Experimentelle Beiträge zur Mikrobiologie der Getreidemehle. 1. Mitteilung [Fortsetzung]

Autor(en): **Geilinger, Hans / Schaffer, F.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **13 (1922)**

Heft 3

PDF erstellt am: **25.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-984081

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

MITTEILUNGEN
AUS DEM GEBIETE DER
LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE
VERÖFFENTLICHT VOM EIDG. GESUNDHEITSAMT
TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE
PUBLIÉS PAR LE SERVICE FÉDÉRAL DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE

ABONNEMENT: Schweiz Fr. 10.— per Jahrgang. — Suisse fr. 10.— par année.
Preis einzelner Hefte Fr. 1. 80. — Prix des fascicules fr. 1. 80.

BAND XIII 1922 HEFT 3

Experimentelle Beiträge zur Mikrobiologie der Getreidemehle.

Von Dr. HANS GEILINGER.

(Mitteilung aus dem Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes, Vorstand: Prof. Dr. F. Schaffer.)

1. Mitteilung:

Ueber koliartige Mehlbakterien (Fortsetzung).

V.

Ueber die Pathogenität des «Bact. levans» («weisser Gasbildner»). Ueber die gegenseitige Virulenzsteigerung des Bakteriengemisches Mehlkoli-Bac. perfringens. Infektionen mit gewaschenen Mehlkoliorganismen. Vorversuche betreffend die Wirkungsweise von Mehlkoli-Bouillonkulturfiltraten. Das gelb wachsende Mehlkoli als Gasbildner im Tierkörper.

Bei Infektionsversuchen spielt natürlich das Gewicht der Versuchstiere eine Rolle, die insofern störend werden kann, als man bei beschränktem Tiermaterial genötigt ist, bei Vergleichsimpfungen mit verschieden schweren Tieren zu arbeiten. Es lässt sich wohl die auf die Gewichtseinheit bezogene Dosis in gleicher Höhe halten, ein unbestimmbarer Faktor aber bleibt die mit dem Alter des Tieres sich ändernde Resistenz desselben.

Wir haben im allgemeinen für subkutane Impfungen leichtere Individuen gewählt als für die intraperitonealen, indem wir die Infektionsbedingungen für den Erreger nicht zu leicht gestalten wollten, dabei von der durch Erfahrungen bei Infektionen mit anderen Erregern nicht unberechtigten Voraussetzung ausgehend, dass die jüngeren (leichteren) Tiere die weniger resistenten seien, und dass gemäss den Erfahrungen von *Kruse* und *Pansini*[1]) bei höherer Widerstands-

[1]) L. c.

fähigkeit des infizierten Organimus dieser bei intraperitonealer Lokalisation der Infektion diese besser zu überwinden in der Lage ist, insofern es sich um beschränkt virulente Pilze handelt.

Konnten wir in die Veränderlichkeit des Verhaltens der Widerstandsfähigkeit des infizierten Makroorganismus nicht genügend Einblick erhalten, so bot sich doch die Möglichkeit einer *Virulenzsteigerung* der infizierenden Mikroorganismen *durch Tierpassage*. Allerdings mussten wir uns auch hier mit Wenigem begnügen.

Da von vornherein mit grosser Wahrscheinlichkeit angenommen werden konnte, dass sich die ohne Farbstoffbildung wachsende Unterart der Mehlkoliorganismen punkto Tiervirulenz der gelbwachsenden analog verhalten würde und es überdies Interesse bot, auch die Wirkungsweise dieser letzteren auf den Tierorganismus kennen zu lernen, benützten wir für unseren Virulenzsteigerungsversuch den aus der Subkutis von Meerschweinchen No. 11 gewonnenen «*Levans*»-*Stamm* «*H*». Zuerst wird die *Infektiosität* geprüft. (9. Versuch). Injektionsmaterial ist eine während 24 Stunden bei 37° gewachsene und dann 24 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln gestandene, vor der Injektion aufgewirbelte Bouillonkultur. Der Stamm wurde seit 13½ Monaten auf Rindfleischagar fortgezüchtet. Es werden subkutan injiziert ein *Meerschweinchen* von 380 g mit 0,5 cm³ und ein 285 g schweres Tier mit 0,1 cm³, intraperitoneal ein 260 g wiegendes Meerschweinchen mit einer grosser Oese (ca. 10 mg). Keines der Tiere wurde in seinem Allgemeinbefinden gestört, bei den subkutan geimpften bildeten sich lokalisierte, schmerzhafte *Infiltrate* mit anfänglich entzündlich geröteter Kutis. Gewichtsverlust ist nach der Infektion in keinem Falle eingetreten. Subkutan geimpfte *weisse Mäuse,* von denen die eine eine kleine Oese (ca. 2 mg), die andere eine grosse Oese erhielt, liessen gar keine Folgeerscheinungen erkennen. Diese Ergebnisse lassen zum mindesten die Virulenz des «H»-Stammes nicht als höher beurteilen als jene der gelben Mehlkoli.

Für die Tierpassagen (10. Versuch) verwendeten wir Meerschweinchen von 265, 460, 395 und 595 g. Das erste erhält 5 cm³ 24stündiger Bouillonkultur intraperitoneal und stirbt in der Nacht. Aus dem Herzblut wird Stamm «H» wieder isoliert. Die erhaltene, 24 Stunden bei 37° gewachsene Agarkultur wird auf Reinheit geprüft mittels Gelatineplatten; nach 2tägigem Aufenthalt im Eisschrank werden davon eine Schrägagarkultur und eine Bouillonkultur angelegt, die nach 24stündigem Wachstum bei 37° das Impfmaterial für das 2. Meerschweinchen abgeben. Die Bouillonkultur zeigt schwache Gärung, ein Zeichen, dass sie etwas Zucker enthält. Wir hielten es für den vorliegenden Zweck angezeigt, als Kultursubstrate die qulitativ in erster Reihe stehenden Rindfleischnährmedien zu benützen, wenn wir uns auch andererseits nicht verhehlten, dass dieser Zuckergehalt dem Zwecke nicht dienlich sein konnte. Das zweite Passagetier (460 g) bekommt 7,5 cm³ Bouillonkultur und ½ Agaroberfläche in die Bauchhöhle. Es stirbt 16 Stunden nach der Injektion. Nach der gleichen Methodik wird die dritte (6 Tage nach der Isolierung) und vierte (2 Tage nach der Isolierung) Passage ausgeführt.

Was zunächst die *Sektionsbefunde* anlangt, so zeigen sie gute Uebereinstimmung mit den von den Infektionen mit den gelb wachsenden Mehlkoli her bekannten. Das Abdomen ist aufgetrieben infolge Meteorismus. Das Peritoneum ist gerötet und chagriniert. Das Peritonealexsudat beim 1. Tier ist serös-schleimig, beim 2. eiterig-schleimig, beim 3. und 4. etwas hämorrhagisch, nicht fadenziehend, etwas trüb, bernsteinfarben. Mikroskopisch zeigen sich in letzterem rote und weisse Blutkörperchen, letztere zum Teil mit phagozytierten Stäbchen, massenhaft lebhaft bewegliche Kurzstäbchen und einzelne (agglutinierte?) Bakterienhaufen. Leber- und Milzoberfläche sind von Fibrinflocken oder -Membranen bedeckt. Die Milz ist kaum vergrössert, was bei dem foudroyanten Infektionsverlauf nicht zu erwarten ist. Der Dünndarm ist entzündlich injiziert und manchmal meteoristisch. (Am Magen zeigen sich auf der Aussenseite beim 3. und 4. Tier dunkle Flecken mit gelblichgrauem Randsaum wie bei Meerschweinchen No. 14, wobei auf der Schleimhautseite keine Veränderungen zu beobachten waren.) Auch das Pankreas kann an der Entzündung teilnehmen. Ob die Nieren entzündlich verändert waren, liess sich makroskopisch nicht sicher feststellen. Die *Nebennieren* sind mehr weniger vergrössert und *stark gerötet.* In den Pleuraräumen befinden sich beim 2. Tier reichliches, beim 4. wenig seröses Exsudat.

