

54273.

Ein Beitrag
zur
Biologie der Bacterien.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades
eines

Doctors der Medicin

verfasst und mit Bewilligung

Siner Hochverordneten Medicinischen Facultat der Kaiserlichen Universität
zu Dorpat

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

Peter Kuehn.



Ordentliche Opponenten:

Docent Dr. W. Koch. — Prof. Dr. E. von Wahl. — Prof. Dr. G. Dragendorff.



Dorpat.

Druck von Schnakenburg's litho- und typographischer Anstalt.

1879.

und

Biologie der Pflanzen

Lehrbuch

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät.

Decan: A. Schmidt.

Dorpat, d. 21. Sept. 1879.

Nr. 249.

(L. S.)

Verlag von W. Koenig, Leipzig, in Commission bei G. Oleschburg.

265350

Meiner Mutter.

gattulff. gaurulff.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle allen meinen Lehrern an hiesiger Hochschule, besonders aber Herrn Prof. Dragendorff, in dessen Laboratorium vörliegende Untersuchungen gemacht wurden, meinen wärmsten Dank auszusprechen, für die vielfache Anregung und die freundliche Unterstützung, die sie mir bei meinen Studien angedeihen liessen.



dann zweitens zu ähnlichen Versuchen vergleichsweise auch andere Nährflüssigkeiten zu benutzen.

Wenn ich schliesslich während der Arbeit über den Rahmen dieser gestellten Aufgabe hinausgegangen, ja schliesslich mich ganz den biologischen Studien zuwendete, wodurch die Versuche mit den Antisepticis ganz in den Hintergrund gedrängt wurden, so liegt es theils an den Hindernissen, auf die ich bei dem Versuche stiess, die Bucholtz'sche Nährflüssigkeit für Bacterien aus Eiweiss- und Mutterkorn-Aufgüssen zu benutzen, theils daran, dass sich mir im Verlaufe meiner Versuche andere Nährflüssigkeiten herzustellen und zu benutzen, Beobachtungen aufdrängten, die mein Interesse im höchsten Grade in Anspruch nahmen und vielleicht geeignet sind, zu einer weiteren Bearbeitung dieser Frage anzuregen. Bevor ich nun zu meiner Arbeit übergehe, sei es mir gestattet, um späterhin Wiederholungen zu vermeiden, die technische Seite meiner Arbeit kurz zu berühren. Ich hielt mich, was dieselbe anbelangt, an die von Bucholtz ausgebildete und in seiner und Haberkorn's Arbeit bewährte Culturmethode. Alle Versuche wurden in gleicher Weise unter denselben Cautelen ausgeführt, wie er sie angegeben hat, dabei etwaige Abweichungen auf's peinlichste vermieden. Zunächst benutzte ich die von ihm angegebene Nährflüssigkeit, bestehend in: 100 cc, destill. Wassers, 100 gramm weissen Candiszuckers, 1 gramm weinsaur. Ammon., 0,5 gramm phosphorsaur. Kalis. Die in diesem Verhältniss hergestellte Lösung wurde eine halbe Stunde im Kochen erhalten, darauf heiss filtrirt, und, bis sie in die Züchtungsgläschen übergefüllt werden konnte (was stets nach wenigen Stunden, meist unmittelbar darauf geschah), unter dem Carbolwatteverschluss gehalten.

Zu Züchtungsgläsern benutzte ich, wie es auch schon Haberkorn gethan, Ricinusölgläser, die, um auch sie von allen ihnen anhaftenden Keimen zu befreien, vor ihrer Verwendung eine halbe

Stunde lang bei 115–150° C. erhitzt und darauf noch heiss mit einem Carbolwattepropf verstopft wurden. Nach ihrem Erkalten wurden sie meist gleich, unter vorsichtiger Lüftung des Carbolwattepropfes, mit 20 cc. der kurz vorher hergestellten betreffenden Nährflüssigkeit gefüllt und dann auf je eine halbe Stunde in ein Parafinbad getaucht, das zuvor auf mindestens 115° C. erwärmt worden war. Das während dieser Procedur verdunstete Wasser wurde durch siedendheisses destillirtes Wasser mit zuvor ausgeglühter Pipette ersetzt. Die so dargestellten Nährfläschchen sind jedenfalls keim- und bacterienfrei. Auch bei Wochen- und Monate langem Stehen in höherer Temperatur treten keine Trübungen ein und selbst als ich späterhin aufgegeben hatte, die Trübung der Nährflüssigkeit, als Criterium für die Anwesenheit von Bacterienkeimen zu halten, gelang es mir, weder durch das Mikroskop, noch durch Transplantation solche in einer Nährflüssigkeit nachzuweisen, die seit dem Mai, also seit 4 Monaten, bei Zimmertemperatur gestanden hatte.

Wie bei der Darstellung von Nährfläschchen wurde auch bei den Transplantationen und mikroskopischen Untersuchungen die peinlichste Sorgfalt auf Fernhaltung unbeabsichtigter Infection verwendet. Die hierzu benutzten Glasstäbe und Pipetten wurden in Alkohol gehalten, vor dem Gebrauch mit absolutem Alkohol gewaschen und nie in Anwendung gezogen, ohne dass sie vorher in einer Weingeistflamme tüchtig gegläht worden waren.

Auch dieses Verfahren scheint, wie einige meiner Versuche beweisen, vollkommen zu genügen, um jede Infection fernzuhalten, sofern man nur darauf achtet, nicht mehr als unbedingt nöthig den Wattepropfen zu lüften und ihn nach jedem Herausheben möglichst in dieselbe Lage zurückzubringen. Ich habe Eiweisslösungen, nachdem sie durch halbständiges Kochen keimfrei gemacht waren, 14 Tage hindurch täglich untersucht, ohne dass eine Spur von Bacterienentwicklung, Trübung oder Zersetzung eintrat. Dagegen strafte sich ein nachlässiges Verfahren mit dem Wattepropf bei den Fläschchen mit Bucholtz'scher Nährflüssigkeit häufig

genug durch Auftreten von Hefe oder Schimmelpilzen — zum Glück meist erst zu einer Zeit, wo ich meine Beobachtungen an dem betreffenden Fläschchen schon abgeschlossen hatte und sie nur noch aufbewahrte, um mich gelegentlich über ihr ferneres Schicksal zu unterrichten. Als Criterium für den Grad der eingetretenen Anwesenheit oder Abwesenheit der Entwicklung von Bacterien galt mir im Allgemeinen die Stärke der in den Flaschen eingetretenen Trübung und gleich hier will ich bemerken, dass ich mich dabei der von Bucholtz aufgestellten Trübungsscala der Nährflüssigkeit bediene. Die wenig ergiebigen Resultate einer mikroskopischen Untersuchung, wenn es galt, Leben und Tod der Bacterien zu bestimmen, veranlassten mich, gleich Bucholtz, in der Prüfung der Fortpflanzungsfähigkeit der Bacterien allein eine Entscheidung dieser schwierigen Frage zu sehen. Die Prüfung wurde genau in der von Bucholtz angegebenen Weise ausgeführt (Siehe seine Arbeit: Archiv für experimentelle Pathologie und Therapie, Band IV, Seite 6) und lieferte häufig da noch Resultate, wo weder eine Trübung noch eine mikroskopische Untersuchung mich die Anwesenheit von lebenden Bacterien erkennen liess.

Ich glaube dem Entwicklungsgang meiner Arbeit am meisten Rechnung zu tragen, wenn ich bei der Schilderung meiner Versuche im Allgemeinen die Reihenfolge einhalte, in der ich dieselben angestellt habe und werde daher mit meinen Experimenten mit Antiseptics, die ich zunächst mit Bacterien aus Erbsenaufgüssen, dann mit Bacterien aus Eiweiss und Mutterkornaufgüssen in Bucholtz'scher Nährflüssigkeit anstellte, beginnen, und dann zu meinen Culturversuchen mit anderen Nährflüssigkeiten übergehen.

A. Verhalten der Bacterien aus Erbsenaufgüssen gegen Antiseptica.

Bacterienculturen erhielt ich in Erbsenaufgüssen, Eiweissaufgüssen und Mutterkornaufgüssen. Die Untersuchung des Verhaltens der Bacterien in diesen verschiedenen Aufgüssen gegen Anti-

	NNr. I u. II.	NNr. III u. IV.	a und b.	α und β .
22. Juli	nach 18 Stunden recht trübe, nach 30 Stunden durchscheinend.	Infection 6 Uhr Abends.	Infection 6 Uhr Abends.	
23. Juli	nach 48 Stunden milchig.	nach 6 Stunden beginnende Trübung, nach 24 Stunden sehr trübe.	nach 6 Stunden verdächtig, nach 24 Stunden trübe.	Infection 10 Uhr Morgens.
24. Juli	milchig, schwacher Bodensatz.	milchig, trübe.	recht trübe.	nach 8 Stunden verdächtig, nach 24 Stunden trübe.

Mikroskopisch liess sich in den Transplantationen der ersten und zweiten Reihe massenhaft Bacterienentwicklung nachweisen. Nur schienen Kugeln hier mehr vorzuherrschen und schienen mit die Bacterien überhaupt kleiner, als in der Mutterflüssigkeit. Von spontanem Ortswechsel war gar nichts vorhanden, nur Molekularbewegung war an ihnen zu bemerken.

Nachdem in dieser Weise die unbehinderte Fortpflanzungsfähigkeit der Bacterien nachgewiesen schien, wurde gleich am 24. Juli der erste Versuch mit Antiseptics begonnen, und wurden folgende Substanzen auf ihre Wirkung gegen die Bacterien aus Erbseninfus in der Bucholtz'schen Nährflüssigkeit geprüft.

1. Quecksilberchlorid.
2. Salicylsäure.
3. Borsalisylsaures Natron.
4. Essigsäure Thonerde.
5. Borax.
6. Borsäure.
7. Thymol.
8. Reine Carbolsäure.
9. Rohe Carbolsäure.

1) **Quecksilberchlorid.**

Die antiparasitäre und conservirende Wirkung des Sublimat ist schon seit langer Zeit bekannt und durch die Versuche von Bucholtz hat diese Erfahrung eine vollständige Bestätigung erfahren.

Am 25. Juli wurden 5 in oben angegebener Weise mit Bucholtz'scher Nährflüssigkeit gefüllte genau 20 cc. enthaltende Gläser in dem Verhältniss mit einer 0,4 %igen Sublimatlösung versetzt, dass die so entstandene Lösung die unten angegebenen Concentrationsgrade repräsentirte.

Nr. 1)	1:15000	erreicht d. einen Zusatz v. 0,33 cc.	} obiger Sublimat- lösung zu den 20 cc. Nährflüssig- keit enthaltenden Fläschchen,
Nr. 2)	1:17500	„ „ „ „ „ 0,28 cc.	
Nr. 3)	1:20000	„ „ „ „ „ 0,25 cc.	
Nr. 4)	1:22500	„ „ „ „ „ 0,22 cc.	
Nr. 5)	1:25000	„ „ „ „ „ 0,2 cc.	

hierauf wurden diese Gläser mit 3 Tropfen der stark bacterienhaltigen Flüssigkeit eines Erbsenaufgusses vom 22. Juli unter allen angegebenen Cautelen inficirt und, nachdem ihnen noch 2 in gleicher Weise inficirte sublimatfreie Controlfläschchen hinzugefügt waren, die ganze Versuchsreihe in den Brutofen gestellt.

Nach 24 Stunden, am 25., ist der Inhalt der Controlfläschchen trübe, während die Flüssigkeit in dem mit Sublimat versetzten Fläschchen unverändert erscheint. Nach 2 mal 24 Stunden, am 26., sind die Controlfläschchen stark trübe. Von den Versuchsfläschchen zeigen sich NNr. 3, 4 und 5 verdächtig, und am Tage darauf, als die Controlfläschchen fast milchig getrübt erscheinen, zeigt sich in den Flaschen 2—5 beginnende Trübung. Zur Ermittlung der Trübungsursache werden einige Tropfen aus 4 und 5 unter das Mikroskop gebracht, doch liessen sich keine Bacterien entdecken. Es war daher die Trübung in diesem Falle auf eine Ausscheidung von Quecksilberchlorür zurückzuführen, die ich, wie Haberkorn (Haberkorn, das Verhältniss von Harn-Bacterion gegen Antiseptica, „Inaupural-Dissertation“ p. 22) zunächst mikroskopisch in der Form kleiner, unregelmässig geformter bewegungsloser Partikelchen bemerkte und später als schwachen Bodensatz in den Fläschchen, die sich nach 4 Tagen, am 30. Juli, vollkommen geklärt hatten, wieder fand. Zur Sicherstellung dieser Vermuthungen wurden Transplantationsversuche in der schon oben beschriebenen Weise angestellt, indem aus den Flaschen 3, 4 und

5 neue Fläschchen inficirt und dann in den Brutofen gestellt wurden. Da sich in diesen Fläschchen, auch nach Wochen, noch keine Trübungen eingestellt hatten, so nahm ich an, dass das Sublimat im Verhältniss 1:25000 die Bacterien aus dem Erbseninfuse getödtet, d. h. ihre Fortpflanzungsfähigkeit gestört hatte, ein Ergebniss, das mit den Resultaten von Bucholtz und Haberkörn über die fast unbegrenzte antiseptische Wirkung des Sublimat gut übereinstimmt.

