in der Umgebung der Drusen, erwies sich bei Behandlung mit Essigsäure oder Hä-

matoxylin durch das Sichtbarwerden mehrfacher Kerne wiederholt als Eiterkörperchen. An dieses zellige Lager schloss sich peripherisch eine Zone von Granulationsgewebe an. In manchen Fällen bestand die die Actinomycesdruse einbettende Masse fast nur aus Eiterkörperchen, in anderen aus einem eitrig infiltrirten Granulationsgewebe, welches peripherisch in eine spindelzellenreiche Binde substanz überging. Aus dünnen Schnitten gehärteter Tumoren fielen leicht die eitrig zelligen, die Drusen bergenden Massen heraus, so dass zum Theil ein leeres Stroma zurückblieb. Das beschriebene Verhalten der Tumoren war in den wesentlichen Punkten das nämliche, gleichviel ob die Infection durch pilzbewachsene Agarstücke oder durch Suspensionen der Pilze in Kochsalzlösung oder durch inficirtes Eigelb zu Stande gekommen war. Die in den Tumoren gefundenen Pilze wurden in 6 verschiedenen Fällen durch Rückimpfung auf Agar in Beziehung auf ihre Lebensfähigkeit geprüft, und zwar in 21 Einzelexperimenten. Das Resultat war bei 4 Thieren auf allen 12 Agarröhrchen ein positives; die Culturen wurden in vielen Generationen mit Erfolg weitergeimpft; bei 2 Thieren war das Resultat negativ. Eines der letzteren Thiere war erst 7 Wochen nach der Infection getödtet worden und liess bei der mikroskopischen Untersuchung die Actinomycesdrusen spärlicher, als gewöhnlich erkennen; das zweite der Kaninchen, von welchen die Rückimpfung auf Agar misslang, war mit einer 10 Monate lang fortgesetzten, nicht wieder durch den Thierkörper hindurchgegangenen, daher mit Wahrscheinlichkeit in Beziehung auf pathogene Wirksamkeit abgeschwächten Cultur (XIII) inficirt gewesen und hatte eine auffällig kümmerliche Entwicklung von Impftumoren ergeben. Es war dieses der einzige Fall, in dem Drusen nicht gefunden werden konnten, sondern nur äusserst spärliche Fäden.

In einem Falle (Versuch VII) hatten wir die weitere Verimpfbarkeit der experimentell gewonnenen Tumoren auf das Thier geprüft, und zwar mit dem unzweideutigen Erfolge, dass die Erndte von Impfgeschwülsten an Masse und Zahl die Aussaat ganz erheblich übertraf. — Nach allen diesen Erfahrungen dürfen wir behaupten, dass es uns gelungen ist, mittelst Reinculturen des Actinomyces

eine wahre Impfactinomykose beim Thiere zu erzeugen.

Da dieses Ergebniss im directen Widerspruche zu Boström's Ausspruche steht, dass alle seine Versuche der Uebertragung des Pilzes auf gesunde Thiere ein übereinstimmend negatives Resultat gaben, wollen wir unsere Resultate an der Hand der Postulate prüfen, welche Boström als Bedingung für die Anerkennung einer erfolgreichen Impfung aufstellt. Eine solche ist nach Boström „einzig und allein nur durch den Nachweis voll entwickelter lebensfähiger, oder wenigstens in progressiver Linie befindlicher *Actinomyces*-colonien zu beweisen“. Diesen Nachweis haben wir zur Genüge erbringen können. Zunächst beweist die Umwandlung der von uns verimpften Kurzstäbchen zu typischen Drusen mit allen Charakteren der menschlichen unzweifelhaft eine Weiterentwicklung in progressiver Linie. Damit fällt schon der Einwand, dass es sich in Boström's Sinne um einfache Einkapselung der eingebrachten Pilze bei unseren Versuchen gehandelt haben könnte. Eine zweite Thatsache, welche diese Auffassung unhaltbar macht und mit Sicherheit eine Weiterentwicklung der Pilze im Thierkörper beweist, ist das Hineinwachsen der von den Drusen ausstrahlenden Fäden weithin in das umgebende Zellenlager, wo sie sich zu weitmaschigen Netzen ausbreiteten. Diejenige Thatsache aber, welche vor allen anderen jede weitere Beweisführung überflüssig macht und auf die Boström einen besonderen Werth legt, ist die Rückimpfbarkeit der in den Tumoren enthaltenen Pilze auf künstlichen Nährboden, welche von uns wiederholt in überzeugender Weise dargethan ist (s. oben).