Eine deutliche Virulenzsteigerung ist durch diese wenigen Tierpassagen nicht eingetreten (11. Versuch): Mit dem Stamm der 3. Passage (24stündige, aufgeschüttelte Bouillonkultur) werden folgende Impfungen vorgenommen: Ein 325 g schweres Meerschweinchen bekommt 0,5 cm³, ein 320 g wiegendes 0,1 cm³, eines von 235 g eine grosse Oese subkutan und eines von 525 g 2 grosse Oesen intraperitoneal. Die unter die Haut geimpften Tiere (auch das mit nur 1 gr. Oese injizierte Meerschweinchen) zeigen die gewohnten lokalen entzündlichen Befunde, zu einer Gewichtsabnahme kommt es nicht. Auch 2 mit dem Stamm der 4. Passage geimpfte weisse Mäuse (eine kleine Oese und eine grosse Oese subkutan) erkranken nicht und zeigen überdies keine lokalen Befunde. Dieser Stamm der 4. Passage wird dann (nach Prüfung auf Reinheit) in Fleischextraktpeptonbouillon[1]) gezüchtet (24 Stunden bei 37°) zur Vermeidung des ungünstig wirkenden Zuckers (auch in diesem Nährmedium sind die Stäbchen rapid beweglich, ein Zeichen, dass das Substrat wohl zusagend ist). Ein 365 g schweres Meerschweinchen bekommt davon 0,6 cm³ subkutan. Auch hier bildet sich ein lokales Infiltrat, in dessen Mitte es diesmal zur Geschwürbildung kommt. Eine Gewichtsabnahme tritt auch hier nicht ein. Dieser Versuch musste wegen Knappheit des Tiermaterials damit abgebrochen werden. Ob die Aenderung der Beschaffenheit des Peritonealexsudates der Passagetiere (bei den ersten fadenziehend, bei den späteren hämorrhagisch und nicht fadenziehend) und die einzig beim Meerschweinchen, das mit dem 4. Passagestamm infiziert wurde, eingetretene Geschwürsbildung einer Virulenzzunahme zuzuschreiben sind, muss dahingestellt bleiben.

[1]) Liebigs Fleischextrakt 2%, Pepton Witte 1%, NaCl 0,1% Leitungswasser. Reaktion schwach alkalisch.

Eine kulturelle Durchprüfung mit den üblichen Substraten des Stammes der 4. Passage («Md») ergibt völlige Uebereinstimmung mit dem Ausgangsstamm «H». Wie schon im I. Abschnitt erwähnt, hat «H» die Fähigkeit der Laktosevergärung nach anfänglichem Fehlen im Laufe der Fortzüchtung erworben. Auch «Md» vergärt Laktose (ungeachtet der Meerschweinchenpassagen!) in der gleichen Intensität und wie der Ausgangsstamm besonders energisch Dextrose und annähernd gleich stark Saccharose und Maltose bei 37° (bei 22° werden diese 4 Zuckerarten entsprechend weniger stark vergoren). Auch «Md» peptonisiert Gelatine erst nach mehreren (19) Tagen. Indolbildung ist immer noch nicht nachweisbar (bei positiver Kolikontrolle, Morelliprobe). Die Milch kommt nach 8 Tagen bei 37° zu käsiger Gerinnung bei neutraler Reaktion, bei 22° tritt nach 20 Tagen gallertige Koagulierung ein mit schwach sauerer Molke. Während also beim Ausgangsstamm die Gerinnung allein durch Säurebildung bedingt erscheint (siehe I. Abschnitt), dürfte hier vor allem Labwirkung vorliegen.

Ueberlegungen betreffend die gegenseitige Beeinflussung der Pathogenität bei Bakterienassoziationen, wie sie im IV. Abschnitt einleitend angeführt wurden, mussten es wünschbar erscheinen lassen, nach deren Feststellung bei Reinkulturen des Mehlkoli die diesbezügliche Wirkung kennen zu lernen, welche seine obligat anaëroben Begleiter bei mehlinfizierten Meerschweinchen ausüben. Wir verfügten über den aus dem Meerschweinchen No. 7, das mit Darimehl geimpft worden war (siehe I. Abschnitt), herrührenden *Perfringensstamm «Bac. perfr. subc.»*, den wir nun für einen Mischinfektionsversuch mit dem *gelben Mehlkohli Stamm «b»* (aus Meerschweinchen No. 11) benutzten. Dieser Stamm «b» hatte in Bouillonreinkulturen bei relativ beträchtlicher Virulenz intraperitoneal und subkutan zu typischen Obduktionsbefunden geführt (Nebennierenrötung) und erschien deshalb für Mischinfektionsversuche geeignet.

Auch hierbei waren wir infolge beschränkten Tiermaterials gezwungen, Tiere verschiedenen Gewichtes zu benutzen, was für die Uebersichtlichkeit solcher Versuche aus den angeführten Gründen nicht erspriesslich sein kann. Die gewonnenen Befunde (12. Versuch) sind in Tabelle IV wiedergegeben. Betreffend den Infektionsmodus ist zu bemerken, dass nach jeweiliger Aufschüttelung der Kulturen der «*Bac. perfr. subc.*»-Stamm jeweilen intramuskulär am Oberschenkel, der «b»-Stamm in etwa $^1/_{10}$ seiner Gesamtdosis am selben Injektionsort injiziert wurde, während der grössere Rest der Dosis von «b» am Bauch subkutan gegeben wurde.

Berücksichtigen wir lediglich die *relativen* Injektionsdosen, so gelangen wir zu folgenden Resultaten: Es lässt sich deutlich ein gegenseitiger, wenn auch nicht gerade hochgradiger, infektionsbegünstigender Einfluss erkennen. Der Schwellenwert der eben noch nicht letalen Maximaldosis liess sich beim «*Bac. perfr. subc.*» nicht genau bestimmen, die Dosis von 0,09 pro 100 g Lebendgewicht dürfte zu klein sein. Beim gelben Koli «b» sind wir diesem Werte näher gekommen. 0,69 wirken noch nicht tötlich, wohl hingegen 0,77 (bei gleich schweren Tieren). Gehen wir bei «b» auf 0,46 resp. 0,22 herunter, so vermag auch ein Zusatz von 0,03 resp. 0,04 g der «*Bac. perfr. subc.*»-Kultur die Infektion nicht mehr zu einer tötlichen zu machen. Während aber die erstere

Kombination (0,03; 0,46) ein 325 g schweres Tier nicht zu töten vermag, tut dies die quantitativ sehr nahestehende 0,035 «*Bac. perfr. subc.*» —0,345 «*b*» bei einem 290 g wiegenden Meerschweinchen. Bei der letalen Kombination 0,028 «*Bac. perfr. subc.* —0,56 «*b*» ist besonders zu berücksichtigen, dass es sich dabei um ein 355 g schweres Tier handelt, während 0,69 «b» bei einem 260 g wiegenden Exemplar noch nicht tötlich war.

