

# DEUTSCHE MEDICINISCHE WOCHENSCHRIFT.

Mit Berücksichtigung des deutschen Medicinalwesens nach amtlichen Mittheilungen, der öffentlichen Gesundheitspflege und der Interessen des ärztlichen Standes.

## Elfter Jahrgang.

Redacteur Dr. P. Börner in Berlin.

Druck und Verlag von Georg Reimer in Berlin.

### I. Aus dem hygienischen Institute der Universität Göttingen.

#### Ueber eine neue den Choleraspirillen ähnliche Spaltpilzart.

Von

**Dr. Th. Deneke,**

Assistent am hygienischen Institut zu Göttingen.

Bei Gelegenheit der Isolirung und Reinzüchtung der Mikroorganismen eines schon längere Zeit aufbewahrten Käses fand ich eine eigenthümliche Spaltpilzart, welche den Koch'schen Cholera-bacillen einerseits, den von Finkler und Prior im Stuhl von Cholera nostras-Kranken gefundenen gekrümmten Bacillen andererseits auffällig ähnlich ist.

Die neu gefundene Art steht sogar hinsichtlich ihres morphologischen Verhaltens sowie ihres Wachstums auf Nährgelatine den Koch'schen Bacillen entschieden näher, als die vielbesprochenen Finkler'schen Organismen.

Bei dem Interesse, welches gegenwärtig die den Cholera-bacillen ähnlichen Spaltpilzarten in Anspruch nehmen, habe ich die aus dem Käse isolirte Art genauer studirt und habe namentlich ihre mikroskopische Form, ihr Wachstum auf verschiedenen Nährböden und ihre Wirkung auf Thiere mit den Finkler'schen Bacillen (von denen wir durch die Güte des Herrn Geh. Reg.-Rath Koch eine Cultur erhalten haben) — sowie mit echten Kommabacillen verglichen. Im Folgenden gebe ich kurz die Resultate dieser vergleichenden Untersuchung.

#### I. Morphologisches Verhalten.

a. Beobachtet man eine Cultur in einem am Deckglas hängenden Tropfen Fleischbrühe mit etwa 500facher Vergrößerung, so bemerkt man bei den echten Choleraspirillen: die einzelnen Individuen haben an allen Stellen gleichen Dickendurchmesser; an fast allen Exemplaren, mit Ausnahme der kürzesten jüngsten, findet sich deutlich ausgesprochene kommaförmige Krümmung; viele liegen zu zwei in S-Form aneinander; daneben bemerkt man zahlreiche lange Spirillenfäden von 8 bis 30 Windungen, oft zu einem dichten Knäuel verfilzt. Die einzelnen Kommabacillen sind lebhaft, die Spirillen langsam beweglich.

Bei den Finkler'schen Spirillen sind die einzelnen Individuen grösser, nicht so stark gekrümmt; ferner erscheinen sie mehr spindelförmig mit abgerundeten Enden. Fäden sind spärlich und nie so lang wie bei echten Choleraspirillen; höchstens 3—6 Windungen.

Bei den Käsespirillen sind die Einzelindividuen kleiner; die Spirillenfäden häufiger und länger, aber nicht so lang, wie bei echten Choleraspirillen; die Schraubengänge sind niedriger, die Windungen enger als bei Cholera asiatica. — Bezüglich der spontanen Bewegungen ist kein auffälliger Unterschied zwischen den drei Arten bemerkbar.

b. Wird der Tropfen demnächst getrocknet, das Deckglas erhitzt, mit Fuchsin gefärbt und dann das Präparat in Canadabalsam mit Oel-Immersion  $\frac{1}{14}$  untersucht, so sind im Ganzen die Unterschiede geringer und oft auch für den geübten Kenner kaum bemerkbar geworden. Am auffälligsten sind die Grössendifferenzen. Die Käsespirillen zeigen die kleinsten, die Finkler'schen die grössten Dimensionen. Jedoch ist dieser Unterschied inconstant; die Grösse der Einzelindividuen wird durch kleine Abweichungen in der Handhabung der Präparationsmethoden nicht unwesentlich beeinflusst; und ferner lassen Präparate aus mehrere Tage bis Wochen alten Culturen

dadurch andere Grössenverhältnisse erkennen, dass das Protosplasma der im Absterben begriffenen Individuen sich nicht mehr vollständig färbt. — Bei Anwendung der besten Oelsysteme (z. B. Winkel  $\frac{1}{24}$ ) erkennt man auch hier, dass bei den Käsespirillen und bei den Choleraspirillen die Dickendurchmesser an allen Stellen des Körpers gleich sind, während die Finkler'schen Spirillen eine gewisse Anschwellung des Mittelkörpers zeigen. In den Cholera-Präparaten findet man ferner die häufigsten und längsten Fäden. Die Käsespirillen sind noch dadurch gekennzeichnet, dass die aus mehreren Individuen bestehenden Fäden mehr winklige Knickungen als Krümmungen aufweisen.

