

**Zur Kenntnis der anaeroben Spaltpilze
und deren Differentialdiagnose**
nebst einem Bestimmungsschlüssel in 2 Tabellen.

Von

Dr. E. v. Hibler

Privatdozenten und I. Assistenten am Institut f. patholog. Anatomie.

(Mitteilung aus dem patholog.-anatomischen Institut zu Innsbruck
nach einem Vortrag in der Sitzung des Naturwissenschaftlich-
medizinischen Vereines vom 2. März 1909.

Geehrte Versammlung!

In Ansehung der beschränkten Zeit, die mir für die Besprechung meines Themas zur Verfügung steht, kann ich natürlich darüber nur unvollständiges vorbringen; ich muß mich darauf beschränken, die wichtigsten Eigentümlichkeiten der anaeroben Spaltpilze, ihre gewöhnlichen Lebensbedingungen, ihre Wirkungen, das Verfahren ihrer Züchtung und die Mittel zu ihrer Unterscheidung in Kürze zu kennzeichnen.

Zuvor einige einleitende Worte.

Es handelt sich bei den Spaltpilzen um jene niederen, chlorophyllfreien, pflanzlichen Organismen, die sich durch Teilung ihrer mikroskopisch kleinen Individuen vermehren, ob sie nun die Form von Stäbchen, von fadenartigen Verbänden solcher Stäbchen oder die Form von kugeligen Gebilden besitzen. Meine heutigen speziellen Ausführungen beziehen sich hauptsächlich auf stäbchenförmige Spaltpilze, Bakterien oder Bazillen im engeren Sinne des Wortes.

Alle Spaltpilze, ob es sich um Bakterien oder um Kokken handelt, sind bekanntlich in ihren Individuen nicht anders als mit dem Mikroskope nachweisbar. Nur wo sie in Massen auftreten, können wir ihrer auch mit freiem Auge gewahr werden oder doch an ihre Anwesenheit durch besondere Erscheinungen gemahnt werden. Die

ist z. B. der Fall, wenn sie Anhäufungen in Form häutiger Schichten und Überzüge oder schleimiger Belege bilden, wenn sie Milch zur Gerinnung bringen oder durch Farbstoffezeugung Blauwerden von Milch, Rotwerden von Oblaten oder Grünwerden von Eiter veranlassen. Demonstration!

Die Spaltpilze, die derartige Verfärbungen an den organischen Substraten, auf denen sie gedeihen, hervorrufen, zählen fast durchweg zu denen, welche die Luft, d. h. den Sauerstoff der atmosphärischen Luft, zu ihrem Leben unumgänglich benötigen.

Nun gibt es aber auch Spaltpilze, die den Sauerstoff bei ihrem Leben nicht nur entbehren können, sondern für die die Gegenwart von Sauerstoff bzw. Luft geradezu schädlich wirkt, ja deren Entwicklung durch Sauerstoff völlig verhindert wird. Sie wachsen nur dort, wo Sauerstoff fehlt oder doch in äußerst herabgesetzter Spannung sich befindet. Man nennt diese Spaltpilze daher anaerobe, im Gegensatze zu den andern, den aeroben, die am besten bei ungehindertem Luftzutritt, also bei hoher Sauerstoffspannung gedeihen. Die ersteren bilden den eigentlichen Gegenstand meiner weiteren Erörterungen.

Im Gegensatze zu den aeroben, verraten die anaeroben Bakterien ihre Ansiedlung in Nährsubstraten nicht durch Häutchenbildung an deren Oberfläche, sie entwickeln sich vielmehr hauptsächlich nur in der Tiefe der von ihnen befallenen organischen Substanzen. Demonstration! Ihre Entwicklung in denselben macht sich häufig durch das Auftreten von Gas oder durch die Bildung von Riechstoffen in auffälliger Weise bemerkbar. Es bewirken die Anaeroben zum Teil faulige Zersetzungen der organischen Substanzen; die verbreitetsten und wichtigsten Fäulniserreger sind anaerobe Spaltpilze.

Sie erregen aber auch Gärungen nicht fauliger Natur und bringen dann hauptsächlich Fettsäuren zur Entwicklung, die sich durch einen molkig-sauren oder entsprechend

anderartigen Geruch zu erkennen geben. Dabei kann die Gasbildung ein solches Maß erreichen, daß z. B. Flüssigkeiten sogar ins Schäumen geraten. Demonstration! Tatsächlich hat das Stadium der Ursachen solcher Veränderungen organischer Flüssigkeiten zur Entdeckung und zu unseren ersten Kenntnissen über die anaeroben Bakterien geführt.

Die erste Mitteilung, daß es Organismen gibt, die ohne freien Sauerstoff zu leben vermögen, stammt von Pasteur und findet sich in einer französischen Akademieschrift aus dem Jahre 1861. Es handelte sich hiebei um einen anaeroben Erreger von Buttersäuregärung, dem Pasteur die Bezeichnung *Vibrion butyrique* gab. Welche von den jetzt bekannten Anaerobenarten, die Buttersäure erzeugen, Pasteur damals vor sich hatte, läßt sich wohl nicht entscheiden, da die betreffenden Mikroben ihm nicht in Reinkulturen vorlagen, ja es ist sogar unwahrscheinlich, daß es sich um eine einheitliche Spezies gehandelt hat.

Ehe ich noch andere Anaeroben anführe, auf die man bereits vor längerer Zeit schon aufmerksam wurde, sei hier erläuternd eingeschaltet, daß die fortgesetzte Forschung auf dem Gebiete der Spaltpilze überhaupt immer mehr zur Kenntnis geführt hat, daß es zahlreiche Arten von Spaltpilzen gibt, nicht nur unter den aeroben, sondern auch unter den anaeroben.

Am frühesten kam man natürlich zur Kenntnis des großen Reichtums an verschiedenen Arten im Gebiete der aeroben Spaltpilze, da ihre Züchtung und demgemäß die Verfolgung ihrer Eigentümlichkeiten viel leichter durchzuführen ist, als die Züchtung und nähere Verfolgung der anaeroben Bakterien. Um das Gesagte zu belegen sei darauf hingewiesen, daß z. B. in der systematischen Zusammenstellung der Bakterien von Migula etwa 1300 Spaltpilzarten verzeichnet sind und daß unter diesen (343 Kokken, 302 Bakterien, 452 Bazillen und 170 Spirillaceen)

kaum 30—40 Arten von Anaeroben unterschieden werden, alle andern sind aerobe.