Unter den einschlägigen Experimenten heben wir als besonders beweisend sowohl für die Lebensfähigkeit der in den Impftumoren vorfindbaren Pilze, als auch für die Pleomorphie des *Actinomyces* den Kaninchenversuch No. 10 hervor. Aus den kurzstäbigen Elementen des Impfmateri als (Taf. VI. Fig. 3) entwickelten sich innerhalb der durch Impfung zu Stande gekommenen Tumoren vielfache Drusen mit peripherischen Keulen (Taf. VI. Fig. 4). In Taf. VI. Fig. 5 ist das Resultat der Rückimpfung aus solchen Drusen auf ein Reagenzglas mit Agar und Zusatz von ameisen-saurem Natron photographisch wiedergegeben.

Die Uebertragung der letzteren Agarcultur auf Ei führt zur Entwicklung sehr langer und breiter, theils gerader, theils spiraliger, theils welliger solider oder segmentirter Fäden neben kürzeren Elementen, wie Taf. VII. Fig. 1 illustriert. Schliesslich führt die Uebertragung dieser Eiercultur auf ein nach Buchner angestelltes Agarrohr wieder zu den kurzen Elementen der Aussaat zurück (Taf. VII. Fig. 2).

Mit diesen Befunden ist dem Postulate Boström's in Bezug auf die Krankheitserreger voll und ganz genügt. Wir möchten hier noch mit Bezug auf Boström's gegentheilige Erfahrung bei seinen Transplantationsversuchen von Tumorstückchen darauf hinweisen, dass in allen unseren Fällen die Pilze in ausgezeichnete Weise färbbar waren und dass insbesondere die Körnchen innerhalb der Fäden, sowie die aus deren Zerfall entstandenen Körnchenhaufen mit Gram'scher Behandlung eine intensiv dunkelblaue Farbe annahmen. Diese Färbbarkeit der Pilze war in gleicher Weise in den durch Uebertragung von Impftumorstücken erzeugten Geschwülsten vorhanden, wie bei allen den mittelst Einimpfung von Culturen producirten, während Boström bei seinen Transplantationsversuchen besonders den Mangel jeder Färbbarkeit mit *Anilingentiana* hervorhebt. — Ausser dem von uns gelieferten Nachweise voll entwickelter Lebensfähigkeit der Pilze verlangt Boström bei erfolgreicher Impfung eine acut entzündliche Reaction in der unmittelbaren Nachbarschaft der Drusen; ohne eine solche hält er die Gewebsneubildung, wie in seinen Transplantationsfällen, nur für den Ausdruck einer Einkapselung lebloser Fremdkörper.

Nun, die Durchsicht unserer Protocolle beweist zur Genüge den entzündlichen Charakter der die Drusen einbettenden Zellenlager. Wir finden mehrkernige Eiterkörper, kleine Rundzellen, Fettkörnchenkugeln als die constituirenden Elemente der weichen, talgartigen Massen, innerhalb welcher die Drusen gefunden werden. Zur Illustration verweisen wir auf Taf. VII. Fig. 3 und 4, wo in der Umgebung eines Rasens ein exquisiter Leukocytenwall sichtbar ist. Wir haben zum Schluss noch einen Controlversuch mit Einbringung einer grossen Menge reiner, nicht infectirter Agarstücke in die Bauchhöhle eines Kaninchens gemacht, wobei sich zunächst herausgestellt hat, dass alle Agarstücke bis

auf 2 durch Resorption verschwunden sind, während die zwei erhaltenen durch dünne Bindegewebsmembranen eingekapselt waren. Von einer entzündlichen Anhäufung zelliger Elemente, insbesondere von Leukocyten um die Fremdkörper, war nichts zu finden, nur hier und da vereinzelte spärliche Granulationszellen und einige Riesenzellen.

Hiernach ist das Bild der Einkapselung desselben Fremdkörpers ohne Actinomyces ein völlig abweichendes von dem der Gewebsneubildung um die mit Strahlenpilzen bewachsenen Agarstücke. Das anatomische Verhalten der von uns erzeugten Impftumoren entspricht so völlig dem der Actinomycesgeschwülste in den jüngeren, besonders charakteristischen Stadien, dass competente Untersucher, die den Ursprung der ihnen vorgelegten Präparate nicht kannten, dieselben auch in Bezug auf das Verhalten der zelligen Elemente in der Umgebung der Drusen für eine genuine menschliche Actinomykose erklärten.