#### II. Wachstum in Culturen.

a. Nährgelatine. Auf Platten mit Nährgelatine sind die Cholera-colonien, mit 100facher Vergrößerung betrachtet, nach 18 Stunden bei 20° kleine Scheiben von unregelmässiger, gebuchteter Contur und mit fein granularer Oberfläche; letztere erscheint später wie mit glänzenden Glasbröckchen bestreut; nach 24 Stunden wird die Gelatine im Umkreis der Colonie verflüssigt, an der Oberfläche am stärksten, und es bildet sich so ein Trichter, auf dessen Grund die Colonie herabsinkt. Die Verflüssigung erstreckt sich aber auch nach längerer Zeit höchstens auf 1—2 Millimeter im Umkreis.

Die Finkler'schen Colonien sind zuerst Scheiben von regelmässiger glatter Contur und verflüssigen dann die Gelatine viel energischer als die Choleraspirillen, so dass binnen 30 Stunden bei + 20° bereits ein Trichter von fast 1 cm Durchmesser gebildet ist; in 2—3 Tagen breitet sich die Verflüssigung so weit aus, dass die ganze Gelatine von der Platte abfließt.

Die jungen Colonien der Käsespirillen sind bei durchfallendem Licht und bei 100facher Vergrößerung sehr dunkel, genau kreisförmig, mit regelmässigen, schwärzlichen Conturen und grünlichbraunem Centrum; sie erscheinen unregelmässig granulirt. Später, wenn die Verflüssigung an der Oberfläche beginnt und die Colonie heruntersinkt, verschwindet die dunkle Farbe. Die Verflüssigung der Gelatine ist weit energischer als bei den Choleraspirillen, aber weniger energisch als bei den Finkler'schen Spirillen. In einem früheren Stadium (18 Stunden bei + 20°) ist makroskopisch eine grosse Aehnlichkeit mit den Cholera-colonien aus späterem Stadium (36 Stunden) vorhanden; doch ist auch dann eine leichte und sichere Unterscheidung durch die Beobachtung mit 100facher Vergrößerung möglich.

Verimpft man die rein gezüchteten Spirillen durch Einstich mit einem Platindraht in Probirröhrchen mit Nährgelatine, so bildet sich bei den Choleraspirillen binnen 48 Stunden bei 20° entlang dem Einstich eine weissliche Trübung aus, in deren Umgebung die Gelatine allmählich verflüssigt wird. Die Verflüssigung ist jedoch so gering, dass nur eine feine Röhre entsteht, die sich lediglich nach der Oberfläche hin etwas trichterförmig erweitert. Das Flüssigkeitsniveau in der Röhre steht gewöhnlich etwas unter dem Niveau der fest gebliebenen Gelatine, so dass der obere Theil des Trichters nur Luft enthält. Die verflüssigte Gelatine ist klar, nur an einzelnen Stellen von circumscribten weissen Massen durchsetzt. — Erst nach 4—6 Tagen geht die Verflüssigung der Gelatine so weit, dass an der äussersten Oberfläche der Rand des Probirröhrchens erreicht wird.

Die Finkler'schen Spirillen charakterisiren sich auch hier durch ihre höchst energische Verflüssigung der Gelatine. Schon in 24 St. ist eine dicke mit Flüssigkeit erfüllte Röhre gebildet, die an der Oberfläche sich bis zum Glasrande erweitert. Demnächst verwandelt sich der ganze obere Abschnitt der Gelatine in eine flüssige Masse; darunter ist das Ende der Röhre sackartig erweitert. Die Flüssigkeit ist diffus getrübt.