Die gesicherte Unterscheidung von Spaltpilzarten ist, wie aus den gegebenen Andeutungen bereits entnommen werden kann, nur möglich auf Grund ausgedehnter Studien, mittels des Mikroskopes und mittels des Kulturverfahrens, bei welchen eben die Verschiedenartigkeit der Eigenschaften der einzelnen Arten erst hervortritt und zum Vorschein kommt. Durch die Verbindung sorgfältiger morphologischer und biologischer Untersuchungen hat sich auf dem Gebiete der Spaltpilze die Konstanz der Arten sicherstellen lassen. Nirgends als bei den so artenreichen Spaltpilzen ist die Trennung und Unterscheidung der Spezies größeren Schwierigkeiten ausgesetzt, nirgends kommt es infolge der Kleinheit und Formähnlichkeit der Individuen so leicht wie hier zu Täuschungen. Über alle solche Täuschungen hinweg hat sich jedoch immer mehr die Überzeugung durchgerungen, daß die Spaltpilze zwar wohl bei gewissen Abänderungen ihrer Lebensbedingungen auch zeitweilige Abänderungen dieser oder jener ihrer Eigentümlichkeiten erleiden, bzw. darbieten können, daß sie aber keine andauernde, fortvererbare, eingreifende Umwandlung ihrer Eigenschaften erfahren. Über den Begriff der zeitweiligen Variabilität hinausgehende Umänderungen ließen sich nicht nachweisen. Diese Tatsache ergab sich auch beim Studium derjenigen Bakterienarten, die für uns Mediziner das größte Interesse haben, da sie uns als Krankheitserreger beschäftigen. Auch auf dem Gebiete der pathogenen Spaltpilze hat sich die Konstanz der Arten bewahrheitet.

Um mich in diesen einleitenden Worten nicht zu weit von meinem engeren Thema zu entfernen, beschränke ich mich nur noch auf die Bemerkung, daß zur Unterscheidung der pathogenen Bakterienarten bloß morphologische und kulturell-biologische Studien nicht ausreichen. Es genügt häufig für Artbestimmung nicht, daß man unter

Zuhilfenahme der so wichtigen Isolierungsmethoden, die wir vor allem R. Koch verdanken (1881), Reinkulturen aus isolierten Kolonien züchtet und dann die Eigentümlichkeiten der betreffenden Reinkulturen unter den verschiedensten Bedingungen und Verhältnissen studiert und feststellt. Es wird überdies erforderlich, daß durch Tierversuche, sowie durch anatomische und mikroskopische Untersuchung der Krankheitsbezirke infizierter Tiere die spezifischen Besonderheiten der betreffenden Bakterienarten ermittelt und beachtet werden.

Unter Erfüllung aller dieser Anforderungen ist es der Pathologie im Laufe der letzten Jahrzehnte gelungen, auf dem Gebiete der Infektionskrankheiten weitgehende Kenntnisse zu gewinnen und Unterscheidungen zu treffen. Für eine große Anzahl von Krankheiten hat es sich hierbei herausgestellt, daß sie durch gewisse Arten aerober Bakterien verursacht werden. Einige der besonders bekannten und wichtigen Infektionskrankheiten, die durch aerobe Spaltpilze verursacht werden, sind z. B. gewisse mit Eiterung einhergehende Entzündungsformen, ferner die Pyämie und Septikämie, die berüchtigten spezifischen Prozesse der Tuberkulose, des Rotzes, des Milzbrandes, der Lepra, die durch Hervortreten allgemeiner Giftwirkungen ausgezeichneten Krankheiten der Diphtherie, der Cholera u. s. w.

Eine nicht geringe Anzahl sehr schwerer, tödlicher Infektionserkrankungen ist aber nicht durch aerobe, sondern durch anaerobe Bakterien verursacht. Allmählich, im Laufe der letzten Jahrzehnte, hat sich auch dies ergeben. Die Schwierigkeiten, die der Reinzüchtung und eingehenden Untersuchung anaerober Bakterien und ihrer Differentialdiagnose sich entgegenstellen, sind Schuld daran, daß auf dem Gebiete der durch sie verursachten Infektionserkrankungen langsamere und geringere Fortschritte gemacht wurden.

Als die erste näher studierte pathogene Anaerobentart ist der Rauschbrandbazillus anzuführen. In diesem

anaeroben Spaltpilz erkannten im Jahre 1875 als die ersten Feser und Bollinger den Erreger des Rauschbrandes, das ist jener Krankheit, die unter Auftreten von gashältigen und hämorrhagischen Ödemanschwellungen manchen Wiederkäuern sehr gefährlich wird, insbesondere z. B. den Rindern unserer Alpen. Die Kenntnis des Rauschbrandbazillus wurde in der Folge namentlich durch eingehende Studien französischer Untersucher (Arloing, Cornevin und Thomas 1879—1887) gefördert, weiters durch Ehlers (1884), Kitasato, dem 1889 zum erstenmale die methodisch einwandfreie Isolierung dieses Anaeroben durch Kolonienentwicklung gelang, ferner durch Sanfelice (1893), Kitt u. a.

Im Jahre 1877 lernten Pasteur und Joubert gelegentlich ihrer Untersuchungen über den Milzbrand einen neuen pathogenen Anaeroben kennen, den sie *Vibrio septique* nannten. Mit diesem Anaeroben identifizierten später R. Koch und Gaffky (1881) einen von ihnen gleichfalls bei Studien über den Milzbrand gefundenen pathogenen Anaeroben. Er erwies sich ihnen als Erreger einer eigenen Krankheit, der sie den Namen „malignes Oedem“ beileigten, weil die mit dieser Anaerobenart infizierten Tiere unter Ausbildung von ausgebreiteten Oedemen, namentlich im Unterhautzellgewebe, zu Grunde gingen. Man hat erst später erkannt, daß diese Krankheit bei gewissen Huftieren bisweilen spontan auftritt, vornehmlich bei Pferden und Maultieren, aber auch bei Rindern. So züchteten z. B. W. u. R. Hesse (1885) aus der Gewebeflüssigkeit von Pferden, die unter den Erscheinungen von malignem Oedem verendet waren, denselben Anaeroben, den schon Pasteur, R. Koch und Gaffky beschrieben. Ebendenselben glauben Ghon und Sachs in einem Gasbrandfalle beim Menschen neuerlich (1903) wiedergefunden zu haben.

Ich weise ferner auf die schon lange bekannte Tatsache hin, daß der Tetanus, jene als Wundstarrkrampf

bekannte, Menschen wie Tieren gleich gefährliche Krankheit, durch Infektion mit einem anaeroben Spaltpilz bedingt ist. Der betreffende Mikrobe, der Tetanusbazillus, wurde 1885 zum erstenmale von Nicolaier, in Flügge's Laboratorium, gesehen und auch gezüchtet. Später wurden Reinzüchtungen des Tetanusbazillus hauptsächlich von Kitasato und von Tizzoni und Cattani durchgeführt (1889).

Angeregt durch die Entdeckung des Rauschbrandbazillus, des *Bac. oedematis maligni* und des Tetanusbazillus beschäftigten sich dann einzelne Forscher systematisch mit dem Aufsuchen anaerober Bakterien, so Liborius (1886), Lüdritz (1889), Ogata (1892), Sanfelice (1892). Sie lernten bei diesen Studien mehrere neue nichtpathogene und auch einzelne pathogene Arten kennen, wie z. B. Liborius den *Bazillus pseudoödematis*, d. h. den Erreger einer dem malignem Oedem ähnlichen Erkrankung. Gelegentlich einer Brechdurchfall-Epidemie in London, im Jahre 1891, fand E. Klein in den Dejekten der Kranken einen sporenbildenden Anaeroben, den er deshalb *Bac. enteritidis sporogenes* nannte.

