BEITRÄGE ZUR EXPERIMENTELLEN THERAPIE

HERAUSGEGEBEN VON GEH. MED.-RATH PROF. Dr. E. BEHRING.

HEFT I a

ÄTIOLOGIE UND THERAPIE

DER

STAPHYLOKOKKEN-INFECTIONEN

VON

Dr. W. von LINGELSHEIM

PRIVATDOCENT AN DER UNIVERSITÄT MARBURG.

AUS DEM INSTITUTE FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE
DES GEHEIMEN MED.-RATHES PROF. Dr. E. BEHRING IN MARBURG.

URBAN & SCHWARZENBERG

BERLIN
NW., DOROTHEENSTRASSE 38/39

WIEN
I., MAXIMILIANSTRASSE 4

1900.

Die „Beiträge zur experimentellen Therapie", herausgegeben von Geh. Med.-Rath Prof. Dr. E. Behring in Marburg, erscheinen in zwanglosen selbständigen Heften.

Aetiologie und Therapie der Staphylokokkeninfectionen.

Von Dr. **W. v. Lingelsheim.**

Einleitung.

Die Vorstellung, dass bei den schweren Formen der Wundkrankheiten eine besondere, von der Verletzung unabhängige Ursache wirken müsse, war schon den medicinischen Schriftstellern des Alterthums *(Hippokrates, Celsus)* geläufig. Ueber das Wesen dieser Ursache bestanden jedoch bis in das vorige Jahrhundert hinein, wo durch die Untersuchungen von *Pringle, Haller*, *Seybert* die Aufmerksamkeit auf die den Wundverlauf häufig begleitende Fäulniss gelenkt wurde, ganz unklare Vorstellungen. Im Sinne der genannten Forscher wurden in unserem Jahrhundert die Versuche fortgesetzt von *Gaspard* (5), *Leuret* (7), *Magendie* (6), *Stich* (10), *Virchow* (8). Das Ergebniss war, dass bei der Fäulniss giftige Stoffe entstehen, die ähnliche Krankheitserscheinungen beim Thier hervorrufen, wie wir sie bei vielen „septisch" erkrankten Menschen beobachten. Von *Panum* (11, 12) wurden dann später die Eigenschaften dieser Giftstoffe genauer bestimmt, von *Bergmann* und *Schmiedeberg* (13, 14) auch ihre Reindarstellung versucht. Kurz, es galt bis in die bakteriologische Aera hinein als ausgemacht, dass die „septischen" Processe als Intoxicationen mit Faulgift aufzufassen waren.

Aber nicht alle Formen von schweren Wundkrankheiten liessen sich auf solche Vergiftungen beziehen, vor allem die nicht, bei denen Faulprocesse an der Wunde nicht nachweisbar waren und das Krankheitsbild durch ausgedehnte Eiterherde in inneren Organen charakterisirt war. Diese Zustände wurden von *Piorry* (1840) auf die Aufnahme von Eiter in das Blut erklärt — Pyämie. *Virchow* wies die Unrichtigkeit dieser Vorstellung nach und gelangte dann selbst zur Aufstellung von zwei Formen der „Blutvergiftung"; die eine war die „putride Infection" (gleichbedeutend mit Septhämie), die sich *Virchow* entstanden dachte durch Aufnahme löslicher Giftstoffe in den Kreislauf. Die andere Form wurde durch die Ichorrhämie dargestellt, welche bedingt wurde durch einen bis dahin unbekannten Infectionsstoff (von vielleicht sauerer Natur), eben den „ἰχώρ". Die Ichorrhämie sollte ausgezeichnet sein durch die Neigung zu diffus ausgebreiteten Eiterungsprocessen (daher von *Virchow* auch Eitersucht genannt) und zu Entzündungen der serösen Häute. Ab-

getrennt wurden hiervon durch *Virchow* die infolge Importation „putrider“ Thromben entstandenen embolischen Processe, die früher unter die Pyämie rubricirt waren.

Eiterung an sich konnte nach der früheren Auffassung entstehen durch Reize traumatischer, thermischer oder chemischer Natur, wenn dieselben in genügender Stärke einwirkten, dabei mass man dem Eiter seinerseits auch wieder die Fähigkeit bei, unter Umständen entzündungserregend wirken zu können. Es gab so einen gutartigen und einen bösartigen Eiter.

So war die Auffassung der Dinge, als die ersten Mittheilungen über mikroskopische Befunde von Bakterien in den Leichen „Pyämischer“ und „Septischer“ in die Oeffentlichkeit drangen. *Koch* nennt als ersten Forscher, der über solche Beobachtungen berichtet, *Rindfleisch*. In dessen Lehrbuche der pathologischen Gewebelehre aus dem Jahre 1866 lesen wir, dass in dem Herzmuskel einer an Pyämie verstorbenen Person stecknadelkopfgrosse Herde sich befunden haben, in deren Inhalt reichlich Vibrionen*) nachweisbar waren. Von da ab begegnen wir in der pathologisch-anatomischen Literatur, besonders vom Beginne der Siebziger Jahre ab, häufiger Angaben über das Vorkommen von Bakterien bei Wundkrankheiten. So fand *v. Recklinghausen* (16) in den Nieren Pyämischer kugelige Bakterien (von ihm Mikrokokken genannt), die sich durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen Essigsäure und Natronlauge von anderen körnigen Bildungen auszeichneten. *Waldeyer* (17) fand Mikrokokken in den miliaren Abscessen des Herzmuskels und der Nieren Pyämischer, sowie in den peritonealen Exsudaten bei Puerperalfieber. *Heiberg* und *Orth* (18) fanden Kokken in Nieren, Lungen, Herzmuskel beim Puerperalfieber, *Birch-Hirschfeld* (19) constatirte sie im Wundeiter etc. etc.

Von den hier kurz skizzirten Beobachtungen jedoch bis zu der Erkenntniss, dass in diesen zunächst nur mikroskopisch nachgewiesenen Lebewesen auch die Ursache der betreffenden Erkrankungen zu suchen sei, erwies sich der Weg noch ziemlich weit. Handelte es sich doch zunächst nur um vereinzelte, keineswegs regelmässige und überall anerkannte Befunde, deren Bedeutung für die Aetiologie nur erst von ganz wenigen Autoren ernsthaft discutirt wurde. Unter denen, die in dieser Periode mit Energie und Geschick den mikroparasitären Charakter der Wundkrankheiten vertreten haben, ragt vor allem *Klebs* hervor, welcher den Mechanismus des Infectionsvorganges mit solcher Schärfe erkannt und bis in das Kleinste verfolgt hat, dass die von ihm vor nunmehr fast 30 Jahren vertretenen Anschauungen in den Hauptsachen sich noch mit den unserigen decken. Wir finden die Untersuchungen von *Klebs* in vielen Arbeiten von ihm und seinen Schülern aus dem Anfange der 70er Jahre niedergelegt; in besonders klarer Form auch in seiner Monographie „Beiträge zur pathologischen Anatomie der Schusswunden“.

Für *Klebs* gehören schon ausser der Jauchung auch die Granulationsbildung und Eiterung zu den Wundkrankheiten. Für eine Abtrennung der „septicämischen“ von den metastasenbildenden „pyämi-

---

*) In dem *Billroth-Pitha*'schen Lehrbuche aus dem Jahre 1863 berichtet schon *O. Weber* über das Vorhandensein von Vibrionen im Eiter.

schen" Processen sieht er keinen Grund; beide gehören ätiologisch zusammen, sind Folgen desselben mykotischen Processes. Der Eiter selbst hat keine anderen als mechanische Wirkungen; ob er infectiös wirkt oder nicht, hängt davon ab, ob er bakterienhaltig oder nicht bakterienhaltig ist. Träger der Wundinfection ist das von ihm so benannte Mikrosporon septicum, das er als aus feinsten 0·5 μ dicken glänzenden Kügelchen bestehend beschreibt, die bald zu Haufen (Zoogloea), bald einzeln oder in Rosenkränzen gelagert im Eiter und den erkrankten Gewebspartieen vorkommen.

Beachtung verdienen vor allem aber dann seine Bemerkungen über die Methodik, vermittels der die ätiologische Bedeutung der Bakterien erwiesen werden müsse. Dieselben decken sich in den Hauptsachen schon mit dem, was *Koch* später in seiner Arbeit über die Wundinfectionskrankheiten ausführt. „Was die Methode betrifft," sagt *Klebs* (pag. 105 des schon citirten Werkes), „durch welche die Bedeutung dieses Parasiten (scil. Mikrosporon septicum) als eiter- und fiebererregende Ursache nachgewiesen wird, so muss dieselbe eine doppelte sein, und zwar eine anatomische und eine physiologische. Lässt sich durch die erstere, natürlich auf mikroskopischer Untersuchung beruhende, der Weg Schritt für Schritt nachweisen, auf welchem der Parasit in den Körper seines Trägers eindringt, sich in demselben weiter entwickelt und nun weitere pathologische Veränderungen hervorruft, so ist schon durch diese Aufeinanderfolge der Erscheinungen, durch ihr gegenseitiges, zeitliches und örtliches Verhältniss der causale Zusammenhang des parasitären und pathischen Processes sehr wahrscheinlich gemacht; das eigentliche Experimentum crucis liefert aber erst der physiologische Versuch, welcher gestattet, die wirkenden Ursachen zu isoliren und gesondert auf den Organismus wirken zu lassen." Was diesen letzteren Weg betrifft, so konnte damals das Experiment keine richtigen Resultate liefern, weil noch keine geeigneten Reinculturmethoden gefunden waren, und was *Klebs* als solche hinstellte, hat einer strengeren Kritik nicht standgehalten. Was aber auf mikroskopisch-anatomischem Wege zu beweisen möglich war, hat *Klebs* bewiesen, und dies trotz der Mangelhaftigkeit der damaligen Färbemethoden und optischen Instrumente. Er verfolgt mikroskopisch die Wanderung der Kokken durch die Spalten des Bindegewebes, die sich unter Nekrose der permanenten Zellen und Auswanderung von leukocytären Elementen aus den Gefässen vollzieht. Er weist weiter nach, wie aus der Localinfection die Allgemeininfection hervorgeht, indem die Mikrosporen die Gefässwände durchdringen, Gerinnungen verursachen und dann mit dem Thrombus verschleppt werden, um an anderer Stelle einen neuen Process, eine Metastase, ins Werk zu setzen.

Diese kurzen Bemerkungen mögen für die Erläuterung seiner Methodik genügen; hier seien nur noch kurz drei Sätze aus einer anderen Arbeit (21) angeführt, die sozusagen sein wissenschaftliches Glaubensbekenntniss auf diesem Gebiete enthalten: „1. Die infectiösen Wundkrankheiten werden durch parasitäre Pilze, das Mikrosporon septicum, erzeugt, welches sowohl bei den mit Eiterung einhergehenden, sogenannten pyämischen, wie bei den rein septischen Formen vorkommt. Die Unterscheidung zwischen Pyämie und Septicämie muss fallen gelassen werden.

2. Diese Pilzbildungen zerstören local die Gewebe, erregen Eiterung und dringen in die Lymph- und Gefässbahnen ein, sie sind Ursache secundärer, herdweiser oder diffuser Entzündungen.

3. Bei der Entwicklung des Mikrosporon septicum entsteht eine fiebererregende, in die Ernährungsflüssigkeit diffundirende Substanz; fortdauerndes Fieber wird durch die fortdauernde Importation dieser Substanz bei Anwesenheit der Pilze im Organismus erzeugt."

Soweit *Klebs*. Nur wenige fanden sich zunächst, die seinen Lehren und den sich daraus ergebenden Folgerungen Gehör schenkten. Zu diesen wenigen, die offen seinen Standpunkt, wenigstens in den Hauptsachen theilten, gehört *Hüter*, der der wirksamen Vertretung dieser Anschauungen einen grossen Theil seines im Jahre 1873 erschienenen Handbuches der allgemeinen Chirurgie (24) gewidmet hat. Wir sehen hieraus, dass auch *Hüter* schon mit Sicherheit im Eiter die verschiedenen Kokken — die er „Monaden" nennt — nachweisen konnte. Aber auch ihre ätiologische Bedeutung wusste er voll zu würdigen. „Die Monaden", sagt er, „sind die wichtigsten entzündungserregenden Irritamente"; und weiter auf der folgenden Seite: „Die Entzündung ist eine Epidemie ohne zeitlich eingeschränkte Dauer, welche ungefähr über die ganze Erde verbreitet ist." Dass er seine Monaden auch vielfach mit der Fäulniss wieder in Zusammenhang bringt, erscheint bei dem damaligen Stande der Kenntnisse, namentlich in Rücksicht auf die von botanischer Seite vertretene Polymorphie der Bakterien, nicht verwunderlich.