2. Salicylsäure,

die vielfach bei Verbänden und anderen Gelegenheiten als Antisepticum empfohlen und angewandt worden, ist auch schon von Bucholtz auf ihre bacterienfeindliche Wirkung geprüft worden. Ich wandte dieselbe in alkoholischer Lösung an, da die Erfahrung lehrt, dass der Alkohol in den geringen Mengen, die von der Lösung der Bucholtz'schen Nährflüssigkeit zugesetzt wurden, keinen Einfluss auf die Bacterienentwicklung hat (Bucholtz in derselben Schrift). Von den Wirkungen, die Bucholtz bei seinen Versuchen mit der Sacylsäure gefunden hat, ausgehend, wandte ich folgende Verdünnungen zu meinen Versuchen an

Nr. 1)	1 : 250	erreicht durch einen Zusatz v.	0, ₈	} einer 10%igen Salicylsäure-Lösung zu den 20 cc. Bucholtz'scher Nährflüssigkeit enthaltenden Fläschchen.
Nr. 2)	1 : 300	„ „ „ „ „	0, ₆₆	
Nr. 3)	1 : 350	„ „ „ „ „	0, ₆	
Nr. 4)	1 : 400	„ „ „ „ „	0, ₅	
Nr. 5)	1 : 450	„ „ „ „ „	0, ₄₄	
Nr. 6)	1 : 500	„ „ „ „ „	0, ₄	
Nr. 7)	1 : 550	„ „ „ „ „	0, ₃₇	
Nr. 8)	1 : 600	„ „ „ „ „	0, ₃₃	
Nr. 9)	1 : 700	„ „ „ „ „	0, ₂₈	

Zur Infection werden wieder 3 Tropfen aus einem Erbseninfuse vom 24. Juli benutzt und der ganzen Versuchsreihe 2 in derselben Weise inficirten Controlfläschchen hinzugefügt.

Am 27. Juli nach 24 Stunden ist in allen Fläschchen ausser den Nrn. 1 und 2 eine kleine schichtweise Trübung zu bemerken, die jedoch nur die obersten Parthien der Flüssigkeit einnimmt, während die Controlfläschchen recht trübe erscheinen. Die mikroskopische Untersuchung dieser Schicht lässt nicht mit Sicherheit Bacterienentwicklung erkennen, ich wartete daher den Verlauf der Sache bis zum nächsten Tage ab, und fand die Trübung am 29sten in allen Fläschchen geschwunden, nur Nr. 9 konnte ich als verdächtig bezeichnen. Zur Sicherung dessen, dass auch die Fortpflanzungsfähigkeit der Bacterien durch die Salicylsäure gehemmt wird, nahm ich am 28sten Transplantationen aus den Flaschen Nrs. III, V, VII, VIII und IX vor. Ausser der aus Nr. IX inficirten Transplantation war der Inhalt aller Flaschen nach 24 Stunden klar und blieb es ebenso auch mehrere Wochen hindurch, so lange ich sie beobachtete. Die Fortpflanzungsfähigkeit der Bacterien des Erbseninfuses wird daher durch einen Zusatz von 1 : 600—700 aufgehoben, während ihre Entwicklung auch durch geringere Concentrationen gehindert wird.

3. Borsalicylsaures Natron.

Den Versuchen mit Salicylsäure folgten Versuche mit borsalicylsaurem Natron. Das borsalicyls. Natron, das zuerst von Herrn stud. med. Schwartz auf seine antiseptische Wirkung geprüft und als sehr energisch wirkend gegen Bacterien aus Tabacksinfus befunden worden, wurde auch von Haberkorn untersucht, doch zeigte es sich bei Harnbacterien nicht so wirksam. Von dem Schwartz'schen Versuche ausgehend, der die Grenze seiner Wirksamkeit auf 1 : 8000 bestimmt hatte, benutzte ich Lösungen in folgenden Verdünnungen zu meinem Versuche.

Nr. 1) V. 1 : 3000	erreicht durch einen Zusatz v. 0,6 cc.	} einer 1%igen Lösung borsalicyls. Natrons zu den 20 cc. Bucholtz'scher Nährflüssigkeit enthaltenden Fläschchen.
Nr. 2) „ 1 : 4000	„ „ „ „ „ 0,5 cc.	
Nr. 3) „ 1 : 5000	„ „ „ „ „ 0,4 cc.	
Nr. 4) „ 1 : 6000	„ „ „ „ „ 0,33 cc.	
Nr. 5) „ 1 : 7000	„ „ „ „ „ 0,285 cc.	
Nr. 6) „ 1 : 8000	„ „ „ „ „ 0,2 cc.	

Wie bei allen Versuchen wurde auch hier die Infection mit 3 Tropfen Erbseninfuses vorgenommen und 2 Fläschchen mit Controlflüssigkeit hinzugefügt. Nach 24 Stunden, am 27. Juli, ist die Controlflüssigkeit recht trübe. Die Nr. 3, 4, 5 u. 6 trübe. In Nr. 1 u. 2 ist eine schwache schichtweise Trübung, welche die untern und obern Partien der Flüssigkeit einnimmt, bemerkbar. Am 28sten ist die Trübung in allen Flaschen deutlich weiter vorgeschritten und wenn sie auch noch nicht so milchig erscheint, wie im Controlfläschchen, so ist sie doch in Nr. 5 und 6 durchscheinend zu nennen und in den andern wohl mit „stark trübe“ zu bezeichnen. An demselben Tage vorgenommene Transplantationen zeigten dann auch, dass die Fortpflanzungsfähigkeit der Bacterien höchstens in Nr. 1 u. 2 ein wenig beeinträchtigt war. Die Grenze der Wirksamkeit schien mit diesem Versuche also noch nicht erreicht. Es wurde daher am 1. August eine zweite Reihe und als diese mich auch noch nicht an die Grenze brachte, am 10. Aug. eine dritte aufgestellt. Der Kürze wegen will ich sie zusammen abhandeln. In der oben angegebenen Weise wurde durch Zusatz von 1%iger und 4%iger borsalicylsaurer Natronlösung zu den 20 cc. Nährflüssigkeit enthaltenden Fläschchen, Verdünnungen in folgenden Verhältnissen hergestellt.

Nr. I.	1 : 500	erreicht durch ein. Zusatz von 1 cc.	} einer 4%igen Lösung.
Nr. II.	1 : 700	„ „ „ „ „ 0,55	
Nr. III.	1 : 1000	„ „ „ „ „ 0,5	
Nr. IV.	1 : 1500	„ „ „ „ „ 0,33	
Nr. V.	1 : 2000	„ „ „ „ „ 1,0	
Nr. VI.	1 : 2500	„ „ „ „ „ 0,8	

NNr. IV, V und VI wurden am 1. August mit bacterienhaltigen Erbseninfus vom 28. Juli inficirt und mit einem Controlfläschchen in den Brutofen gestellt.

Hier trat die Wirkung nach 24 Stunden schon deutlicher auf. Während die Controlflüssigkeit sich in dieser Zeit stark getrübt hatte, war in 1 : 1000 erst eine beginnende Trübung, die sich bei 1 : 2500 zu leichter Trübung steigerte, zu bemerken. Aber auch

in den nächstfolgenden Tagen blieb die Trübung leicht und die am 3. Aug. vorgenommene Transplantation zeigte auch die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigt, obgleich jetzt Trübungen in einiger Zeit in allen Flaschen zu Stande kamen. Der Versuch am 10. Aug. mit I, II und III liess denn schliesslich die Grenze der Wirkung des borsalicyls. Natrons finden. Nach 24 Stunden war das mit ihnen zugleich inficirte und in den Brutofen gestellte Fläschchen stark trübe, während Nr. I und II vollkommen klar und nur Nr. III verdächtig erschien. Die am 12. vorgenommene Transplantation zeigte die Fortpflanzungsfähigkeit der Bakterien in I und II gestört und die leichte Trübung, die sich im Verlauf vom 2. Aug. in der Transplantation der Nr. III einfand, zeigte deutlich, dass das borsalicylsaure Natron in einer Verdünnung, die zwischen 1:900 — 1:1000 lag, die Bakterien aus dem Erbseninfus tödtet und ihre Fortpflanzungsfähigkeit zerstört, während viel schwächere Verdünnungen, z. B. 1:4000, genügen, ihre Entwicklungsfähigkeit schädlich zu beeinflussen.

4. Essigsäure Thonerde. ¹⁾

Die essigsäure Thonerde hat bei den Buchholz'schen und Haberkorn'schen Versuchen keine Berücksichtigung gefunden; stud. Schwartz fand die Grenze ihrer Wirksamkeit bei seinen Versuchen mit Tabacksbakterien bei 1:20,000 (Sitzungsbericht der Dorpater Naturforscher-Gesellschaft, Beilage der Baltischen Wochen-schrift Nr. 32, Jahrgang 1879). Von diesem Resultate ausgehend, umfasste die erste Versuchsreihe, die ich am 26. Juli aufstellte, Verdünnungen von:

Nr. 1.	1:15000	erreicht durch Zusatz von	0,33	cc.	} einer 0,4 pCt. Lösung von essigsäurer Thonerde zu den 20 cc. Buchholtz'scher Nährflüssigkeit enthaltenden Fläschchen.
Nr. 2.	1:17500	" " " "	0,28	"	
Nr. 3.	1:20000	" " " "	0,25	"	
Nr. 4.	1:22500	" " " "	0,22	"	
Nr. 5.	1:25000	" " " "	0,2	"	

1) Das von mir benutzte Präparat war durch Wechselsersetzung au Baryumacetat und Aluminiumsulfat hergestellt.

Mit Bacterien aus zwei Tage altem Erbseninfuse infectirt und mit zweien in gleicher Weise infectirten Controlflaschen am 26. Juli in den Brutofen gestellt, zeigten alle Flaschen nach 16 Stunden am 27. flockige Trübung (Aluminiumphosphat) am Boden der Flasche, während die darüberstehende Wasserschicht leicht getrübt in den 3 ersten Nummern und recht trübe in den beiden letzten war.

Die Controlflüssigkeiten erschienen beide stark trübe. Am 28sten war auser dem Bodensatz in allen Flaschen die Trübung ein wenig gesteigert und die Flüssigkeit in den Controlfläschchen durchscheinend. Mikroskopisch zeigten sich überall Kugelbacterien in reichlichem Maasse, kleine Stäbchen nur spärlich; beide Arten zeigten aber nur Molekularbewegung. Die zur Sicherstellung ihrer Fortpflanzungsfähigkeit am 28. Juli vorgenommenen Transplantationen aus den Flaschen Nr. 1, 2 und 3 waren nach 24 Stunden alle leicht trübe. Am 3. Aug. schienen alle Flüssigkeiten der Versuchsreihe, wie die Controlflüssigkeit, gleichmässig undurchsichtig getrübt. Die Wirkung schien bei dieser Verdünnung nur schwach entwicklungshemmend zu sein. Um die Grenze der Wirkung der essigsäuren Thonerde festzustellen, schienen daher noch weitere Versuche nothwendig.

Am 31. Juli wurde eine zweite Versuchsreihe aufgestellt, die folgende Verdünnungen umfasste.

Nr. 1) 1 : 5000	erhalten durch einen Zusatz v. 1 cc.	} einer 0,4% tlg. Lösung von essigsaurer Thonerde in Wasser."
Nr. 2) 1 : 7500	„ „ „ „ „ 0,66 cc.	
Nr. 3) 1 : 10000	„ „ „ „ „ 0,5 cc.	
Nr. 4) 1 : 12500	„ „ „ „ „ 0,4 cc.	

Mit 2 Controlfläschchen, in den Brutofen gestellt, die nach 24 Stunden recht trübe erschienen, zeigten alle Nummern der Versuchsreihe den schon oben geschilderten flockigen Bodensatz, der in Nr. 1 am stärksten und bis zu Nr. 4 gradatim abnehmend sich eingestellt hatte. Die darüberstehende Flüssigkeit zeigte in Nr. 2 und 3 beginnende, in Nr. 4 leichte Trübung, erschien in Nr. 1 aber klar. Am 3. Aug. hatte sich die Trübung in Nr. 2 u. 3 bis zur „leichten“ gesteigert. Nr. 1 war auch jetzt noch klar. Mikrosko-

pisch liessen sich in Nr. 2 u. 3 Ketten von Kugelbakterien nachweisen. Um den Grad der Beeinflussung der Fortpflanzungsfähigkeit zu bestimmen, wurden auch hier aus allen 4 Nummern Transplantationen vorgenommen. Nach 24 Stunden war in dem Transplantationsfläschchen, die aus Nr. 2, 3 u. 4 inficirt waren, eine beginnende Trübung zu bemerken, in den aus Nr. 1 inficirten, jedoch keine. Aber auch in letzterer Flasche kam es nachträglich zu einer leichten Trübung. Die essigsäure Thonerde scheint also schon in einer Verdünnung von 1 : 25000 einen schwach hemmenden Einfluss auf die Entwicklung von Bakterien zu haben, der sich mit wachsendem Concentrationsgrade bis zu 1 : 5000 steigert, hier die Entwicklung ganz hemmt, ohne jedoch in dieser Concentration die Fortpflanzungsfähigkeit aufzuheben ¹⁾).

5. Borax.

Der nächste Versuch wurde mit Borax angestellt. Student Schwartz (siehe dieselben Sitzungsberichte der Dorpater Naturforscher-Versammlung) hatte die Grenze seiner Wirkung, bei Bacterien, aus einem Tabacksinfus bei einer Verdünnung von 1 : 150 gefunden. In Anschluss an dieses Resultat wurden 5 Flaschen mit folgenden Verdünnungen aufgestellt:

Nr. 1)	1 : 100	erhalten durch einen Zusatz v.	3,45 cc.	} einer Lösung von 1 Borax zu 15 Wasser.
Nr. 2)	1 : 150	„ „ „ „ „	2,2 cc.	
Nr. 3)	1 : 200	„ „ „ „ „	1,6 cc.	
Nr. 4)	1 : 126	„ „ „ „ „	1,26 cc.	
Nr. 5)	1 : 300	„ „ „ „ „	1,05 cc.	