Von einem der verbreitetsten Anaeroben erhielten wir erst im Jahre 1892 durch Eugen Fränkel Kenntnis. Es ist dies eine Anaerobenart, die unter den verschiedensten Verhältnissen in den Tier- und Menschenleichen angetroffen wird, insbesondere fast nie im Darminhalt fehlt und meist durch Gasbildung sich besonders auffällig macht, worauf namentlich Welch und Nuttal (1892), Paul Ernst (1893) und Göbel (1895) hingewiesen haben. Es handelt sich um eine Anaerobenart, die auch am Lebenden — namentlich in der Umgebung verletzter Teile — emphysematöse und brandige Veränderungen herbeizuführen vermag. Eugen Fränkel, der diesen Anaeroben zuerst als pathogen erkannt und als den Erreger einer Art von Gasphlegmone beschrieben hat, gab ihm den Namen *Bac phlegmones emphysematosae*. Später wurde er von vielen

Untersuchern wiedergefunden und namentlich von Hitschmann und Lindenthal (1899), Schattenfroh und Graßberger (1903), Stolz (1904), Kamen (1904) näher studiert.

1894 fand Novy einen neuen anaeroben Spaltpilz, der eine Krankheit hervorruft, die große Ähnlichkeit mit dem malignem Oedem besitzt. In neuester Zeit haben Veillon und Zuber, Rist und besonders A. Ghon neue pathogene Anaeroben beschrieben, die sie bei Mittelohr- eiterungen und bei Hirnhautentzündungen vorfanden.

Ich habe hiemit eine der wichtigsten pathogenen Anaeroben angeführt, die bisher näher erforscht sind. Nicht zu vergessen wäre noch gewisser Arten, die sich als Ursachen der Wurst- und Fleischvergiftungen berüchtigt gemacht haben. In dieser Beziehung ist hauptsächlich der *Bac. botulinus* zu nennen, dessen Kenntniss wir besonders van Ermengem (1897) und Römer (1900) verdanken.

Die hier sich anreihenden, als Erreger der Eiweißfäulnis wichtigen Anaeroben stellen in ihrer Mannigfaltigkeit ein ganz besonders schwieriges Arbeitsgebiet für sich dar. Bei ihrer großen Verbreitung erschweren sie nicht selten die Differentialdiagnose, sofern sie sich an Infektionsstellen in Gemeinschaft mit pathogenen Anaeroben vorfinden, wie das so häufig vorkommt.

Aus diesen Andeutungen ist schon zu entnehmen, daß nur auf einem zweckbewußten und planmäßig geordneten Untersuchungswege zum Ziele zutreffender Erkenntnisse gelangt werden kann. Es müssen hiebei alle Eigentümlichkeiten der Form, des Lebens und der Wirkungen der betreffenden Arten der Untersuchung zu Grunde gelegt werden. Es soll nun die Aufgabe meiner weiteren Erörterungen sein, diesen Untersuchungsweg in großen Zügen zu skizzieren.

Ich will hiebei zunächst erwähnen, welche Mittel seit Beginn der Erforschung der anaeroben Bakterien zu ihrer Züchtung und zu ihrer Beobachtung angewendet wurden. Man hat anfänglich die Züchtung der anaeroben Spaltpilze nur in Gemeinschaft mit aeroben Bakterien durchgeführt, so Pasteur 1861.

Auch versuchte man durch Auflegen von Glimmer- oder Glasplatten auf die Kultursubstrate oder durch Überschichten derselben mit Öl bzw. Paraffin die Luft von ihnen fernzuhalten. Prazmowski erzielte 1880 unter Anwendung großer Kolben oder Glaszylinder dadurch Wachstum der Anaeroben, daß er diese Kulturgefäße mit den Kulturflüssigkeiten nahezu vollfüllte und durch Auskochen luftfrei machte und hierauf die Anaerobenkeime in sie einimpfte.

In der Folge ging man daran, mittels Verdrängung der Luft durch indifferente Gase auf noch vollkommenere Weise anaerobe Bedingungen in den Kulturen herzustellen. Hiebei kamen hauptsächlich Wasserstoff- und Kohlensäuregas zur Verwendung. Zur Gewinnung dieser Gase benützte man Apparate und Gefäße, wie sie in chemischen Laboratorien, z. B. als sogenannte Kipp'sche Apparate, gebräuchlich sind. Ich habe zwei solche hier aufgestellt. In dem einen wird durch Zusammenbringen von verdünnter Schwefelsäure und Zink Wasserstoffgas entwickelt, im andern durch Zusammenbringen von verdünnter Salpetersäure mit Marmorstückchen Kohlensäuregas erzeugt.

Um mittels dieser Gase sauerstofffreie Atmosphären in den Kulturgefäßen, bzw. um die Nährsubstrate herum, erzeugen und dauernd erhalten zu können, wurden verschiedene Einrichtungen erdnen und Apparate verwendet Plattenkulturen, wie sie bei Durchführung des Koch'schen Isolierungsverfahrens hergestellt werden, setzt man meist in einen Apparat, den Botkin angegeben hat. Ich weise Ihnen hier einen solchen vor. Es handelt sich dabei um eine luftdicht abschließbare Kammer, die leicht

herstellbar ist, indem man zwei genügend geräumige Glaspöfe mit ihren Mündungen ineinanderstürzt und den Spalt zwischen dem Boden des aufrechten und dem Mündungsrand des umgestülpten Gefäßes durch flüssiges Paraffin zum Abschluß bringt. Das Wasserstoffgas leitet man mittels eines U-förmigen Glasröhrchens, das um den Rand des umgestülpten Gefäßes herumgeführt wird, in die Kammer ein. Sobald das Gas mit genügendem Druck einströmt, entweicht die Luft von selbst durch die Paraffinschicht. Gegen den Gasdruck im Innern der Kammer muß das umgestülpte Gefäß durch Auflegen eines Bleiringes standfest gemacht werden. Das Gasdurchleitungsrohr behütet man durch eine Unterlage, als welche ein Kautschukring oder ein Bleikreuz dienen kann, gegen den aufgelasteten Druck. Demonstration!

Kamen hat eine Art von Platten erdacht und konstruieren lassen, bei denen direkt, ohne Zuhilfenahme eines solchen Nebenapparates, eine Wasserstoffatmosphäre über dem Nährsubstrat hergestellt werden kann. Diese Platten bieten den Vorteil, daß sie in allen Entwicklungsphasen der Beobachtung ohne Schwierigkeit zugänglich sind. Bei den Kulturschalen von Kamen ermöglicht eine aufgeschliffene Deckplatte entweder den hermetischen Abschluß ihres Binnenraumes, oder bei entsprechender Lagerung ihrer beiden Durchbohrungslücken über die beiden Rinnen am innern Randteil der Grundschale, die Herstellung zweier Öffnungen, die zur Durchleitung des Wasserstoffgases benützt werden. Demonstration!