Während 0,02 g Bouillonkultur von «*Bac. perfr. subc.*» pro 100 g Lebendgewicht bei einem allerdings 505 g schweren Tier nur zu leichten, rasch verschwindenden lokalen Symptomen führten, begegnen wir hier einem durch sein geringeres Gewicht (355 g) allerdings an und für sich etwas mehr prädisponierten, durch die Mischinfektion wohl aber in seiner Widerstandsfähigkeit so erheblich beeinträchtigten Meerschweinchen, dass bei nur unerheblich erhöhter relativer Dosis (0,028; die absolute Dosis beträgt in beiden Fällen 0,1) der Anaërobe das Bild schwerster Gasgangrän zu erzeugen imstande ist. Ausser dem gewaltigen sulzigem Oedem, das von der Injektionsstelle am Oberschenkel bis zum Processus xiphoideus sich erstreckt und seitlich die Axillarlinien erreicht, und das durch massenhafte Blutungen und Gruppen kleiner Gasblasen sein typisches Gepräge erhält, dokumentiert sich die Schwere des Krankheitsbildes besonders durch die Erscheinungen hochgradiger Einschmelzung von Muskelsubstanz im Gebiete der Infektion mit dem Anaëroben. (Es sei hier zu den Angaben der Tabelle noch ergänzend beigefügt, dass keine Peritonitis vorhanden und die Milz nicht deutlich vergrössert, aber von hochroter Farbe war. Die Nebennierenrötung ist der Wirksamkeit des gelben Mehlkoli zuzuschreiben. Auf die Bewertung des subkutanen Emphysems werden wir unten noch kurz zurückkommen.)

Einen ganz analogen Sektionsbefund liefert das zweite an der Mischinfektion gestorbene Meerschweinchen von 290 g, das einen Tag länger am Leben geblieben ist, und bei dem sich Dyspnoe bemerkbar machte. Entsprechend der *gegenüber der Dosis des Perfringens-Stammes geringeren relativen Gelbkolidosis* ist hier *keine Nebennierenrötung* eingetreten.

Betreffend die mikroskopisch-kulturelle Untersuchung der Kadaver dieser beiden Tiere sei folgendes mitgeteilt: Meerschweinchen 355 g: Gram-Fuchsin und Löffler-Methylenblau-Präparate vom Bauchödem ergeben vorwiegend gramnegative Kurzstäbchen, vereinzelt grampositive Bazillen in kurzen Ketten. Es besteht ausgiebige Phagozytose der Kurzstäbchen, Langstäbchen wurden keine in Fresszellen beobachtet. Im matschen Muskel ist die Mikrobenzahl noch grösser, wobei hier die Bazillen numerisch überwiegen und neben Bakterienphagozytose auch solche von grampositiven Bazillen festzustellen ist. Im Herzblut fand sich ein Exemplar eines grampositiven Bazillus von etwas krankhaftem Aussehen, ferner einige Kurzstäbchen. Ganz analoge Befunde lassen sich beim 290 g wiegenden Meerschweinchen erheben.

Tabelle IV. (12. Versuch).

Gewicht des Meerschweinchens in g	Infektionsmaterial	Absolute Infektionsdosis in cm³	Infektionsart	Relative Infektionsdosis pro 100 g Lebendgewicht	Hauptsächlichste Infektionsbefunde
			I. Vorversuch.		
555	« *Bac. perfr. subc.* » Fleischextraktbouillonkultur, anaërob, 24 Stunden 37°, putrid stinkend.	0,5	intramuskulär	0,09 g	Walnussgrosser Tumor am Oberschenkel, Gaskrepitation, teigiges Infiltrat bis zur Nabelgegend, an der Aussenseite des Oberschenkels Haut bleigrau und an einer Stelle nässend. Extremität wird nachgeschleppt. Allgemeinbefinden nicht gestört, geringfügige Gewichtsabnahme (515). Zurückbildung der akuten Symptome innert weniger Tage.
505	« *Bac. perfr. subc.* » Wie oben.	0,1	intramuskulär	0,02 g	Leichte lokale Schwellung (Adduktorengegend); rasche Restitution. Geringfügige Beeinträchtigung der Gewichtszunahme.
495	« *Bac. perfr. subc.* » Wie oben.	0,01 (1 gr. Oese)	intramuskulär	0,002 g	Sehr leichte Schwellung (Gewichtsverhältnisse nicht zu beurteilen, weil gravid).
390	« *Bac. perfr. subc.* » Rindfleischbouillonkultur, anaërob, 24 Stunden 37°, 24 Stunden 18° (Gasentwicklung).	1,0	subkutan	0,26 g	† am 3. Tage. An der Injektionsstelle ein Geschwür. Unterhautzellgewebe der ganzen Ventralseite zeigt nekrotische Partien, ausserdem ein sanguinolentes Oedem. Peritoneum gerötet.
635	« *Bac. perfr. subc.* » Pferdeserum (inaktiviert), anaërob, 2 Tage 37°, 3 Tage 21°.	0,4	subkutan	0,06 g	Kleines lokales Infiltrat, keine Gewichtsabnahme.
			2. Vorversuch.		
460	« *b* » Rindfleischbouillonkultur, 24 Stunden 37° (etwas Gasentwicklung).	2,0	subkutan	0,43 g	Haselnussgrosses lokales Infiltrat, das exulzeriert. Keine Gewichtsabnahme, keine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens.
365	« *b* » Wie oben.	1,0	subkutan	0,27 g	Bohnengrosses lokales Infiltrat, das exulzeriert. Keine Gewichtsabnahme, keine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens.
330	« *b* « Wie oben.	0,1	subkutan	0,03 g	Bohnengrosses lokales Infiltrat, auf dem sich erst nach etwa 10 Tagen ein oberflächliches Geschwür bildet. Keine Gewichtsabnahme, keine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens.
260	« *b* » Wie oben.	2,0	subkutan	0,769 g	† in der folgenden Nacht; sulzig-hämorrhag. Oedem der Ventralseite, Nebennierenrötung, Pleuraexsudat.

Hauptversuch.

355	« *Bac. perfr. subc.* » Fleischextraktbouillonkultur, anaërob, 24 Stunden 37°, 24 Stunden Eisschrank. « *b* » Fleischextraktbouillonkultur, 20 Stunden 37°.	0,1 2,0	intramuskulär zur Hauptsache subkutan	0,028 g 0,56 g	† in der folgenden Nacht; sulzig-hämorrhagisches Oedem von der Injektionsstelle am Bein über die Schenkelbeuge und die ganze Bauchgegend. Hier stellenweise kleine Gasblasen. Muskulatur der injizierten Extremität zunderig, von den Sehnen abreissend. Innerhalb der Muskelgruppen Höhlenbildungen. Letztere mit sanguinolenter Flüssigkeit mit Fettropfen gefüllt. Nebennieren etwas gerötet, stellenweise dunkelrote Punkte. (Siehe Text!)
325	« *Bac. perfr. subc.* » Wie oben. « *b* » Wie oben.	0,1 1,5	intramuskulär; zur Hauptsache subkutan	0,03 g 0,46 g	Weiches Infiltrat, vom injizierten Schenkel bis gegen das Epigastrium reichend. Kein Knistern. Injizierter Schenkel beträchtlich angeschwollen und immobilisiert. An der Bauchinjektionsstelle trockene Gangrän der Haut, die ein riesiges Ulcus zur Folge hat. Allgemeinbefinden nach kurzer Beeinträchtigung wieder normal. Geringfügige Verzögerung der Gewichtszunahme. Nach zwei Monaten vollständig genesen.
290	« *Bac. perfr. subc.* » Wie oben. « *b* » Wie oben.	0,1 1,0	intramuskulär; zur Hauptsache subkutan	0,035 g 0,345 g	† in der zweitfolgenden Nacht; sulzig-hämorrhagisches Oedem von der Injektionsstelle am Bein über die Schenkelbeuge und die ganze Bauchgegend, stellenweise mit Gasbläschen. Oberschenkelmuskulatur der injizierten Extremität zunderig, hochrot, mit Hohlräumen. Letztere enthalten sanguinolente Flüssigkeit, auf der Fettröpfchen schwimmen. Nebennieren nicht gerötet. (Siehe Text!)
230	« *Bac. perfr. subc.* » Wie oben. « *b* » Wie oben.	0,1 0,5	intramuskulär; zur Hauptsache subkutan	0,04 g 0,22 g	Am Abdomen kleines, teigiges Infiltrat, das exulzeriert. Am injizierten Schenkel Schwellung der Muskulatur ohne Krepitation. Allgemeinbefinden nicht gestört. Keine Gewichtsabnahme.
290	« *Bac. perfr. subc.* » Wie oben (Kontrolle.)	0,1	intramuskulär	0,0345 g	Am injizierten Schenkel leichte Schwellung der Muskulatur ohne Krepitation. Allgemeinbefinden nie beeinträchtigt. Bald zum Stillstand gekommene, leichte Gewichtsabnahme.
260	« *b* » Wie oben. (Kontrolle.)	1,8	subkutan (Bauch)	0,69 g	Haselnussgrosses lokales Infiltrat, das exulzeriert. Noch 2 Tage nach der Injektion etwas matt, hat gefressen, dann rasche Erholung. Gewichtsabnahme, die erst nach 14 Tagen behoben ist.