Nachdem diese Fläschchen in oben angegebener Weise mit Boraxlösung versetzt waren, wurden sie mit zwei, in gleicher Weise mit einem zweitägigen Erbseninfus inficirten Controlfläschchen, am 28. Juli in den Brutofen gestellt. Nach 16 Stunden, am 29. Juli,

¹⁾ Bemerken muss ich übrigens, dass bei diesen Versuchen ein Theil des Aluminium acetates mit den Phosphaten der Nährflüssigkeit sich zersetzt haben muss, worauf bei obiger Rechnung nicht Rücksicht genommen wurde.

ist die Flüssigkeit der beiden Controlfläschchen leicht getrübt, die N.Nr. 3, 4 und 5 dagegen nur verdächtig; 1 und 2 schien klar. Am 30sten, nach 40 Stunden, ist die Flüssigkeit in den Controlfläschchen recht trübe, und ebenso die N.Nr. 3, 4, 5 vollständig milchig trübe, ein Trübungsgrad, der am 2. August von Nr. 1 und 2 erreicht wurde. Mikroskopisch erschienen in allen Flaschen Bacterien massenhafter und besser entwickelt, als in der Controlflüssigkeit. Die am 30. Juli zur Prüfung der Fortpflanzungsfähigkeit aus allen Flaschen vorgenommenen Transplantationen zeigten das eigenthümliche Verhalten, dass die aus Nr. 1 hergestellte am 31sten die ausgesprochenste Trübung zeigte, die überhaupt bis zu Nr. 5 herunter in den Transplantationen gradatim abnahm. Es schien dieses dafür zu sprechen, dass ein geringer Zusatz von Borax, weit entfernt, die Bacterienentwicklung zu hindern, sie gerade begünstige. Erst bei einem Concentrationsgrad von 1:150 (Nr. 4) scheint eine kleine Verlangsamung der Entwicklung einzutreten, die indessen nicht weniger stark wird, als in den anderen Flaschen. Es schien von Interesse, noch stärkere Concentrationen auf ihre Wirkung zu untersuchen und wurde daher am 14ten August eine zweite Reihe in folgender Verdünnung aufgestellt:

Nr. 1)	1: 50,	erreicht durch Zusatz von 15 cc.	} einer 4 % tigen Lösung
„ 2)	1: 75,	„ „ „ „ 9 „	
„ 3)	1: 100,	„ „ „ „ 6,2 „	

Mit 2 tägigem Erbsenaufguss inficirt und mit 2 Controlfläschchen am 14. August in den Brutofen gebracht, zeigt sich am 15ten August Nr. 5 verdächtig, Nr. 1 und 2 klar, während die Controlflüssigkeiten trübe erscheinen. Am 16ten ist Nr. 3 trübe, Nr. 2 zeigt beginnende Trübung, Nr. 1 erscheint klar, die Controlflüssigkeiten sind stark getrübt. Mikroskopisch lassen sich in allen 3 Flaschen Bacterien nachweisen, doch zeigen sie sich in 1:50 (Nr. 1) in äusserst geringer Anzahl und meist nur in kleinen, stark lichtbrechenden Kugeln. Die am 17ten aus Nr. 1 und Nr. 2 vor-

genommenen Transplantationen sind nach 24 Stunden verdächtig. Am 19ten ist in der Transplantation aus Nr. 2 starke Trübung eingetreten, während No. 1 erst beginnende Trübung zeigte, die jedoch am nächsten Tage wieder geschwunden war.

Die antiseptische Wirkung des Borax scheint nach diesen Versuchen eine sehr geringe zu sein.

Erst in 2%iger Verdünnung scheint er von deutlich entwicklungshemmendem Einfluss zu sein, während zu einer Aufhebung der Fortpflanzungsfähigkeit wol noch eine stärkere Concentration nöthig sein dürfte.

6. Borsäure.

Bucholtz hat schon mit Borsäure experimentirt und dieselbe in einer Verdünnung von 1:133 Bacterienentwicklung hindernd gefunden. Nachdem ich zuvor ihre Wirksamkeit gegen Eiweissbakterien geprüft hatte, stellte ich am 14ten August folgende Versuchsreihe in der unten angegebenen Verdünnung auf.

Nr. 1)	1 : 50	erreicht durch einen Zusatz von 15,0 cc.	} einer 4%igen Borsäure- lösung.
Nr. 2)	1 : 75	„ „ „ „ „ 9,0 „	
Nr. 3)	1 : 100	„ „ „ „ „ 6,2 „	
Nr. 4)	1 : 150	„ „ „ „ „ 4,0 „	
Nr. 5)	1 : 200	„ „ „ „ „ 2,8 „	

Mit 3 Tropfen aus einem 2-tägigen Erbsenaufguss inficirt und mit 2 inficirten Controlflaschen in den Brutofen gebracht, sind am 15ten die Controlflüssigkeiten trübe, Nr. 5 ebenso. Nr. 4 beginnende Trübung. Nr. 3 verdächtig, während sich Nr. 1 ganz klar zeigt. Der entwicklungshemmende Einfluss der Borsäure liess sich somit erst in einer Verdünnung von 1:200 erkennen und schien bei 1:50 ganz ausgesprochen. Von der am 17ten unternommenen Transplantation aus Nr. 1, Nr. 2 und Nr. 3 trübt sich nur die aus Nr. 2 und 3. Die Borsäure schien also jedenfalls stärker entwicklungshemmend auf die Bacterien des Erbsenaufgusses zu wirken als Borax und verhindert ihre Fortpflanzungsfähigkeit in einer Verdünnung von 1:50.

7. Thymol.

Auch das Thymol ist schon von Bucholtz und Haberkorn auf seine antiseptische Wirkung gegen Bacterien untersucht worden. Bucholtz wie Haberkorn, fanden es äusserst wirksam, sowol gegen die Bacterien des Tabacksinfuses, wie gegen die Harnbacterien. Ich prüfte es zunächst in folgender Verdünnung.

Nr. 1)	1 : 1000,	erhalten durch einen Zusatz v.	0,4	} einer 5 %igen alkoholischen Lösung von Thymol.
Nr. 2)	1 : 1200	" " " "	0,33	
Nr. 3)	1 : 1500	" " " "	0,27	
Nr. 4)	1 : 2000	" " " "	0,2	
Nr. 5)	1 : 3000	" " " "	0,13	

Die Versuchsreihe wurde am 7. August mit Controlfläschchen aufgestellt, mit 2-tägigem Erbsenaufguss inficirt und noch am selben Tage in den Brutofen gestellt. Am 8. Aug. in 24 Stunden waren die Controlflüssigkeiten trübe, alle 5 Nummern der Versuchsreihe jedoch klar. Am 9ten und 10ten waren die Controlflüssigkeiten zuerst stark trübe, dann durchscheinend, die Flaschen der Versuchsreihe indessen unverändert geblieben. Es wurden daher am 10ten noch Transplantationen vorgenommen, und zwar von Nr. 4 und 5.

Die Transplantation aus Nr. 5 zeigte nach 2 Tagen eine leichte Trübung, während die aus Nr. 4 sich ganz klar erhielt.

Eine Verdünnung von Thymol, die zwischen 1 : 2000–3000 liegt, schien also zu genügen, um die Fortpflanzungsfähigkeit von Bacterien aufzuheben, während Verdünnungen von 1 : 3000 und wahrscheinlich auch noch geringere Concentrationsgrade hinreichen ihre Entwicklung in der Bucholtz'schen Nährflüssigkeit zu hemmen.

8. Reine Carbolsäure und rohe Carbolsäure.

Die Carbolsäure, die eine so weit verbreitete Anwendung, als Antisepticum gefunden, ist wohl auch am meisten auf ihre antimykotische Wirkung geprüft worden. Diese Wirkung scheint jedoch lange nicht die Stärke zu erreichen, wie sie ihre ausgedehnte

Wirkung vermuthen liesse. Bucholtz fand zum Beispiel, dass erst in einer 4 %igen Lösung die Fortpflanzungsfähigkeit der Bacterien vernichtet wurde. Ich stellte am 14. August eine Versuchsreihe in folgender Verdünnung auf und fügte derselben eine gleiche Versuchsreihe mit roher Carbolsäure¹⁾ zum Vergleich hinzu.

Nr. 1 a, Nr. 1 b	1 : 50	erreicht d. e.	Zusatz v.	2, ₂	} einer 20 %igen alkoholischen Lösung reiner Carbolsäure zu den mit „a“ bezeichneten Flaschen u. ebenso concentrirter alkoholischer Lösung roher Carbolsäure zu den mit „b“ bezeichneten Flaschen.
Nr. 2 a, Nr. 2 b	1 : 75	„ „	„ „	1, ₃₃	
Nr. 3 a, Nr. 3 b	1 : 100	„ „	„ „	1, ₀₅	
Nr. 4 a, Nr. 4 b	1 : 150	„ „	„ „	0, ₆₆	
Nr. 5 a, Nr. 5 b	1 : 200	„ „	„ „	0, ₅	
Nr. 6 a, Nr. 6 b	1 : 250	„ „	„ „	0, ₄	

Bei dem Zusatz roher Carbolsäure in dem obigen Verhältnisse wurde die Nährflüssigkeit stark getrübt, und bildete sich ein Bodensatz von dunkelbraunen Kügelchen. Als Criterium für die Anwesenheit von Bacterien musste daher die mikroskopische Untersuchung und die Transplantation dienen. Beide Reihen wurden mit zweitägigem Erbseninfus inficirt und mit Controlfläschchen versehen gleichzeitig in den Brutofen gestellt. Am 15. August, nach 18 Stunden, waren die Controlfläschchen stark trübe, NNr. 4 und 5 der Versuchsreihe „a“ in den oberen Schichten leicht getrübt, Nr. 6 durchweg leicht trübe, NNr. 1, 2 und 3 erschienen klar.

In der Versuchsreihe „b“ liessen sich nur in Nr. 6 Bacterien mikroskopisch nachweisen. Am 16. war die Trübung in den Controlfläschchen durchscheinend, in der Versuchsreihe „a“ Nr. 6 trübe, sonst derselbe Befund wie am Tage vorher.

Am 17. wurden Transplantationen aus NNr. 4, 5 und 6 der Versuchsreihen a und b gemacht, von denen am 18. August die aus NNr. 5 und 6 der Versuchsreihe a und Nr. 6, b, verdächtig erschienen. Am 20. war die Transplantation aus Nr. 5 a klar, doch zeigte sich ein minimier Bodensatz und liessen sich mikroskopisch

¹⁾ Die rohe Carbolsäure stammt aus der Fabrik von de Haen in Hannover, sie enthielt 30 % Phenol.

Bakterien in Form vereinzelter stark lichtbrechender Kugeln nachweisen. Einen gleichen Befund zeigte Nr. 6b. In der Transplantation aus 6a hatte sich die Trübung etwas ausgesprochener eingefunden, konnte jedoch nur mit leicht trübe bezeichnet werden. Die reine Carbolsäure schien somit etwas schwächer zu wirken, als die rohe. Bei einer Verdünnung von 1:150 schien erstere die Fortpflanzungsfähigkeit aufzuheben, die letztere schon bei 1:200, und beide schienen in einer Verdünnung von 1:250 die Entwicklungsfähigkeit der Bakterien aus einem Erbseninfus in hohem Grade zu beeinträchtigen.

Vergleiche ich diese Resultate mit denen, die Bucholtz und Schwartz mit den Bakterien aus einem Tabaksinfus erhielten und Haberkorn mit den Harnbakterien erzielte, wie aus folgender Zusammensetzung leicht zu ersehen:

Buchholtz.		Schwartz.	Haberkorn.	Eigene Versuche.	
Beeinfl. d. Entw. b. z. Klarbleiben d. Flüssigkeit.	Fortpflanzung gehemmt.	Beeinfl. d. Entw. b. z. Klarbleiben d. Flüssigkeit.	Beeinfl. d. Entw. b. z. Klarbleiben d. Flüssigkeit.	Beeinflussung etc.	Fortpflanzung gehemmt.
Sublimat 1:20000			1:25000	1:25000	Die Grenze noch nicht erreicht.
Salicylsäure 1:666	1:312			Grenze noch nicht erreicht 1:700	1:600—700
Essigs.-Thonerde		1:20000		1:5000	1:5000 noch nicht erreicht.
Borsäure-Natron		1:5000		1:900—1000	1:900—1000
Borax		1:150		1:950	1:150 noch nicht erreicht.
Borsäure 1:133		1:250		1:75	1:50
Thymol 1:2000	1:200		1:3000	1:3000 u. darüber	1:2000-3000
Reine Carbolsäure 1:200			1:100	1:250	1:150
Rohe Carbolsäure				1:250	1:200

so erscheint es wol klar, dass nicht die Verschiedenheit der Nährflüssigkeit allein die Differenz in der Wirkung der Antiseptica bedingen kann.

B. Verhalten der Bacterien aus Eiweissaufgüssen gegen Antiseptica.

Während ich obige Versuche mit Bacterien aus Erbsenaufgüssen anstellte, hatte ich auch schon versucht, Bacterienculturen aus anderen Aufgüssen zu erhalten. Eiweiss und Mutterkorn dienten mir dazu. Am 27sten Juli hatte ich das Weisse von einem hartgekochten Ei möglichst fein zerschnitten mit destillirtem Wasser übergossen und nachdem dasselbe eine halbe Stunde bei starkem Feuer gekocht, in offener Flasche in den Brutofen gestellt. Ich erhielt auf diese Weise eine opalisirende, schwach fadenziehende Flüssigkeit, die geruchlos war und deren unterste Schicht, von den in ihren Conturen zum Theil erhaltenen Eiweisspartikeln, zum Theil von kleinen weisslichen Flocken eingenommen war. Nach 24 Stunden schon schien die Flüssigkeit getrübt und liessen sich massenhaft kleine Kugel- und Stäbchenbacterien von der lebhaftesten Beweglichkeit unter dem Mikroskop nachweisen, zu denen in 3 Tagen grössere Stäbchen, die sich unter behenden Krümmungen lebhaft auf dem Gesichtsfeld hin und her bewegten und am 4ten Tage endlich schöne lange, scharf conturirte fadenförmige Bacterien gesellten, die mit langsamen Schlangenbewegungen über das Gesichtsfeld schwammen. (Eine Beobachtung, die ich mit Billroth's Erfahrung, dass sich Bacterien erst nur spät und in kleinen Formen in Eiweissaufgüssen einfinden, nicht in Einklang bringen kann.)