Nach demselben Prinzip, aber in anderer technischer Ausführung, hatten schon früher C. Fränkel und v. Esmarck Röhrenkulturen mit Wasserstoffatmosphäre eingerichtet. Sie versahen ihre Kultureprouvetten unter Zuhilfenahme von durchbohrten Kautschukstopfen mit Zu- und Ableitungsröhrchen aus Glas und schlossen nach der Gasdurchleitung den Eprouvettenbinnenraum durch Ab-

schmelzen der Gasdurchleitungs-Röhrchen ab. Demonstration!

Ein anderes sehr nahe liegendes Mittel zur Schaffung anaerober Bedingungen war die Anwendung der Luftpumpe, durch die sich ja ein großer Teil der atmosphärischen Luft aus hermetisch abschließenden Gefäßen beseitigen läßt. Es können dann die Kulturen bezw. die evakuierten Gefäße in den Brutschrank gebracht werden, wodurch die erforderlichen Bedingungen für die Entwicklung der anaeroben Bakterien gegeben sind. Dieses bei alledem mit mancherlei Mißständen verknüpfte Verfahren wurde hauptsächlich für Röhrchenkulturen mit flüssigen Nährböden benützt und von Gruber empfohlen.

Zu erwähnen ist ferner noch eine Methode, die vielfach in Gebrauch steht und von Buchner erdacht ist. Dabei wird dadurch eine sauerstofffreie Atmosphäre um die Kultursubstrate geschaffen, daß man der Luft innerhalb der Kulturgefäße durch stark reduzierte Substanzen den Sauerstoff entzieht. Zu dem Zwecke benützt man nach den Angaben Buchner's Pyrogallussäure, indem man solche unter Anwendung geeigneter röhriger Gefäße mit 10%iger Kalilauge zusammenbringt und zwar innerhalb des Kulturraumes und unmittelbar vor Abschluß desselben. Demonstration!

Alle diese Verfahren können natürlich nur dann zur Isolierung der Mikroben führen, wenn dabei die zuerst von Koch eingeführten festen Nährböden in Anwendung gebracht werden. Die Isolierung der Keime, diese erste Aufgabe jeder auf Artbestimmung abzielenden bakteriologischen Untersuchung, wird erreicht, indem man das zu untersuchende Bakterien-gemisch verschieden weitgehend verdünnt und in verflüssigte Nährsubstrate verteilt, die zu erstarren fähig sind. Die Verteilung der Keime kann auch durch Verstreichen der Bakteriengemische auf der Oberfläche bereits erstarrter Nährböden erfolgen. Das

Starrwerden bezw. Starrsein der Nährsubstrate bewirkt die dauernde Fixierung der Keime an den Stellen, an die sie bei der Verteilung geraten sind. Dasselbst vermehrt sich dann, unter günstigen Ernährungs- und Temperaturbedingungen, jeder entwicklungsfähige Keim und erzeugt allmählich eine solche Anzahl von Individuen, daß diese als Massenansammlung in Form einer Kolonie sichtbar werden.

Ich will hier gleich bemerken, daß das Aussehen der Kolonien verschiedener Spaltpilze wenn auch nicht durchweg so doch in der Regel verschieden ist. Daraus ergeben sich für die Differentialdiagnose verwertbare Anhaltspunkte. Andererseits besteht aber der Wert und die Bedeutung der Kolonienzüchtung hauptsächlich darin, daß so isolierte Kolonien die Gewinnung von Reinkulturen einer Spaltpilzart in verlässlichster Weise vermitteln,

Wegen dieser zweifachen Bedeutung der Kolonien wurde auch auf dem Gebiete der Anaerobenforschung das Plattenverfahren in ausgedehntem Maße versucht, trotz der Schwierigkeiten, die sich seiner Durchführung unter anaeroben Bedingungen entgegenstellen. Es bestehen diese Schwierigkeiten, abgesehen vom großen Aufwand an Zeit und Mitteln, in mancherlei Unzukömmlichkeiten, die Mißerfolge bedingen können, namentlich aber darin, daß die Beobachtung durch die zur Sauerstoffabhaltung erforderlichen Gefäße sehr erschwert und behindert ist. Auf diese Schwierigkeiten kann ich hier nicht näher eingehen, sie haben mich aber veranlaßt, bei der Isolierung der anaeroben Spaltpilze ein anderes Verfahren anzuwenden, nämlich das Verfahren ihrer Züchtung in der Tiefe hoher Nährstoffschichten innerhalb gewöhnlicher Reagensröhrchen. Die Vorteile dieses Verfahrens konnte ich während der langen Zeit meiner Untersuchungen vielfach wahrnehmen und schätzen lernen. Ich will mein Verfahren im Folgenden kurz skizzieren.

Bei demselben kommen ganz wie beim Koch'schen Verfahren Agar- oder Gelatinenährböden (in gewöhnliche Eprouvetten gefüllt) zur Anwendung und es werden darin zum Zwecke der Koloniegewinnung die Keime des zu untersuchenden Bakteriengemisches ebenfalls in verschiedener Verdünnung verteilt. Jedoch gieße ich hierauf die besäten Agar- oder Gelatinenährböden nicht in flache Schalen bezw. auf Platten aus, wie es beim Koch'schen Verfahren geschieht, sondern ich lasse sie in den Reagensröhrchen erstarren.

Um den anaeroben Spaltpilzen in der Nährboden-substanz solcher Röhrchen die Entwicklung zu ermöglichen, befreie ich diese vorher — also vor ihrer Beschickung mit dem Bakterienmaterial — durch $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunden langes Kochen von dem in sie aus der Luft eingedrungenen Sauerstoff. Sogleich nach dem Auskochen stelle ich die Röhrchen mit dem Nährsubstrat in ein Wasserbad von 37—38° C., um sie auf diese Temperatur abzukühlen, was innerhalb weniger Minuten erfolgt. Hierauf trage ich ohne Verzug das Bakteriengemisch in das noch flüssige Nährsubstrat ein und trachte die Keime durch Umrühren, d. h. durch Hebe-, Senk- und Kreisbewegungen mit der Impfnadel, möglichst gleichmäßig darin zu verteilen. Um das flüssige Nährsubstrat alsbald zur Erstarrung zu bringen, setze ich die Röhrchen nun sogleich in ein Kaltwasserbad.

Bei diesem Vorgehen bleiben die Agar- und Gelatine-nährböden nahezu frei von Sauerstoff, da der Luft zu wenig Zeit zum Eindringen gewährt wird und auch die anfänglich hohe Temperatur der Kultursubstrate dem hinderlich ist. Später dringt in diese Nährböden allerdings Luft ein, jedoch infolge der festen und dichten Beschaffenheit der Agar- bezw. Gelatinesubstanz nur sehr langsam und bloß im Bereiche der obersten Schichten; der Zutritt zu den tieferen Schichten bleibt der Luft durch die Glaswände der Röhrchen verwehrt und auch zum Vordringen

in die mittleren Schichten braucht die Luft meist mehrere Tage, jedenfalls so viel Zeit, daß bei Brüttemperatur inzwischen die Keime der anaeroben Spaltpilze in den tiefen Schichten ungestört sich entwickeln und Kolonien bilden können. Demonstration!