Wesentlich anderen Anschauungen über die Ursache und das Wesen der Wundkrankheiten begegnen wir ziemlich zu derselben Zeit in dem *Billroth*'schen Werke „Die Coccobacteria septica" (25). Hier treten uns die Anschauungen der wissenschaftlichen Kreise jener Zeit entgegen, die auf Grund der Erfolge der antiseptischen Wundbehandlung zwar geneigt sind, den Bakterien eine Bedeutung für den Wundverlauf beizulegen, aber doch nur in dem Sinne, dass dieselben in den schon vorhandenen Entzündungsproducten faulige Processe erregen. Wie sich *Billroth* speciell die Rolle der Bakterien bei der Wundinfection dachte, mag aus folgender Bemerkung (pag. 154 des citirten Werkes) hervorgehen: „Aus dem acut entzündeten Bindegewebe wird dem Eiter ein fermentähnlicher „zymoider" Stoff zugeführt, welcher eine Zersetzung in ihm einleitet; wir wollen es einmal als phlogistisches Zymoid bezeichnen. Hierdurch wird der wenig für Mikrokokkus-Entwicklung geeignete Eiter ein besonders guter Nährboden für denselben, wobei ich dahingestellt sein lasse, ob dieses Zymoid als solches von Mikrokokkus assimilirt wird, oder ob es im Eiter wiederum eine Zersetzung einleitet, von der der Mikrokokkus lebt." Es bedarf hiernach also für die Wucherung des Mikrokokkus noch besonderer Vorgänge im Gewebe, was pag. 163 nochmals in den Worten ausgedrückt wird: „Die ersten Zersetzungsvorgänge und das Auftreten von Mikrokokkus-Vegetationen im Eiter einer rein gehaltenen, vor Infection geschützten Wunde sind das Resultat eigenthümlicher acuter Entzündungsprocesse." Traten nun in einem Eiter die für die Kokkenvegetation geeigneten Verhältnisse ein und kam es zu einer solchen, so trat die für die Wunde unerwünschte Complication der „Eiterzersetzung" ein; ein solcher Eiter wirkte stärker „phlogogen" auf die Umgebung der Wunde, er wirkte ätzend, fressend (pag. 160) — ein Uebelstand, der sich namentlich bei Retention des Eiters

bemerkbar machen sollte. Im Grunde genommen haben wir es also hier mit den älteren Vorstellungen über die Resorption von Faulstoffen zu thun, die nur insoweit modificirt waren, als an Stelle der unbelebten Faulgifte belebte Fäulnisserreger traten.

Auch *Pasteur* hat in diesen Jahren noch keine feste Stellung gegenüber den Wundkrankheiten eingenommen. Speciell hinsichtlich der Eiterung ist er der Meinung, dass sie durch rein mechanisch wirkende Agentien, Leinwand, Kohle etc. hervorgerufen werden könnte. Im Jahre 1878 beschreibt er dann im Verein mit *Joubert* und *Chamberland* (La théorie des germes et ses applications à la Médecine et à la Chirurgie) ein Bakterium, das bei Thieren Eiterungen hervorrufen könnte. Er züchtete dasselbe aus dem Leitungswasser seines Laboratoriums in Form kleiner „Würstchen" und bezeichnet es als Vibrion pyogénique oder l'organisme du pus. Später cultivirte er dieselbe Art auch aus den peritonitischen Exsudaten bei Puerperalfieber. Was *Pasteur* hier vor sich gehabt hat, ist schwer zu sagen; wahrscheinlich sind es aber wohl Diplokokkenformen von Staphylokokken oder Streptokokken gewesen. In einer Mittheilung (27) aus dem Jahre 1880 begegnen wir aber Angaben, die erkennen lassen, dass *Pasteur* hier den Staphylokokkus pyogenes nicht nur vor sich gehabt, sondern auch als besondere Art erkannt und seine Bedeutung als Ursache der Eiterung voll gewürdigt hat. Es handelt sich hier um Züchtungsversuche mit Furunkeleiter in Nährbouillon. Hierbei wurden getrübte Culturen erhalten, die einen einzigen Organismus enthielten: „formé de petits points sphériques, réunis par couples de deux grains, rarement de quatre, mais fréquemment associés en amas." Ueber die ätiologische Bedeutung dieser Organismen äussert er sich schliesslich folgendermassen: „en résumé, il paraît certain que tout furoncle renferme un parasite microscopique aérobie et que c'est à lui que sont dues l'inflammation locale et la formation du pus, qui en est la conséquence." Dieselbe Art von Kokken findet *Pasteur* dann auch im Eiter bei Osteomyelitis. Er hält dieselben für wesentlich verschieden von den in Ketten auftretenden Kokken, die er bei Puerperalfieber in einer Reihe von Fällen vorgefunden und anscheinend auch rein gezüchtet hat. Beiläufig sei bemerkt, dass er diesen Kettenkokken keine eitererregenden Eigenschaften zuschreibt.

Die bald nach den *Pasteur*'schen Mittheilungen erschienene Arbeit von *Doléris* (28) über das Puerperalfieber bringt keine neue Gesichtspunkte. *Doléris* scheint meist Streptokokken vor sich gehabt zu haben, bisweilen wohl auch in Mischcultur mit Staphylokokken.

In Deutschland war gegen Ende der Siebzigerjahre die Bakteriologie durch die Arbeiten *Koch's* in die Bahnen gelenkt, auf denen sie bald zu einem unentbehrlichen Theile der medicinischen Forschung emporstieg. Für die Lehre von den Wundkrankheiten speciell erwiesen sich die *Koch*'schen Arbeiten über die Wundinfectionskrankheiten der Thiere (29) als epochemachend. Die Bedeutung dieser Mittheilungen liegt zum Theil auf rein methodischem Gebiete (Einführung des Condensor, Empfehlung der basischen Anilinfarben zur Färbung*) etc.), in der

*) Die Kernfarbstoffe sind zuerst von *Weigert* für die Bakterienfärbung benutzt worden.

Hauptsache aber in der Kritik des bisher für die Aetiologie der Infectionskrankheiten zusammengetragenen Materiales und der hierauf begründeten präcisen Fassung der zukünftigen bakteriologischen Aufgaben. *Koch* weist gegenüber den vielfach recht vagen Angaben jener Periode darauf hin, dass man erst dann ein bei einem Krankheitsfalle gefundenes Bakterium als den Erreger der Krankheit anzusprechen das Recht habe, wenn es gelänge, dasselbe nun auch in allen Fällen der betreffenden Krankheit nachzuweisen, und zwar in solcher Menge und Vertheilung, „dass alle Krankheitserscheinungen dadurch ihre Erklärung finden". Diesem selben Ziele hatten wir früher auch schon *Klebs* nachgehen gesehen. *Koch* verlangt dann aber noch weiter, dass für jede einzelne Wundinfectionskrankheit ein wohl charakterisirter, für diese Infection specifischer Mikroorganismus als Erreger nachgewiesen werden müsse.

Auf dem Boden *Koch*'scher Methode und *Koch*'scher Anschauungen fussend ging dann *Ogston* (30, 31) an eine systematische Untersuchung des Abscesseiters. Hierbei wurden in dem Eiter von 69 heissen Abscessen jedesmal Kokken gefunden. Die Anordnung derselben war nicht in allen Abscessen die gleiche, indem in den einen die Kokken sich mehr kettenartig lagerten, während sie in anderen fischroggen- oder weintraubenähnliche Haufen bildeten. Dass es sich hier nicht um zufällige mikroskopische Befunde handelte, sondern dass die verschiedenen Formen wirklich verschiedenen Bakterienarten mit verschiedenem pathogenen Verhalten entsprachen, kommt dann in einer Arbeit aus dem Jahre 1882 deutlich zum Ausdruck (32). In dieser Arbeit, in der wir auch zuerst der Bezeichnung „Staphylokokken" für die in Häufchen wachsenden Kokken begegnen, finden sich die folgenden, auch heute noch in ihrer Richtigkeit durchaus anerkannten Bemerkungen: „Beide Formen (Staphylokokken wie Streptokokken) besitzen die Eigenschaft, Entzündung, welche mit Abscedirung endet, und Phlegmone hervorzurufen. Je mehr indes die Krankheit dem Typus des Erysipels sich nähert, je mehr sie sich in den Lymphbahnen concentrirt, desto evidenter wird ihr Zusammenhang mit Streptokokkus; während eitrige Entzündung, welche sich mehr über die Gewebe als auf die Lymphgefässe erstreckt, das charakteristische Ergebniss des Staphylokokkus zu sein scheint. Kurz: localisirte Phlegmone ist gewöhnlich Folge des Staphylokokkus und erysipelatoider Process Folge vom Streptokokkus." (Citirt nach *Rosenbach*.)

Durch die Einführung sicherer Reinculturmethoden unter Benutzung gelatinirender Nährböden war dann im Jahr 1880 durch *Koch* (33) ein weiterer wichtiger Fortschritt auf dem Gebiete der bakteriologischen Methodik geschaffen. Auf Grund derselben gelang dann ohne Schwierigkeit die Reincultivirung der beiden Hauptgruppen der Eitererreger, der Streptokokken und Staphylokokken, ziemlich gleichzeitig. Die erste Mittheilung von gelungener Reincultivirung der uns hier interessirenden Staphylokokken stammt von *Becker* (34), der einen in goldgelben Colonien wachsenden Kokkus aus Osteomyelitiseiter isolirte. Im folgenden Jahre brachten dann die *Rosenbach*'schen (35) Untersuchungen den Nachweis, dass wir bei den Staphylokokken zwei Formen zu unterscheiden haben, einen Staphylokokkus aureus und albus, von denen die erstere durch Production eines gold- oder orangefarbenen Pigmentes ausgezeichnet

ist. Bald darauf wurden von *Passet* (36) aus Abscesseiter noch ein anderer pigmentbildender Staphylokokkus isolirt, der Staphylokokkus citreus, sowie noch 2 Mikrokokkenformen, die er wegen ihrer morphologischen Aehnlichkeit mit den Staphylokokken als Staphylokokkus cereus albus und Staphylokokkus cereus flavus bezeichnete.

Mit der Reincultivirung der genannten Bakterien vollzog sich dann Hand in Hand auch in beweiskräftiger Form im Sinne der *Klebs*'schen und *Koch*'schen Postulate die Feststellung ihrer ätiologischen Bedeutung. Die Faulgifte, die „Zymoide" und was sonst die Speculation zur Erklärung der Wundkrankheiten herangezogen hatte, traten in den Hintergrund gegenüber den pyogenen Kokken, deren Fähigkeit zur Erzeugung aller Arten von Eiterung, von den leichtesten bis zu den schwersten Formen, sowie auch der meisten „septischen" Erkrankungen, bald zur allgemeinen Anerkennung gelangte.

Morphologie und Biologie der Staphylokokken.

Morphologisches Verhalten des Staphylokokkus pyogenes aureus, albus und citreus.

Die Staphylokokken gehören botanisch zu den Kokkaceen, und zwar zu der Unterabtheilung derselben, die mit beliebig wechselnder Theilungsfolge keine scharf ausgeprägten Wuchsformen zeigen. Von *Fischer* (Vorlesungen über Bakterien) werden diese Kokkaceen als Allokokkaceen bezeichnet. *Heim* (Lehrbuch der Bakteriologie) rechnet dieselben einfach zu den Mikrokokken. Unter diesen stellen dann also die Staphylokokken eine neue Unterabtheilung dar.

Ueber die Gestalt des Staphylokokkenkornes sind die Ansichten vielfach auseinandergegangen. *Pasteur* nennt sie kugelig (formé de petits points sphériques), *Ogston* rund oder oval, *Rosenbach* spricht wieder von reiner Kugelform, *Lübbert* von isodiametrischen Kokken. Der letzteren Bezeichnung begegnen wir auch meist in den bakteriologischen Lehrbüchern.

Dem gegenüber hat zuerst *Bumm* (38) darauf aufmerksam gemacht, dass es sich bei den Staphylokokken keineswegs um ganz sphärische Körperchen handelt, dass vielmehr das, was zunächst als Kugel imponirt, aus zwei annähernd halbkugeligen Segmenten besteht. Hiernach würden also die Staphylokokken echte Diplokokkenformen bilden, wie wir solche bei den Gonokokken für die Regel ansehen. Die *Bumm*'schen Beobachtungen wurden später von *Hadelich* (41), *Lübbert* (42), *Heydenreich* (43) und anderen bestätigt.