Wenn somit die von uns beim Thiere experimentell erzeugten Tumoren sowohl in Bezug auf histologische Structur, wie auf morphologisches Verhalten der in ihnen vorhandenen Mikroorganismen durchaus identisch mit den Krankheitsproducten der genuinen Actinomykose beim Menschen und beim Rinde waren, so liegt in diesem Ergebniss auch wiederum der Beweis, dass die von uns gezüchteten Culturen, durch deren Einimpfung jene Tumoren erzeugt waren, als Reinculturen des Actinomyces anzusprechen sind.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I—VII Photogramme, Tafel VIII nach der Natur gezeichnet. Wo keine besondere Angabe, ist die Vergrößerung 1000/1.

Taf. I. Fig. 1—4. Anaerobe Oberflächenculturen auf Agar in natürlicher Grösse.

Fig. 1. 15tägige Cultur, nach Buchner angestellt. Multiple isolirte Knötchen.

Fig. 2. Cultur auf Agar mit 1 pCt. ameisensaurem Natron. Exquisite Bildung von Rosetten.

Fig. 3. Cultur auf Agar mit ameisensaurem Natron. Peripherisch ausgebuchtete Knoten.

Fig. 4. Cultur auf Agar mit ameisensaurem Natron. Zerklüftete Knoten.

Erste fortlaufende Entwicklungsreihe in anaeroben Agar-culturen Taf. I. Fig. 5, 6, 7, Taf. II. Fig. 1—5 (s. Text S. 24 ff.).

Taf. I. Fig. 5. Aussaat: kurze plumpe solide Stäbchen.

Fig. 6 u. 7. (Klatschpräparate) 24 Stunden nach der Aussaat. In Fig. 6 fast ausschliesslich dieselben Stäbchen wie in der Aussaat, in der Mitte ein aus kürzeren Stäbchen zusammengesetzter Faden. Fig. 7 ausser vereinzelt Kurzstäbchen kurze wellig gebogene Fäden z. Th. mit knopfförmigen Anschwellungen und einzelne spiralige Elemente.

Taf. II. Fig. 1 u. 2. 48 Stunden nach der Aussaat; Fig. 2 Klatschpräparat von der Oberfläche, Fig. 1 aus tieferen Schichten der Cultur. Die Stäbchen etwas schlanker und länger geworden; daneben einzelne längere, mehrfach geknickte, bisweilen wellig gebogene, z. Th. deutlich aus kürzeren Elementen zusammengesetzte Fäden. Wachstumserscheinungen an der Cultur sind noch nicht mit der Loupe erkennbar.

Fig. 3. 72 Stunden nach der Aussaat; entstammt einem eben mit der Loupe erkennbaren frischen Knötchen: kurze solide Stäbchen, fast durchweg von gleicher Grösse. Keine Längenzunahme gegenüber dem vorigen Tage trotz makroskopisch deutlichem Wachstum in Gestalt von Knötchen.

Fig. 4. 120 Stunden nach der Aussaat. Klatschpräparat von einem der zahlreichen frischen Knötchen der Cultur. Ausschliesslich Kurzstäbchen, etwas kürzer und plumper als am 2. und 3. Tage.

Fig. 5. 14 Tage nach der Aussaat: mikroskopischer Befund ganz wie am 5. Tage. Sehr zahlreiche mit blossen Auge sichtbare Knötchen in der Cultur.

Zweite fortlaufende Entwicklungsreihe in anaeroben Agar-culturen Taf. II. Fig. 6, Taf. III. Fig. 1—6 (s. Text S. 27 ff.).

Fig. 6. Aussaat für den 4., 5. und 6. Tag. Kurze dicke solide Stäbchen häufig an einem Ende knopfförmig angeschwollen; vereinzelt längere Stäbchen.

Taf. III. Fig. 1 u. 2. 96 Stunden nach der Aussaat. Meistens kürzere und mittlere Stäbchen, theils gleichmässig protoplasmatisch (Fig. 1), theils körnig (Fig. 2). Daneben vereinzelt mittlere und längere Fäden, aus stäbchenförmigen Elementen verschiedener Länge zusammengesetzt.

Fig. 3 u. 4. 120 Stunden nach der Aussaat. In der Cultur makroskopisch zahllose Knötchen erkennbar; von denen die Präparate stammen. In Fig. 3 (Klatschpräparat von der Oberfläche) erkennt man kurze einfache und Doppelstäbchen, häufig S-förmige spiralige, bisweilen fadenförmige Elemente, hier und da anscheinend dichotomische Formen. In den tiefen Schichten (Fig. 4) wesentlich kurze und mittlere Stäbchen, einige schraubenförmige Elemente.

Fig. 5 u. 6. 144 Stunden nach der Aussaat. Zahlreiche kleinste Knöt-

chen in der Cultur. Ueberwiegend grade und gekrümmte, auch im Winkel zusammenliegende theils solide, theils körnige Kurzstäbchen. Einzelne längere segmentirte oder körnige Fäden.