Meiner ursprünglichen Absicht gemäss auch die Bacterien aus dem Eiweissaufguss zu meinen Versuchen mit Antiseptics in Bucholtz'scher Nährflüssigkeit zu benutzen, wurden gleich am 28sten Juli 3 Transplantationversuche unter oben beschriebenen Cautelen in Bucholtz'scher Nährflüssigkeit vorgenommen und am Abend desselben Tages in den Brutofen gestellt. Am Vormittag

1) Billroth, Untersuchungen über die Vegetationsformen von *Coecobacteria septica*.

des 29sten Juli, nach 16 Stunden, zeigten sich der Inhalt aller 3 Flaschen verdächtig. Ein Trübungsgrad, der sich in den darauf folgenden 24 Stunden bis zur leichten Trübung und dann nach 2×24 Stunden bis zur starken Trübung steigerte. Die sowohl am 29sten als am 30sten Juli vorgenommene mikroskopische Untersuchung der Transplantationen ergab das in der That merkwürdige Resultat, dass die Bacterien, die im Eiweissaufguss so lebhaft beweglich gewesen waren, hier nur molekulare Bewegungen zeigten und dass, während sie dort schöne grosse Kugeln und breite, glatt conturirte Stäbe darstellten, hier nur kleinste Kugeln vorkamen, die, theils zu zwei, theils zu rosenkranzförmigen Ketten aneinander gelagert waren, und kurze, fast viereckige Stäbe, die meist in einfacher Reihe angeordnet stärker lichtbrechend erschienen, als die Stäbe in dem Eiweissaufgusse. Da sich aber die Bacterien in hohem Grade vermehrten und diese Veränderungen mir zum Theil auch bei Transplantation der Erbsenbacterien aufgefallen waren, obgleich der Unterschied, bei der grösseren Kleinheit und der höchst schwachen Beweglichkeit der Bacterien des Erbseninfuses nicht so in die Augen springend gewesen war, so legte ich auf diesen Umstand kein besonders grosses Gewicht. Ich glaubte gleich Bucholtz den Grund zu dieser Veränderung in der schleimigen Consistenz der künstlichen Nahrflüssigkeit zu finden (Bucholtz, l. c.) und stellte daher gleich am 29sten eine Versuchsreihe mit essigsaurer Thonerde auf, der ich in den nächsten Tagen gleiche Versuchsreihen mit Borsäure, Borax und Salicylsäure folgen liess.

1. Essigsaurer Thonerde.

Die essigsaurer Thonerde wurde zunächst bei folgender Verdünnung geprüft:

- | | | |
|--------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1) 1 : 15000 | erhalten durch einen Zusatz v. 0,33 cc. | } einer 0,4 procentigen Lösung von essigsaurer Thonerde zu den 20 cc. Bucholtz'scher Nahrflüssigkeit in den Versuchsfläschchen. |
| 2) 1 : 20000 | „ „ „ „ „ 0,25 „ | |
| 3) 1 : 25000 | „ „ „ „ „ 0,2 „ | |

Mit 3 Tropfen aus dem 2-tägigen Eiweissaufguss inficirt und mit Controlfläschchen versehen, zeigte sich nach 24 Stunden derselbe flockige Bodensatz, der schon bei dem Versuche mit den Bacterien aus dem Erbsenaufguss zur Beobachtung kam und wahrscheinlich auf einem Ausscheiden phosphorsaurer Thonerde beruht. Nach 36 Stunden ist eine leichte Trübung in dem Controlfläschchen und den Flaschen der Versuchsreihe zu constatiren; mikroskopisch lassen sich auch ziemlich zahlreiche, genau wie oben beschriebene veränderte Bacterien nachweisen. Die Trübung blieb andauernd in allen Flaschen gleich wenig ausgesprochen. Eine Prüfung der Fortpflanzungsfähigkeit, welche am 51sten aus allen Flaschen vorgenommen wurde, gab nach 36 Stunden eine leichte Trübung. Da in dieser Verdünnung die Wirkung der essigsauren Thonerde noch nicht ausgesprochen war, wurde am 30sten eine zweite Reihe in folgenden Concentrationen aufgestellt:

Nr. 1) 1 : 8000 erhalten durch einen Zusatz v. 0,4	} einer 0,4%igen Lösung essig- saurer Thon- erd.
Nr. 2) 1 : 9000 " " " " " 0,5	
Nr. 3) 1 : 10000 " " " " " 0,55	
Nr. 4) 1 : 12500 " " " " " 0,62	

In derselben Weise inficirt, wie die beiden beigefügten Controlflaschen, ist nach 24 Stunden die über dem flockigen Bodensatz stehende Flüssigkeitsschicht in Nr. 4 und 3, als verdächtig, in Nr. 1 und 2, als klar zu bezeichnen. Am 2. August zeigte sich Nr. 3 leicht getrübt, Nr. 2 und 3 verdächtig und Nr. 1 klar, während die Controlflasche trübe war. Transplantationen, die vorgenommen wurden, zeigten erst nach 4 Tagen am 6. August beginnende Trübung in den Nnr. 2, 3 und 4 entsprechenden Flaschen. In der Nr. 1 entsprechenden Transplantation hatte sich erst nach 8 Tagen ein Bodensatz gebildet, der mikroskopisch Bacterien enthält. Die essigsaure Thonerde scheint hier somit schon die Bacterienentwicklung bei einer Verdünnung von 1:10000 zu beeinträchtigen, während 1:8000 noch nicht genügt die Fortpflanzungsfähigkeit ganz aufzuheben.

2. Borsalicylsaures Natron.

wurde am 31. aufgestellt in der Verdünnung von

Nr. 1.	1 : 500	erhalten durch Zusatz v. 1 cc.	} in 4%iger Lösung.
Nr. 2.	1 : 1000	„ „ „ „ 0,5 „	
Nr. 3.	1 : 1500	„ „ „ „ 0,33 „	
Nr. 4.	1 : 2000	„ „ „ „ 1,0 „	} in 1%iger Lösung.
Nr. 5.	1 : 2500	„ „ „ „ 0,8 „	
Nr. 6.	1 : 3000	„ „ „ „ 0,66 „	

Von allen diesen Proben trübte sich in 6 Tagen nur Nr. 6 so weit, dass ich es mit verdächtig bezeichnen kann. Die in derselben Weise inficirten Controlflüssigkeiten zeigten den schon oben geschilderten Verlauf der Trübung bei Transplantationen mit Eiweissbacterien.

Am 5. August glaubte ich mikroskopisch Bacterien in Nr. 6 gesehen zu haben. Eine vorgenommene Transplantation gab aber ein negatives Resultat.

Das borsalicylsaure Natron schien also, wie auch die essigsaure Thonerde, viel energischer gegen Bacterien aus dem Eiweiss, als die aus einem Erbseninfus zu wirken. Ein späterer Versuch mit 6 Concentrationsgraden, die sich zwischen den Grenzen 1 : 3000 bis 1 : 8000 bewegten, musste als missglückt angesehen werden, weil auch in den Controlfläschchen keine Trübung eintrat.

3. Borax.

Die Versuche mit Borax zeigten, dass die Entwicklung der Eiweissbacterien in der Buchholtz'schen Nährflüssigkeit bei grösseren Verdünnungen eher gesteigert, als gehemmt wurde. In folgender Verdünnung am 29. Juli angewandt:

Nr. 1.	1 : 100	erreicht durch Zusatz von 2,45 cc.	} einer Lösung von 1 : 15 Borax zu d. 20 cc. Buchholtz'scher Nährflüssigkeit.
Nr. 2.	1 : 150	„ „ „ „ 2,2 „	
Nr. 3.	1 : 200	„ „ „ „ 1,65 „	
Nr. 4.	1 : 250	„ „ „ „ 1,27 „	
Nr. 5.	1 : 300	„ „ „ „ 1,0 „	

trat die Trübung in Nr. 1 und 2 zwar langsamer auf, als in dem gleichzeitig aufgestellten Controlfläschchen, erreichte jedoch am 5. Tage auch hier, wie in den übrigen Nummern gleich anfangs, eine grössere Höhe, als in den letzteren. Während die Trübung in dem Controlfläschchen das Prädikat stark trübe kaum verdiente, war sie in der Versuchsreihe am 5. Aug. durchweg milchig zu nennen. Auch mikroskopisch schienen die Bacterien massenhafter, besser entwickelt und beweglicher, als in dem Controlfläschchen. In den Transplantationen aller Nummern trat nach 24 Stunden eine ausgesprochene Trübung auf.

4. Die Borsäure,

die ich am 31. Juli in einer Verdünnung von

Nr. 1.	1 : 100	erreicht durch Zusatz von 2,2 cc.	} einer 10% tlg. Borsäure- lösung
Nr. 2.	1 : 150	„ „ „ „ 1,3 „	
Nr. 3.	1 : 200	„ „ „ „ 1,0 „	
Nr. 4.	1 : 250	„ „ „ „ 0,8 „	
Nr. 5.	1 : 300	„ „ „ „ 0,5 „	

anwandte, schien in den ersten 18 Stunden eine verlangsamende Wirkung zu zeigen, denn der Inhalt der Flaschen der Versuchsreihe war am Morgen des 1. August noch klar, während in der Controlflasche beginnende Trübung eingetreten war; schon am 2. August waren aber die N.Nr. 3, 4, 5 ebenso leicht getrübt, wie die Controlflüssigkeiten und auch N.Nr. 1 und 2 verdächtig. Transplantationen, die aus den ersten 3 N.Nr. vorgenommen worden, waren nach 24 Stunden leicht getrübt und zeigten, wie auch die Nummern der Versuchsreihe, bei der mikroskopischen Untersuchung ziemliche Mengen kleiner Bacterien mit Molekularbewegung. Der Einfluss der Borsäure in dieser Verdünnung war also höchstens ein die Entwicklung verlangsamender zu nennen.

4. Quecksilberchlorid etc.

Das Quecksilberchlorid in denselben Verdünnungen wie bei Bacterien des Erbsenaufgusses angewandt, zeigte genau dieselbe

Wirkung, da selbst bei einer Verdünnung, 1: 25000, weder eine Trübung eintrat, noch sich durch Transplantation Fortpflanzungsfähigkeit constatiren liess.

Ich versuchte hierauf noch nach einander die Wirkung von Salicylsäure, Pikrinsäure, des Thymol und der Carbol-säure. Die Versuche wurden genau in derselben Weise, wie die mit Bacterien aus dem Erbseninfus angestellt, ich glaube daher nicht näher auf das einzelne Experiment eingehen zu müssen, sondern dem Verständniss genügend Rechnung zu tragen, wenn ich im Allgemeinen die Grade der Verdünnungen und das übereinstimmende oder abweichende Resultat von den bisher gefundenen Wirkungen hervorhebe. Die Versuche mit Salicylsäure wurden am 1. August mit 9 verschiedenen Verdünnungen begonnen, deren extremste Concentrationsgrade Lösungen von 1: 250 und 1: 700 Salicylsäure und Bucholtz'scher Nährflüssigkeit repräsentirten. Die Grenze der Wirkung wurde mit 1: 700 jedoch noch nicht erreicht, da weder in einer der Versuchsflaschen noch in der Transplantation aus denselben auch nur eine geringe Trübung eintrat. Eine zweite Reihe, welche, nach einigen missglückten Versuchen, in denen wahrscheinlich wegen Coagulation des Eiweisses auch der Inhalt der Controlflaschen ungetrübt blieb, am 12. August aufgestellt wurde und in 7 Flaschen von einer Verdünnung von 1: 600 bis 1: 1000 hinunter ging, gab in gleicher Weise ein insofern negatives Resultat, als trotz eingetretener Trübung in den Controlflaschen die Grenze der Salicylsäurewirkung nicht erreicht wurde. Weder bei einer Verdünnung von 1: 600 noch in einer der anderen Flaschen trat Trübung ein und auch alle Transplantationen blieben dauernd ungetrübt.

Das Thymol in 7 Concentrationsgraden, die sich zwischen den Grenzen 1: 5000 und 1: 2000 bewegten am 12. Aug. geprüft, zeigte sich in dieser Verdünnung noch so wirksam, dass keine Trübung eintrat. Doch will ich gleich hervorheben, dass sich auch in den Controlflaschen erst nach 5 Tagen eine leichte Trübung einstellte. In der That glaubte ich schon bei 1: 4000 Bacterien mikro-

skopisch nachweisen zu können, die vorgenommenen Transplantationen blieben jedoch klar. Ein anderer Versuch in denselben Grenzen am 7. August war ebenso, wie der mit Salicylsäure und borsalicylsaurem Natron missglückt, weil auch hier in den Controlflaschen keine Trübung eintrat.

Am 14. August wurden dann noch Versuche mit Carbonsäure und Pikrinsäure angestellt.

Die Carbonsäure wurde rein angewandt und 4 Verdünnungen zwischen 1:50 und 1:200 geprüft. Die Controlflüssigkeit ist nach 24 Stunden bloss verdächtig und zeigt am 17. August beginnende Trübung. Die Glieder der Versuchsreihe blieben klar, ebenso auch die Transplantationen, die am 17. August mit 1:200 und 1:150 vorgenommen wurden.

Mit der Pikrinsäure hat bisher nur stud. Schwartz experimentirt und hat die Grenze ihrer bacterientödtenden Kraft bei 1:15000 gefunden. Meine Versuche umfassten

Verdünnungen v. Nr. 1) 1000 erreicht d. Zus. v. 0,12 cc.	} einer 0,8% tige. Lösung v. Pikrin u. Alkohol,
„ „ Nr. 2) 5000 „ „ „ „ 0,25 cc.	
„ „ Nr. 3) 10000 „ „ „ „ 0,5 cc.	
„ „ Nr. 4) 20000 „ „ „ „ 0,5 cc.	

Ich sah in keiner der Flaschen Trübung eintreten, doch war auch in den Controlflaschen erst am 5. Tage, am 19. August, eine leichte Trübung zu constatiren, die nicht hingereicht haben mag, das in der Versuchsreihe durch Zusatz von Pikrinsäure intensiv gelb gefärbte Fluidum zu verändern. Ich glaubte in Nr. 2, 3 u. 4 Bacterien mikroskopisch nachweisen zu können. Die am 19. Aug. angestellten Transplantationen aus allen 4 Nummern zeigten jedoch keine Trübung.

C. Verhalten der Bacterien aus Mutterkorn- aufgüssen gegen Antiseptica.

Waren obige Versuche aus dem Eiweissinfuse häufig dadurch getrübt, dass die Entwicklungsfähigkeit der Bacterien in Bucholtz-

scher Nährflüssigkeit jedenfalls gering, häufig durch dieselbe geradezu gehindert schien, so waren meine Versuche mit Bacterien aus Mutterkornaufgüssen in Bucholtz'scher Nährflüssigkeit nicht viel glücklicher. Tage- ja wochenlanges Klarbleiben der Controlfläschchen musste natürlich die Zuverlässigkeit jedes Versuches mit Antiseptics in Frage stellen und erklärt es, dass ich schliesslich nur 3 Versuche der Mittheilung werth halten kann.