Um die Diplokokkenform zur Anschauung zu bringen, ist es in der That nur nöthig, den Farbstoff nicht zu intensiv einwirken zu lassen. Auch an den nicht fixirten lebenden Kokken gelingt es schon leicht nach Zusatz einer dünnen Methylenblaulösung, die Zweitheilung zu erkennen. *Hadelich* erzielte deutliche Bilder bei Staphylokokken aus Menschenserumcultur, wenn er die fixirten Objecte 2 Minuten mit Anilinwasserdiamantfuchsin färbte. *Heidenreich* hatte gute Resultate, wenn er der Färbung nach *Gram* eine kurze Behandlung mit $^1/_2$—$1\,^0/_0$iger Essigsäure vorausschickte. Meist reicht man jedoch mit Färbungen vermittelst dünner Methylenblaulösungen vollkommen aus. In so ange-

fertigten gelungenen Präparaten erweist sich dann der Kokkus aus zwei meist nicht ganz gleichen Halbkugeln bestehend, deren Grenze senkrecht zum grössten Durchmesser verläuft. Dass nicht alle Kokken in der Weise getheilt erscheinen, erklärt sich nach *Hadelich* aus ihrer Lage zur optischen Axe. Verläuft der Zwischenraum zwischen beiden Hälften senkrecht zur optischen Axe, also parallel zu der Fläche des Deckglases, so kann er nach einer einfachen Erwägung nicht sichtbar sein, man wird vielmehr auf eine Kugeloberfläche sehen müssen. Als wahrscheinlich muss es gelten, dass die beiden Segmente des Kokkus durch irgend eine Hülle, vielleicht eine Schleimhülle, zusammengehalten werden.

Die Korngrösse des einzelnen Kokkus ist nicht unter allen Umständen die gleiche. Von *Passet* (36), *Becker* (34), *Flügge* (Mikroorganismen) wird als Durchmesser angegeben 0,87 μ, von *Lübbert* 0,85 μ. *Hadelich* fand auf Grund von 23 Messungen als durchschnittliche Grösse 0,7 μ.*) Die weiteren Dimensionen sind nach *Hadelich* (festgestellt an Culturen des Staphylokokkus aureus) folgende: der grösste Durchmesser verhält sich zur Breite wie 11 : 9 bis 9 : 7; die Breite des Spaltes zwischen beiden Kokkenhälften beträgt $^2/_{15}$ des grössten Durchmessers.

Von Einfluss auf die Grösse scheint weniger die Herkunft als der Nährboden zu sein. Die flüssigen Nährböden liefern im allgemeinen grössere Formen als die festen. Besonders grosse Kokken fand *Hadelich* in Culturen auf Menschenserum. In älteren Culturen finden sich bisweilen erheblichere Grössenunterschiede zwischen den einzelnen Kokken. Es finden sich sowohl abnorm grosse, schlecht färbbare Formen, die wohl durch Involution unter Quellung entstanden zu denken sind, wie sehr kleine Kokken. Die letzteren sind wahrscheinlich jugendliche Kokken, die in ihrer Grösse durch die Ungunst des verbrauchten Nährbodens zurückgeblieben sind.

In ihrer Anordnung untereinander folgen die Staphylokokken keinen bestimmten Gesetzen. Man könnte nur sagen, dass sie sich dadurch vor vielen anderen Allokokkaceen oder Mikrokokken auszeichnen, dass die einzelnen Körner mehr Neigung zum Zusammenhalt unter einander zeigen. Wie sie aber dann zusammenliegen ist an keine bestimmte Regel gebunden. Wir sehen sie zu zweien, dreien, kurzen Kettchen, oder zu vieren tetragenusartig gelagert, oder in unregelmässigen Häufchen, in Weintrauben- oder Fischroggenform; daneben kommen auch einzelne Kokken vor. Wahrscheinlich hängt die Neigung zur gegenseitigen Haftung, zur Zooglöabildung, mit dem Vorhandensein einer Zwischensubstanz schleimiger Natur zusammen.

Die Staphylokokken färben sich leicht mit den basischen Anilinfarben. Gute Färbungen ergiebt auch noch Hämatoxylin. Bei der Behandlung nach *Gram* tritt keine Entfärbung der Kokken ein. Für den Nachweis der Staphylokokken in Schnitten erwiesen sich Modificationen der *Gram*'schen Methode als geeignet, namentlich die *Weigert*'sche und *Kühne*'sche Methode.

---

*) Das Volum des Coccus berechnet sich auf circa $\frac{1}{1.700,000.000}$ Cmm.

Culturelles Verhalten des Staphylokokkus pyogenes aureus albus und citreus.

Flüssige Nährböden bei Bruttemperatur.

Fleischwasserpeptonbouillon. (10—15 Ccm. Normallauge, Alkalescenz pro Liter.) Die Staphylokokken wachsen darin mit diffuser Trübung. Nur ausnahmsweise sah ich in jungen Culturen, die frisch aus dem Thierkörper gezüchtet waren, einen wolkigen Bodensatz bei klarem Aussehen der übrigen Nährflüssigkeit. Bei sehr hohem Gehalt der Bouillon an Alkali tritt auch meist Bodenwachsthum in Conglomeraten ein. Längeres Verweilen der Culturen bei Bruttemperatur führt zur Bildung von Oberflächenhäuten, die später untersinken und einen zähen Bodensatz bilden. Die drei Varietäten, der Staphylokokkus aureus, albus und citreus, sind zunächst nicht zu unterscheiden. Erst der nach längerem Stehen gebildete Bodensatz weist bei aureus und citreus das charakteristische Pigment auf. Die Reaction ist die ersten Tage sauer, geht aber nach 8—14 Tagen in eine deutlich alkalische über.

Milch. Dieselbe wird bei Bruttemperatur im Verlaufe einiger Tage zur Coagulation gebracht.

Blutserum. Im nicht erhitzten Serum ist die Staphylokokkenentwicklung die ersten 8—12 Stunden retardirt, nachher analog der auf Bouillon.

Feste Nährböden.

Fleischwasserpeptongelatine bei 15° C. Auf der Gelatineplatte sind nach 36—48 Stunden makroskopisch weisse Pünktchen nachweisbar. Bei mikroskopischer Betrachtung erscheinen die oberflächlich gelegenen als kreisrunde, gelbbraune, gewölbte Scheiben mit glattem Rande und schwacher Granulirung. Bei den tiefer gelegenen fehlt jede Zeichnung, das Colorit ist dunkler, die Gestalt rund oder wetzsteinförmig. Am 3. bis 4. Tage zeigt sich um die Colonien eine seichte Verflüssigungszone. Beim weiteren Fortschreiten derselben tritt dann häufig eine peripherische Lockerung der Colonie ein, dieselbe erscheint heller und unregelmässig schraffiert. Noch später schwimmen die Colonien in der total verflüssigten Gelatine.

Im Gelatinestich zeigt sich zunächst ein grauweisser, längs des Impfstiches verlaufender Flor. Das Wachsthum ist am stärksten am Einstich, wo sich bald eine linsenförmige Colonie bildet, in deren Umgebung die Gelatine verflüssigt wird. Bei Staphylokokkus aureus und citreus erscheint hier die Bakterienmasse häufig schon gefärbt. Bei weiterem Wachsthum schreitet die Verflüssigung schlauchartig um den Stichkanal fort. Nach Verlauf von 3—4 Wochen ist die Verflüssigung eine vollständige, die Bakterienmassen sind dann niedergesunken und bilden einen Bodensatz, der bei Staphylokokkus aureus tief orangegelb, bei dem citreus citronengelb, bei dem albus weiss gefärbt ist.

Fleischwasserpeptonagar bei Bruttemperatur. Nach 24stündigem Wachsthum erscheinen die oberflächlich gelegenen Colonien der drei Staphylokokken makroskopisch als stecknadelkopfgrosse, weisse Erhebungen. Die innerhalb des Agars gelegenen Colonien sind kleiner und von dunklerer Färbung. Bei mikroskopischer Betrachtung ist das Bild ganz ähnlich dem, welches die Gelatineplatte vor der Verflüssigung zeigt. Auf älteren (8 Tage alten) Platten treten dann deutlich die Unter-

schiede der drei Staphylokokken durch die Verschiedenartigkeit der Färbung hervor. Die Colonieen des Staphylokokkus aureus erscheinen orangegelb, die des citreus citronengelb und die des albus weiss. Die Pigmentirung schreitet von der Mitte nach dem Centrum vor und bei manchen Colonieen bleibt eine dünne Randzone ungefärbt *(Passet)*.

Auf schrägem Agar ausgestrichen, bilden die Staphylokokken längs des Impfstriches einen üppigen, zunächst grauweissen Rasen, der bei längerem Wachsthum am Rande rundliche Facetten zeigt. Nach einigen Tagen stellen sich auch hier die entsprechenden charakteristischen Pigmente ein. *Rosenbach* vergleicht das Aussehen der so gefärbten Ueberzüge mit farbigen Oelanstrichen.

Ganz ähnlich wie auf schräg erstarrtem Agar erscheint die Cultur auf schräg erstarrtem Serum, welches nicht verflüssigt wird, und auf der Kartoffelscheibe.

Biologisches Verhalten des Staphylokokkus pyogenes aureus, albus und citreus.

I. Bedingungen für ihre Entwicklung. Widerstandsfähigkeit gegenüber bakterienfeindlichen Agentien.

Die pyogenen Staphylokokken gehören zu den facultativen Anaëroben. Am üppigsten ist das Wachsthum bei ungehinderten Zutritt von Sauerstoff, es wird aber nicht völlig inhibirt, wenn derselbe durch Ueberschichten mit Oel abgeschnitten ist, oder wenn die Cultur unter einer Wasserstoffatmosphäre*) gehalten wird. Ist also überhaupt Sauerstoff zum Wachsthum der Staphylokokken erforderlich, so müssen jedenfalls schon Spuren davon hinreichend sein.

Hinsichtlich der Deckung seines Stickstoffbedarfes ist der Staphylokokkus wählerischer als manche andere krankmachende Bakterien. So erwiesen sich als hierfür ungeeignet die Ammoniakverbindungen, das Cyan und die Nitrate. Auch in Harnstofflösungen tritt kein Wachsthum ein. Als einfachste, eine Entwicklung ermöglichende Stickstoffsubstanz ermittelte *Lübbert* das Kreatin.

An Nährsalzen bedarf der Staphylokokkus nach *Nägeli*:

Dikaliumphosphat	0,1035%
Magnesiumsulphat	0,016 %
Kaliumsulphat	0,013 %
Chlorcalcium	0,0055%

oder

Dikaliumphosphat	0,1 %
Magnesiumsulphat	0,02%
Chlorcalcium	1,01%

Lübbert fand geeignet:

Magnesiumsulphat	0,1%
Kaliumphosphat	0,2%
Chlornatrium	0,1%

Das Optimum der Reaction für das Wachsthum der Staphylokokken liegt bei 5—15 Ccm. Normallauge pro Liter. Bei Vorhandensein

*) Unter einer CO_2 oder NO_2-Athmosphäre soll nach *Lübbert* keine Entwicklung stattfinden.

freier Säuren nimmt die Wachsthumsenergie schnell ab und hört — ziemlich unabhängig von dem Charakter der Säure — bei einem Gehalte von 30 Ccm. Normalsäure pro Liter auf. Ein Gleiches konnte ich früher auch von anderen Bakterien, so den Milzbrandbacillen, nachweisen. Einer Erhöhung des Alkaligehaltes des Nährbodens gegenüber verhalten sich die Staphylokokken, wie auch *Lübbert* schon hervorhob, viel indifferenter. Bis zu einem Gehalte von 50 Ccm. Normallauge pro Liter ist, namentlich bei reichlichem Gehalte von Zucker, das Wachsthum üppig. Es wird erst sistirt, wenn der Alkaligehalt pro Liter 250—350 *ccm*. Normallauge entspricht.

Das Temperaturoptimum liegt für den Staphylokokkus aureus nach *Lübbert* zwischen 34° und 38° C. Als unterste Grenze fand derselbe Autor + 6 C., als oberste 42° C., bei welcher Temperatur jedoch die Resultate schon wechselnde waren. *Rodet* gibt an, dass ihm von einem Staphylokokkus noch 16 Generationen zwischen 43° und 44° C. gelungen sein.

Die Staphylokokken zeigen eine beträchtliche Widerstandsfähigkeit gegenüber den verschiedensten schädigenden Momenten. Sehr lange (über 1 Jahr) halten sie sich in Agar- und namentlich in Gelatineculturen übertragungsfähig. In Gelatine scheint sich nach meiner Erfahrung auch die Virulenz über Monate zu conserviren. Eine besondere Lebensfähigkeit scheinen aber die Staphylokokken unter günstigen Verhältnissen im lebenden Körper entfalten zu können. Von *Netter* (44), *Krause, Müller, Lery* sind Fälle beobachtet worden, aus welchen man auf ein mehrjähriges Verweilen der Kokken im Körper schliessen muss. *Schnitzler* (45) will sogar ein Recidiv von Osteomyelitis, das 35 Jahre nach Ablauf der ersten Erkrankung auftrat, auf zurückgebliebene Kokken beziehen. Man wird in diesen Fällen annehmen müssen, dass die Kokken so im Gewebe eingeschlossen oder eingekapselt waren, dass sie einerseits den baktericiden Einflüssen des Körpers entrückt waren, anderseits aber die Bedingungen für eine vita minima vorfanden. Man könnte sich den Zustand dieser Kokken wohl ähnlich dem denken, welchen wir für die Bakterien durch den Einschluss in Collodium- und Schilfsäckchen schaffen. Bekanntlich kann man in diesen selbst sehr empfindliche Bakterien im Innern des Thierkörpers lange ungeschwächt conserviren, weil dieselben durch die Häutchenwand zwar Nährstoffe aufnehmen können, dem unmittelbaren Einfluss der Zellen aber entrückt sind.