Daß der Luftzutritt zu den tiefen Schichten solcher Kulturröhrchen gehemmt ist, läßt sich übrigens auf chemischem Wege leicht nachweisen, indem man dem Agar bezw. der Gelatine einen küpebildenden Farbstoff zusetzt, wie z. B. Methylenblau oder Lakmus. Unter diesen Umständen zeigt sich, daß der beim Kochen der Nährsubstrate infolge Reduktionswirkung unsichtbar gewordene Farbstoff in der Folge bloß in den obersten Schichten, soweit eben die Luft eindringt, erneuert wird, d. h. verküpt. Demonstration!

Wie beim Koch'schen Verfahren, so gewinnt man natürlich auch bei den geschilderten Reinkulturen dadurch, daß man von den Kolonien Keimmateriale entnimmt und auf neue Nährsubstrate überträgt. Beim Koch'schen Plattenverfahren läßt sich von den frei zugänglichen Kolonien mittels gewöhnlicher Platinimpfnadeln leicht Materiale gewinnen, bei meinem Verfahren, bei dem die Kolonien in der Tiefe der Nährsubstrate liegen, sind jedoch hiezu Glaskapillarröhrchen erforderlich. Ich führe behufs Materialgewinnung eine Glaskapillare gegen die betreffende Kolonie vor, sauge davon etwas Material auf und ziehe die Kapillare dann entlang dem Einstichkanal wieder zurück.

Um das Eintreten des Kolonienmateriales in die Kapillare zu begünstigen, erwärme ich sie nötigenfalls am hervorragenden Ende mittels einer bereitstehenden Bunsenflamme und schmelze darauf die Mündung der Kapillare zu. Auf diese Weise wird in der Kapillare eine Verminderung des Luftinhaltes erreicht, deren Saugwirkung beim Abkühlen des erwärmten und hierauf zugeschmolzenen Kapillarstückes sich noch besonders steigert.

Zurückkehrend zu meinem Thema erübrigt jetzt noch hervorzuheben, daß auch durch Auswahl gewisser Nährböden günstige Bedingungen für die Züchtung anaerober Spaltpilze geschaffen werden können. Es sind speziell die hochzusammengesetzten organischen Substanzen des Tierkörpers — tierische Flüssigkeiten, ferner Organ- oder Gewebstücke des Tierkörpers sowie auch der Pflanzen — geeignet, das Wachstum der Anaeroben in besonderem Maße zu fördern. Dies mag zum Teil darauf beruhen, daß den Spaltpilzen in diesen Nährsubstraten alle Nährstoffe in genügendem Ausmaße und in besonders leicht assimilierbarer Form dargeboten werden. Andererseits kommt in Betracht, daß infolge der sich in solchen Nährsubstraten abspielenden Reduktionsvorgänge die Anaeroben in ganz besonderer Weise vor der schädlichen Einwirkung des Sauerstoffes der Luft geschützt bleiben. Auf diese Reduktionswirkungen komme ich alsbald noch zurück.

Für die Isolierung der Arten ganz besonders belangreich ist auch der Umstand, daß in manchen dieser Nährsubstrate gewisse Anaeroben spontan und schon frühzeitig mit ihnen zufällig zusammengeratene andere Arten überwuchern, und daß überhaupt in den späteren Kulturperioden die anaeroben Spaltpilze in der Regel über die aeroben die Vorherrschaft erlangen.

Die Benützung von Flüssigkeiten, von Organ- oder Gewebstücken des Tierkörpers bezw. auch von Pflanzen zur Anaerobenzüchtung gewährt schließlich auch noch den Vorteil, daß dabei die künstliche Schaffung anaerober Kulturbedingungen wegfallen kann, denn es wird den Anaeroben in solchen Nährsubstraten wegen ihrer Fähigkeit, den Sauerstoff zu binden, schon an und für sich das Wachstum ermöglicht.

Das Vermögen der Gewebe, den Sauerstoff zu binden, macht sich besonders in der ersten Zeit nach ihrer Entfernung aus dem Tierkörper geltend und läßt

sich leicht auch auf chemischem Wege nachweisen. Man braucht zu dem Ende nur ein tierisches oder pflanzliches Gewebstück in eine wässrige Lösung eines reduzierbaren d. h. küpebildenden Farbstoffes zu legen, wie z. B. in eine Methylenblaulösung. Es wird dann der betreffende Farbstoff durch die reduzierende Wirkung des eingelegten Gewebstückes nach einiger Zeit entfärbt. Dies zeigen Ihnen z. B. die dort aufgestellten Röhren, in denen etwa vor einer Stunde Hirnbrei mit Methylenblaulösung zusammengemischt wurde. Sie sehen, daß die unteren Schichten mit den Hirnbreiteilchen entfärbt sind im Gegensatz zu den oberen, die blaugefärbt blieben, weil sie infolge der Sedimentierung viel weniger reduzierend wirkende Hirnbreiteilchen enthalten und weil in sie aus der Luft beständig Sauerstoff eindringt.

Von der Eigenschaft der Gewebe, Sauerstoff aufzunehmen, sind wir besonders durch Pflüger und Ehrlich unterrichtet worden. Eine quantitative Bestimmung des Verhältnisses der Sauerstoffbindung verdankt man Bernstein.

Hervorzuheben ist hier auch noch, daß die tierischen Gewebe und Körperflüssigkeiten ihre Fähigkeit, Sauerstoff zu binden, auch nicht verlieren, wenn sie erwärmt, ja selbst nicht, wenn sie längere Zeit gekocht werden. Dieser Umstand ermöglicht eine leichte und bequeme Sterilisierung aller derartigen Nährsubstrate, er macht sie erst für die Anaerobenzüchtung besonders gut verwertbar und tauglich.

Ich darf hier nicht vergessen auch daran zu erinnern, daß die Gewebe im lebenden Organismus selbst ebenfalls in beträchtlicher Menge und begierig den Sauerstoff absorbieren, den ihnen das Blut zuführt. Dort wird dieser Vorgang als innere Atmung bezeichnet, im Gegensatz zur äußeren durch Lungen und Haut.

Aus den angeführten Tatsachen ergibt sich, daß überall dort, wo in Gewebs- oder Organteilen die Sauerstoff-

zufuhr durch Unterbrechung der Blutzirkulation abgeschnitten wird, infolge der Reduktionsvorgänge in den Geweben der freie Sauerstoff verschwindet und auf diese Weise anaerobe Verhältnisse geschaffen werden. In solchem Zustande befinden sich die Gewebe vornehmlich nach dem Tode, in den Leichen, aber auch während des Lebens der Individuen, wenn Gewebs- oder Organteile auf irgend eine Art unter die Bedingungen der Nekrose -- der sogenannten Brandveränderung -- versetzt werden. Dringen in derartige Gewebe Spaltpilze ein, so finden darin speziell die Anaeroben die günstigsten Entwicklungsbedingungen vor und können sich rasch vermehren.

Derartige Verhältnisse kommen, nebenbei bemerkt, vornehmlich dort zur Geltung, wo Verletzungen stattfinden und Gewebe dabei ertötet werden. Darin liegt die Gefahr von Zerreißen und Quetschungen der Weichgewebe, wenn zugleich Staubmassen oder Erde eindringen und sie dadurch infiziert werden. Denn im Staub und in der Erde sind immer Keime aerober und anaerober Bakterien in Menge vorhanden und zwar entweder im vegetativen oder im Sporen-zustande.