Aus der matschen Muskulatur (Meerschweinchen 355 g), respektive dem Oedemsaft der Schenkelbeuge (Meerschweinchen 290 g) werden aërobe Schrägagarkulturen angelegt, aus dem Herzblut in beiden Fällen Agarschüttelkulturen. In beiden Kulturarten wachsen an der Oberfläche gelbe Rasen des Stammes «*b*». Bei der Identifizierung ergibt sich eine *kleine Abweichung* vom gewöhnlichen Verhalten. Die vom *Oedem* des kleinen Tieres herrührenden *Agarplattenkolonien* zeichnen sich durch ihr konkaves und dabei glattes Relief bei besonders starker Ausbreitung vor den anderen, konzentrisch gefurchten und gefalteten Kolonien aus («Probe III»). Im Gegensatz zu den 3 anderen Tochterstämmen erweist sich «III» bei wiederholter Prüfung junger Kulturen als *unbeweglich*. Gleichzeitig bekommt man den Eindruck, dass «III» im Vergleich zu den 3 anderen Parallelstämmen weniger intensiv Zucker vergärt. In 2 %igen Dextroseagarschüttelkulturen weisen zwar alle 4 Stämme gleich hochgradige Gasbildung auf, auch in 2 %iger Milchzuckerfleischextraktbouillon mit Eudiometerröhrchen liess sich kein Unterschied feststellen, in Gelatinestichkulturen aber zeigen sich bei den 3 anderen Stämmen Gasblasen, bei «III» hingegen nicht. Zugleich dürfte «III» in der Gelatinepeptonisierung einen kleinen Vorsprung haben, indem 6 Tage alte Stichkulturen bei «III» in der Auflage eine kleine Exkavation aufweisen, was bei den Parallelstämmen erst am 7. Tage der Fall ist. Ausserdem ist die Farbstoffbildung bei «III» etwas verzögert. 35 Tage später hat sich dann auch «III» wieder als gut bis rapid beweglich erwiesen. Es wurden in Anlehnung an die Angaben von *Burckhardt*[1]) bei dieser Prüfung je einige Kulturpassagen bei Zimmertemperatur und 37° durchgeführt, wobei sich durchgehend bei der niederen Temperatur eine etwas grössere Beweglichkeit aller 4 Stämme ergab. (Siehe Hinweis auf diese Beobachtung.)[2])

Was nun des Weiteren die *Agarschüttelkulturen aus dem Herzblut* der beiden Meerschweinchen anbelangt, so hat sich der *Perfringens*-Stamm beim kleineren Tier nicht nachweisen lassen, alle anaërob wachsenden, gleichgrossen, linsenförmigen Kolonien erwiesen sich als aus den gramnegativen Kurzstäbchen «*b*» zusammengesetzt. Anders bei den Kulturen vom 355 g schweren Tier. Hier zeigen sich ca. 50 grosse geflügelte Kolonien und kleine linsenförmige in sehr grosser Zahl (100 000 — 1 000 000). Erstere werden durch grampositive Stäbe gebildet, letztere durch gramnegative Kurzstäbchen («b»). Die Isolierung des numerisch also stark zurücktretenden *Perfringens*-Stammes aus dieser Kultur bewerkstelligen wir einerseits durch zweimalige Schüttelkulturpassage nach jeweiliger Einzelkolonieabimpfung, worauf nach anfänglicher Anreicherung endlich Reinkultur möglich war, andererseits durch Pasteurisierung einer Hirnbrei- und Rindfleischbouillonkultur, die mit Material aus den Herzblutschüttelkulturen geimpft worden waren.

Auch hier mögen noch kurz einige *abweichende Befunde* Erwähnung finden: Im Quetschwasser jener Passageschüttelkulturen zeigten sich gewisse runde Formelemente (Mikrooidien *Bredemann*?) des Anaëroben in besonderer Reichlichkeit und oft als Haufen zusammenhängend. Es ist auf sie in der 2. Mitteilung kurz zurückzukommen, sodass hier dieser Hinweis genügen mag. Es werden fernerhin aus jener Herzblutschüttelkultur und aus der durch Schüttelkulturpassagen davon

[1]) Untersuchungen über Bewegung und Begeisselung der Bakterien und die Verwendbarkeit dieser Merkmale für die Systematik. I. T. Ueber die Veränderlichkeit von Bewegung und Begeisselung. Arch. f. Hyg., **82**, 235 (1914).

[2]) Diese Zeitschrift, **12**, 72.

reingewonnenen Agarstichkultur auch Kartoffel-Kartoffelwasserhochschichtnährmedien (siehe 2. Mitteilung) mit Erfolg (Gärung, Buttersäuregeruch) beimpft. Während sich nun nach 10 bis 12tägigem Aufenthalt bei 37° in der Hirnbrei- (Reaktion schwach alkalisch) und Rindfleischbouillonkultur (Reaktion schwach sauer, wird vorerst unter aseptischen Kautelen schwach alkalisiert) durch 10-minutige Erwärmung auf 80° biologisch Sporen nachweisen lassen (Ueberimpfung von 4 grossen Oesen in ½ Stunde lang ausgekochte und wieder gut bei Vermeidung jeder Erschütterung gekühlte Rindfleischbouillon mit sofort sich anschliessender Aufmontierung des anaëroben Verschlusses ergibt Wachstum, ebenso stark geimpfte Aërobbouillon bleibt steril) ist das nicht der Fall bei den beiden gleich behandelten Kartoffel-Kartoffelwasserhochschichtkulturen, obschon die eine im Zeitpunkt der Pasteurisierung neutrale Reaktion hatte, die andere, schwach sauer reagierende ebenfalls vor der Erwärmung in steriler Weise schwach alkalisiert worden war. Nun hat sich uns dieses Kulturmedium im allgemeinen als für die mit Pasteurisierung verbundene Fortzüchtung des «*Bac. perfr. subc*» tauglich erwiesen. Das reichliche Auftreten der «Mikrooidien»-Formen in der erwähnten Schüttelkultur (und auch in einer Bouillonsubkultur) verbunden mit diesem Versagen der Kartoffel-Kartoffelwasserhochschichtkulturen einerseits und die gute Sporenbildung in der Rindfleischbouillon, die sich dafür im allgemeinen nicht als geeignet erwies wegen ihres Muskelzuckergehaltes (Säurebildung), andererseits lassen an eine durch die Tierpassage bedingte Umstimmung des Mikroorganismus im Sinne der Entwöhnung gegenüber dem Kartoffelnährmedium und der besseren Anpassung an die Fleischbrühe denken.

Endlich erfolgte die morphologisch-kulturelle (Gelatinehochschichtstich-, Pferdeserumstrich-, Hirnbrei-, Milch- und Kartoffel-Kartoffelwasserhochschichtkultur) Identifizierung des reingezüchteten «*Bac. perfr. subc.*»-Stammes.