Auch der directen Bestrahlung durch Sonnenlicht gegenüber scheinen die Staphylokokken nicht sehr empfindlich zu sein. Durch 10 Tage direct belichtete Culturen zeigten in den *Lübbert*'schen Versuchen in ihrem Wachsthum und sonstigem Verhalten keine deutlichen Unterschiede gegenüber Controlculturen.

Die Widerstandsfähigkeit gegenüber höheren Temperaturgraden prüfte ich in der Weise, dass ich je eine 24 Stunden alte Agarcultur in 10 Ccm. 0,6%iger Kochsalzlösung von einer bestimmten Temperatur (60, 70, 80, 90° C.) suspendirte und die Suspension dann 1 Stunde auf dieser Temperatur hielt. Nach 5, 10, 30, 60 Minuten wurden dann, nachdem durch Hin- und Herbewegen des Röhrchens die suspendirten Massen möglichst in der Flüssigkeit vertheilt waren, 3 grosse Oesen auf je 10 Ccm. Nährbouillon verimpft. Die so geimpften Röhrchen

kamen dann auf 3 Tage in den Brutschrank. Trat kein Wachsthum ein, so wurde Abtödtung angenommen. Zu Versuchen dieser Art wurden benutzt eine Cultur Staph. M. (3 Monate vorher aus einem Mammaabscess isolirt), Staph. M. II (frisch aus einem Mammaabscess isolirt), sowie Staph. K. 73 (ursprünglich aus einer Osteomyelitis stammend).

Die Resultate lassen sich aus folgender Tabelle erkennen (+ bedeutet, dass nach Abimpfung auf Bouillon noch Wachsthum eintrat, 0 dass solches ausblieb):

Bezeichnung des Staphylococcus	Temperatur 60° C. Dauer der Einwirkung:				Temperatur 70° C. Dauer der Einwirkung:				Temperatur 80° C. Dauer der Einwirkung:				Temperatur 90° C. Dauer der Einwirkung:			
	5. M.	15 M.	30 M.	60 M.	5 M.	15 M.	30 M.	60 M.	5 M.	15 M.	30 M.	60 M.	5 M.	15 M.	30 M.	60 M.
Staph. M. I .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0
Staph. K. 73 .	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Staph. M. II .	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Einstündige Erhitzung auf 60° hatte also bei keinem der drei Staphylokokken zur Abtödtung genügt. Auch bei 70° C. waren die Resultate noch nicht gleichmässig. Erst $^1/_4$stündige Einwirkung auf 80° C. hatte bei sämmtlichen Culturen genügt. *Lübbert* gibt dem gegenüber an, dass im feuchten Zustande schon einhalbstündige Erwärmung auf 50° C. hinreichte. Im angetrockneten Zustande erwiesen sich auch in den *Lübbert*'schen Versuchen die Kokken viel widerstandsfähiger Hier war einstündige Erwärmung auf 60° C. noch unwirksam, ja selbst kurz dauernde Erwärmung auf 100° C. Nach 10 Minuten langer Erwärmung auf 110° oder einstündiger auf 80° C. waren jedoch keine lebensfähigen Keime mehr nachweisbar. Ich möchte dem noch hinzufügen, dass auch im feuchten Zustande eine kurz dauernde Temperatur von 100° C., wie sie ein zwei- bis dreimaliges Aufkochen kleiner Mengen in Reagenzröhrchen darstellt, sehr häufig nicht zur Sterilisirung hinreicht.

II. Stoffwechselproducte, Fermente, Pigmentbildung.

An gasförmigen Producten bilden die Staphylokokken bei ihrem Wachsthum auf den verschiedensten Nährböden stets kleine Mengen von Kohlensäure sowie Ammoniak, letzteres allerdings nur in Spuren *(Lübbert)*. Ausserdem findet sich in allen von ihnen in Beschlag genommenen Nährböden eine Reihe saurer Producte, theils fixer, theils flüchtiger Natur. In Milchculturen fand *Lübbert* Milchsäure, Buttersäure und Ameisensäure. Die Säurebildung dürfte hier als die Ursache der Coagulation angesehen werden. Fast dieselben Producte fand der genannte Autor auch in Culturlösungen, die 0·1% Liebig's Fleischextract und Zucker enthielten. Es waren Buttersäure, Milchsäure, Spuren von Ameisensäure und Aethylalkohol nachweisbar.

Terni (49) fand in Culturen, die in Fleischwasser-Peptonbouillon mit einem Zusatz von Glycerin hergestellt waren, Milchsäure, Isobuttersäure, Valeriansäure und Propionsäure. Wurde statt Glycerin Glykose zugesetzt, so fanden sich hauptsächlich Milchsäure, Essigsäure und Valeriansäure. Nach *Emmerling* (50) soll sich in den Bouillonculturen auch Oxalsäure vorfinden.

Dieselben Säuren, mit Ausschluss der Milchsäure, bilden sich auch bei Cultivirung in genuinem Eiweiss unter Zusatz von Nährsalzen. Da die Stoffwechselproducte des Staphylokokkus auf einem solchen Nährboden wegen der Aehnlichkeit mit den Nährsubstanzen im Thierkörper ein grösseres Interesse darbieten, so seien kurz die Resultate von *Emmerling* hier angegeben, die dieser Autor bei Cultivirung des Staphylokokkus aureus in Eieralbumin gewonnen hat.

Emmerling verfuhr in der Weise, dass er Eieralbumin nach Zusatz von Nährsalzen und kohlensaurem Kalk mit dem Staphylokokkus inficirte und dann unter Wasserstoffatmosphäre der Bruttemperatur aussetzte. Nach vier Tagen entwickelten sich wenige, aber sehr übelriechende Gase. Nach 14 Tagen war eine dünne Flüssigkeit entstanden, welche beim Erwärmen eine starke Indolreaction gab. Im wässerigen Destillat konnten jetzt Phenol, Indol und Skatol nachgewiesen werden.

Von flüchtigen Säuren, welche durch Ausäthern des saueren Destillates gewonnen und durch Fractioniren getrennt wurden, waren vorhanden:

Ameisensäure, starke Reaction		in 860 Grm. Eiweiss
Essigsäure	2·5 Grm.	
Propionsäure	9·6 „	
Buttersäure	10·8 „	
Höhere Fettsäuren . . .	0·5 „	

Die flüchtigen Basen bestanden hauptsächlich aus Trimethylamin und Ammoniak. Die nicht flüchtigen Säuren bestanden aus Oxalsäure (2,0 Grm.) und Bernsteinsäure (0,3 Grm.).

Die Fähigkeit des Staphylokokkus, genuines Eiweiss und Leim zu peptonisiren, wurde zuerst von *Rosenbach* festgestellt. Er beobachtete, dass gekochtes Eiweiss und Rindfleisch im luftleeren Raume unter der Einwirkung der Staphylokokken leicht zergingen. In der Flüssigkeit liessen sich reichlich Peptone nachweisen. *Lübbert* kam zu den gleichen Resultaten bei Verwendung von Hühnereiweiss und Leim, auch ohne dass der atmosphärische Sauerstoff hiebei ausgeschlossen wurde.

Die Staphylokokken verdanken ihre peptonisirende Wirkung dem Vorhandensein eines proteolytischen Fermentes. *Fermi* (48, 52) hat diese Bakterienfermente in der Weise nachgewiesen, dass er die abgetödteten oder in ihrer Lebensthätigkeit durch Antiseptica behinderten Bakterienleiber auf die zu lösenden Substanzen einwirken liess oder auch durch fractionirte Alkoholfällung der Fermente aus den Culturen. Auch für die Staphylokokken wies er nach diesen Methoden ein proteolytisches Ferment nach, das durch Erhitzung auf 50—55° zerstört werden soll.

Meine Auszüge aus zertrümmerten Kokken, auf die ich in dem Capitel über die Gifte noch zurückkomme, zeigten in 1 Ccm. hoher Schicht unter Zusatz von Thymol auf Gelatine gebracht keine deutlich peptischen Wirkungen.

Auf Neutralfett wirkt der Staphylokokkus nicht ein, ebensowenig werden Rohrzucker, Stärke, Glykogen (nach den Angaben von *Lübbert, Fermi, Emmerling*) gespalten. Nur von dem Staphylokokkus cereus albus will *Fermi* diastatisches Ferment nachgewiesen haben.

Als bemerkenswerther physiologischer Leistung sei schliesslich noch der Pigmentbildung gedacht. Wie schon bemerkt, ist der Staphylo-

kokkus pyogenes aureus befähigt ein orangegelbes, der Staphylokokkus pyogenes citreus ein citronengelbes Pigment zu produciren. Die Fähigkeit, diese Pigmente zu bilden, geht häufig bei längerer Cultivirung auf künstlichem Nährboden verloren. Durch die Thierpassage ist sie häufig wieder herzustellen. Weiter ist festgestellt, dass die Zufuhr von Sauerstoff zur Bildung des Pigmentes erforderlich ist, und dass bei reichlichem Vorhandensein desselben sich die Pigmentbildung steigert, während sie umgekehrt durch Abschluss desselben völlig verhindert wird. Nach *Pfeffer* (51) soll der Farbstoff, wenigstens der des Staphylokokkus citreus, den Sauerstoff nach Art des Hämoglobins locker zu binden und im luftleeren Raume wieder abzugeben vermögen.

Ueber die chemische Natur des Farbstoffes ist noch nicht viel bekannt. Derselbe ist weder mit Wasser noch mit Alkohol, Aether, Benzol, Chloroform extrahirbar, obgleich er in diesen Substanzen löslich ist. Zum Zwecke der Extraction übergiesst man getrocknete gepulverte Staphylokokken von einer pigmentbildenden Art mit Eisessig und erhitzt zum Sieden. Der Farbstoff geht dann in den Eisessig über, während die Kokkenmassen entfärbt am Boden liegen. Nach Neutralisirung des Eisessigs konnte ich dann das Pigment leicht mit Aether ausschütteln.

Unterschichtet man eine Lösung des Farbstoffs mit concentrirter Salpetersäure, so entsteht an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten ein schmutzig grünblauer Ring. Diese Reaction geben auch manche im Thierreiche (Eigelb) vorkommende Farbstoffe — nämlich die sogenannten Luteine, Lipochrome, zu denen nach *v. Schrötter* (53) auch die Farbstoffe des Staphylokokkus gehören.*)

Der Staphylokokkus (Mikrokokkus) cereus albus und flavus (Passet).

Wie ich schon in der Einleitung erwähnte, isolirte *Passet* aus Abscessen noch zwei Mikrokokkenarten, die von ihm wegen der Aehnlichkeit im mikroskopischen Bilde auch zu den Staphylokokken gezählt wurden. Er nannte sie Staphylokokkus cereus albus und Staphylokokkus cereus flavus.

Im mikroskopischen Bilde erscheinen diese Kokken in ähnlicher Anordnung wie die vorher beschriebenen Staphylokokken. Sie unterscheiden sich jedoch auch hier von diesen durch eine weit beträchtlichere Korngrösse. Der Durchmesser des Einzelkokkus beträgt circa 1·16 μ. Wichtiger jedoch ist, dass ihnen völlig das Peptonisirungsvermögen abgeht. Die Gelatine wird von ihnen nicht verflüssigt. Im einzelnen beschreibt *Passet* (36) ihr culturelles Verhalten wie folgt:

„Der Staphylokokkus cereus albus bildet auf der Oberfläche der Gelatine einen weissen, mattglänzenden, stearin- oder wachstropfenähnlichen Belag mit etwas verdicktem, unregelmässigem Rande. Der Impfstich entwickelt sich zu einem grauweissen Streifen mit feinen Stäubchen. In der Gelatineplatte entstehen in den ersten Tagen weisse Pünktchen, die sich an der Oberfläche zu kleinen, meist 1—2 Mm. grossen Flecken

*) *Zopf* (54) weist die Lipochrome bei den Bakterien nach, indem er concentrirte Schwefelsäure auf die Bakterienmasse einwirken lässt, wobei sich der rothe oder gelbe Farbstoff in blaue Körnchen verwandelt (Lipocyaninreaction).

ausbreiten. Auf dem Blutserum entsteht am Impfstrich ein grauweisser, mattglänzender Streif; auf der Kartoffel bildet die Cultur einen grauweisslichen Belag von mittlerer Dicke."

Der Staphylokokkus cereus flavus wächst auf den verschiedenen Nährböden wie der vorige, nur geht seine zuerst weisse Farbe in ein schönes Citronengelb über, welches aber etwas dunkler ist als die Farbe des früher beschriebenen Staphylokokkus citreus. Der wachstropfenähnlich wachsende weisse und gelbe Staphylokokkus lassen sich mikroskopisch nicht unterscheiden."