Am 2. August wurde ein Mutterkornaufguss in der Weise gewonnen, dass etwa 3 bis 4 grm. Mutterkorn fein zerschnitten in einem Ballonfläschchen mit ca. 150 cc. destillirten Wassers übergossen wurde. Man erhielt auf diese Weise eine sich in einigen Stunden allmählich braunroth färbende Flüssigkeit, die in den Brutofen gestellt nach 6 Stunden von den schönsten grossen Stäbchenbacterien wimmelte, die in lebhaften Bewegungen unter dem Mikroskop sichtbar wurden.

Am 3. August waren die Bacterien noch massenhafter und stellten unter dem Mikroskop ein buntes Gewirr von Stäbchen aller Grössen dar. Zwei an diesem Tage angestellten Transplantationsversuche in Bucholtz'sche Nährflüssigkeit, wobei mir, wie bisher bei allen solchen Versuchen 3 Tropfen bacterienhaltigen Aufgusses zur Infection dienten, zeigten am Tage darauf beginnende Trübung, die sich am 5. Aug. bis zu einer ausgesprochenen opalescirenden Trübung gesteigert hatte. Die sowohl am 4. u. 5. Aug. vorgenommenen mikroskopischen Untersuchungen dieser Transplantationen zeigten am ersten Tage recht zahlreiche kleine Stäbe mit ziemlich lebhafter Beweglichkeit, die auch mit spontanem Ortswechsel verbunden war. Am 5. August herrschte aber schon die Molekularbewegung unter den massenhaft vorhandenen kleinen Kugeln und Stäben so vor, dass ich erst nach längerer Zeit spontane Ortswechsel an einzelnen kleinen Stäbchen beobachten konnte. Am 6. Aug. war nur Molekularbewegung zu bemerken. Schon am 3. Aug. hatte ich mit den Mutterkornbacterien zugleich 2 Versuchsreihen, die eine mit Sublimat, die andere mit Salicylsäure angestellt. Es waren

dabei dieselben Verdünnungen, wie bei den Eiweißbakterien angewandt worden, d. h. vom Sublimat 5 Versuchflaschen in den Grenzen von 1:15000 bis 1:25000, von der Salicylsäure 7 Flaschen in den Grenzen von 1:250 — 1:700. Nach 24 Stunden waren in den Controlflaschen beider Versuchsreihen beginnende Trübung eingetreten, der Inhalt der Versuchflaschen beider Reihen aber war klar und blieb es auch fürderhin; während die Controlflüssigkeiten sich im Verlauf der nächsten Tage stark trübten. Von am 5. Aug. vorgegenommenen Transplantationen aus 1:500, 1:600 u. 1:700 der Salicylsäurereihe und 1:25000 u. 1:20000 der Sublimatreihe trübten sich nur die Transplantationen aus Salicylsäure 1:700; sie zeigten am 5. August beginnende Trübung, die sich am 10. Aug. bis zur starken Trübung gesteigert hatte. Alle übrigen Flaschen sowohl der Versuchsreihe, als auch der Transplantationen waren untrüblich geblieben. Salicylsäure und Sublimat schienen nach diesem Versuch gegen die Bacterien aus dem Mutterkornaufgusse ebenso zu wirken, wie gegen die Bacterien des Erbsenaufgusses.

Am 5. August hatten sich in dem Mutterkornaufgusse vom 2. August Hefezellen eingefunden. Da es mir natürlich an reinen Bacterienculturen gelegen sein musste, wurden daher noch am 5. August neue Aufgüsse, in derselben Weise, wie der erste, hergestellt, nur wurden dieselben, vordem sie in den Brutofen gebracht wurden, $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht, weil ich hoffte, auf diese Weise die Infection mit Schimmel und Hefe fernzuhalten. Es wollte aber längere Zeit hindurch nicht gelingen. Immer wieder hatten sich nach 24, meist aber erst nach 2 Mal 24 Stunden Schimmelpilze oder Hefezellen eingefunden, falls die Flaschen ohne Watterverschluss aufgestellt wurden.

Erst am 13. August nahm ich die Versuche mit den Antiseptics und Mutterkornbacterien wieder auf aus einem Aufgusse, der sich 3 Tage frei von oben erwähnten Pilzen erhalten hatte, und zwar stellte ich zunächst Versuche mit der Pikrinsäure an. Wie beim Eiweiß kam sie zur Verwendung in Verdünnungen von:

Nr. 1. 1:1000 erreicht durch Zusatz von 0,5 cc. einer 4%igen alkoholischen Lösung.
 Nr. 2. 1:5000 „ „ „ „ „ „ „ „ 0,5 cc. „ einer 0,8%igen alkoholischen Lös.
 Nr. 3. 1:10000 „ „ „ „ „ „ „ „ 0,25 cc. „ v. Pikrinsäure.
 Nr. 4. 1:20000 „ „ „ „ „ „ „ „ 0,12 cc. „

Die beginnende Trübung, die nach 24 Stunden in der Controlflasche eingetreten war, hatte die intensiv gelbe Lösung in den Versuchsflaschen noch nicht verändert. Nach 48 Stunden waren aber die NNr. 3 und 4 undurchsichtig und etwas bräunlich gefärbt, während die Nr. 1 klar geblieben war und Nr. 2 verdächtig erschien. Mikroskopisch liessen sich in NNr. 3 und 4 Bacterien in reichlicher Menge nachweisen. Nr. 2 zeigte dagegen nur vereinzelte stark lichtbrechende Kugeln. Die Transplantationen, die aus allen 4 Nummern angestellt wurden, waren nach 24 Stunden leicht getrübt, soweit sie den Nummern 2, 3 und 4 entsprachen, während die aus Nr. 1 fortdauernd sich klar erhielten.

Die Pikrinsäure schien also schon bei einer Verdünnung von 1:5000 die Entwicklung der Mutterkornbacterien in Bucholtz'scher Nährflüssigkeit stark zu beeinträchtigen, während 1:1000 und wahrscheinlich auch noch schwächere Concentrationen genügte, die Fortpflanzungsfähigkeit zu zerstören.

Züchtungs-Versuche mit Bacterien in verschiedenen Aufgüssen und Nährflüssigkeiten.

Das abweichende Verhalten der Bacterien, aus den Eiweissaufgüssen und Mutterkornaufgüssen, bei den einzelnen Transplantationen in Bucholtz'scher Nährflüssigkeit, die bald rascher, bald langsamer, in wechselnder Stärke, oder auch gar nicht eintretende Trübung, liessen mir dieselbe als ein für Eiweiss und Mutterkornbacterien wenig geeignetes Medium erscheinen. Welch ein Criterium über die Wirkung der Antiseptica konnte eine Nährflüssigkeit bieten, die schon an sich die Entwicklung von Bacterien zu hemmen, ja mitunter ganz zu

sistiren schien? Eine Basis zu einer vergleichenden Untersuchung der Wirkung der Antiseptica gegen die Bacterien verschiedener Aussaaten konnte doch nur auf einem für die verschiedenen Bacterien gleichgeeigneten Nährboden gefunden werden. Wollte ich daher wirklich aus meinen bisherigen Resultaten Schlüsse ziehen, so musste ich erst genauer untersuchen, welches Verhalten Bacterien aus einem Eiweiss- und Mutterkorninfuse in anderen Nährflüssigkeiten, die zu ihrer Fortentwicklung geeigneter schienen, gegen Antiseptica zeigten. Den geeignetsten Nährboden musste natürlich eine der ursprünglichen Züchtungsflüssigkeit ähnliche, oder gleiche Flüssigkeit abgeben, und was konnte in diesem Falle näher liegen, als Eiweissaufgüsse und Mutterkornaufgüsse selbst, als Nährboden zu benutzen.

Bevor ich zu diesen Versuchen überging, schien es mir jedoch natürlich, zu ergründen, welche Bedeutung die scheinbar so bedeutenden biologischen und morphologischen Veränderungen hatten, die die Bacterien der Mutterkorn- und Eiweissaufgüsse und zum Theil die der Erbsenaufgüsse bei der Transplantation in Bucholtz'sche Nährflüssigkeit erlitten. Ich glaubte dieses schon deshalb thun zu müssen, weil das von mir nach Cohn's und Bucholtz' Vorgang für Bacterien-Entwicklung benutzte Kriterium, der Trübung, nach meiner Beobachtung keineswegs so unfehlbar erschien, dass die An- oder Abwesenheit der Bacterien dadurch bestimmt werden konnte. Namentlich hatte es mich aber frappirt, dass ich häufig da, wo ich ganz bestimmt Bacterien mikroskopisch nachgewiesen zu haben glaubte, selbst bei wiederholten Transplantationen keine Trübung und keine Bacterien erhielt. Wie Bucholtz in solchen Fällen anzunehmen, dass die Bacterien bereits abgestorben seien, schien mir deswegen unmöglich, weil ich sie in denselben Flaschen auch nach Tagen in derselben Masse und Form nachweisen konnte und es mir doch wahrscheinlich erschien, dass der Tod diese kleinsten der lebenden Wesen einem rascheren Zerfall entgegen führen würde, als dass sie noch nach Tagen nachweisbar wären.

ganz als ich mit der grösseren Uebung, die ich im Erkennen von **Bactrien** erlangte, solche Beobachtungen zu häufen begann, als ich schliesslich sah, dass die Bactrien auch solcher Flaschen, deren Inhalt durch massenhafte Bactrienbildung milchig getrübt worden war, mit der Zeit ihre Fortpflanzungsfähigkeit in Bucholtz'scher Nährflüssigkeit verloren, sah ich mich veranlasst, diesem Verhalten derselben eine grössere Aufmerksamkeit zu schenken.

Zunächst hoffte ich auf dem Wege genauer mikroskopischer Untersuchungen der Veränderungen, die die Bactrien in Bucholtz'scher Nährflüssigkeit erlitten, zum Ziele zu gelangen. Schon bei meinen ersten Versuchen mit Bactrien aus Erbsenaufgüssen war es mir aufgefallen, dass die Bactrien, in Bucholtz'sche Nährflüssigkeit transplantiert, nach 24 Stunden im Allgemeinen kleinere Formen zeigten und der Grad der durch dieselben bedingten Lichtbrechung sich verändert hatte.

War dieses auch häufig nach 24 Stunden noch nicht deutlich, so trat diese Veränderung in einigen Tagen, wenn die milchig getrübteten Flüssigkeiten sich allmählig wieder zu klären begannen und ein Bodensatz sich eingefunden hatte, immer ausgesprochener hervor, so dass ich beim Vergleich eines Tropfens aus dem Erbsenaufguss mit einem Tropfen aus Bucholtz'scher Nährflüssigkeit, in die Bactrien aus dem Erbsenaufguss transplantiert waren,

Die glatt contourirten cylindrischen Stäbe, die schwach lichtbrechenden ovalen und runden Kugeln des Erbsenaufgusses allmählich ganz verschwanden, statt ihrer sahen das ganze Gesichtsfeld von bald schwach gekrümmten, bald geraden, rosenkranzförmigen oder perlschnurartigen Stäben und von zu zweien, dreien oder auch zu Häufen ungeordneten, stark lichtbrechenden Kugeln eingenommen, unter denen sich meist 2 verschiedene Formen nach ihrer Grösse und Gestalt unterscheiden liessen.

1) Die Beobachtungen wurden bei 700 - 800facher Vergrösserung angestellt. Einige Male jedoch stärkere Vergrösserungen in Anwendung gezogen.

1) Eine kleinere runde, stark lichtbrechende, die selten vereinzelt, meist in Gruppen auftrat und jedenfalls identisch war mit den einzelnen Kugeln, aus denen die rosenkranzförmigen Stäbe zusammengesetzt waren und

2) eine grössere stark lichtbrechende Form, die meist vereinzelt, seltener zu zwei verbunden und in unregelmässigen Haufen an einander gelagert sich zeigte und nicht ganz rund war, sondern deren eines Ende schwach schwanzförmig ausgezogen schien, so dass das Ganze ein commaähnliches Aussehen erhielt.

Weit entfernt, diesen beiden Formen etwas Specificisches anzudeuten zu wollen, da ich die erste derselben schon bei Cohn, als *Micrococcus* und *Torulaform* 1) und beide bei Billroth schon als *Streptococcus* und *Mikrococcus* 2) beschrieben fand, so schien mir doch die Regelmässigkeit mit der die morphologisch so verschieden gestalteten Aussaaten aus Mutterkorn-, Eiweiss- und Erbsenaufgüssen in Buchholz'scher Nährflüssigkeit gerade immer in diese Formen übergingen, im hohen Grade der Beachtung werth.

Um zunächst diese Beobachtung sicher zu stellen, suchte ich den Entwickelungsvorgang in den von mir angestellten Transplantationen genau zu verfolgen und stellte zugleich ein Fläschchen mit in oben beschriebener Weise präparirter Buchholz'scher Nährflüssigkeit offen in den Brutofen, um vergleichend die Entwickelung frei in sie hineingelangerter Sporen zu beobachten. Beim letzteren Versuche machte ich zu meiner Ueberraschung dieselbe Erfahrung, die bereits Cohn (siehe dieselbe Arbeit) und Billroth (siehe dessen Arbeit) gemacht hatten. Die Flüssigkeit trübte sich selbst nach Tage langem Stehen nicht und am 5. Tage traten spärliche Vegetationen von *Penicillium* auf. Meine Ueberraschung war in der That so gross, dass ich gar nicht daran dachte, die Flüssigkeit genauer auf Bacterien zu untersuchen, sondern gleich eine neue

1) F. Cohn, Untersuchungen über Bacterien, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 2. Heft.

2) Billroth, Untersuchungen über die Vegetationsformen der *Coccobacteria septica*.