Ich komme damit auf die Verbreitung der anaeroben Bakterien in der Natur zu sprechen und bemerke, daß ihr Fortkommen daselbst hauptsächlich ermöglicht und begünstigt wird durch das gleichzeitige Vorhandensein von aeroben Bakterien, die an den Stätten ihrer Entwicklung den Sauerstoff verbrauchen und dadurch für die Entwicklung der anaeroben Bakterien die Bedingungen schaffen.

Von besonderem Belang für die Verbreitung der Anaeroben in der Natur ist ihr Vorkommen und begünstigtes Gedeihen im Darminhalt der Tiere und des Menschen. Im Darne spielen sich vorwiegend und in ausgedehntem Maße Reduktionsvorgänge ab und diese haben ein völliges Verschwinden des Sauerstoffes zur Folge. Wie die sorgfältigsten neueren Untersuchungen ergeben haben, läßt

sich Sauerstoff auch nicht mehr in Spuren im Kote nachweisen, ja selbst nicht im Inhalt des Dünndarmes. Bei langem Verweilen im Darne vermehren sich die anaeroben Spaltpilze natürlich reichlich und gehen vielfach auch in den Sporenzustand über.

Es ist hier wohl am Platze einige Worte über den Zustand der Sporenbildung der Spaltpilze einzufügen. Es handelt sich bei den Sporen, wie bekannt, um kleinste rundliche oder ellipsoidische Gebilde von auffällig starkem Glanze, die im Innern der vegetativen Zellen auftreten und daher auch des näheren als Endosporen bezeichnet werden. Ihrem Wesen nach sind die Sporen ruhende Keime, die sich besonders dadurch auszeichnen, daß ihnen ein weit höheres Widerstandsvermögen gegen schädliche Einwirkungen eigentümlich ist als den vegetativen Spaltpilzformen, bzw. -Zuständen. Auf diesem Umstande beruht es, daß die Anaeroben, indem sie z. B. in Sporenform aus dem Darmkanal entleert werden, überallhin verstreut werden können ohne in erheblichem Maße der Vernichtung zu verfallen und daß sie unter günstigen Bedingungen jeweils auskeimen und sich wiederum vermehren können.

So hätten wir jetzt einen Überblick über die natürlichen und über die künstlichen Bedingungen gewonnen, unter denen die Anaeroben gedeihen und vorkommen bzw. gezüchtet und untersucht werden können.

Gehen wir jetzt über zu den Mitteln, die zur Unterscheidung der verschiedenen Anaerobenarten führen, so finden wir solche in mannigfachen Eigentümlichkeiten ihrer Formverhältnisse, ihrer besonderen Lebenswirkungen und Lebenserscheinungen gegeben.

Eine Reihe von Merkmalen für die Unterscheidung der Anaeroben vermittelt uns die Betrachtung gewisser Eigentümlichkeiten der vegetativen Spaltpilzzellen und die Feststellung gewisser Eigentümlichkeiten ihrer Sporen; ferner ergeben sich solche hinsichtlich der Produktion von

Säuren oder von Alkalien, bezüglich des Vermögens Eiweißstoffe und Gelatine zu verflüssigen, zu peptonisieren, und hinsichtlich anderer Umstände, wodurch besonders an den Kulturen bedeutende Unterschiede zutage treten, je nachdem die einzelnen Arten in dem einen oder in dem andern Nährsubstrat gezüchtet werden.

Weiters kommt zum Zwecke der Unterscheidung der Anaeroben in Betracht ihr verschiedenes Verhalten hinsichtlich gewisser Entartungszustände und hinsichtlich der Erzeugung gewisser Stoffe, ich meine, je nachdem sie z. B. unter gewissen Umständen Granulose entwickeln, bzw. bei der Entartung ungewöhnliche Formen, Blähformen, annehmen oder nicht.

Ich kann natürlich in diesem Vortrage nur die einschneidendsten Merkmale aus der großen Summe von Verschiedenheiten herausgreifen; ich muß mich darauf beschränken, Ihnen bloß einige derselben in Projektionsbildern, bzw. an Präparaten vorzuführen und im Ubrigen auf die beiden Tabellen zu verweisen, die ich Ihnen hier vorgelegt habe.

Im Besonderen hebe ich bezüglich der Eigentümlichkeiten des vegetativen Zustandes der Anaeroben hervor, daß sehr wichtige Verschiedenheiten sich in betreff der Eigenbewegung der anaeroben Spaltpilze ergeben. Unter den von mir untersuchten pathogenen und nichtpathogenen Arten ermangelt nur eine einzige Art der Fähigkeit zur Eigenbewegung; nur die Stäbchen des *Bac. phlegmones emphysematosae* bringen keine Geißeln zur Entwicklung, während alle übrigen Arten solche unter Umständen bilden und mittels derselben Ortsveränderungen ausführen. Projektion von Diapositiv-Bildern!

Ein anderer Unterschied, der auch an den Vegetationsformen zutage tritt, ergibt sich hinsichtlich der Granulosebildung. Man versteht darunter das Auftreten einer unter Einwirkung von Jodjodkalilösung sich blau färbenden Substanz im Protoplasma, also im Innern der Spaltpilzzellen,

sobald sich die betreffenden Mikroben in kohlehydrathältigen Nährsubstraten entwickeln. In ganz besonderer Weise neigen zur Granulosebildung der *Bac. amylobacter* — d. i. einer der verbreitetsten Buttersäure-Gärungserreger — ferner der Rauschbrandbazillus und der Klein'sche *Bac. enteritidis sporogenes*. Dagegen ermangeln, selbst unter den verschiedensten Umständen, der Granulosebildung in der Regel die meisten eiweißfäulnisserregenden Anaerobenarten, außerdem aber auch der *Bac. phlegmon. emphysematosae*, der *Bac. Novy* und auch einzelne andere Arten.

Ähnliche Verschiedenheiten bestehen hinsichtlich der Bildung von Blähformen, d. h. bezüglich der Entstehung mißgestalteter Wuchsformen, die Spindel-, Bohnen-, Weberschiffchen- oder Zitronenform und nicht die typische Stäbchengestalt besitzen. Zur Bildung solcher Wuchsformen sind z. B. der Rauschbrandbazillus und der *Bac. amylobacter* besonders geneigt, während der *Bac. phlegmon. emphysem.* Blähformen nur ausnahmsweise, unter ganz bestimmten Bedingungen erzeugt. Projektion von Diapositiv-Bildern!

Eine diagnostische Bedeutung ist den Granulose- und Blähformenbefunden bei den einzelnen Arten jedoch wohl nur dann beizumessen, wenn dieselben in gewissen Nährsubstraten beobachtet, bzw. vermißt werden, wie z. B. in Milch-, in Kartoffel-, in Traubenzuckerserum- oder Traubenzuckertranssudatkulturen von bestimmtem Alkaligehalt.