Wie man sieht, sind die culturellen Unterschiede, die diese Kokken von den übrigen Staphylokokken trennen, ziemlich beträchtliche, und man wird dieselben besser als Mikrokokken von den Staphylokokken unterscheiden. Eine pathogene Bedeutung scheint ihnen nur ausnahmsweise zuzukommen. *Dor* (Revue de chirurgie, 1883, pag. 383) will allerdings damit bei jungen Thieren öfter myelitische Processe mit Epiphysenlösungen hervorgerufen haben. Für die menschliche Pathologie dürfte aber ihre Bedeutung jedenfalls nur eine geringe sein, trotzdem sie ziemlich verbreitet zu sein scheinen. Sie sind sowohl im Staub wie in Wasserläufen nachgewiesen worden (*Tile*, Bakteriologische Untersuchung der Freiburger Leitungswässer, Leipzig 1890).

Die Giftbildung des Staphylokokkus pyogenes aureus.

I. Culturfiltrate.

Klebs unterschied bei der Wirkung der Eitererreger scharf die locale, zu Entzündung und Eiterung führende, von der den Gesammtorganismus krankmachenden Wirkung. Die erstere sollte mehr mechanisch durch die als Fremdkörper wirkenden Parasiten bedingt sein, die letztere dagegen durch Resorption löslicher, von den Parasiten gebildeter Giftstoffe (Sepsin). Dem gegenüber wollte *Hüter* überhaupt nichts von löslichen Producten wissen. Die localen wie allgemeinen Krankheitserscheinungen entstanden nach ihm unter dem unmittelbaren Einflusse der geformten Krankheitserreger, durch die das Gewebe lädirt, namentlich die Capillarwände sozusagen „angenagt" würden.*) Verbreiteter war jedoch auch in dieser Zeitperiode die Annahme, dass löslichen Giften ein wesentlicher Antheil bei der Wundinfection zukäme, und zwar nicht nur bei den mit sinnfälliger Fäulniss einhergehenden Processen, sondern bei bösartigen Eiterungen überhaupt. Besonders hat *Virchow* die dominirende Rolle eines löslichen Giftes in den von ihm sogenannten ichorrhämischen Zuständen hervorgehoben. In seinen gesammelten Abhandlungen (1856) finden sich darüber folgende Bemerkungen (pag. 639): „Die Vergleichung der Eiterinfection mit einer wirklichen Vergiftung war so naheliegend, dass man nicht umhin konnte, die mehr chemische Wirkung in den Vordergrund zu schieben", und (pag. 702): „Das, was in das Blut aufgenommen wird, kann nichts anderes sein, als was bei einem Operirten und Verwundeten, dessen Wundfläche erysipelatös wird, in das Blut gelangt. Hier handelt es sich weder um Eiter noch

*) Diese Anschauung entsprang wohl dem aus einer falschen Deutung mikroskopischer Bilder entstandenen Irrthum, dass bei „Sepsis" die „Monaden" sehr zahlreich auch im Blute aufträten.

um gewöhnliche Fäulnissproducte, sondern um specifische, gewiss auch in der Umsetzung begriffene und verdorbene Säfte. . . . Die chemische Qualität, wodurch die Säfte verändert werden, kennen wir nicht, und es ist daher unmöglich, eine Bezeichnung der veränderten Blutmischung danach zu wählen. Aber verdorbene Säfte sind es, die dem Blute beigemischt werden und daher kann man ohne Bedenken davon einen Namen wählen. Ich schlage vor, den Zustand als Ichorrhämie zu bezeichnen, da schon die Alten unter Ichor verdorbene dünnflüssige Säfte verstanden." Später waren es hauptsächlich *Billroth* und seine Schüler, die den im Eiter vorhandenen löslichen sauren Stoffen eine für die Wunde und den ganzen Organismus deletäre Wirkung zuschrieben.

Der Grund, weshalb man gerade an saure Producte hier dachte, liegt wohl darin, dass mancher Eiter thatsächlich einen sauren Geruch erkennen lässt, und dass es auch gelang, chemisch eine Reihe von Fettsäuren, darunter Ameisensäure, Buttersäure, Valeriansäure darin nachzuweisen. Es sind das dieselben Säuren, die wir unter den Stoffwechselproducten der Staphylokokken kennen gelernt haben, und es mag hervorgehoben werden, dass noch neuerdings *Terni* (69) darin das lösliche Gift der Staphylokokken erblicken will. Die ziemlich zahlreichen Versuche über die Toxicität dieser Körper stammen jedoch vorwiegend aus der vorbakteriologischen Zeit und sind ausgeführt von *O. Weber, Hemmer, Panum, Billroth.* Aus den Angaben des Letztgenannten geht hervor, dass 50 Tropfen Buttersäure auf 8 Ccm. Wasser zugesetzt und Hunden subcutan eingeführt Gangrän verursachen. Kleinere Mengen dagegen (20 Tropfen auf dieselbe Menge Wasser) wurden glatt vertragen. *O. Weber* beobachtete bei Einverleibung von grossen Dosen eine an Urämie erinnernde Depression der Herz- und Gehirnthätigkeit. In den Versuchen von *Panum* tödteten buttersaures und valeriansaures Ammoniak in grossen Dosen sofort, in kleineren trat nur eine vorübergehende Excitation ein. Von den anderen chemisch bekannten Stoffwechselproducten des Staphylokokkus könnte hier noch das Trimethylamin in Betracht kommen, dessen Wirkung der des Ammoniaks entspricht, aber schwächer ist. Chemotaktische Wirkungen kommen den genannten Stoffen (Ammoniak, buttersaures und valeriansaures Ammoniak, Trimethylamin) in 1—2 %igen Lösungen nach den Versuchen *Buchner's* nicht zu. Berücksichtigen wir weiter, dass alle diese Stoffe nur in verhältnissmässig sehr kleiner Menge von den Staphylokokken gebildet werden, so ergibt sich, dass zwar die Möglichkeit localer Reizwirkungen von Seiten dieser Substanzen nicht ganz in Abrede gestellt, ein wesentlicher Antheil ihnen aber an dem Krankheitsprocess nicht zuerkannt werden kann.

Die Thatsache, dass bei dem Menschen vor allem die eitererregende Wirkung des Staphylokokkus in den Vordergrund tritt, war die Veranlassung, dass man in den Culturen desselben nach stark local reizenden, eitererregenden Substanzen suchte. Dies Bestreben schien dann auch nach den *Leber*'schen Mittheilungen über das Phlogosin von Erfolg gekrönt zu sein. Ich werde auf diesen Körper, der ein Extractionsproduct der Kokkenleibessubstanz sein sollte, im folgenden Abschnitte noch zurückkommen. An dieser Stelle sei nur kurz bemerkt, dass es sich nach *Leber* hier um eine alkohollösliche Substanz mit stark eitererregender Wirkung handelte.

Dieselbe Substanz will auch *de Christmas* (58) dargestellt haben, und zwar durch Alkoholextraction sowohl der isolirten Kokkenleiber, wie auch der eingedampften Bouillonculturen. Er erhielt auf diese Weise gelbe, ölige Flüssigkeiten von saurer Reaction und geringer Löslichkeit in Wasser. Am Kaninchenauge und unter der Haut des Hundes bewirkten dieselben heftige Entzündung und Eiterung. Diese letzteren Eigenschaften hielten sich sehr beständig und wurden erst durch Erhitzung auf eine Temperatur von 120° C. zerstört.

In Bezug auf die Darstellung mit diesen Körpern identisch ist auch die von *Rodet* und *Courmont* hergestellte „prädisponirende Substanz", welche durch die bei der Alkoholfällung der Culturflüssigkeiten in den Alkohol übergehenden Körper repräsentirt wird. Die Wirkung derselben auf den thierischen Organismus sollte der durch die alkoholfällbare Substanz bedingten antagonistisch sein. Die damit behandelten Thiere sollten einer Infection mit lebendem Material leichter erliegen als normale.

Ich habe die alkohollöslichen Substanzen aus den Culturfiltraten nach dem *de Christmas*'schen Verfahren dargestellt und dann Flüssigkeiten erhalten, die der Beschreibung von *de Christmas* entsprachen. Sie zeigten einen starken Geruch nach Buttersäure und reducirten ammoniakalische Silberlösung (Ameisensäure). In der Menge von 5 Ccm. (entsprechend 200 Ccm. Culturflüssigkeit) unter die Haut von Kaninchen gebracht, riefen sie geringfügige, höchstens kleinfingerstarke Infiltrationen hervor, die nach einigen Tagen wieder verschwanden. Wurde die Flüssigkeit angesäuert, mit Aether ausgeschüttelt, der Aether durch Decantiren und Abdampfen entfernt, so zeigte sich (nach Neutralisirung) die locale Reizwirkung noch etwas herabgesetzt. Allgemein toxische Wirkungen waren überhaupt nicht nachweisbar. Trotz mehrmaliger Wiederholung des Versuches mit den Filtraten verschiedener Staphylokokken habe ich keine alkohollösliche Substanz gefunden, die unter Berücksichtigung der bei der Infection in Betracht kommenden Mengenverhältnisse eine ausgesprochene entzündungserregende Wirksamkeit besessen hätte.

Wir haben es jedoch bei der Staphylokokkenwirkung nicht nur mit localen Entzündungsprocessen, sondern auch mit allgemeiner Intoxication zu thun. Durch geeignete Versuchsanordnung lässt sich leicht zeigen, dass z. B. Kaninchen einer acuten Infection erliegen können, ohne dass es an irgend einer anderen als an der Einführungsstelle des Virus zu einer Wucherung der Kokken gekommen ist. Hier muss also an Ort und Stelle, in derselben Weise, wie wir es bei der Diphtherie kennen, ein allgemein wirkendes deletäres Gift producirt sein.

Schon *de Christmas* hatte im Jahre 1888 ausser der alkohollöslichen Substanz eine giftige alkoholfällbare Substanz dargestellt, die er zu den „Diastasen" rechnen wollte. In einer Mittheilung aus dem Jahre 1890 berichteten dann *Brieger* und *Fränkel* (72), dass sie unter anderen aus Staphylokokkenculturen ein „Toxalbumin" durch Fällung der im Vacuum eingeengten Culturen mit Alkohol oder durch Fällung mit Ammoniumsulphat gewonnen hätten. Dasselbe war in Wasser unlöslich und rief bei Kaninchen und Meerschweinchen Nekrotisirungen und den Tod hervor. Bei welcher Dosis diese Wirkung eintrat, ist nicht bemerkt. *Mosny* und *Marcano* (65) verfügten über so giftige Culturfiltrate,

dass 10 Ccm. davon Kaninchen intravenös injicirt binnen Secunden tödteten. Kleinere Dosen machten, namentlich bei wiederholter Einführung, die Thiere marantisch. Die Thiere nahmen im Verlauf von 3—4 Wochen erheblich an Körpergewicht ab, bekamen subnormale Temperaturen und gingen schliesslich unter profusen Diarrhöen zugrunde. Bei so verendeten Thieren fanden *Mosny* und *Marcano* constant Secundärinfectionen vor, die bedingt waren durch Einwanderung eines normalen Darmparasiten, eines Bacillus, in die Blutbahn. Namentlich fanden sich dann multiple, diesen Bacillus enthaltende Abscesse in den Bauchwandungen und eiterige Peritonitis vor. Dieselben chronischen Vergiftungen wie durch Einführung giftiger Culturfiltrate wurden durch Impfung abgeschwächter lebender Cultur erhalten.

Rodet und *Courmont* (62, 63, 64) fanden die durch Hitze sterilisirten Culturen giftiger als die filtrirten; die Porzellanfilter sollten giftige Stoffe zurückhalten. Besonderen Werth legten ferner die genannten Autoren auf die schon mitgetheilte Beobachtung, dass sich bei der Behandlung der Culturflüssigkeiten mit Alkohol zwei antagonistisch wirkende Substanzen trennen liessen. Die eine, durch Alkohol fällbare, tödtete Hunde unter tetanus- und choreaähnlichen Erscheinungen. Kaninchen starben langsamer und zeigten bei der Obduction parenchymatöse Nephritis. Die andere Substanz war alkohollöslich und tödtete Hunde unter mehr depressiven Symptomen, Muskelschwäche, Stillstand der Herz- und Athemthätigkeit.