Quantität ansetzte, die ich, da Cohn als Hauptgrund für das Nichtfortkommen in künstliche Nährflüssigkeiten frei hineinfallender Bacterienkeime ihre Concentration anzusehen scheint (siehe Cohn dieselbe Arbeit p. 189), zu $\frac{3}{4}$ mit ausgekochtem siedenden Wasser versetzte. Das Resultat war aber dasselbe. Die Flüssigkeit blieb ungetrübt, bis endlich am 6. Tage Penicillium zu wuchern begann. Wohl glaubte ich mikroskopisch vereinzelt stark lichtbrechende Kugeln der oben beschriebenen Formen beobachtet zu haben, da mich aber eine am 17. August in Bucholtz's Nährflüssigkeit vorgenommene Transplantation im Stiche liess, glaubte ich kein Gewicht darauf legen zu können.

Nicht viel glücklicher war ich unterdessen in meinen mikroskopischen Untersuchungen der Transplantationen in Bucholtz'sche Nährflüssigkeit. Die Eiweissaufgüsse vom 27. Juli u. 4. Aug., die ich zur Aussaat benutzte, wimmelten nach meinen Aufzeichnungen vom 7. Aug. von Kugeln und Stäben aller Grössen mit der lebhaftesten Beweglichkeit. Von den an demselben Tage vorgenommenen Transplantationen schlug die, aus dem Eiweissaufguss vom 4. August, wegen Coagulation des Eiweisses vollständig fehl, während die aus dem Eiweissaufguss vom 27. Juli nach 24. Stunden, bei der mikroskopischen Untersuchung, einige wenige stark lichtbrechende Kugeln beider Formen und lange ruhende Stäbe zeigte, die aus scharf abgegrenzten kleinen, fast viereckigen Stäben zusammengesetzt schienen (Streptobacterien Billroth). Am 10. Aug. hatte sich die Flüssigkeit in diesem Glase schon wieder etwas geklärt und in dem eingetretenen schwachen Bodensatz fanden sich namentlich die stark lichtbrechenden Kugeln der 2. Form und die rosenkranzförmigen Ketten. Aehnliche Befunde zeigten auch die übrigen Transplantationen, die ich in den darauf folgenden Tagen anstellte. Nur in mehreren Transplantationen, die ich am 12. Aug. gleichzeitig vornahm und zu denen ich die Aussaat aus einem am 10. Aug. neu angestellten Eiweissaufguss entnahm, der fast nur schöne grosse, Stäbe in grosser Menge mit lebhafter Beweglichkeit enthielt, sah ich nach 24 Stunden ausser den stark lichtbrechenden

Gliedern der oben beschriebenen Streptobacterie ruhende lange Stäbe, deren Contouren erhalten, aber die wie von kleinen Kugeln erfüllt erschienen. Es ist dies eine Form, die mir der von Billroth in seinem Werk über Coccobact. sept. pag. 21 beschriebenen zu entsprechen schien. Die rosenkranzförmigen Ketten schienen dabei ganz zu fehlen und von sogenannten Kugeln nur die commaformige Art vertreten zu sein. Trübung trat in diesen Flaschen überhaupt nicht deutlich ein. Einige Tage hindurch konnte man sie als verdächtig bezeichnen, doch verdienten sie später auch dieses Prädicat nicht mehr, wenn man von dem geringfügigen Niederschlag, der wie ein Hauch den Boden der Flaschen bedeckte, absah. Trotzdem ich mir aus allen diesen Befunden nichts Rechtes zusammenreimen konnte und nach wie vor vollständig im Unklaren darüber war, warum das eine Mal keine Trübung und nur äusserst mangelhafte Bacterienentwicklung, das andere Mal starke Trübung, mit wenigstens in der ersten Zeit lebhaften Entwicklung eintrat, so setzte ich meine Transplantationsversuche und deren mikroskopische Untersuchung eifrig fort. Der Eiweissaufguss vom 27. Juli wurde nach einander zu folgenden Transplantationen benutzt:

Am 14. Aug.	}	In allen trat sehr allmählich, doch mit wechselnder
„ 16. „		Langsamkeit nach 2, spätestens 3 Tagen begi-
„ 18. „		nende Trübung auf. Streptococcen und beide Formen
„ 24. „		von Kugeln kamen vorherrschend zur Beobachtung, Streptobacteria selten und nur in den ersten Tagen.

Der Eiweissaufguss vom 4. Aug. wurde zu folgenden Transplantationen benutzt:

Am 11. Aug.	}	Es trat wegen Coagulation des Eiweisses keine Bacterienentwicklung ein. Am 16. sah ich vereinzelte
„ 14. „		stark lichtbrechende Kugeln.
Am 18. Aug.	}	Die Trübung trat rascher und stärker auf, als mit
„ 24. „		Aussaaten des Aufgusses vom 27. Juli und war meist schon am 4. Tage stark zu nennen. Unter den Bacterienformen waren meist die kleinern Kugeln und Streptococcen vorherrschend.

Der Eiweissaufguss vom 10. Aug. wurde am häufigsten benutzt und zwar zu folgenden Transplantationen.

Am 14. Aug.	}	Der Erfolg war bei allen derselbe: Es trat niemals Trübung ein, doch sah ich stets mikroskopisch vereinzelte, stark lichtbrechende Kugeln.
„ 16. „		
„ 18. „		
„ 24. „		
„ 25. „		
„ 28. „		

Aussaaten aus diesen Transplantationen in Bucholtz'sche Nährflüssigkeit zeigten, dass die Bacterien in denselben ihre Fortpflanzungsfähigkeit fast ganz eingebüsst hatten. Selbst die Transplantationen aus dem Erbsenaufguss vom 4. Aug. lieferten so wenig fortpflanzungsfähige Bacterien, dass sie meist nur beginnende, bald schwindende Trübungen in Flaschen mit Bucholtz'scher Nährflüssigkeit hervorbrachten.

Während ich so vergeblich bemüht war, mir Klarheit über das eigenthümliche Verhalten meiner Bacterienaussaaten aus Erbsen und Eiweissaufgüssen zu verschaffen, hatte ich meine Beobachtungen mit den Eiweissaufgüssen fortgesetzt und war durch Transplantationsversuche zu dem Resultat gelangt, dass sie sich ganz gut als Nährflüssigkeit werde benutzen lassen. Zugleich hatten aber auch die vergleichenden täglichen Untersuchungen ergeben, dass nicht nur die Zersetzungsprocesse mit einer gewissen Regelmässigkeit verliefen, sondern dass auch ganz bestimmte Arten von Bacterien die einzelnen Stadien desselben begleiteten. Die Eiweissaufgüsse wurden alle in der schon beschriebenen Weise hergestellt und die ganze Zeit der Beobachtung hindurch in offenen Flaschen im Brutofen gehalten. Die Trübung die in ihnen schon nach 24 Stunden auftrat, bekam im Laufe der nächsten Tage einen Stich ins Gelbliche und schliesslich ins Bräunliche. Mit dem Eintreten der SH_2 reaction¹⁾ begannen die Contouren der Eiweisspartikel undeutlich zu werden und zu schwinden, ein Process, der mit dem Schwinden der SH_2 -reaction sein Ende fand. Die unten stehende Tabelle soll zur Erleichterung der vergleichenden Uebersicht dienen.

¹⁾ Als Reagens wurde stets Nitroprussidnatrium in Combination mit Ammoniak gebraucht.

Erweis- aufguss vom	SH ₂ reaction.	Erweis- partikel wann aufgelöst.	Begleitende Bacterienformen.
27. Juli	Eintritt: 2. August, steigend bis zum 12. Aug., abnehmend bis 17. Aug.	17. Aug.	Den kleinen Stäbchen und Kugeln der vorhergehenden Tage folgen in der Zeit der steigenden SH ₂ reaction schöne grosse Stäbe und reichliche Gliabildung. Mit der abnehmenden SH ₂ reaction treten Helobactus, Bacterien mit Sporen auf und beginnen stark lichtbrechende Kugeln und Streptococci die Stäbchen zu verdrängen.
4. Aug.	Eintritt: 9. August, zunehmend bis zum 15. Aug., abnehmend bis zum 23.	23. Aug.	Während der zunehmenden SH ₂ reaction: kleine und mittelgrosse Stäbe, aber auch Kugeln. Mit der abnehmenden: Stäbe mit Sporen und Streptococci unter allmählichem Ueberhandnehmen der Kugeln und kleinsten Stäbe.
16. Aug.	Eintritt: 15. August zunehmend bis zum 23. August, abnehmend bis zum 29.	29. Aug.	Stäbe, in der ersten Zeit zunehmend, vorherrschend grosse; darauf treten Stäbchen mit Sporen auf, um schliesslich wieder den Kugeln und kleinen Stäben das Feld zu überlassen, ohne es jedoch wie auch in den übrigen Aufgüssen ganz zu verlassen.
16. Aug.	Eintritt: 23. August, zunehmend bis zum 30., abnehmend bis zum 3. September.	3 Sept.	Während der zunehmenden SH ₂ reaction die schönsten grossen Stäbe. Während der abnehmenden treten Stäbchen mit Sporen auf und Kugeln beginnen mehr hervorzutreten, namentlich die stark lichtbrechenden.

Das eigenthümliche Zusammentreffen gewisser Bacterienformen mit bestimmten Zersetzungsstadien musste natürlich den Gedanken nahe legen, in ihnen die Ursache der Zersetzung zu suchen.

Wenn diese Vermuthung richtig war, so mussten durch die Aussaat bestimmter Bacterien in frisch angestellte, durch anhaltendes Kochen keimfrei gemachte Eiweissaufgüsse bestimmte Zersetzungsprocesse eingeleitet werden können. Am 16. August wurde ein neuangestellter keimfreier Eiweissaufguss mit 6 Tropfen aus dem Eiweissaufguss vom 27. Juli inficirt. Nach 24 Stunden war deutliche Trübung aufgetreten, dabei die Flüssigkeit gelblich verfärbt, sie enthielt, wie der Eiweissaufguss vom 27. Stäbchen, Stäbchen mit Sporen, rosenkranzförmige Ketten und Kugelbacterien, zugleich aber ergab sich durch die Nitroprussidreaction, dass SH_2 vorhanden war. Derselbe schwand jedoch am 19. Aug. wieder und schon am 23. August waren die Eiweisspartikel gelöst. Ein Eiweissaufguss vom 18. Aug. in gleicher Weise inficirt, zeigte am 20. die erste SH_2 reaction, am 27. war auch sie wieder geschwunden und die Eiweisspartikel am 28. gelöst. Beigegebene Tabelle erleutert die spezifische Wirkung der Bacterien aus dem Eiweissinfus vom 27. durch einen Vergleich mit dem Eiweissaufguss vom 16. aus der vorigen Tabelle.

Inficirte Bacterien aus dem Eiweissinfus vom 27. Juli.

	Unter Carbolwattverschluss gehalten.		Eiweissaufguss vom 16. August. Offen in den Brutofen gestellt.
	Eiweissaufguss vom 16. August.	Eiweissaufguss vom 18. August.	
Eintritt der SH_2 react.	In 24 Stunden am 17. August.	In 2 mal 24 Stunden am 20. August.	In 7 Tagen am 23. August.
Schwinden der SH_2 react.	Am 19. August.	Am 27. August.	Am 3. September.
Auflösung der Eiweisspartikel vollendet am	Am 23. August.	Am 28. August.	Am 4. September.

Die spezifische Wirkung der Bacterien der einzelnen Zersetzungsstadien wurde noch durch weitere Versuche erhärtet. Ein Eiweissaufguss vom 23. August, der auch mit einer Aussaat aus dem Eiweissaufguss vom 27. Juli inficirt wurde, zeigte noch deut-

licher als der obige Versuch vom 18. August, dass mit dem Schwinden der Eiweisspartikel und des SH_2 aus dem Eiweissaufguss vom 27. Juli, den in denselben enthaltenen Bacterien die Kraft verloren ging das Eiweisslösende Ferment zu bilden, denn bei diesem Versuch trat die SH_2 reaction erst am 5. Tage auf und schwand erst am 15. Tage, während die Auflösung der Eiweisspartikel erst am 10. September ganz vollendet war. Auch das Verhalten der Bacterien der Bucholtz'schen Nährflüssigkeit gegenüber, ging auf die Transplantationen über. Ein Versuch mit einer Aussaat aus Eiweissaufguss vom 10. August in einen Eiweissaufguss vom 18. August zeigte die Bacterien des letzteren in Bucholtz'scher Nährflüssigkeit ebenso wenig fortpflanzungsfähig, wie die des ersteren.

Die obigen Versuche zeigten mir, dass die von mir benutzten Eiweissaufgüsse ganz gut dazu dienen konnten, in ihnen Versuche mit Antiseptics vorzunehmen. Es schien ja, wie ich es verlangen zu müssen glaubte, jede Bacterienart und Form ohne wesentliche Veränderung in normaler Weise zur Entwicklung und Geltung zu gelangen. Zugleich glaubte ich diese Erfahrung auch auf die Bacterien des Mutterkorns übertragen zu können, indem ich voraussetzte, dass hier die Verhältnisse ebenso liegen würden.

Bisher war es mir indessen noch nicht gelungen dauernd reine Bacterienculturen aus Mutterkornaufgüssen zu gewinnen; stets waren sie mir durch Auftreten von Spross- und Schimmelpilzen gestört worden. Erst am 20. August erreichte ich meinen Zweck dadurch, dass ich einen durch halbstündiges Kochen keimfrei gemachten Mutterkornaufguss mit einer Aussaat von Bacterien aus dem Eiweissaufguss vom 16. August inficirte. Der damals gerade fast nur mit schönen Stäben bevölkert war. Der Erfolg war ganz, wie ich ihn wünschen konnte. Nach 24 Stunden wimmelte der Mutterkornaufguss von den schönsten grossen Stäben, die sich in der Folge unter reichlicher Gliabildung lebhaft vermehrten. Versuche, die ich in den nächsten Tagen vornahm, zeigten mir, dass sie durch verschiedene Aussaaten

hindurch in neuen keimfreien Mutterkornaufgüssen unverändert fortpflanzbar waren. Ich konnte somit meine Voraussetzung, dass Bacterienformen sich unverändert fortpflanzen lassen, sofern die zur Aussaat benutzte Flüssigkeit und der Nährboden die gleichen sind, als bestätigt erachten. Meine Versuche mit den Mutterkornbacterien förderten indessen noch ein anderes für mich sehr interessantes Resultat zu Tage. Als Parallelversuche zu diesen Transplantationen aus Mutterkornaufgüssen in Mutterkornaufgüsse hatte ich zugleich Transplantationen aus dem Mutterkornaufgüsse in einen keimfrei gemachten Eiweissaufguss und in Bucholtz'sche Nährflüssigkeit vorgenommen.