An den vegetativen Zellen der pathogenen Anaerobenarten zeigt sich eine weitere Eigentümlichkeit im Tierexperiment und zwar insoferne, als nur die einen Arten an gewissen Stellen des Tierkörpers Fadenverbände bilden, die Stäbchen der anderen hingegen daselbst nur in Paaren oder einzeln vorkommen. Durch Bildung fädiger Verbände an den serösen Häuten, also an den Auskleidungen der Brust- und Bauchhöhle, sind ausgezeichnet der Ghon-

Sachs'sche Bazillus und der Bac. des malignen Oedems.
Projektion von Diapositiv-Bildern!

Damit hätte ich auf einige besondere Eigentümlichkeiten der Vegetationsformen der anaeroben Spaltpilze in Kürze hingewiesen.

Hervorragende Anhaltspunkte für die Unterscheidung der Anaerobenarten liefern ferner, wie bereits erwähnt, auch die Verschiedenheiten ihrer Kolonien in den Agar- und Gelatinekulturen.

In Hinsicht auf die Kolonienformen in Agarkulturen lassen sich die verschiedenartigen Anaeroben in zwei Gruppen sondern, je nachdem nämlich ihre Kolonien darin das Aussehen von Watteflöckchen, also von losen, zerschlissenen Gebilden darbieten, oder aber Linsen- bzw. Kugelgestalt zeigen und dabei geschlossen und glattrandig sind. Die letztere Gestalt und Beschaffenheit zeichnet im Gegensatz zu den Kolonien der übrigen Arten hauptsächlich jene des Rauschbrandbazillus, des Bac. phlegmones emphysematosae, des Klein'schen Enteritisbazillus und des Bac. der Art VI aus.

Nach dem Verhalten der Kolonien in Gelatine ergibt sich sogar eine Gliederung der Anaeroben in mehrere, nämlich in vier Gruppen. Büschelige oder watteflockartig-zerschlissene Kolonien bilden der Bac. der Art VII, der Bac. amylobacter sowie der Bac. der Art IX, hingegen kugelige mit radiär-strahligem Rande der Rauschbrandbazillus, der Ghon-Sachs'sche und der Novy'sche Bazillus sowie alle Arten, die Serum peptonisieren, bzw. den Hirnbrei schwärzen. Der Bac. phlegmones emphysematosae und der Klein'sche Enteritisbazillus sind beide durch kugelige, aber nicht radiär-strahlige, sondern glattrandige Kolonien im Geletinernährboden ausgezeichnet, jedoch bildet ersterer in den späteren Entwicklungsstadien strumpf- oder sackartige, letzterer kugelige, konzentrische Verflüssigungsräume. Glattbegrenzte, kugelige Kolonien, die zu keiner

Zeit die Gelatine verflüssigen, entwickelt nur der Bazillus der Art VI. Projektion von Diapositiv-Bildern!

Von den Eigentümlichkeiten, die sich auf den Sporenzustand beziehen, wäre anzuführen, daß manche Arten sehr leicht und unter den mannigfachsten Verhältnissen Sporen entwickeln, einzelne hingegen im allgemeinen selten und nur unter bestimmten Umständen. Zu letzteren zählen z. B. der *Bac. phlegmones emphysematosae*, der Novy'sche Bazillus und ein von mir näher studierter, wahrscheinlich früher auch von Tizzoni und Cattani beobachteter Anaerobe. Das ungleiche Verhalten der Sporen hinsichtlich ihrer Gestalt und ihrer Lage innerhalb der Bildungszellen bietet ebenfalls, namentlich unter gewissen Kulturbedingungen, hervorragende Anhaltspunkte für die Erkennung einzelner Arten dar. Projektion von Diapositiv-Bildern!

Ganz besonders belangreich ist aber für die Artunterscheidung der Anaeroben die sehr verschiedene Widerstandsfähigkeit ihrer Sporen gegenüber Hitzeeinwirkungen.

Es ist bekannt, daß die vegetativen Zellen der meisten Bakterien und so auch der Anaeroben schon in kurzer Zeit absterben, sobald sie Erwärmungen auf 56—60° C. ausgesetzt werden. Unter denselben Umständen gehen bekanntlich auch die tierischen und pflanzlichen Zellen zu Grunde, hauptsächlich wohl, weil bei dieser Temperatur das lebende Eiweiß gerinnt.

Im Gegensatze hiezu sind gegen die Einwirkung niederer Temperaturen, ja besonderer Kältegrade, die vegetativen Formen sehr wenig empfindlich und die Sporen fast vollends unempfindlich. Selbst Temperaturen von —180 bis 190° C., wie solche unter Anwendung flüssiger Luft erhalten werden, vermögen die Entwicklungsfähigkeit der vegetativen Bakterienzellen im allgemeinen nicht zu schädigen, ja kaum den Grad ihres pathogenen Ver-

mögens herabzusetzen. Wie ich nebenbei bemerke, wirkt verderblicher als einmaliges Gefrieren bei besagten tiefen Kältegraden wiederholtes Gefrieren und Wiederauftauen auf die vegetativen Spaltpilzzellen ein. — Die Sporen der von mir untersuchten Anaeroben auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber Hitzeeinwirkungen zu prüfen, mußte mir bei alledem versprechend erscheinen und zwar umso mehr, als ja überhaupt bisher nicht gerade sehr viel über die Hitzewiderstandsfähigkeit der Bakteriensporen bekannt geworden ist.

Zu den resistentesten Sporen zählten bis vor nicht gar langer Zeit jene des Milzbrandbazillus. Nach v. Es-march's Versuchen werden die ausdauerndsten Sorten von Milzbrandsporen durch 12 Minuten lang fortgesetztes Erhitzen in strömendem Wasserdampf noch nicht durchweg getötet, sondern erst nach 15 Minutem währendem Erhitzen. Von den Sporen der Tetanus-Bazillen weiß man seit den Versuchen von Ernst Levy und Hayo Bruns¹⁾, daß sie nicht nur $3\frac{1}{2}$ und 5, wie bereits Nicolaier und Flügge feststellten, sondern sogar 30, wenn schon nicht mehr 33 Minuten lang auf 100° C. erhitzt werden können, ohne ihre Keimfähigkeit zu verlieren. Ich selbst erhielt von Tetanussporen noch Kulturen, die ich 120 und sogar 150 Minuten lang innerhalb von Hirnbrei in gewöhnlichen Eprouvetten der Siedehitze ausgesetzt hatte. Eine ähnliche hohe Widerstandsfähigkeit legten bei meinen Versuchen hauptsächlich auch die Sporen

¹⁾ E. Levy und H. Bruns: Gelatine und Tetanus. Resistenzfähigkeit der Tetanussporen. Sterilisation der Gelatine (Mitteilungen aus den Grenzgebieten 1902 Bd. 10, S. 235). Diese Mitteilung ist mir leider erst nach Veröffentlichung meiner „Untersuchungen über die pathogenen Anaeroben etc.“ (Jena 1908) bekannt geworden. Ich nehme daher hier Gelegenheit, diese Mitteilung um so mehr hervorzuheben, als man sie aus dem angeführten Grunde in meinem Buche unter den einschlägigen Literaturangaben vermissen wird.

des Novy'schen Bazillus, des Bac. des malignen Oedems und des Klein'schen Kadaver-Bazillus an den Tag.