Es ist wohl nicht Zufall, dass es auch bei diesen Mischinfektionsversuchen nur im einen der beiden tötlich verlaufenen Fälle gelungen ist, den *Perfringens*-Stamm aus dem Herzblut zu isolieren, während das Gelbkoli im Blute in gewaltiger Zahl angetroffen wurde. Es dokumentiert sich der Anaërobe darin als vorwiegend durch Toxinbildung wirkend, was im Einklang mit der einleitend zum IV. Abschnitt bereits angeführten Auffassung von *Weinberg* und *Séguin*[1]) steht. Der Gelbkoli-Organismus darf wohl als Septizämieerreger, der Perfringens-Stamm als Toxinämie- (und Bakteriämie-) erzeuger aufgefasst werden, wobei natürlich gegenseitige Unterstützung Platz greift.

Die Frage der infektionsbegünstigenden Wirkung der aërob wachsenden Mikroben bei durch obligat Anaërobe verursachten Infektionen (Tetanus, malignes Oedem, Rauschbrand, Gasbrand) war schon seit Beginn des letzten Jahrzehnts des vorigen Jahrhunderts der Gegenstand einer grösseren Anzahl von Arbeiten. Aktuell wurde dieses Problem durch die gehäuften Gasbrandfälle des Weltkrieges. Doch haben die Forschungen noch nicht durchgehend zu eindeutigen Ergebnissen geführt. Was diese Literatur anlangt, müssen wir uns mit dem Hinweis auf das bereits zitierte Werk von *Weinberg* und *Séguin* (pag. 314 ff.) begnügen. Die begünstigende Wirkung der Aëroben wird sich einerseits durch die Sauerstoffabsorbierung, andererseits durch die Ablenkung der Phagozyten erklären lassen. Ob aber damit schon eine rest-

[1]) L. c.

lose Analyse dieser Verhältnisse vorliegt, lässt sich vorerst nicht entscheiden. Jedenfalls dürfte unter den Kurzstäbchen dieser aërob wachsenden Begleitorganismen neben *Bact. vulgare (Proteus)* dem *Bact. coli* eine besondere Bedeutung zukommen, worauf noch zurückzukommen ist.

Die Bearbeitung der in theoretischer und praktischer Beziehung bedeutungsvollen Fragen betreffend die *Toxinbildungsverhältnisse* muss weiteren Studien vorbehalten bleiben. Ueber einige orientierende Vorversuche können wir uns kurz fassen. Am Schlusse unserer Infektionsversuche mit den Mehlkoli an Meerschweinchen wollten wir lediglich noch ermitteln, wie sich gewaschene Bakterien einerseits, die filtrierte Kulturflüssigkeit andererseits gegenüber diesem Versuchstiere verhalten würden. Der *13. Versuch* mit zweimal *gewaschenen Bakterienbelägen* von 20stündigen Schrägagarkulturen, der mit dem *weissen Mehlkohli «H»* und *2 gelbwachsenden Mehlkoli-Stämmen* angestellt wurde, ergab beim *Stamm «f»* eine deutliche *Herabsetzung der Infektiosität.* Während die relative Dosis von 0,035 Oberflächenbelag ungewaschener Bakterien pro 100 g Lebendgewicht des Stammes «f» (4. Versuch, Meerschweinchen Nr. 30) bei einem 575 g schweren Tier intraperitoneal nach 24 Stunden zum Tode führten, zeigt ein 325 g wiegendes Tier bei derselben Applikation einer relativen Dosis von 0,046 gewaschener «f»-Bakterien nur vorübergehendes leichtes Unwohlsein und leichte Gewichtseinbusse. Für die anderen beiden Stämme fehlt die direkte Vergleichbarkeit, und es mögen nur die folgenden beiden Ergebnisse einander gegenübergestellt sein, die für die Beurteilung der Pathogenität von «H» Anhaltspunkte bieten:

«H» 1/5 Agarkultur *gewaschen* einem Meerschweinchen von 575 g intraperit., relative Dosis: 0,035; Resultat: Vorübergehend unwohl, leichte Gewichtseinbusse.

«H» 1/5 Agarkultur gewaschen einem Meerschweinchen von 315 g subkutan, relative Dosis: 0,063; Resultat: Infiltrat, Ulcus, kurzer Gewichtsstillstand.

«f» 1/5 Agarkultur *ungewaschen* einem Meerschweinchen von 575 g intraperit., relative Dosis: 0,035; Resultat: Nach 24 Stunden gestorben.

Bei Gelegenheit dieser Infektionsversuche mit gewaschenen Bakterien werden einige Keimzahlbestimmungen vorgenommen. Die Lebend-Keimzahl pro cm^3 der Aufschwemmung von «H» *(2 Agarkulturbeläge,* üppiges Wachstum, nach 2-maliger Waschung mit nachfolgender 1 1/2-stündiger Zentrifugation bei 3000 Umdrehungen *in 20 cm^3* physiolog. Kochsalzlösung aufgeschwemmt) beträgt *4 Milliarden*; die in gleicher Weise hergestellten Aufschwemmungen der beiden gelben Koli betragen für

«b» 1,1 Milliarden, «f» 1,2 Milliarden.

Bei Umrechnung auf die Agaroberfläche gelangen wir zu folgenden Werten:

«H»:	40 Milliarden	
«b»:	11 »	
«f»:	12 »	nach einer weiteren Bestimmung bei einer 26 Stunden bei 37° gehaltenen Kultur:
«f»:	11,55 »	ferner bei einer 25 Stunden bei 37° und 41 Stunden bei Zimmertemperatur gehaltenen Kultur von Stamm
«c»:	16,6 »	

Bei der subkutanen Injektion der gewaschenen 3 Stämme (relative Dosis ca. 0,05) kam es ebenfalls zur Infiltrat- und Geschwürbildung.

Wird aber die Menge gewaschener Bakterien erhöht, so gelangt man wie ohne weiteres zu erwarten auch hier zur letalen Dosis. Betreffend eine solche massive Infektion mit 3mal gewaschenen «f»-Bakterien (Aufschwemmung 18stündiger Agarkulturen in phys. Kochsalzlösung; Keimzahl 100 Milliarden) mag nur noch erwähnt sein, dass subkutane und intraperitoneale Injektion (Meerschweinchen Nr. 55 und 54, 16. VII. 19) die im IV. Abschnitt geschilderten, charakteristischen Sektionsbefunde ergeben.

Mehr Interesse bietet die Tatsache, dass *Bouillonkulturfiltrate* der Mehlkoli gegenüber Meerschweinchen eine gewisse und zwar nach dem Sektionsbefunde zu schliessen spezifische Toxizität an den Tag legen. *14. Versuch:* 8 Tage bei 37° gehaltene Rindfleischbouillonkulturen des Stammes «f» werden nach kräftiger Zentrifugierung zunächst durch eine ca. 2 mm dicke Kieselgurschicht, darauf durch eine Berkefeldkerze gesaugt. (Erstere Vorfiltration ist nötig um eine Verstopfung der Berkefeldkerze zu vermeiden.) Das klare Filtrat wird mit 0,3 % Phenol. liquid. versehen nach Abimpfung zur Sterilitätsprüfung. Einengen im Vakuum 42—45° C um etwa 33 %. Einem Meerschweinchen von 400 g *(Nr. 49)* werden 15 cm³ dieses Materials in die Bauchhöhle gegeben. Nach der Injektion, bei der infolge Unruhe des Tieres leichte Aethernarkose angewandt wurde, stellt sich starkes Zittern von ungefähr 15 Minuten Dauer ein. Ausserdem führt das Tier schwächliche Gehbewegungen aus, die in ein Zappeln übergehen, ohne seinen Körper vom Flecke bringen zu können. Nach vorübergehender Erholung tritt in der folgenden Nacht Exitus ein. Die Sektion ergibt etwas Oedem des Unterhautzellgewebes am Bauche. Die Bauchhöhle ist prall gefüllt mit einer hellgelben, schwach trüben, nicht fadenziehenden Flüssigkeit (ca. 15—20 cm³). Ein hängender Tropfen ergibt nur rote und weisse Blutkörperchen, keine Mikroorganismen. Von den Organen der Bauchhöhle zeigen nur die *Nebennieren* einen pathologischen Befund: Sie sind stark gerötet und etwas vergrössert. Lungen und Pleuren normal (keine Lungenblähung!). Agarkultur aus Herzblut und Peritonealflüssigkeit ergeben kein Wachstum. (Ein Kontrolltier von 360 g, *Nr. 50,* bekommt 10 cm³ Bouillon mit 0,06 cm³ Phenol. liq., der dem Versuchstier injizierten Phenol-Menge, intraperitoneal. Es zeigt nach der Injektion keine abnormen Erscheinungen und bleibt gesund.)