Wichtige Beobachtungen über das Staphylokokkengift verdanken wir weiter den Untersuchungen von *van de Velde* (73, 75). Es gelang demselben festzustellen, dass staphylokokkengifthaltige Flüssigkeiten auf die Leukocyten des Kaninchens einen eigenartig zerstörenden Einfluss ausüben. Die Versuchsanordnung ist einfach die, dass man einen Tropfen des Staphylokokkengiftes auf ein Deckglas bringt, hierin normale*) Leukocyten einträgt und dann unter dem Mikroskop bei Körpertemperatur die Veränderungen beobachtet. Es zeigt sich dann, dass die Leukocyten sehr schnell ihre Bewegungen einstellen und bald darauf weitgehende Veränderungen ihrer normalen Structur zeigen. Die durchaus charakteristische Beschreibung sei hier wiedergegeben: „Il pâlit (der Leukocyt) considérablement, on dirait que le protoplasma se dissout dans le liquide ambiant, et le noyau, jusqu' alors invisible devient nettement apparent.“ „Ces phénomènes se succèdent rapidement et s' accomplissent dans le court espace de 2 à 3 minutes.“

Ausser den Leukocyten zeigen auch andere Zellen degenerative Veränderungen, wenn sie mit dem Gifte in Berührung kommen. Die eosinophilen Zellen des Knochenmarkes werden schnell aufgelöst, die Hämatoblasten des rothen Knochenmarks widerstehen etwas länger, ebenso die rothen Blutzellen. Die letzteren ballen sich erst zusammen und lösen sich dann langsam auf. Auch die Ganglienzellen des Sympathicus zeigen analoge Veränderungen.

Dieses Gift, von *van de Velde* Leukocidin genannt, wurde zuerst in den Pleuraexsudaten solcher Kaninchen gefunden, die mit virulenten Staphylokokken intrathorakal inficirt waren. Später wurde

*) *Van de Velde* benützte die Leukocyten aus Exsudaten, die er durch Injection abgetödteter Staphylokokken hervorgerufen hatte. Ich zog die Aleuronatmethode nach *Buchner* vor.

es jedoch auch in den Culturflüssigkeiten des Staphylokokkus mit aller Sicherheit nachgewiesen. Serumculturen erwiesen sich wirksamer als Bouillonculturen, und hier wieder alte wirksamer als junge. Die Virulenz schien keinen Einfluss auf die Intensität der Leukocidinbildung zu haben. Am wirksamsten erwiesen sich jedoch die in der eben angegebenen Weise hervorgerufenen Exsudate. Hier liess sich sogar in der 500fachen und 1000fachen Verdünnung das Gift mit Sicherheit nachweisen.

Bemerkenswerth ist weiter die gleichfalls von *van de Velde* gefundene Thatsache, dass das Leukocidin von Temperaturen über 57° C. zerstört wird.

Die Untersuchungen *van de Velde*'s bezogen sich nur auf die Leukocyten des Kaninchens. Diese scheinen auch, so weit meine eigenen vergleichenden Untersuchungen reichen, zu den leukocidinempfindlichsten zu gehören. Die Leukocyten des Frosches erwiesen sich als völlig refractär; ihre Bewegungen wurden durch die Anwesenheit des Giftes auch bei stundenlanger Beobachtung nicht beeinträchtigt. Aber auch die Leukocyten verschiedener Warmblüter, z. B. die der Meerschweinchen und Mäuse, erwiesen sich viel widerstandsfähiger als die des Kaninchens. Erst nach stundenlanger Einwirkung waren hier Veränderungen zu sehen, wie sie bei den Kaninchenleukocyten nach Minuten eintreten. Einigemale wurde überhaupt keine deutliche Degeneration bemerkbar. Die Leukocyten eines ganz jungen Hundes dagegen, der mir gerade zur Verfügung stand, erwiesen sich wieder empfindlicher als die der Meerschweine und Mäuse.

Ein kurzer Ueberblick über die bisherigen Untersuchungsresultate ergibt also, dass von den Culturfiltraten des Staphylokokkus allgemein toxische, local nekrotisirende und eigenthümlich schädigende Wirkungen auf bestimmte Leukocytenarten nachgewiesen sind. Es entsteht nun die Frage, ob es sich hier um verschiedene Wirkungen eines und desselben Giftes handelt oder um verschiedene Gifte. Da wir auf chemischem Wege bis auf weiteres schwerlich über derlei Substanzen Auskunft erhalten werden, so blieb zunächst nichts übrig als verschiedene Culturfiltrate auf die Relation zwischen den verschiedenen Wirkungen zu untersuchen und weiter festzustellen, ob mit dem völligen Verlust der einen Wirkung auch die anderen verschwinden.

Zur Vergleichung wurden benutzt eine Reihe von Bouillonculturen von Staphylokokken verschiedener Herkunft, nachdem dieselben 14 Tage lang bei Bruttemperatur gewachsen und dann filtrirt waren.

Culturfiltrat A. Der Staphylokokkus stammt aus einem grossen Halsabscess eines Mannes. Wachsthum in Bouillon reichlich und mit Hautbildung. 8 Ccm. einem Kaninchen von 930 Grm. intravenös injicirt bewirken eine Gewichtsabnahme um 70 Grm. Das Thier erholt sich völlig. Dieselbe Dosis von 8 Ccm. ruft bei subcutaner Injection eine daumendicke Schwellung hervor, welche zu einer circa markstückgrossen Nekrose führt. Die Leukocyten zeigen bei gewöhnlicher Temperatur erst nach einstündiger Einwirkung die Anfänge von Veränderungen. Auf 60° erhitzt, wird das Filtrat in Mengen bis 10 Ccm. für jede Art der Application wirkungslos. Die Leukocyten zeigen keine Degeneration mehr.

Culturfiltrat O. I. Der Staphylokokkus stammt aus einer schweren Osteomyelitis. Mässiges Wachsthum auf Bouillon. 10 Ccm. einem

Kaninchen von 1000 Grm. intravenös injicirt, bewirken eine Gewichtsabnahme von 40 Grm., nach subcutaner Injection der gleichen Menge kleine fingerdicke Schwellung, die ein Knötchen zurücklässt. Wirkung auf Leukocyten unsicher. Nach Erhitzung auf 60° wird die intravenöse Injection ohne alle Folgen vertragen. Local bleibt nach grösseren Dosen noch eine geringe Reizwirkung bestehen.

Culturfiltrat O. II. Der Staphylokokkus stammt aus einer schweren Osteomyelitis. Reichliches Wachsthum auf Bouillon mit starker Hautbildung schon nach 2—3 Tagen. 12 Ccm. tödten bei intravenöser Injection ein Kaninchen von 1100 Grm. in 5 Stunden. Bei subcutaner Injection von 8 Ccm. treten sehr starke weiche Schwellungen ein, die zu klein-handtellergrossen Nekrosen führen. Einwirkung auf Leukocyten sehr ausgesprochen. Schon nach 2—3 Minuten sind die Kerne sichtbar. Erhitzung auf 60° zerstört die allgemein toxische Wirkung und die auf Leukocyten vollständig, die locale grossentheils.

Culturfiltrat Ph. Der Staphylokokkus stammt aus einer Phlegmone am Arm. Wachsthum reichlich ohne Hautbildung. 10 Ccm. bewirken bei intravenöser Injection marantische Erscheinungen, die nach 4 bis 5 Wochen zum Tode führen. Subcutane Injection der gleichen Mengen führt zu daumendicken Schwellungen mit Ausgang in Abscedirung. Degeneration der Leukocyten erst nach einstündiger Einwirkung deutlich. Durch Erhitzung auf 60° C. wird die Giftigkeit und die Wirkung auf die Leukocyten zerstört.

Bei diesen verschiedenen Culturfiltraten bestand also ein deutlicher Zusammenhang zwischen den verschiedenen Giftwirkungen in dem Sinne, dass, wenn eine sehr ausgesprochen vorhanden war, auch die anderen sich als beträchtliche erwiesen. Weiter wurden durch eine Temperatur, die die eine, beispielsweise die leukocytenzerstörende Wirkung vernichteten, auch die übrigen völlig zerstört.

Gleichwohl spricht manches dafür, dass es sich bei dem Staphylokokkengifte nicht um eine ganz einheitliche Substanz handelt. Fällte ich beispielsweise hochwirksame Filtrate mit Alkohol, so erhielt ich Substanzen, die nur etwa zur Hälfte in Wasser löslich waren. Die Prüfung derselben ergab, dass der krankmachende Werth derselben (L —) keine erhebliche Einbusse erlitten hatte, während im Vergleiche dazu die tödtliche Minimaldose, der L+-Werth, herabgesetzt war. Auffälliger aber war noch, dass der lösliche Antheil des Giftes trotz stark localreizender und nekrotisirender Wirkung keinen zerstörenden Einfluss auf die weissen Blutzellen mehr erkennen liess. Lassen sich nun auch für die Entstehung dieser Giftmodificationen, die übrigens ganz ähnlich auch bei längerem Aufbewahren der Filtrate eintreten, noch andere Erklärungen denken, so scheint mir doch am plausibelsten, dass es sich dabei um eine Zersetzung, um ein Ausfallen gewisser wirksamer Componenten, aus dem ursprünglichen Molecularcomplex handelt.

Was die quantitative Wirksamkeit der Culturfiltrate betrifft, so sind die in der Literatur vorhandenen Angaben schon in der Hauptsache von mir wiedergegeben. Erwähnen will ich hier noch die Mittheilung von *Petersen* (66), dessen Filtrate erst in Mengen von 70 bis 100 Ccm. bei Kaninchen schwere Krankheitserscheinungen hervorriefen. Dies Resultat, mit denen von *Mosny* und *Marcano*, sowie dem meinigen verglichen, zeigt, dass die Toxinbildung des Staphylokokkus in sehr

grossen Grenzen schwankt. Die Virulenz und Herkunft spielen dabei eine viel geringere Rolle als die Cultivirungstechnik. Es ist mir später mit den 10tägigen Filtraten eines Stammes (O. III) gelungen, mit Dosen von 2·0—2·5 Ccm. Kaninchen über 1000 Grm. Gewicht bei intravenöser Einspritzung innerhalb einer Stunde, bei subcutaner in 2—3 Tagen zu tödten. Die getrockneten Alkoholfällungen besassen einen Giftwerth von 1 Grm. = 25·000—30·000+K.*)

Viel weniger wirksam als für Kaninchen ist das Gift für Meerschweinchen und Mäuse. Von dem eben erwähnten Filtrate bedurfte es eines Cubikcentimeters, um eine Maus von 20 Grm. Gewicht in vier Tagen bei intraperitonealer Einspritzung zu tödten. Meerschweinchen von 300 Grm. ertrugen bei derselben Applicationsweise noch 5 Ccm. ohne schwerere Krankheitserscheinungen. Das Verhältniss der Empfindlichkeit von Maus, Meerschweinchen, Kaninchen wäre also etwa 2:3:30.

In qualitativer Hinsicht haben wir in dem Staphylokokkengifte — ich werde dasselbe im folgenden kurz als das Toxin**) bezeichnen — eine Substanz von stark nekrotisirender Wirksamkeit vor uns. Bei subcutaner Einführung bemerken wir zunächst eine äusserst heftige Entzündung, die zur ausgedehnten Durchtränkung des Unterhautgewebes mit einer blutig-serösen Flüssigkeit führt. Bleibt das Thier am Leben, so kommt es zur Abscedirung, die mit der Abstossung grosser nekrotischer Gewebspartien ihren Abschluss findet. Der Befund ist ganz analog dem, welchen wir durch Einführung entsprechender Dosen des lebenden Materiales erzielen. Von den inneren Organen zeigen sich am meisten betroffen Nieren (trübe Schwellung), Leber, Herz (beginnende fettige Degeneration). Das Toxin wird durch Erhitzung auf 60° C. zerstört.

II. Die Kokkensubstanz.

Abgetödtete Staphylokokken rufen unter der Haut des Hundes, nach Einbringung in Glascapillaren auch unter der des Kaninchens, Abscesse hervor *(Grawitz* und *de Bary, Leber).* Den hier wirksamen eitererregenden Bestandtheil des Staphylokokkenleibes glaubte, wie schon erwähnt, *Leber* (60, 61) in dem von ihm so benannten Phlogosin gefunden zu haben. Die Darstellung dieses Körpers gelang ihm einmal dadurch, dass er wässerige Kokkenextracte und schon mit Alkohol extrahirte Kokken mehrere Monate unter Aether stehen liess. Aus diesem Aetherauszuge liess sich das Phlogosin ohne weiteres als krystallinischer Körper gewinnen. Derselbe war in Alkohol leicht löslich, schwerer in Wasser, gab mit Kalilauge einen gelben Niederschlag und hinterliess auf chemisch reinem Gold und Silber braune, nicht abwischbare Flecken. Er gab keine Alkaloidreactionen, und war stickstofffrei. In den Conjunctivalsack von Kaninchen gebracht, bewirkte das Phlogosin schon in kleinsten Mengen heftige Entzündung und Eiterung. Mit Phlogosin beschickte, feinste Capillaren, in die vordere Augenkammer von Kaninchen eingeführt, füllten sich mit Eiterzellen. *Christmas* wollte dieselbe Substanz durch Alkoholextraction 8tägiger

*) Es heisst dies, dass 1 Grm. Substanz für 25—30 Kilo Kaninchengewicht die tödtliche Dosis war.