Es sind dies gewiß sehr auffällige Resistenzgrade, die aber doch, nebenbei bemerkt, gegenüber jenen gering erscheinen, die von den Sporen gewisser nichtpathogener Spaltpilze bekannt wurden. So stellte z. B. Globig fest, daß die Sporen des roten Kartoffel-Bazillus 5 $\frac{1}{2}$ — 6 Stunden der Einwirkung des strömenden Wasserdampfes widerstehen und Christen fand die Sporen eines nicht näher studierten Bazillus aus Erde nach 16stündigem Erhitzen in strömendem Wasserdampf noch keimfähig.

Diesen Tatsachen gegenüber ist es besonders wichtig, daß unter denselben Umständen die Sporen anderer Spaltpilze, sowohl aerober als anaerober, bereits schon nach 6—8 Minuten langem Einwirken von Siedehitze vernichtet werden, so z. B. die Sporen des Rauschbrandbazillus, des Ghon-Sachs'schen Bazillus und des Bac. amylobacter.

Aus dem Gesagten ist zu entnehmen, daß die so ungleiche Widerstandsfähigkeit der Sporen der Anaeroben nicht nur für die Artunterscheidung sichere Stützpunkte darbietet, sondern auch ein sehr bequemes Hilfsmittel zur Trennung der verschiedenen Arten an die Hand gibt. Es lassen sich durch das Erhitzungsverfahren besonders jene Arten leicht isolieren, deren Sporen eine sehr hohe Widerstandsfähigkeit besitzen.

Was die Säure- und Alkalibildung anlangt, so hat sich ergeben, daß bei den verschiedenartigen Anaeroben sehr auffällige Unterschiede bestehen. Ich habe gleich anfänglich bei meinen Studien schon in Erfahrung gebracht, daß diese Verschiedenheiten ganz besonders deutlich an Kulturen hervortreten, zu denen Hirnbrei als Nährsubstrat verwendet wird. Den Hirnbrei bevorzugte ich als Nährboden zwar wegen seiner wachstumbefördernden Wirkung an sich, mehr aber noch wegen seiner

ganz besonderen Eignung zum Nachweis von Säure- bzw. Alkalibildung. Es kündigt sich nämlich in diesem Nährsubstrate die Alkalibildung, soferne solche sich beim Wachstum eines Anaeroben einstellt, durch Schwarzwerden des Hirnbreies an, während bei Entwicklung säurebildender Anaeroben die ursprüngliche, grauweiße Farbe des Hirnbreies unverändert bleibt. Daraus ergibt sich natürlich für die Differentialdiagnose eine Förderung, da die Arten diesem Verhalten entsprechend in zwei Hauptgruppen gesondert werden können²⁾. Demonstration!

Weiters ist anzuführen, daß auch die Veränderungen der Milchkulturen wichtige Anhaltspunkte für die Unterscheidung der Anaeroben ergeben. An den Milchkulturen treten namentlich verschiedene Erscheinungen zu Tage, je nachdem sich darin ein Anaerobe entwickelt hat, der den Milchzucker zu vergären bzw. das Kasein zu peptonisieren vermag oder nicht. Darnach lassen sich wieder Gruppen von Arten unterscheiden. Demonstration!

Darauf kann ich wie auf vieles andere des näheren hier nicht eingehen. Ich erwähne nur noch, daß alle diese und noch andere hochzusammengesetzte Nährböden den Anaeroben das Wachstum gesatten, auch ohne daß dabei durch künstlich herbeigeführten Luftausschluß streng anaerobe Bedingungen geschaffen werden, wie Sie an den dort aufgestellten Hirnbrei-, Milch- und Kartoffelkulturen sehen können. Dies ist natürlich nur möglich infolge der schon erörterten Reduktionswirkungen, die in diesen

²⁾ Nebenbei sei darauf hingewiesen, daß sich dieser Teil meiner Methode immerhin bereits einige Anerkennung verschafft hat. Ich trage zu den einschlägigen Literaturangaben auf S. 109 im IV. Kapitel meines Buches „Über die pathogenen Anaeroben“ nach, daß auch in der neuesten (3.) Auflage des Lehrbuches der Bakteriologie von L. Heim (Stuttgart 1906) bei den Züchtungs- und Differenzierungsverfahren die Hirnbreikulturen angeführt sind (S. 145), was mir leider s. Z. entgangen ist.

Nährsubstraten bestehen. Aus Vorsicht entfernt man bei Einleitung der Kultur jedoch auch unter solchen Verhältnissen die Luft aus den Nährsubstraten durch Kochen, ehe man die Keime in sie einimpft.

Eine sehr wichtige Hilfe bei Unterscheidung der anaeroben Bakterien leistet natürlich auch das Tierexperiment, insoferne als ganz spezifische Krankheitserscheinungen bei der Einimpfung gewisser Arten zu Stande kommen. Auch führt das Tierexperiment zur Trennung der pathogenen von den nichtpathogenen Arten, insoferne letztere im Tierkörper verschwinden, weil sie unter der Einwirkung der Gewebsflüssigkeiten (bakteriziden Substanzen) und der weißen Blutzellen (Phagozyten) in ihrer Entwicklung gehemmt und auch vernichtet werden, hingegen die pathogenen Arten zur Vermehrung gelangen. Auf diesen Weg der Trennung der pathogenen von den nichtpathogenen Arten wird man besonders in manchen Fällen von Mischinfektionen verwiesen, bei denen man nach anaeroben Krankheitserregern zu forschen hat.

Unter Zuhilfenahme aller dieser Unterscheidungsmittel und -wege gewann ich auf dem Gebiete der anaeroben Spaltpilze im Laufe der Jahre ausgedehnte Erfahrungen und es ist mir dabei geglückt, zwei bisher nicht bekannte pathogene Arten zu finden und auch auf dem Gebiete der Saprophyten zwei unbekannt oder doch ganz ungenügend gekannte Arten zu isolieren. Auf diese, im ganzen 15 Arten, die ich untersucht habe, beziehen sich die beiden Tabellen, die ich hier zur näheren Erläuterung vorweise und auf denen die einzelnen Arten mit Namen bzw. mit Nummern verzeichnet sind.

In diesen Tabellen ist der Versuch gemacht, nach Art eines Bestimmungsschlüssels, die besonders entscheidenden und für die Differentildiagnose grundlegenden Eigentümlichkeiten der untersuchten Anaeroben zusammen-

zustellen. Auch sind in der einen der beiden Tabelle: die Verschiedenheiten berücksichtigt, die sich auf Grund der anatomischen und histologischen Befunde ergeben obgleich diese keine eigentlich entscheidenden diagnostischen Merkmale darbieten.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte des naturwissenschaftlichen-medizinischen Verein Innsbruck](#)

Jahr/Year: 1910

Band/Volume: [32](#)

Autor(en)/Author(s): Hibler E. von

Artikel/Article: [Zur Kenntnis der anaeroben Spaltpilze und deren Differenzialdiagnose nebst einem Bestimmungsschlüssel in 2 Tabellen. 1-29](#)