Die Käsespirillen zeigen auch im Probirröhrchen ein den Choleraspirillen ähnlicheres Verhalten; frühe Stadien der Käsespirillen sind von etwas späteren Stadien der Choleraspirillen oft schwer zu unterscheiden, zumal auch der Luftraum im oberen Theil des Trichters sich einstellt. Doch zeigen die Käsespirillen gewöhnlich eine etwas weitere Röhre, die sich an der Oberfläche nur um wenig schneller verbreitert als in der Tiefe, und eine trübere Flüssigkeit. Später ist die Unterscheidung, auf Grund der energischeren Verflüssigung der Gelatine durch die Käsespirillen, relativ leicht.

b. Agar-Agar (Fleischinfus-Peptou mit 1 proc. Agar). Alle drei Spirillenarten wachsen oberflächlich und im Impfstich ohne Verflüssigung des Nährsubstrats und ohne charakteristische Differenzen erkennen zu lassen. Die Finkler'schen und die Käsespirillen verwandeln bei geringerem Agargehalt die Umgebung des Impfstichs in einen dicklichen Brei.

c. Erstarrtes Blutserum. Alle 3 Spirillenarten verflüssigen das Substrat energisch; keine auffällige Differenzen.

d. Gekochte Kartoffelscheiben. Choleraspirillen wachsen bei einer Temperatur unter 30—32° überhaupt nicht; bei 35—37° bilden sie eine dunkelbraune, breiige Masse auf der Oberfläche.

Finkler'sche Spirillen wachsen schon bei 18° üppig und bedecken die Kartoffelfläche mit einem dicken hellgraugelben Ueberzug, der sich am Rande mit weisslicher Farbe gegen die intacte Fläche der Kartoffel absetzt.

Die Käsespirillen wachsen auf Kartoffeln überhaupt nicht, weder bei 20°, noch bei 37°; wenigstens blieben die Kartoffeln stets, selbst nach 4—5 Tagen völlig unverändert.

### III. Infectionsversuche an Thieren.

Es wurden einstweilen nur Meerschweinchen zu diesen Versuchen benutzt, weil diese Thiere sich nach den Mittheilungen von Nicati und Rietsch und von Koch zu Infectionsversuchen mit Cholera besonders gut eignen. — Aus einer grösseren Zucht von Meerschweinchen wurden 6 gesunde Thiere ausgewählt, und von diesen 2 mit Finkler'schen, 2 mit Käsespirillen, 2 mit Choleraspirillen inficirt. Die Culturen wurden auf Grund der von den oben genannten Autoren gemachten Beobachtungen direct in das Duodenum eingespritzt.

Die Operation wurde bei allen Thieren unter antiseptischen Cautelen ausgeführt. Das aufgebundene Thier wurde mit einem Bogen sterilisirten Guttaperchapapiers bedeckt, das nur über der Operationsstelle eine Oeffnung hatte: die Bauchhaut wurde mit Sublimatlösung abgewaschen, und diese mit vorher gekochtem Wasser entfernt; Instrumente, Schwämme, Watte, Nähseide etc. waren unmittelbar vorher im Dampfsterilisiert. Der Schnitt wurde in der Lin. alba vom Proc. xiphoid. etwa 2 cm nach abwärts geführt. Nach Eröffnung des Bauchfells pflegt man sehr leicht das Pylorusende des Magens und durch Verfolgen des letzteren dem Ansatz des Netzes entlang das Duodenum zu finden. Während ein Assistent mittelst Pincette das Duodenum vorsichtig fixirte, füllte ich eine Pravazsche Spritze mit der betreffenden Culturflüssigkeit, stach die Spritze vorsichtig in der Längsrichtung des Darms ein und injicirte dann langsam den ganzen Spritzeninhalt. Das Duodenum wurde dann in die Bauchhöhle reponirt, die Wunde durch dichte Näthe vereinigt und das Thier ohne besonderen Verband in einen gereinigten Käfig gesetzt.

Finkler'sche Spirillen. Meerschweinchen 1. Injicirt wurde 1 ccm einer 8 Tage alten verflüssigten Cultur mit etwa  $\frac{1}{3}$  Wasser verdünnt. Nach 6 Stunden Temperatur im Rectum 36,0°; nach 21 Stunden 37,3°, nach 30 Stunden 37,4°, nach 48 Stunden 36,8°. Stuhlgang völlig normal. Vom 2. Tage an Fresslust und völliges Wohlbefinden.