**) In chemischer Hinsicht wissen wir vorderhand nichts von diesem Körper. Aus diesem Grunde ist auch die vielfach übliche Bezeichnung „Toxalalbumin" vermieden.

Kokkenmassen erhalten haben und hielt sie für identisch mit dem alkoholischen Extracte der eingeengten Culturen.

Ueber die Wirksamkeit der in der letztgenannten Weise gewonnenen Körper habe ich schon berichtet. Von Interesse schien es aber weiter auch, festzustellen, ob und eventuell in welcher Menge aus der Kokkenleibessubstanz sich alkohollösliche Producte gewinnen liessen. Es wurden also 0·3 Gramm getrocknete pulverisirte Staphylokokken (entsprechend der Ausbeute von circa 1 Liter Cultur) mit Alkohol in der Kälte, sodann mit siedendem Alkohol und darauf mit Aether extrahirt. Nach dem Verdunsten der Extractionsmittel blieb ein kaum nachweisbarer Rückstand zurück, der, soweit bei der kleinen Menge ein Urtheil möglich war, aus Fettsäuren bestand. Alkohollösliche Substanzen von der Art, wie sie in manchen anderen Bakterien, namentlich in den Tuberkelbacillen, in grossen Mengen nachgewiesen sind, und wie ich sie nach den Angaben der genannten Autoren auch in den Staphylokokken vermuthete, waren in meinem Materiale nur in Spuren nachweisbar.

Wie also die Resultate *Leber's* zu erklären sind, muss ich vor der Hand offen lassen. Auffallend ist, dass auch *Leber* selbst später nicht mehr die Darstellung seines Phlogosins gelungen ist. Am wahrscheinlichsten ist wohl, dass es sich um ein durch irgend einen chemischen Eingriff entstandenes Spaltungsproduct des Protoplasmas gehandelt hat. Vielleicht spielt auch das Alter der Kokken eine Rolle. Meine eigenen Versuche waren, wie ich besonders hinzufügen will, mit 3 Tage lang gewachsenen Culturen angestellt worden.

Auf Substanzen ganz anderer Art wollte *Buchner* (55, 56, 57) die eitererregende Fähigkeit der Bakterien bezogen wissen. Er hatte gefunden, dass sich aus den Leibern einer ganzen Reihe von Bakterien, unter andern auch der Staphylokokken, Substanzen extrahiren lassen, die eine stark leukocytenanziehende Kraft besitzen. Brachte man dieselben in Capillaren eingeschlossen unter die Haut von Kaninchen, so wurde an der Applicationsstelle bakterienfreie Eiterung erzeugt.*)

Die bakterielle Eiterung wäre dann weiter so zu deuten, dass durch die bakterio-lytischen Einflüsse des Organismus zunächst Leibessubstanzen der Kokken in Lösung gehen und dass dann die diffundirenden Eiweisssubstanzen anlockend auf die Leukocyten wirken. Gesetzt

*) Die ersten Versuche machte *Buchner* mit Kartoffelculturen des Pneumobacillus Friedländer. Von 25 Kartoffeln wurden die Bacillen abgekratzt und in dem 20fachen Volum 0,3%iger Kalilauge vertheilt. Hierbei verwandelte sich die Bakterienmasse in einen zähen klumpigen Schleim. Derselbe löste sich leicht bei Digestion auf dem kochenden Wasserbade in 4 bis 7 Stunden. Dann wurde filtrirt. Das klare gelbbräunliche Filtrat wurde durch Essigsäure gefällt, von einem Ueberschusse derselben wieder gelöst. Der Niederschlag gab folgende Reactionen: die Xanthoproteinreaction, die *Millon*'sche, die Biuretreaction, eine schöne Violettfärbung mit Eisessig und concentrirter Schwefelsäure. Er war löslich in Wasser und concentrirten Säuren und in dünnen Alkalien. Durch Kochen und durch Sättigung mit Kochsalz trat in neutralen Lösungen keine Fällung ein, wohl aber nach Zusatz von Magnesiumsulphat, Kupfersulphat, Platinchlorid, Bleisalzen, Pikrinsäure, Gerbsäure und absolutem Alkohol. Zur Verwendung am Thier diente eine Lösung des durch mehrfaches Ausfällen mit Essigsäure und Wiederauflösen in Alkali gereinigten Präparates in dünner Sodalösung.

Römer (70) kam zu ganz ähnlich sich verhaltenden Substanzen, indem er die Bacillenmassen statt der Alkalibehandlung längere Zeit auskochte oder dieselben nach mehrmaliger Auskochung wochenlang stehen liess. Nach Filtration durch Chamberlandkerzen ergaben sich eiweissreiche Extracte von stark chemotaktischer Wirkung.

aber den Fall, dass die Vorgänge bei der Eiterung sich wirklich in dieser Weise abspielten, so könnte in derselben vielleicht ein salutärer, jedenfalls aber kein krankmachender Effect erblickt werden. Mögen also auch die *Buchner*'schen Proteine wirklich positiv chemotaktisch wirken, für die krankmachende Fähigkeit des Bakteriums kann nur in Betracht kommen, inwieweit sie auch toxische Energie besitzen.

Die toxischen Wirkungen abgetödteter Staphylokokken sind schon eine ganze Reihe von Jahren bekannt. Es fehlen jedoch einigermassen quantitative Bestimmungen. *Ribbert* z. B. dosirt immer nach Spritzen; wieviel eine solche an Kokkenmaterial enthalten hat, erfahren wir nicht.

Zum Zweck genauerer Bestimmungen habe ich dreitägige Agarculturen abgekratzt, bei strömendem Dampf 25 Minuten sterilisirt und getrocknet. Nach Aufschwemmung in 0·6%iger Kochsalzlösung erfolgte die Prüfung an Meerschweinchen vermittels intraperitonealer Einspritzung. Es ergab sich, dass von der Trockensubstanz die tödtliche Dosis für Meerschweinchen zwischen 300 und 400 Gramm 0·04—0·09 Gramm betrug, also 1 Gramm $= 3880—8750 + M$. Da das Trockengewicht meiner Agarculturen circa 0·015 Gramm betrug, so ergibt sich, dass circa 3—6 Agarculturen zur Tödtung bei intraperitonaler Injection erforderlich waren.

Die Vergiftungserscheinungen bestehen in bald nach der Injection eintretendem schweren Collaps. Das Thier bekommt sehr niedrige Körpertemperatur und wird schlaff und kraftlos. Bei der Obduction findet man die Bauchhöhle mit reichlichem blutig-serösem Exsudat gefüllt. Häufig genug erholen sich jedoch die Thiere, auch wenn sie sehr schwere Symptome und eine Temperaturerniedrigung bis zu 31° C. gezeigt haben. Der Tod erfolgt dann im Laufe einiger Wochen unter marantischen Erscheinungen, die zum Theil durch umfangreiche Verwachsungen der Intestinalorgane bedingt sind.

Gegenüber verschiedenen Thierarten zeigten diese Giftstoffe keine solchen Differenzen in der Wirksamkeit wie das früher betrachtete lösliche Filtratgift. Die Kaninchen sind gegenüber diesem Gifte nur wenig empfindlicher als Meerschweine, nach meinen Versuchen etwa um die Hälfte, so dass also $1 + M = 1,5 + K$ wäre. Die Maus scheint sich wie das Meerschweinchen zu verhalten.

Bei der Abtödtung der Kokken durch so hohe Temperaturgrade, wie sie zur sicheren Abtödtung erforderlich sind, muss die Möglichkeit zugegeben werden, dass die toxische Energie der hier in Betracht kommenden Eiweisskörper leidet. So ist ja die *Pfeiffer*'sche Hypothese über das Zustandekommen der Choleravergiftung*) nur haltbar, wenn wir von dem toxischen Protoplasma einen hohen Grad von Empfindlichkeit gegen thermische und chemische Eingriffe annehmen. Ich suchte deshalb nach einer Methode, um ohne voraufgegangene Sterilisirung die Giftwirkung zu bestimmen.

Es kamen hier in Betracht die Pressmethode nach *Buchner* und die Zertrümmerung bis zur völligen Sterilisirung nach *Koch*. Die letztere schien mir ihrer grösseren Sauberkeit und Handlichkeit wegen den Vorzug zu verdienen.

---

*) *Pfeiffer* nimmt an, dass dieselbe durch Resorption eines in den Bacillenleibern enthaltenen, höchst giftigen und äusserst labilen Giftstoffes, zustande käme.

Zur Verarbeitung wurden dreitägige Agarculturen genommen. Nach der Zertrümmerung stellten dieselben ein gelbes, sehr leichtes, stark stäubendes Pulver dar, das den Geruch nach flüchtigen Fettsäuren zeigte. Durch Aussaat ganzer Platinösen auf neues Nährmaterial wurde die Sterilität festgestellt.

Solche zertrümmerte Kokkenmassen besass ich in drei verschiedenen Präparaten. Ich bezeichnete sie mit „Z. St." unter Hinzufügung des betreffenden Staphylokokkenstammes, von dem sie gewonnen waren. Es handelte sich um folgende:

Z. St. A. Der dies Präparat liefernde Staphylokokkus stammte aus einem Halsabscess und besass für Kaninchen mittlere Virulenz. 1—2 Ccm. Bouilloncultur tödtliche Dosis bei intrathorakaler Injection.

Z. St. O. Der Staphylokokkus stammte aus einer Osteomyelitis. 5 Ccm. Bouilloncultur tödteten bei Injection in die Brusthöhle ein Kaninchen in 2—3 Tagen.

Z. St. O. II. Derselbe Staphylokokkus, aber im Zustande erhöhter Virulenz. 0·02 Ccm. Bouilloncultur tödtliche Dosis bei derselben Application wie oben.

Nach Aufschwemmung der Pulver in physiologischer Kochsalzlösung wurde nun wieder die Toxicität an Meerschweinchen und Kaninchen bei intraperitonaler Einführung geprüft.

Z. St. A. 1 Grm. = 5000 + M = 6600 + K.
Z. St. O. I. 1 Grm. = 4000 + M = 5000 + K.
Z. St. O. II. 1 Grm. = 5000 + M = 7000 + K.

Wir ersehen hieraus:

1. dass die Toxicität der zertrümmerten Kokken annähernd dieselbe ist wie die der durch Hitze sterilisirten, dass also das toxische Princip des Protoplasmas durch Temperaturen bis 101° C. nicht zerstört wird;
2. dass die Giftigkeit des Protoplasmas durch Erhöhung der Virulenz nicht wesentlich gesteigert wird.

Nach Aufschwemmung in Wasser stellen die Kokkenmassen eine getrübte gelbliche Flüssigkeit dar, aus welcher sich durch Centrifugiren leicht eine völlig klare Lösung abscheiden lässt. Die Bestimmung des Rückstandes lässt erkennen, dass circa 89—92% der Trockensubstanz in Lösung gegangen sind. Es ist dies ausserordentlich viel, z. B. gegenüber den Tuberkelbacillen, bei denen sich ca. 50% in Lösung überführen lassen.

Die klaren Flüssigkeiten (Z. St. Fl.) zeigten häufig nach mehrstündigem Stehen in der Kälte eine feine Trübung, die durch Phosphate bedingt war. Bei längerer Aufbewahrung verlieren sie etwas an Durchsichtigkeit und werden opalescirend. Das chemische Verhalten entsprach im Allgemeinen dem, was *Hahn* (71) über die Beschaffenheit der *Buchner*'schen Presssäfte mittheilt, und was wir über die durch Alkaliauszug gewonnenen Proteine wissen.

Z. St. Fl. zeigt ganz schwach alkalische Reaction und gibt schon in der Kälte mit Kalilauge und Kupfersulphat eine rothviolette Färbung (Peptone aus dem Nährboden). Durch Kochen tritt keine Coagulation ein. Nach Zusatz von Essigsäure bilden sich voluminöse Fällungen, die im Ueberschuss nicht wieder löslich sind (*Buchner's* Proteine sollen löslich

sein). Frisch gefällt sind diese Niederschläge in schwachen Alkalien wieder löslich, getrocknet werden sie völlig unlöslich in jedem von mir benutzten Lösungsmittel, auch in concentrirten Säuren und Alkalien. Frisch gefällt und wieder gelöst geben diese Körper die Biuretreaction in der Wärme, ferner die *Millon*'sche Reaction, die Xanthoproteinreaction, eine schöne Rothfärbung in einem Gemisch von Eisessig und concentrirter Schwefelsäure. Weiter werden diese Lösungen gefällt durch Alkohol, zum Theil wenigstens durch Sättigung mit Kochsalz bei neutraler Reaction, ferner durch Kupfer-, Blei- und Quecksilbersalze.

Die Lösungen fällen ferner die basischen Anilinfarben, lösen sie aber im Ueberschuss wieder auf.