Beim vorigen Versuch wurde das zur Injektion gelangende Material nicht auf Körpertemperatur erwärmt, was für die Deutung der Folgeerscheinungen beeinträchtigend ist. Der *15. Versuch* ist eine Wiederholung des 14. mit Beobachtung dieser Kautele. Die Dosierung ist etwa die gleiche; 8,5 (statt genau 9,4 cm³) auf 250 g (Meerschweinchen *Nr. 51*). Wieder wird die Injektion in leichter Aethernarkose ausgeführt. Sofort nachher erwacht das Tier und wird von dem gleichen starken Tremor des ganzen Körpers befallen. Den Kopf dreht es wackelnd um die Frontalachse. Auf eine Unterlage gestellt bemüht es sich fortzuspringen, kommt aber nicht von der Stelle.

Bei zappelnden Bewegungen seiner Beine sinkt der Bauch auf die Unterlage. Die Parese dokumentiert sich auch in dem Unvermögen, die eine Vorderpfote aus der unbequemen Beugestellung herauszubringen. Nach etwa 20 Minuten verschwindet der Anfall allmählich, das Tier zittert noch leicht, bewegt sich aber schon mit ziemlicher Leichtigkeit von der Stelle. Am folgenden Tag ist es noch matt, die Lidspalten sind verengert, die Kopfhaare gesträubt, es frisst aber. Nach 2 Tagen munterer geworden, fühlt sich noch schlaff an. Später gänzlich erholt. Das Gewicht ist nach 2 Tagen auf 205 g gesunken, nimmt dann aber in normaler Weise wieder zu.

5,5 cm³ des vorgewärmten, mit Toluol versehenen Peritonealexsudates von Meerschweinchen *Nr. 49* werden einem 325 g schweren Tier *(Nr. 52)* ohne Narkose intraperitoneal gegeben (ohne das ungelöste Toluol). Infolge heftigen Sträubens tritt ca. 1 cm³ des injizierten Materials wieder aus. Nach der Injektion zeigt sich keine Störung. Ausser einer vorübergehenden kleinen Gewichtseinbusse keine Krankheitserscheinungen. Kontrollversuche betreffend die Einwirkung des Aethers und des Toluols führen zu gänzlich negativen Befunden.

Ein weiterer Intoxikationsversuch *(16. Versuch)* ist als missglückt zu betrachten, indem sich das eine der Kerzenfiltrate unerwarteter Weise nicht als steril erwies. Eine Sterilitätsprüfung wurde unterlassen im Vertrauen auf die Bewährtheit der Kerzen bei den Serumfiltrationen im täglichen Betriebe, wobei uns nie eine Verunreinigung vorgekommen war. Da unseren einschlägigen Versuchen durch Mangel an Tiermaterial ohnehin ein Ende gesetzt war und gerade dieses Missgeschick geeignet ist, eine Fortsetzung der Arbeiten in ganz bestimmter Richtung anzuregen, so sei auch dieser letzte Versuch noch kurz mitgeteilt.

Rindfleischbouillonkulturen der Stämme «b» und «f», 5 Tage bei 37° und 6 Tage im Eisschrank. Mit gleichen Teilen st. phys. Kochsalzlösung verdünnen (zur Behebung der sonst eintretenden Kerzenverstopfung), zentrifugieren, durch Berkefeldkerze filtrieren. Klare Filtrate.

Meerschweinchen *Nr. 42*, 340 g schwer; 5,75 cm³ Filtrat «b» subkutan. Nach 24 Stunden: Hat nicht gefressen, gesträubte Backenhaare, etwas matt. Bekommt jetzt weitere 11 cm³ desselben Materials intraperitoneal. Etwa 5 Minuten nachher beginnt das Tier stossweise zu atmen und zeigt Zyanose von Nase und Ohren; nach weiteren 5 Minuten stellt sich Zittern der Extremitäten ein; nach 1/4 Stunde sind diese Symptome am Verschwinden, das Tier bleibt matt. Am folgenden Tag ist das Tier schon auffallend gut erholt, hat bereits gefressen. Das Gewicht ist nach 5 Tagen auf 325 g gesunken, nimmt von da an aber wieder zu. Im Bereich der subkutanen Impfstelle ist die Haut entzündlich gerötet, später bildet sich hier ein Geschwür.

Meerschweinchen *Nr. 44*, 375 g schwer; 23,0 cm³ Filtrat «f» (auf 14 cm³ im Vakuum eingeengt) intraperitoneal. Nach der Injektion keine besonderen Symtome. Nach 15 Stunden krank (Haare gesträubt, Abdomen aufgetrieben und druckempfindlich), stirbt in der folgenden Nacht. Die Sektion

ergibt den für intraperitoneale Mehlkoliinfektion bekannten Befund, ausserdem neben reichlichem beidseitigem Pleuraexsudat pneumonische Herde in der rechten Lunge (Schwimmprobe positiv). Im Peritonealexsudat wimmelt es von rapid beweglichen Kurzstäbchen, auch in den Pleuraexsudaten sind solche leicht zu finden. Aus dem Herzblut und den Exsudaten lässt sich der Ausgangstamm kultivieren. Es findet eine vollständige morphologisch-kulturelle Gegenüberstellung des Ausgangstammes und der Passage-Stämme statt, wobei sich Uebereinstimmung ergibt mit Ausnahme einer kleinen Differenz in der Zuckervergärung: In der Laktoseagarschüttelkultur des Herzblut-Stammes zeigt sich weder bei 37 noch bei 31° Gasbildung. Dieser Befund unterstützt unsere oben (diese Zeitschr. **12**, 77) geäusserte Vermutung, dass die Tierpassage einen hemmenden Einfluss auf das Laktosevergärungsvermögen der Mehlkoliorganismen ausübt. Wenn *György*[1]) über Befunde von Infektionen der Harnwege mit Parakoli- (Milchzucker nicht angreifenden) Bazillen bei Kranken berichtet, die meist kurz vorher an einem ulzerösen Prozess (Typhus, Ruhr) der Darmschleimhaut gelitten haben, so ist das zum mindesten ein Argument, das die Vermutung betreffend die Möglichkeit der hämatogenen Umwandlung mancher Koli zu Parakolitypen im besonderen bei unseren diesbezüglichen Mehlkoli bestärkt.

Es ist ohne weiteres zuzugeben, dass schon das Volumen der zur Injektion gelangten Flüssigkeitsmengen geeignet sein könnte, zu Störungen zu führen (z. B. auf reflektorischem Wege oder durch Atembehinderung infolge Hochdrängung des Zwerchfells); immerhin zeigten sich ja z. B. beim Meerschweinchen Nr. 44 nach Einbringen von 14 cm^3 Flüssigkeit in die Bauchhöhle keine Störungen. Wir können aber aus diesen nur rohen Vorversuchen natürlich keine Schlüsse ziehen und wollen bloss ermitteln, ob sich aus ihnen bereits Richtlinien für ein weiteres systematisches Studium erkennen lassen.