Die Resultate waren durchaus verschieden. Während der Eiweissaufguss nach 24 Stunden deutlich trübe erschien und mikroskopisch die lebhafteste Bacterienentwicklung zeigte, in der die Stäbchen das dominirende Element zu sein schienen, obgleich sie so klein waren, dass ich bei ihrer wirklich ganz immensen Beweglichkeit darüber in Zweifel sein konnte, ob ich Stäbchen oder Kugeln vor mir hatte, trat in der Bucholtz'schen Nährflüssigkeit erst nach 3 Tagen eine leichte opalescirende Trübung auf (die übrigens erst nach Aufschütteln des spärlichen Bodensatzes zu Stande zu kommen schien) und mikroskopisch war nichts mehr von Stäben zu entdecken, nur spärliche, stark lichtbrechende Kugeln der 2ten Form bedeckten das Gesichtsfeld. Um endlich hinter die Bedeutung dieser eigenthümlichen Veränderung zu kommen, deren Fortpflanzungsfähigkeit in Bucholtz'scher Nährflüssigkeit, wie meine bisherigen Untersuchungen gezeigt hatten, gleich Null war, nahm ich sofort Rücktransplantationen aus dieser Flasche in Fläschchen mit keimfreiem Mutterkornaufguss vor und fügte der Versuchsreihe ein Controlfläschchen mit Bucholtz'scher Nährflüssigkeit hinzu, das in gleicher Weise mit 3 Tropfen aus jener Flasche inficirt wurde. Die Flüssigkeit in der Controlflasche war nach 24 Stunden noch vollkommen klar und blieb es auch fernerhin. Der in gleicher Weise inficirte Mutterkornaufguss dagegen hatte sich nach 24 Stunden getrübt und zeigte mikroskopisch genau

dieselben schönen grossen Stäbchenformen, wie die am Tage vorher vorgenommene Transplantation aus dem Mutterkornaufguss vom 20sten in einem neuen keimfreien Mutterkornaufguss.

Ich hatte es hier somit wirklich mit einer Form der Bacterienentwicklung zu thun, die in Bucholtz'scher Nährflüssigkeit absolut nicht fortpflanzungsfähig und entwicklungsfähig war. Um dieses interessante Resultat noch durch weitere Versuche zu erhärten und auch auf die anderen von mir in Bucholtz's Nährflüssigkeit beobachteten Formen ausdehnen zu können, wurde von mir am 8. Sept. folgende Transplantationen aus alten Controlflaschen und Transplantationen von Eiweissbacterien und Mutterkornbacterien vorgenommen:

1) Aus 2 Flaschen Bucholtz'scher Nährflüssigkeit, von denen die eine am 18. Aug., die andere am 15. Aug. mit einer Aussaat aus einem Erbsenaufguss infectirt war. Beide Flaschen zeigen jetzt noch Trübung und voluminösen Bodensatz.

2) 2 Flaschen Bucholtz'scher Nährflüssigkeit, welche am 18. und 24. August aus dem Eiweissaufguss vom 27. Juli infectirt waren und jetzt leicht trübe mit geringem Bodensatz erschienen.

3) 3 Flaschen Bucholtz'scher Nährflüssigkeit, die am 16., 24. und 28. August mit einer Aussaat aus dem Eiweissaufguss vom 10. Aug. infectirt worden und alle ungetrübt geblieben waren, beim Durchschütteln jedoch einen geringen aufwirbelnden Bodensatz wahrnehmen liessen.

4) 2 Flaschen Bucholtz'scher Nährflüssigkeit, die am 24. und 28. Aug. aus dem Mutterkornaufguss vom 20. Aug. infectirt worden waren; der Inhalt beider zeigte eine schwache opalescirende Trübung, die sich beim Durchschütteln durch Aufwirbeln des etwas schleimig erscheinenden Bodensatzes zu steigern schien.

Zur Transplantation benutzte ich unter analogen Cautelen einen, wie die Bucholtz'sche Nährflüssigkeit hergestellten Mutterkornaufguss. Ein Aufguss von 1000 cc. destill. Wassers auf 20 grm. feinerz-schnittenen Mutterkorns wurde, nachdem er eine $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht, heiss filtrirt, und die so erhaltene schön braunrothe Flüssigkeit

nach dem Erkalten in durch Erhitzen auf $115-150^{\circ}\text{C}$. keimfrei gemachte Ricinusölgläser gefüllt, die mit Carbolwattverschluss versehen waren. — Nachdem darauf die Flaschen auf $\frac{1}{2}$ Stunde in ein auf $115-150^{\circ}\text{C}$. erwärmtes Parafinbad getaucht worden waren, wurden nach dem Erkalten 9 Flaschen mit 3 Tropfen aus einem der oben genannten Fläschchen inficirt und jeder ein in gleicher Weise inficirtes Fläschchen mit Bucholtz'scher Nährflüssigkeit hinzugefügt. Das Resultat dieses Versuches war genau ein solches, wie ich es nach meinen bisherigen Versuchen erwarten konnte. — In keiner der beigegebenen Controlflaschen mit Bucholtz'scher Nährflüssigkeit trat nach 24 Stunden oder später Trübung ein, während schon nach 16 Stunden in allen mit Mutterkornaufguss gefüllten Fläschchen durch lebhafte Bacterienentwicklung, meist vom Boden der Flasche ausgehende, Trübung eingetreten war.

Obige Versuche mussten mir den Wunsch nahe legen, die von mir im Allgemeinen beobachtete Veränderung der Stäbchenbakterien in jene commaähnlichen stark lichtbrechenden Kugeln in ihren einzelnen Stadien zu verfolgen. Meine Untersuchungen, die diesen Vorgang betrafen, liessen mich vermuthen, dass die schon oben von mir beschriebene Streptobacteriaform oder auch die Anfüllung der grösseren Stäbe mit kleinen stark lichtbrechenden Kügelchen zu diesem Vorgange in naher Beziehung ständen. Nach meinen vielen Untersuchungen solcher in Bucholtz'sche Nährflüssigkeit vorgenommenen Transplantationen, konnte ich aber nicht hoffen mehr Klarheit über den Vorgang zu gewinnen. In der Ueberzeugung, dass die ganze Veränderung nur dadurch hervorgerufen werde, dass die in die Nährflüssigkeit gelangenden Stäbchen keine genügende Nahrung finden, glaubte ich dieselbe Veränderung und meinen Zweck besser zu erreichen, wenn ich einen stark verdünnten Mutterkornaufguss in Anwendung zog. Ich präparirte mir daher Ricinusöfläschchen mit Mutterkornaufguss ganz in derselben Weise, wie zu der vorigen Versuchsreihe, nur dass ich statt 20,5 grm. Mutterkorn auf 1000 cc. destillirten Wassers in Anwendung zog. Ich erhielt eine

schwach röthlich braun gefärbte Flüssigkeit und inficirte am 9. Sept. 3 Flaschen davon in der Reihenfolge aus dem Mutterkornaufguss vom 20., dass Nr. I am Morgen um 10 Uhr, Nr. II um 2 Uhr, Nachmittags und Nr. III um 8 Uhr Abends mit 3 Tropfen aus dem Mutterkorninfus vom 20. versehen wurden.

Am Morgen des 10. waren alle 3 Flaschen verfarbt und getrübt. In Nr. I waren jetzt nach 14 Stunden mikroskopisch Stäbchen in ziemlicher Menge in lebhafter Theilung begriffen (ich sah sie einzeln meist zweigliedrig unter schwerfälligen Bewegungen, unterbrochen von häufigem Stillestehn, langsam auf dem Gesichtsfeld hin und her fahren); meist aber lagen sie, als wären sie an einander geklebt, unter mannigfachsten Verschlingungen ihrer einzelnen, zum Theil nur noch locker mit einander zusammenhängende Glieder, in Haufen zusammen.

In Nr. 2 hätten sich ausser der Trübung noch kleine bräunlich gelbe Flocken eingefunden, die an der Oberfläche schwammen. Unter dem Mikroskope erwiesen sich dieselben als durchsichtige Schleimmassen (Glimasse Billroths). Die um die obenbeschriebenen Stäbchenhaufen in verschiedensten Formen angeordnet waren und dicht erfüllt von lauter gleich grossen reihenweise angeordneten Stäben erschienen. In ihrer Umgebung sah ich hin und wieder noch freie meist zweigliedrige Stäbchen, theils Stäbchenhaufen, die noch nicht von solchen Glimassen umgeben waren.

In Nr. 1 dieselbe Trübung und dieselben Flocken. Unter dem Mikroskop dieselbe Anordnung der stäbchen erfüllten Glimassen um Stäbchenhaufen. Doch hatten hier die Stäbchen in den Reihen an manchen Stellen ihre Form geändert. Sie sahen wie gequollen stärker lichtbrechend aus und waren nahezu mandelförmig oval geworden.

Nachdem die Flaschen wieder in den Brutofen zurückgestellt worden waren, wurden sie am Abend desselben Tages nochmals untersucht:

In Nr. 3 hatte sich unterdessen dieselbe Flockenbildung eingestellt und gab die Untersuchung denselben Befund wie Nr. 2 am Morgen.

In Nr. 2 entsprach der Befund dem von Nr. 3 am Morgen, nur dass der die mandelförmige Quellung der in Reihen angeordneten Stäbe weiter vorgeschritten war.

In Nr. 1 endlich schienen die Gliamassen zum Theil gesthrumpft und an unterschiedlichen Stellen die mandelförmigen Stäbe kleiner, rundlicher und noch stärker lichtbrechend. An anderen Stellen waren die Gliamassen geradezu nur mit den rundlichen, öligartig glänzenden Kugeln erfüllt. Die freie Flüssigkeit in der Umgebung der Gliamassen schien gar keine Stäbe mehr zu enthalten; dagegen waren schon einzelne stark lichtbrechende commaähnliche Kugeln zu bemerken. An den Gliamassen selbst waren an einzelnen Stellen geballte körnige röthlichbraun schimmernde Massen zu bemerken. Ich sah während der Untersuchung, dass verschiedene Schleimflocken sich auch schon in der Flüssigkeit zu Boden gesenkt hatten. Mit der Pipette hervorgeholt und unter das Mikroskop gebracht, erschienen sie als fein gekörnte Flocken, die sich durch spärlich vertretene, stark lichtbrechende, commaähnliche Kugeln mikroskopisch mit den Gliamassen identificiren liessen. Kann ich die commaähnlichen stark lichtbrechenden Kugeln, die ich hier vor meinen Augen aus Stäbchenbacterien entstehen sah, als Sporen der Stäbchen-Bacterien ansehen, so kann ich die Vermuthung von Koch¹⁾, dass die Sporenbildung der Zoogloea oder Gliabildung vorhergeht, nur theilen.

Transplantationen, die, wie beschrieben, am 8. Sept. aus ursprünglich mit einer Aussaat aus Mutterkorninfus inficirter Bucholtz'scher Nährflüssigkeit vorgenommen wurden, sollten mir jedoch noch andere Entwicklungsvorgänge bei den Bacterien vor die Augen führen. Der Inhalt des Fläschchens, der sich nach 16 Stunden in oben beschriebener Weise getrübt und verfärbt hatte, war an seiner

1) Koch, Untersuchungen über Bacterien, Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 2. Band, 3 Heft, S. 415.

Oberfläche mit einem leichten Bacterienhäutchen überzogen. Ich holte mit dem Glasstabe vorsichtig ein wenig davon heraus und brachte es unter das Mikroskop. Das erste Einstellungsobject bot eine ungeheure Menge schöner, ruhender Stäbe, die theils ungeordnet durcheinander gelagert, theils in regelmässigen Reihen angeordnet waren. Ihre Grösse war namentlich zur Peripherie hin eine wechselnde, einige mehr als noch einmal so lang, als die anderen und kein einziges von ihnen schien in Theilung begriffen. An der Peripherie war diese ganze Masse von ruhenden Stäben von lebhaft bewegten umgeben. Eine genauere Beobachtung zeigte diese Bewegung auf ganz bestimmte Grenzen beschränkt. Zuerst erschien es mir geradezu so, als wären die einzelnen Stäbe mit unsichtbaren Fäden an die ruhenden Collegen gefesselt. Denn unermüdlich schien jedes einzelne derselben bis zu einer gewissen Entfernung von dem Haufen fortzuschwimmen; dann aber schien trotz der lebhaftesten Krümmungen die Vorwärtsbewegung gehemmt und wie ermattet sah man das kleine Wesen mit der ganzen Länge seines Körpers ein Kreissegment beschreibend, so dass sein vorderes Ende stets gleich weit entfernt vom Ausgangspunkt der Schwimmbewegung erschienen, zu den ruhenden Stäbchen zurückkehren, um nach einem Moment der Ruhe das Spiel von neuem zu beginnen. Bei genauerer Beobachtung zeigte es sich jedoch, dass es ein unsichtbares Fädchen nicht sein könne; denn war das Stäbchen nach seinen erfolglosen Bemühungen zu den ruhenden Stäbchen zurückgekehrt, so begann der neue Versuch damit, dass es mit dem beim vorhergehenden Versuch hinterm Ende voran unter einigen ruhenden Stäbchen hindurchschwamm und nun mit diesem voraus die Arbeit von neuem begann. Da Allen an der Peripherie des Stäbchenhaufens bewegten Stäbchen ähnliche Grenzen gesteckt schienen, so lag es nahe den Haufen von einer unsichtbaren Membran umgeben zu denken. An einzelnen Stellen waren die Stäbchen durch die schon bei der Gliabildung beschriebene röthlich braune, gekörnte Masse verdeckt. — Hier endlich wurde mir ein Bild klar, das ich in anderen, namentlich Mutterkornhaufgüssen so häufig beobachtet hatte, ohne eine Erklärung

dafür finden zu können. Schon oft hatte ich die rothbraunen, gekörnten, von bewegten Stäbchen umgebenen Massen gesehen, die aber nur an einzelnen Stellen, wo sie weniger dicht waren, ein solches Stäbchen-Lager erkennen liessen, wie das mir hier vorliegende, während gewöhnlich die ganze Masse der Stäbe von ihr verdeckt war, und mich das eigentliche Wesen dieser Gebilde nicht erkennen liess. Die diese Stäbchenhaufen umgebende Flüssigkeit zeigte vereinzelte Stäbe und stark lichtbrechende commaformige Kugeln, theils in kleinen Haufen, dann meist von ruhenden und beweglichen Stäben umgeben, theils auch vereinzelt. Es schien mir nach diesen Beobachtungen klar, dass sich die Stäbchen aus den stark lichtbrechenden commaformigen Kugeln entwickeln, welche Rolle dabei aber hier, wie bei der obenbeschriebenen Umwandlung der Stäbe in die Kugeln, die röthlich braune, gekörnte Masse spielt, die diese Vorgänge fast stets, wenn auch in verschiedener Mächtigkeit begleitete, darüber wage ich nicht einmal Vermuthungen aufzustellen. Nur scheint mir durch den Umstand, dass sie dazwischen bei kleinen Stäbchenhaufen ganz fehlte, und auch bei den grösseren, die Masse, in der sie auftrat, in keinem bestimmten Verhältnisse zu der Masse der vorhandenen Stäbchen stand, so viel ziemlich sicher, dass sie mit der Verwandlung der Stäbchen in Kugeln oder der Kugeln in Stäbe in keinen directen Zusammenhang gebracht werden kann.