Schnittpräparate aus einer von Fall I herstammenden primären 27 Tage alten Stichcultur in einem anaerob angestellten Agarröhrchen (Härtung in Alkohol, Einbettung in Photoxylin) Taf. IV. Fig. 1—3).

Taf. IV. Fig. 1. Schnitt durch einen grösseren älteren Knoten. Lange wellige und spiralige baumförmig gruppirte protoplasmatische Fäden.

Fig. 2. Schnitt durch ein junges Knötchen. Dunkle eng verfilzte Rasen, an deren Peripherie Stäbchen und kürzere Fäden z. Th. mit endständigen knopfförmigen Anschwellungen hervortreten.

Fig. 3. Haufen von ungleich grossen, meistens sehr kleinen intensiv tingiblen Körnchen, aus denen breite gewundene blasse bandartige, mit feinsten Körnchen erfüllte Fäden hervortreten.

Fig. 4. Vergr. 300/1. Cultur in gekochtem Hühnerei; frisches Präparat; Cultur 11 Tage alt. Rasen aus dicht verfilzten sehr langen theils wellenförmigen, theils spiraligen, z. Th. dichotomischen, hyalinen und nicht septirten Fäden bestehend.

Fig. 5. Cultur in gekochtem Hühnerei; 30 Tage alt, Vergr. 600/1: Lange Fäden und kürzere grade und gekrümmte, einzelne dichotomische Elemente.

Umzüchtung gekörnter Kurzstäbchen und längerer segmentirter und gekörnter Fäden in nicht gekörnte Stäbchen. Taf. IV. Fig. 6, 7, Taf. V. Fig. 1, 2, 3.

Fig. 6. Gram'sche Färbung; innerhalb längerer Fäden alle Uebergänge zwischen kürzesten Stäbchen und kokkenartigen Elementen; Cultur 39 Tage alt.

Fig. 7. Gram'sche Färbung; kurze und mittlere nicht körnige Stäbchen entwickelt 7 Tage nach Aussaat der langen Fäden auf Fig. 6.

Taf. V. Fig. 1. Gram'sche Färbung. 9 Monate alte Cultur. Exquisit körnige Stäbchen.

Fig. 2. Gram'sche Färbung. Protoplasmatische nicht gekörnte Kurzstäbchen, entwickelt in zweiter Generation aus den körnigen Stäbchen der Fig. 1, 7 Tage nach der Aussaat.

Fig. 3. Gram'sche Färbung. Photogramm derselben Cultur, die in Fig. 2 abgebildet ist, 25 Tage später aufgenommen. Sämmtliche Stäbchen mit kokkenartigen Bildungen in ihrem Innern.

Fig. 4. Gram'sche Färbung. Cultur in gekochtem Hühnerei, 28 Tage alt. Reihenweises Auftreten kokkenartiger Körperchen in langen Fäden; einige Fäden mit endständigen knopfförmigen Anschwellungen.

Fig. 5. Gram'sche Färbung. 33 Tage alte anaerobe Agarcultur. Kokkenartige Elemente theils noch in Längsreihen angeordnet und durch eine kaum sichtbare Zwischensubstanz verbunden, theils frei geworden.

Impfversuch an Kaninchen XIV. Taf. V. Fig. 6 und Taf. VI. Fig. 1 u. 2.

Taf. V. Fig. 6. Kurzstäbige Cultur (V. Generation) dem Kaninchen XIV in die Bauchhöhle eingebracht.

Taf. VI. Fig. 1. Vergr. 300/1. Actinomycesdruse mit peripherischen Keulen aus einem Impftumor desselben Kaninchens; dasselbe Photogramm um das Doppelte vergrößert auf Taf. VII. Fig. 5.

Fig. 2. Vergr. 300/1. Druse mit Keulen von demselben Versuch (Behandlung mit 5 pCt. Kalilauge).

Lebensfähigkeit des Actinomyces in Impftumoren, und Variation der Form bei fortlaufender Entwicklung auf verschiedenen Nährböden Taf. VI. Fig. 3—5, Taf. VII. Fig. 1, 2.

Fig. 3. Gram'sche Färbung; kurze und etwas längere z. Th. körnige Stäbchen einer 10tägigen anaeroben Agarcultur am 17. Mai 1890 einem Kaninchen No. X in die Bauchhöhle eingebracht.