Meerschweinchen Nr. 49 ist nach Impfung mit sterilem Kulturfiltrat von «f» gestorben mit dem für die Mehlkoliorganismen charakteristischen Nebennierenbefund. Hier erhebt sich die Frage: Handelt es sich um ein Endo- oder Ektotoxin? *Zinsser*[2]) hat auf das Vorkommen von Ektotoxinen bei Typhus, Influenza, Koli, Prodigiosus, Streptokokken, also auch bei Nichtpathogenen hingewiesen, die bei 75—80° in ½ Stunde zerstört werden. Sie sollen für Meerschweinchen indifferent, für Kaninchen hochpathogen sein. Ob ihnen Spezifität zukomme, sei allerdings zweifelhaft. Sie hätten starke Aggressinwirkung. *Bail*[3]) betont die klinische Unspezifität der verschiedenen

[1]) Ueber paracolibazilläre Infektionen. Wien, Klin. Wochenschr., **30**, Nr. 8 (1917); zit. bei *György*, Beitrag zur Systematik der Paracoli-Bazillen. C. f. B., I. Abt., O., **84**, 321 (1920).

[2]) On the nature of bacterial toxemia. Journ. of Immunol., **5**, 265—95 (1920) zit. b. Chem. Zentralbl., 1921, I, 508; C. f. B., I. Abt., Ref., **71**, 346. Ein eingehendes Referat b. Ber. ges. Physiol., **5**, 295 von *Friedberger* war uns wie das Original nicht zugänglich.

[3]) Vibrionenvergiftung durch den Tierkörper. Ztschr. f. Immunitätsforschung, O., **27**, 1 ff. (1918).

Endotoxine und weist (S. 26) darauf hin, dass es «keine Eigentümlichkeit gibt, welche gestatten würde, das Krankheitsbild eines intraperitoneal mit Cholera geimpften Meerschweinchens von dem eines mit Bact. coli oder Staphylokokken behandelten zu unterscheiden», aber auch das Bild der Vergiftung mit z. B. Rinderserum werde schwerlich jemand davon durch den blossen klinischen Beobachtungsbefund trennen können. Wir dürfen also wohl auch beim gelben (und weissen) Mehlkoli die Ausscheidung eines *Ektotoxins* («Lösungsgiftes») erwarten, indem ja die Nebennierenrötung einen *spezifischen* Befund darstellen dürfte. Dem Peritonealexsudat von Meerschweinchen Nr. 49 scheint keine Giftigkeit zuzukommen (Meerschweinchen Nr. 52), doch ist die zur Anwendung gelangte Impfdosis relativ klein.

Nicht leicht zu deuten scheinen uns die akuten Symptome nach der jeweiligen Injektion der «f»-Filtrate, wie sie die Tiere Nr. 49 und 51 aufweisen, besonders, da andererseits das Tier Nr. 44 gar nicht in dieser akuten Weise reagierte. Wir müssen es dahin gestellt sein lassen, ob es sich um anaphylaktoide und damit eventuell auf die Gegenwart von Endotoxin zurückzuführende Zustände handelt; eine eigentliche Anaphylaxie kann wohl auch beim mit «b»-Filtrat behandelten Meerschweinchen Nr. 42 nicht in Betracht kommen, da der Zwischenraum von sensibilisierender und auslösender Injektion zu klein ist. Auch fehlen Unruhe und Krämpfe. Ob bei diesem Tier auch noch eine subletale Infektion stattgefunden hat, lässt sich nicht mit Sicherheit ausschliessen. Auffallend ist jedenfalls der Befund der Geschwürsbildung. Sollte dem aber auch so sein, so haben doch die akuten Erscheinungen nach der 2. Injektion damit nichts zu tun.

Ist also die Ausscheidung eines Ektotoxins nicht unwahrscheinlich, so zeigt der 16. Versuch (Meerschweinchen Nr. 44) deutlich die *aggressive Wirkung des «f»-Kulturfiltrates;* denn verhältnismässig klein musste die zur Verimpfung gekommene Menge von Mikroorganismen bei dem klaren Filtrate sicherlich gewesen sein, wenn man sich vergegenwärtigt, wie massive Injektionsdosen es im allgemeinen brauchte, um den Tod herbeizuführen. Auf die Gegenwart von «Aggressinen» weist übrigens auch die Virulenzverminderung bei den gewaschenen Bakterien hin. Eine weitere zu prüfende Frage wäre, ob uns in dieser aggressiven Wirkung nur wiederum die Wirkung ein und desselben Ektotoxins entgegentritt oder ob es sich um 2 verschiedene Körper handelt.

Es ist uns im Verlaufe der subkutanen Infektionen mit Reinkulturen des *Bact. coli var. luteoliq.* 2mal das wenn auch nicht sehr reichliche, so doch deutliche Vorhandensein von *Gas im Unterhautzellgewebe* aufgefallen. Im einen Fall handelt es sich um ein mit gewaschenen «f»-Bakterien infiziertes Meerschweinchen (300 g, Nr. 41, im obigen Text nicht angeführt, gehört zum 13. Versuch), bei dem sich ausser Infiltrat mit entzündlicher Hautrötung, das am 7. Tag exulzerierte, am 2. Tag bei Palpation desselben *Krepitation* bemerkbar machte. Dieses Knistern ist auch noch am folgenden Tag deutlich zu fühlen (objektive Beobachtung, da der Befund festgestellt wird, bevor

das Tier als solches erkannt ist). Später konnte der Befund nicht mehr erhoben werden. Das Infiltrat hat sich während der Ausbildung dieses Hautemphysems beträchtlich ausgedehnt und bedeckt bei dem am Bauche geimpften Tier auch noch die untere Thoraxhälfte.

Der 2. Fall betrifft das Meerschweinchen Nr. 57, das mit dem vom Stamm «a» herzuleitenden Stamm «g, I. Typ, gross» unter die Haut geimpft worden war (siehe Protokoll im 4. Abschnitt). Hier wurden bei der Sektion, die einige Stunden nach dem in der Nacht erfolgten Tode vorgenommen wurde, im Unterhautzellgewebe der unteren Bauchregion einige Gruppen kleiner Gasblasen festgestellt, wodurch sich ein Bild ergibt, das mit dem von *Coenen* [1]) für malignes Oedem dargestellten grosse Aehnlichkeit aufweist. Wie bereits mitgeteilt, konnten aber direkt mikroskopisch in der Subkutis nur gramnegative Kurzstäbchen nachgewiesen, kulturell aus Herzblut und Bauchhöhle der Impfstamm isoliert werden.

So unansehnlich diese Befunde sind, so kommt ihnen doch wohl eine gewisse Bedeutung zu, die einmal in der Beziehung liegt, die sie für die Aetiologie der gashaltigen Phlegmone und des Gasabszesses *(Coenen)* gewinnen könnten, die ferner sich durch ein Analogon dokumentiert zu der bereits nachgewiesenen Uebereinstimmung der Wirkung auf den Tierkörper von *Bact. lactis aërogenes* (Kapselbakterien) einerseits, der Mehlkoliabart andererseits. Seit *Chiari* 1893 und *Hitschmann* und *Lindenthal* bei Diabetesfällen Kolibazillen als die Ursache von Gasbildung im lebenden Gewebe nachgewiesen hatten, haben sich die ätiologischen Verhältnisse dieser Affektion als viel verwickelter erwiesen als anfänglich angenommen wurde. Es zeigte sich bald, dass das Vorhandensein von Diabetes nicht eine conditio sine qua non ist, auch scheint dem *Proteus vulgaris* unter den Aërobiern eine grössere Rolle zuzukommen als dem Koli. Wir folgen in unseren Ausführungen *Coenen*, auf dessen Literaturzusammenstellung wir hinweisen und möchten nur als interessante Einzelheit anführen, dass, nachdem es sich gezeigt hatte, dass es nie so recht gelingen wollte mit Reinkulturen von Kolibazillen im Tierexperiment das klinische Bild dieser aëroben «Gasgangrän» zu reproduzieren, es gerade mit einer bestimmten Koliabart, nämlich dem *Bact. lactis aërogenes Heyse* [2]) gelungen war, eine Gasinfektion zu erzeugen. Es lässt sich nun wohl dieser Befund demjenigen der Nebennierenrötung der beiden Koliabartengruppen an die Seite stellen. Von welchen Bedingungen die Gasbildung in der Subkutis bei den Mehlkoli abhängt, ist noch eine offene Frage. Es ist uns natürlich unschwer gelungen, den Zustand künstlich dadurch hervorzurufen, dass wir eine subkutane Impfung mit dem gelben Mehlkoli Stamm «b» mit einer zugleich erfolgenden und in mehrstündigen Intervallen wiederholten Infusion steriler 0,5 %iger wässeriger Dextroselösung

[1]) Der Gasbrand, Springer, Berlin, 1919, S. 31.