Ausser diesen höchst interessanten Beobachtungen, die sich durch dieselben Massregeln ganz in derselben Weise durch Tage wiederholen liessen, machte ich bei meinen Versuchen mit Mutterkorn noch eine andere Erfahrung, die dazu geeignet ist, als Pendant zu meinen Beobachtungen an den Eiweissaufgüssen hingestellt zu werden. Wie ich dort durch meine Versuche fand, dass gewissen Zersetzungsstadien und Zersetzungsproducten gewisse Bacterienformen entsprechen, und dass durch Transplantation solcher Bacterien sich bestimmte Zersetzungen in frischen Aufgüssen entleiten liessen, so fand ich auch hier, dass die Bacterienformen auf die Art der Zersetzung, auf die Form der Zersetzungsproducte von Einfluss ist. Machte

ich Transplantationen aus dem Mutterkornaufguss vom 20. Aug. in dem ich nie andere Bacterienarten, als Stäbe und starklichtbrechende commaähnliche Kugeln selbst bei tausendfacher Vergrößerung hatte entdecken können, in einen Mutterkornaufguss, so blieb die Farbe desselben in den ersten Stunden schön rothbraun; mit der zunehmenden Trübung ging die Farbe aber allmählig in ein helleres Roth über und nach 24 Stunden war die Flüssigkeit trübe johannisbeerfarben. Dieselben Veränderungen sah ich Bacterien aus einem Eiweissaufguss und Bucholtz'scher Nährflüssigkeit im Mutterkornaufguss hervorrufen, die aus demselben Mutterkorninfus dorthin verpflanzt waren und die trotz der Veränderung, die sie, wie schon oben beschrieben, in den neuen Nährflüssigkeiten erlitten, in dem Mutterkornaufguss sich wieder zu den schönsten Stäbchen entwickelten. Ganz anders aber wurde das Bild, sobald ich einen Aufguss zur Aussaat benutzte, in dem nachweisbar die oben beschriebenen Streptococcen vorherrschten. Wenige Stunden nach der Transplantation schwand die rothe Färbung des Sclererythrins, es trat eine schwache gelbliche Verfärbung auf, und nach 24 Stunden schon war die Flüssigkeit meist hellgelbbraun und dabei intensiv sauer geworden. Auf der Bildung welcher Stoffe diese Veränderungen beruhen, habe ich nicht näher untersucht, doch vermute ich, dass diese starke Säurebildung mit der gelblichen Verfärbung des Sclererythrins durch Milchsäurebildung hervorgerufen wird, da eine Aussaat von Bacterien, die aus gährender Milch herstammten, im Mutterkornaufguss dieselbe Verfärbung und Säurebildung hervorriefen.

Ich will die vorliegende Reihe der Beobachtungen nicht schliessen, ohne ein kurzes Referat über zwei Versuche über die antiseptische Wirkung der Salicylsäure gegen die Bacterien des Mutterkorninfuses in einem Mutterkorninfuse und gegen die Bacterien aus einem Eiweissaufguss in einem Eiweissaufguss zu geben. Selbstverständlich kann dieser Versuch natürlich nicht mehr beanspruchen, als eine jede vereinzelt bleibende Beobachtung, dennoch glaube ich, dass er nicht wenig dazu

beitragen dürfte, meine bisherigen Beobachtungen zu bestätigen. Zu der Versuchsreihe mit Mutterkorn benutzte ich die schon in oben beschriebener Weise hergestellten Fläschchen mit Mutterkorninfus. Zu der Versuchsreihe mit Eiweiss stellte ich Aufgüsse von 40 cc. vorher ausgekochten destillirten Wassers und ein gm. fein zerschnittenen Hühnereiweisses her, und kochte sie in den vorher geglähten Flaschen, darauf eine halbe Stunde lang im Paraffinbade unter dem Carbolwattverschluss.

Wie bei allen früheren Versuchen mit Antiseptics wurden durch Zusatz einer 4%igen Salicylsäurelösung zu den einzelnen Flaschen folgende Verdünnungen hergestellt:

Nr. I. Mutterkornaufguss.	Nr. II. Eiweissaufguss.
Nr. 1) 1 : 500	Nr. 1) 1 : 500
Nr. 2) 1 : 700	Nr. 2) 1 : 700
Nr. 3) 1 : 900	Nr. 3) 1 : 1000
Nr. 4) 1 : 1000	Nr. 4) 1 : 1200
Nr. 5) 1 : 1200	Nr. 5) 1 : 1500
Nr. 6) 1 : 1800	Nr. 6) 1 : 1800
Nr. 7) 1 : 2000	Nr. 7) 1 : 2000

Der Zusatz von Salicylsäure brachte sowol im Mutterkorn- als im Eiweissaufguss geringe Veränderungen hervor, die im ersteren in einer schwachen gelblichen Verfärbung, im letzteren in einer leichten Trübung bestand, die sich nach längerem Stehen jedoch wieder verlor.

Beide Versuchsreihen wurden darauf in der bei allen Versuchen angewendeten Weise mit Bacterien aus den entsprechenden Aufgüssen inficirt, wobei mir zur ersten Reihe der Mutterkornaufguss vom 20. August, bei der zweiten der Eiweissaufguss vom 27. Juli zur Aussaat diente.

Mit salicylsäurefreien in gleicher Weise inficirten Controlflaschen in den Brutofen gestellt, erschien der Inhalt der Flaschen beider Reihen nach 24 Stunden bis zu einer Verdünnung von 1 : 1200 klar, die Flaschen NNr. 6 und 7 der ersten Reihe und NNr. 5, 6 und 7 der zweiten Reihe aber schwach getrübt.

Unter dem Mikroskop zeigten sich Stäbchen und Kugeln verschiedener Grösse und Form in den getrübten Nummern beider Reihen; aber nicht nur in den getrübten, auch in denen, deren Flüssigkeit klar geblieben war, liessen sich jene stark lichtbrechenden Kugeln nachweisen. Ich wartete noch acht Tage und als sich in dieser Zeit keine von den klar gebliebenen Nummern weiter getrübt hatte, nahm ich Transplantationen aus allen Gliedern beider Reihen in neue mit der entsprechenden Nährflüssigkeit gefüllte Flaschen vor. — Nach 24 Stunden schon war in allen, ob ihre Aussaat aus der ersten oder zweiten Reihe stammte, Trübung eingetreten. So energisch die Salicylsäure (bei 1 : 1200) die Entwicklung gehemmt zu haben schien, so wenig hatte sie die Fortpflanzungsfähigkeit der stark lichtbrechenden Kugeln, selbst bei einer Concentration von 1 : 500, zu zerstören vermocht. Die Erfahrung, dass Streptococci und die kleineren lichtbrechenden Kugeln in Mutterkornaufgüssen so wesentlich andere Veränderungen hervorrufen, als die Stäbchen des Mutterkornaufgusses vom 20. Aug., veranlasste mich noch einen zweiten Versuch mit Salicylsäure zu machen. Es musste doch interessant sein zu erforschen, wie diese morphologisch und durch die von ihnen bedingten Zersetzungen, wie es schien, so wol charakterisirten Bacterienarten sich unter sonst gleichen Bedingungen gegen Antiseptica verhielten.

Ich stellte daher eine der obigen ganz gleiche Reihe von Fläschchen mit Mutterkornaufguss her, versetzte dieselben in der Weise mit einer 4/10igen Salicylsäurelösung, dass sich die Concentrationsgrade der einzelnen Nummern vollständig entsprachen und inficirte dann jedes der Fläschchen mit 3 Tropfen eines Mutterkornaufgusses, der 2 Tage vorher durch eine Aussaat aus dem Eiweissaufguss vom 4. August mit Streptococci und den kleinen stark lichtbrechenden Kugeln bevölkert worden war. Die in gleicher Weise inficirten salicylsäurefreien Controlflüssigkeiten waren nach 24 Stunden getrübt und gelblich verfärbt; ebenso die Nummern die den Concentrationsgraden von 1 : 1500 und 1 : 2000 entsprachen. Die übrigen Glieder der Versuchsreihe waren jedoch

klar geblieben und schien somit die entwicklungshemmende Wirkung der Salicylsäure dem vorigen Versuch genau zu entsprechen. Ein anderes Resultat ergaben aber die Transplantationsversuche, die aus allen Flaschen der Versuchsreihe vorgenommen wurden und schon bei einer Verdünnung von 1:800 die Fortpflanzungsfähigkeit der Bakterien dieser Aussaat vernichtet zeigten. Es schien somit auch dieser Versuch dafür zu sprechen, dass wir es hier mit zwei wol characterisirten Bakterienarten zu thun hatten.

Wenn ich mir auch sagen muss, dass die Versuche zu wenig zahlreich sind, um aus meinen Beobachtungen weitergehende Schlüsse über Bakterienformen und Bakterienentwicklung zu ziehen, so glaube ich doch Folgendes durch meine übereinstimmenden Resultate als festgestellt erachten zu dürfen:

1) Verschiedene Bakterienformen scheinen in denselben Flüssigkeiten verschiedene Zersetzungen einzuleiten.

2) Durch dieselben Bakterienformen werden in denselben Flüssigkeiten dieselben Zersetzungen eingeleitet.

3) Sind gewisse Formen und Entwicklungsstadien von Bakterien in gewissen Medien, die sonst der Entwicklung von Bakterien nicht hinderlich sind, absolut entwicklungsunfähig.

4) Scheinen die Bakterienformen durch Transplantationen in andern Nährflüssigkeiten ihre spezifische Zersetzungskraft nicht zu verlieren, da sie trotz mannigfacher Veränderungen, denen sie in andern Nährflüssigkeiten unterliegen, in die ursprüngliche Mutterflüssigkeit zurückgebracht, ihre Form und ihre alte Wirkung wieder erhalten.

5) Glaube ich meinen Beobachtungen gemäss, die stark lichtbrechende commaähnliche Kugel zu den Entwicklungsformen der Stäbchenbakterien rechnen zu dürfen.

6) Ist es wahrscheinlich, dass die Bucholtz'sche Nährflüssigkeit der Entwicklung frei in sie hineinfallender Luftsporen zu Bakterien ebenso wenig günstig ist, als der Entwick-

lung der beiden von mir beschriebenen Bacterienformen. Will man sie daher auf die Anwesenheit von Bacterienkeimen prüfen, so muss dem Mikroskop und den Transplantationen in andere, die Entwicklung solcher Keime begünstigende Medien, die erste Stelle eingeräumt werden.

Die Hypothese Naegeli's¹⁾, dass der Nährboden auch über seine Grenzen hinaus Form und Zersetzungsart der Spaltpilze beeinflusse, scheint somit durch meine Beobachtungen nicht gestützt. Es ist nach denselben vielmehr wahrscheinlich, dass Entwicklungsstadium und Species, deren Fortkommen in der That von dem Nährboden abzuhängen scheint, der Art der Zersetzung einen bestimmten Stempel aufdrücken.

Leider wurden meiner Arbeit durch äussere Verhältnisse Grenzen gesetzt, die mich veranlassten, sie zu einer Zeit zu unterbrechen, in der sich meinen Untersuchungen ein ganz neues Beobachtungsfeld eröffnete und mir übereinstimmende Resultate die Zuverlässigkeit der Methode zu sichern schienen. — Kann ich auch nicht erwarten durch die beschränkte Anzahl meiner Versuche eine Basis zur weiteren Bearbeitung dieses Gebietes geschaffen zu haben, so will ich hoffen wenigstens durch meine Arbeit zu weiteren Versuchen dieser Art angeregt zu haben.

1) C. v. Naegeli, Die niederen Pilze und ihre Beziehung zu den Infektionskrankheiten und Gesundheitspflege.

Thesen:

- 1) Die intraperitoneale Behandlung des Stieles bei der Ovariectomie ist im Allgemeinen zu verwerfen.
- 2) Die Naegelische Ansicht, dass feuchte Wände eine desinficirende Wirkung auf die Luft der Wohnräume ausüben, kann wol kaum durch das Experiment oder die Erfahrung gestützt erscheinen.
- 3) Die primäre Drainage der Bauchhöhlen ist bei der Ovariectomie nur da anzuwenden, wo eine specielle Indication vorliegt.
- 4) Es ist wahrscheinlich, dass weder die Kugelform noch die Stäbchenform für eine bestimmte Art von Schizomyceten allein in Anspruch genommen werden kann.
- 5) Es ist klar, dass zur Fernhaltung einer Infection Antiseptica und Reinlichkeit mehr leisten müssen, als Reinlichkeit allein.
- 6) Die Eintheilung der Eierstockgeschwülste in cystische und solide kann nur klinisch gerechtfertigt erscheinen.