Fig. 4. Doppelt vergrößertes Photogramm eines Stückes von einer frischen Druse mit peripherischen Keulen aus einem Impftumor der Bauchhöhle des 29 Tage nach der Impfung getödteten Kaninchens X (Vergrößerung 300/1).

Fig. 5. Resultat der Ueberimpfung des talgartigen Inhalts eines kleinen drusenhaltigen Impftumors von Kaninchen X auf Agar mit ameisen-saurem Natron. Es haben sich nach 13 Tagen nur kurze Stäbchen entwickelt.

Taf. VII. Fig. 1. Vergr. 600/1. Resultat der Einimpfung der auf Taf. VI. Fig. 5 dargestellten Kurzstäbchen auf ein gekochtes Ei, nach 13 Tagen. Deckglaspräparat mit Carbolsäurefuchsin eine Stunde erwärmt. Ausser kürzeren Elementen lange breite, theils gebogene, theils spiralige, z. Th. segmentirte Fäden. (Im frischen Präparate Convolute viel längerer hyaliner Fäden.)

Fig. 2. Mit Genthianaviolett 1 pCt. behandelt. 8 Tage alte anaerobe Cultur, gewonnen durch Einimpfung der Eiercultur (Fig. 1) auf Agar. Aus-schliesslich Kurzstäbchen.

Schnitte von Impftumoren des Kaninchens XXII. Taf. VII. Fig. 3, 4.

Fig. 3. Vorfärbung mit Hämatoxylin, alsdann Färbung nach Gram. Vergrößerung 300/1. Rasen umgeben von einem exquisiten Leukocytenwall. Stellenweise sind die Fäden zwischen die Leukocyten hingewuchert.

Fig. 4. Dasselbe Präparat bei Vergrößerung 1000/1.

Fig. 5. Druse mit peripherischen Keulen aus einem Impftumor von Kaninchen XIV. 300/1; Photogramm doppelt vergrößert.

Präparate von Drusen aus Impftumoren Taf. VIII. Fig. 1—4.

Taf. VIII. Fig. 1. Zeiss Oelimmersion $\frac{1}{2}$, Oc. 2. Färbung in Säurefuchsin. Impftumor von Kaninchen II. Rasen mit Keulen besetzt, von denen

einige deutlich kürzeren und längeren Fäden endständig aufsitzen.
(Die Keulen in der Zeichnung zu klein ausgefallen.)

- Fig. 2. Gram'sche Färbung. Rasen aus Impftumor von Kaninchen II. Dichtes Netz langer, ziemlich breiter, im Centrum dicht verfilzter, meistens wellig verlaufender häufig dichotomischer Fäden.
- Fig. 3. Hartnack VII, Ocul. 3. 24 Stunden mit Anilinwasser-Gentianaviolett und dann nach der von Weigert modificirten Gram'schen Methode behandelt. Kleine Rasen von einem Impftumor des Kaninchens VIII aus längeren welligen und kürzeren spirillenartigen Fäden bestehend.
- Fig. 4. Hartnack VII, Ocul. 3. Frisches Präparat aus Impftumor von Kaninchen XII, mit 5procentiger Kalilauge behandelt. Druse mit Kranz von Keulen.

III.

Beitrag zur Lehre von den familiären Erkrankungen des Centralnervensystems.

Von Prof. Dr. M. Bernhardt in Berlin.

Von jeher hat sich das Interesse der Neuropathologen denjenigen Erkrankungen zugewendet, welche mit dem Namen der erblichen (hereditären) und der familiären bezeichnet werden. Ich brauche z. B. nur an die Lehre von der sogenannten Pseudohypertrophie oder der Dystrophie der Muskeln, an die erbliche Form des Veitstanzes, der Huntington'schen Chorea, an die hereditäre Ataxie, die Friedreich'sche Krankheit, und an die zahlreichen Mittheilungen über diese Krankheitsformen zu erinnern, um darzuthun, eine wie grosse Bedeutung diese Leiden in der Pathologie der Nervenkrankheiten erlangt haben. Auch mir war es zu verschiedenen Malen vergönnt, bescheidene Beiträge zu diesen so wichtigen Fragen zu liefern¹⁾; im Folgenden erlaube ich mir nun neue Beobachtungen mitzutheilen, welche,

¹⁾ Bernhardt: a) Ueber progressive Muskelatrophie. Berl. klin. Wochenschrift. 1875. No. 10. b) Thomsen'sche Krankheit. Centralbl. f. Nervenheilk. (Erlenmeyer) 1885. No. 6. c) Ueber eine hereditäre Form der progressiven spinalen mit Bulbärparalyse complicirten Muskelatrophie. Dieses Archiv. Bd. 115. Heft 2. 1889.