[2]) Ueber Pneumaturie, hervorgerufen durch Bacterium lactis aërogenes und über pathologische Gasbildung im tierischen Organismus. Zeitschr. f. klin. Med. **24**, 130 (1894). Zit. b. Coenen l. c.

kombinierten. Es war im Verlauf dieser nur am Impftage ausgeführten Prozedur deutliche Krepitation zu palpieren, auch entleerten sich an der Impfstelle öfters einige Tropfen gärender Flüssigkeit. Mit dem Aussetzen der Dextrosezufuhr am folgenden Tage ist aber auch das Knistern verschwunden. Die Haut wurde gerötet, es entstand ein Infiltrat, das nach einigen Tagen exulzerierte. Noch nach 11 Tagen entleerte sich aus demselben etwas dicker Eiter.

Mehlkolimischinfektionsversuche, wobei besonders der Assoziation mit pyogenen Kokken und nicht tierpathogenen Anaëroben (in Berücksichtigung gewisser Befunde von *Albrecht*) ein Augenmerk zugewendet werden sollte, könnten hier vielleicht weitere Aufklärung bringen. Da den Mehlkoliorganismen in der Natur eine beträchtliche Verbreitung zukommen dürfte (siehe diesbezüglich auch die Arbeit von *Rogers* und Mitarbeitern, Literaturangabe unten), so ist es nicht ausgeschlossen, dass dieser Frage im Hinblick auf die Verhältnisse, bei denen der Gasbrand seine Rolle spielt, auch praktische Bedeutung zukommt.

Weinberg und *Séguin*[1]) und *Coenen*[1]) gehen darin einig, dass die Aetiologie der «gashaltigen Phlegmone» (phlegmon gazeux, so genannt im Gegensatz zur Gasphlegmone, zum Gasbrand und zur gangrène gazeuse) keine einheitliche ist, und dass jedenfalls den obligat Anaëroben bei diesen gutartigen Prozessen insofern eine geringere Bedeutung zukomme, als sie einmal, was seltener vorkommt, überhaupt nicht zugegen zu sein brauchen, oder, wenn vorhanden, sich durch ihre relative Harmlosigkeit auszeichnen. *Coenen* ist geneigt, in ihnen vor allem nicht tierpathogene Vertreter aus der Gruppe der fäulniserregenden Buttersäurebazillen zu sehen, wenn er auch die Möglichkeit des Vorliegens nicht virulenter echter Gasbranderreger zugibt. *Weinberg* und *Séguin* betonen die Gegenwart entweder nur relativ *harmloser (Bac. sporogenes, Bac. fallax)* oder dann abgeschwächter *(Bac. perfringens, Bac. œdematiens)* Anaërobier.

Abschnitt V lässt sich in folgende Schlussätze zusammenfassen:

1. Auch beim sogenannten Bact. levans (Stamm «H») lässt sich ein geringer Grad von Virulenz feststellen, der sich von jenem der gelb wachsenden Stämme nicht wesentlich unterscheidet. Nach viermaliger Meerschweinchenpassage zeigt sich der Stamm «H» nicht deutlich virulenter. Die durch ihn im Meerschweinchenkörper verursachten krankhaften Veränderungen stimmen mit den bei der gelben Varietät angetroffenen überein.

2. Die bei den Infektionsversuchen mit Darimehl regelmässig zutage getretenen Mischinfektionen mit Anaërobiern legten angesichts der geringen Infektiosität der Mehlkolitypen den Gedanken an eine im Sinne der Virulenzsteigerung synergetische Wirkung dieser Bakterienassoziation nahe. Mischinfektionsversuche am Meerschweinchen mit dem *Bac. phlegmones emphysematosæ Frænkel,* Stamm «Bac. perfr. subc.» und dem *Bact. coli var. luteoliq. Lehmann* und *Levy,* Stamm «b» lassen einen diesbezüglichen gegenseitigen Einfluss deutlich erkennen.

[1]) L. c.

3. Werden zur Infektion gewaschene lebende Mehlkolibakterien verwendet, so erhöht sich die tötliche Dosis. Das Sektionsbild bleibt das gleiche.

4. Das Filtrat einer älteren Bouillonkultur eines Gelbkolistammes führt beim Meerschweinchen ebenfalls zur Rötung und Schwellung der Nebennieren. Gewisse akute Erscheinungen nach Injektionen solcher Filtrate bedürfen noch weiterer Aufklärung. Das Bouillonkulturfiltrat «f» hat «aggressive» Wirkung

5. Bei 2 Stämmen von *Bact. coli var. luteoliq.* kam es nach subkutaner Beibringung zu spontaner Gasbildung im Unterhautbindegewebe.

Tabelle V.

Uebersicht über das Alter der für die Tierinfektionsversuche verwendeten Stämme seit ihrer Isolierung.

Bezeichnung des Stammes	Fundort	Datum der Isolierung	Datum (und Nummer) der Tierinfektionsversuche
«a»	Meerschw. Nr. 7 Herzblut	30. XII. 18	28. I. 19 (1. Versuch); 25. II. 19 (2. Versuch)
«b»	Meerschw. Nr. 11 Subkutis	6. II. 19	25. II. 19 (2. Versuch); 11. und 12. V. 20 (12. Versuch); 20. V. 19 (13. Versuch); 19. V. 19 (16. Versuch)
«c»	Meerschw. Nr. 10 Herzblut	7. II. 19	25. II. 19 (2. Versuch); 24. IV. 19 (5. Versuch)
«f»	Meerschw. Nr. 12 Herzblut	27. II. 19	26. III. 19 (3. Versuch); 4. IV. 19 (4. Versuch); 20. V. 19 (13. Versuch); 2. VII. 19 (14. und 15. Versuch); 19. V. 19 (16. Versuch)
«33»	Meerschw. Nr. 33 Herzblut	24. IV. 19	30. IV. 19 (6. Versuch)
«Gelb M 4»	Getreidemehl	1. VII. 19	8. VII. 19 (7. Versuch)
«Gelb M 8»	Getreidemehl	1. VII. 19	8. VII. 19 (7. Versuch)
«Gelb M 12»	Getreidemehl	1. VII. 19	8. VII. 19 (7. Versuch)
«g, 1. Typ, gross»	Endoplatten	1. VII. 19	17. VII. 19 (8. Versuch)
«g, 2. Typ, klein»	Endoplatten	1. VII. 19	17. VII. 19 (8. Versuch)
«H»	Meerschw. Nr. 11 Subkutis	6. II. 19	24. III. 20 (9. Versuch); 8. IV. 20 (10. Versuch); 23. IV. 20 (11. Versuch); 20. V. 19 (13. Vers.)
«Bac. perfr. subc.»	Meerschw. Nr. 7 Oedemsaft	30. XII. 18	28. IV. 20, 12. V. 20 (12. Versuch)

Bern, im Juli 1921.