Meerschweinchen 2. Injicirt 1 ccm einer 2 Tage alten Cultur mit  $\frac{1}{3}$  Kochsalzlösung vermischt. Temperaturen, Stuhlgang und Fresslust halten sich völlig normal.

Käsespirillen. Meerschweinchen 1. Injicirt 1 ccm einer 9 Tage alten verflüssigten Cultur, unverdünnt. Bei der Injection fliessen einige Tropfen in die Bauchhöhle. Temperaturen: 37,4°; 38,2°; 38,3°. Stuhlgang und Fresslust normal.

Meerschweinchen 2. Injection von 1 ccm einer 3 Tage alten Cultur. Befinden normal.

Die Beobachtung dieser Thiere wurde 8 Tage fortgesetzt, ohne dass sich irgend etwas Abnormes wahrnehmen liess.

Choleraspirillen. Meerschweinchen 1; kleines schwächliches Thier. Von einer 2 Tage alten Cultur wird mittelst Kochsalzlösung eine solche Verdünnung hergestellt, dass in 1 ccm (der injicirten Menge) nur ein Tropfen der verflüssigten Cultur enthalten ist. Bei der Injection fliessen einige Tropfen in die Bauchhöhle. — Das Thier stirbt bereits Abends etwa 6 Stunden nach der Operation. Im Darm fanden sich Spirillen in grosser Menge; eine Cultur und Orientirung über die Zahl derselben wurde indess nicht versucht, da die Dauer der Krankheit zu kurz und das Experiment deshalb nicht hinreichend beweiskräftig war.

Meerschweinchen 2. Die Hälfte der obigen Menge (=  $\frac{1}{2}$  Tropfen der Cultur) injicirt. Am anderen Morgen todt. Bei der Section ist

namentlich Hyperämie der Darmschleimhaut, Auftreibung der Därme durch zahlreiche Gasblasen, breiiger Inhalt des Dickdarms und leeres Rectum zu constatiren. Aus dem unteren Theile des Dünnarms und aus dem Dickdarm wird je ein kleines Schleimflockchen isolirt, in Nährgelatine geschüttelt und diese in den üblichen 3 Verdünnungen auf Platten ausgegossen. Bei den Versuchen ergaben sich noch in dritter Verdünnung ausserordentlich zahlreiche Colonien von Choleraspirillen, so dass eine sehr energische Vermehrung der injicirten Spirillen im Darm stattgefunden haben muss.

Fortgesetzte Untersuchungen, die sich des weiteren namentlich auch auf die Einwirkung des Austrocknens sowie auf die etwaige Bildung von Dauerformen zu erstrecken haben, werden demnächst die Charakteristik der drei Spirillenarten vervollständigen. — Einstweilen erschien mir die schon jetzt festgestellte Thatsache von Interesse, dass eine Gruppe von im Ganzen wenig verbreiteten Spirillen existirt, bei denen die jüngeren Individuen die Form von schwach gekrümmten Bacillen haben, welche demnächst aber durch Aueinanderlagerung vollständige Spirillen bilden. Zu dieser Gruppe gehören verschiedene distincte Arten, von denen bis jetzt die Choleraspirillen, die Finkler'schen Spirillen und die Käsespirillen bekannt sind. Jede dieser Arten ist morphologisch sehr schwierig und nur bei genauester Beobachtung mit besten Mikroskopen charakterisierbar; weit leichter gelingt aber ihre Differenzirung mittelst der Cultur. Unterscheidende Nährböden liefert hier die Nährgelatine und die Kartoffel; erstere wird von den Choleraspirillen langsam, von den Käsespirillen rascher, von den Finkler'schen Spirillen mit grösster Energie verflüssigt; letztere wird von den Finkler'schen Spirillen sehr leicht und schon bei niedriger Temperatur occupirt, von den Choleraspirillen langsam und nur bei höherer Temperatur, von den Käsespirillen gar nicht. — Auf's schärfste unterscheiden sich endlich die Choleraspirillen von den beiden verwandten Arten durch ihr Verhalten im Thierkörper; während erstere bei Meerschweinchen vom Darm aus eine heftige zum Tode führende Infection veranlassen, bewirken die Finkler'schen und die Käsespirillen selbst in grössten Mengen gar keine Reaction seitens des Darms. Beide sind offenbar harmlose Saprophyten, die weder zur Cholera asiatica noch zur Cholera nostras in irgend welcher Beziehung stehen.