Hinsichtlich der Toxicität verhielt sich Z. St. Fl. wie die entsprechenden Z. St.-Präparate.

Von Interesse musste es aber weiter erscheinen, ihr Verhalten gegenüber den Leukocyten festzustellen. Es musste sich hierbei entscheiden lassen, ob das Staphylokokkengift des Culturfiltrates durch Auslaugung aus den schon abgestorbenen Kokkenzellen frei wurde oder aber erst einem Lebensacte derselben seine Entstehung verdankte. War das erstere der Fall, so musste man in stärkerer, also 1—2%iger Z. St. Fl. das leukocytenzerstörende Gift in reichlichem Masse vorfinden. Die Untersuchung ergab jedoch das Gegentheil hiervon, es waren nur ganz schwache Leukocidinwirkungen nachweisbar, die wohl auf geringe Mengen von der Zelle fertig gebildeten Giftes zu beziehen waren.

Ein Rückblick auf die vorliegenden Untersuchungen ergibt, dass wir es bei den Staphylokokken, abgesehen von einer Reihe nicht specifischer, mit geringer localer Reizwirkung begabter Substanzen (Fettsäuren etc.), mit einem in die Culturflüssigkeit übergehenden und seine Giftigkeit bedingenden Toxin und einem in der Leibessubstanz der Kokken vorhandenen giftigen Princip*) zu thun haben. Das reichlich in den Krankheitsproducten nachweisbare Toxin besitzt heftige local nekrotisirende und allgemein toxische Wirkungen und ruft eigenthümliche Degenerationen an den Leukocyten des Kaninchens hervor. Es ist erheblich giftiger für diese Thierart als für Meerschweinchen und Mäuse. Durch Erhitzung auf 60° wird es völlig zerstört. Da es in den Kokkenleibern nur in ganz geringen Mengen nachgewiesen werden kann, müssen wir annehmen, dass es ein Secretionsproduct der Zelle ist. Das Protoplasmagift besitzt gleichfalls local reizende und allgemein toxische Wirkungen, ist aber hitzebeständiger und seine Toxicität schwankt für unsere Versuchsthiere nur in geringen Grenzen.

Theoretisch haben wir es also bei der Infection mit lebendem Materiale mit zwei Giftsubstanzen zu thun. Hiervon wird jedoch die eine, das toxische Protoplasma, erst in Action treten können, wenn Kokken in grösserer Menge der Auflösung verfallen sind. Aus diesem Grunde und auch wegen seiner geringeren Giftigkeit wird dasselbe neben dem secernirten, bezw. in der Culturflüssigkeit aufgespeicherten Toxin nur eine untergeordnete Rolle spielen.

---

*) Dass auch Protoplasmasubstanzen von der Beschaffenheit der Z. St. Fl. in alten Culturen in die Culturflüssigkeit übergehen ist wahrscheinlich. Es scheint mir hierfür die Fällbarkeit derselben mit Säuren und basischen Farbstoffen zu sprechen.

Die Virulenz des Staphylokokkus pyogenes.*)

Die Intensität der krankmachenden Wirkung (Virulenz) beim Staphylokokkus pyogenes.

I. Begünstigung der krankmachenden Wirkung durch zufällige Umstände.

Virulenz ist nach dem herrschenden Sprachgebrauch der Ausdruck für die krankmachende Leistungsfähigkeit eines Bakteriums in quantitativer Beziehung. *Koch* wollte zunächst einen solchen Begriff nicht anerkennen. Er vertrat vielmehr im Einklang mit seinen übrigen Anschauungen über die Constanz der Bakterien den Standpunkt, dass eine wirkliche Reincultur in ihrem pathogenen Vermögen durch die Thierpassage nicht verändert werde. Steigerungen derselben, wie sie frühere Autoren durch fortgesetzte Uebertragung des Virus von Thier zu Thier erhalten haben wollten, erklärte er vielmehr dadurch, dass im Verlaufe derselben das pathogene Bakterium immer mehr von nebensächlichen Beimischungen befreit und so das übertragene Virus thatsächlich zu einer Reincultur geworden sei. Diese Anschauungen wurden durch die weiteren bakteriologischen Erfahrungen nicht bestätigt, es zeigte sich vielmehr, dass die Virulenz der Bakterien in ziemlich grossen Grenzen zu schwanken vermag. Dass die Staphylokokken hier keine Ausnahme machen, ist jetzt längst anerkannt. Aber noch ausgangs der Achtzigerjahre hatte sich *Grawitz* durch Nichtberücksichtigung dieser Thatsache zu der irrthümlichen Anschauung verleiten lassen, dass die Staphylokokken an sich gar nicht zur Erzeugung von Entzündung und Eiterung befähigt seien. Zur Erzeugung dieses Effectes bedürfe es vielmehr noch besonderer begünstigender Umstände, also offene Wunde, Trauma oder besonderer pathologischer Veränderungen der Gewebe.

Die *Grawitz*'schen Angaben, die schon den früheren Untersuchungen von *Rosenbach, Lübbert, Passet* widersprachen, wurden gleichwohl von *Fränkel* (81), *Burginsky* (87) und anderen einer Nachprüfung unterzogen, wobei sich dann ergab, dass der Staphylokokkus sehr wohl imstande ist, für sich allein Entzündung zu erregen, vorausgesetzt eben, was *Grawitz* nicht berücksichtigt hatte, dass er eine genügende Virulenz besitzt.

Die durch diese Controverse in Fluss gekommenen Untersuchungen haben nun die Aufmerksamkeit auf eine Reihe accidenteller Momente gerichtet, die imstande sind, die krankmachende Fähigkeit der Staphylokokken zu begünstigen.

Waterhouse (78) fand, dass Staphylokokken, die für sich allein unwirksam waren, Peritonitis hervorrufen konnten, wenn sie mit schwer resorbirbaren Substanzen — hier waren schon Blutgerinnsel ausreichend — zusammen eingespritzt wurden. Stärkere Wirkung ergab sich nach meinen eigenen Versuchen auch bei gleichzeitiger Einführung mancher Kohlearten. Ueber die infectionsbegünstigende Wirkung von Chemikalien berichtet *Herman* (80) in eingehenden Versuchen. Derselbe fand, dass eine vorherige Behandlung der Gewebe mit Carbolsäure 3%

*) Die Untersuchungen beziehen sich zumeist auf den Staphylokokkus pyogenes aureus.

und Sublimat 1‰ einen guten Boden für die Staphylokokken bereitete — für die Anhänger der chemischen Wunddesinfection eine wenig erfreuliche Beobachtung.

Weiterhin erwiesen sich die Verhältnisse der Blutzufuhr als nicht gleichgiltig. *Waterhouse* hat darüber Versuche angestellt und dabei den ungünstigen Einfluss der venösen Stauung feststellen können. Eine Staphylokokkeninfection unter die Haut des Scrotums, die sonst erfolglos blieb, führte bei dem gleichen Material zum Abscess, wenn durch Anlegung eines Gummiringes eine Blutstauung hervorgerufen war. Günstig soll dagegen nach *Gärtner* (84) für den Heilverlauf die locale Anämie wirken, wie sie durch Arterienunterbindung erzielt werden kann. Dasselbe wurde für die Streptokokkeninfectionen von *Ochotine* behauptet, von *Roger* aber, dem ich übrigens beipflichten möchte, geleugnet. Der locale Process wird nach *Reichel* weiter ungünstig beeinflusst durch alle Umstände, die Abfluss und Resorption der Gifte erschweren — bei der energisch nekrotisirenden Kraft derselben sehr wahrscheinlich.

Aber auch der Beschaffenheit des Gesammtorganismus kommt eine grosse Bedeutung für den Verlauf der Infection zu. Alles, was die reactive Kraft der Zelle schwächt, begünstigt indirect die Krankheitserreger. Demselben Effecte dienen Herabsetzung der Alkalescenz des Blutes *(Reichel)* und Blutentziehungen. *Gärtner* konnte Thiere, denen er ein Zehntel ihres Blutes genommen hatte, mit Staphylokokkenmengen tödten, die normale Thiere reactionslos vertrugen.

Dahingegen hat sich die infectionsbegünstigende Wirkung des Traubenzuckers, durch die man die besondere Disposition der Diabetiker für Staphylokokkenmykosen erklären wollte, nicht mit Sicherheit erweisen lassen. *Bujwid* (82) wollte zwar bei seinen Versuchsthieren, denen er Traubenzucker in verschiedenster Weise einführte, einen solchen Einfluss wahrgenommen haben. Die Nachuntersuchungen von *Nicolas, Hermann,* sowie meine eigenen vermochten die *Bujwid*'schen Angaben nicht zu bestätigen. Man muss vielmehr annehmen, dass jene Disposition der Diabetiker, so weit sie nicht schon eine Folge des Kräfteverfalles ist, auf Verhältnissen beruht, die sich zur Zeit noch unserer Kenntniss entziehen.

II. Beeinflussung der Virulenz durch Thierpassage.

Die Erhöhung der Virulenz der Staphylokokken durch fortlaufende Thierpassage, d. h. durch fortgesetzte Impfung des von dem vorhergehenden Thiere gewonnenen Virus auf das folgende, und zwar in fallenden Dosen — stösst bei Benützung des Kaninchens als Versuchsthier meist auf keine grossen Schwierigkeiten. Doch muss man sich namentlich bei den ersten Thierpassagen bewusst bleiben, dass der Thierkörper sowohl virulenzabschwächend wie virulenzerhöhend wirken kann.

Auch der Ort der Application scheint hier eine Rolle zu spielen, indem Injectionen in die Brusthöhle leichter zu Abschwächungen führen als beispielsweise solche zwischen die Muskeln. Wie schnell sich bisweilen solche Abschwächungen vollziehen können, mag das folgende Beispiel zeigen:

Kaninchen 53 (780 Grm.) erhält eine 24stündige Agarcultur von Staphylokokkus aureus M. in die Brusthöhle. Tod nach achtzehn Stunden.

Kaninchen 54 (850 Grm.) erhält eine 24stündige Agarcultur aus dem Exsudat von Kaninchen 53 in die Brusthöhle. Tod nach vier Tagen.

Kaninchen 55 (800 Grm.) erhält das Exsudat von Kaninchen 54 (5 Ccm.) in die Brusthöhle. Tod nach elf Tagen.

Terni (75) verfuhr zum Zwecke der Virulenzerhöhung bei ganz wenig virulenten Culturen in der Weise, dass er vermittels grosser Mengen bei Kaninchen zunächst subcutane Abscesse hervorrief. Aus dem Eiter wurden nach einigen Tagen neue Culturen angelegt und diese in derselben Weise übertragen. Er gelangte so schliesslich zu Culturen, die in geringen Mengen applicirt, die Thiere unter dem Bilde der „Septikämie" tödteten.

Van de Velde injicirte zunächst grosse Mengen (4 Ccm.) seines wenig virulenten Staphylokokkus in die Brusthöhle von Kaninchen. Aus den Exsudaten wurden neue Culturen angelegt und hiervon kleinere Mengen intrathoracal applicirt. Dies Verfahren wurde fortgesetzt, bis nach der 18. Passage schon $^1/_{100}$ Ccm. zur Tödtung hinreichend war.

In meinen Versuchen ergab sich als der zweckmässigste Applicationsmodus, wenigstens für den Anfang, die intramuskuläre Infection. Von einer Cultur, die anfangs nur in Mengen von 5 Ccm. tödtete, waren nach der achten Passage schon $^1/_{100}$ Ccm. für denselben Zweck ausreichend.

Ein zu hoher Virulenz für das Kaninchen herangezüchteter Staphylokokkus zeigt nun aber keineswegs auch eine solche für andere Thiere. Der eben von mir erwähnte hochvirulente Staphylokokkus (Staphylokokkus aureus O. II) zeigte, obwohl seine Virulenz für das Kaninchen um das 500fache gestiegen war, eine viel unerheblichere Steigerung seiner Virulenz für Mäuse und fast gar keine solche für das Meerschweinchen. Analoge Beobachtungen hat schon *Terni* mitgetheilt und ich kann weiter auf die Beobachtungen von *van de Velde* hinweisen, der seinen hochvirulenten Kaninchenstaphylokokkus für Hunde nicht virulenter fand als den kaninchenunvirulenten. Es gelang auch nicht durch die Passage durch den Hundekörper einen Staphylokokkus virulenter für Kaninchen zu machen.

Nach alledem müssen wir auch für die Staphylokokken ebenso wie für die Streptokokken das Vorhandensein einer besonderen specifischen Virulenz stipuliren, die acquirirt wird durch den wiederholten Aufenthalt des Kokkus in einer gewissen Thierspecies und die ihren Ausdruck findet in einer besonderen Angriffsfähigkeit desselben gegenüber den Angehörigen dieser Species.

III. Ueber das Wesen der Virulenz.

Das Wesen der Virulenz der Staphylokokken ist vor einigen Jahren von *van de Velde* in einer längeren Studie einer systematischen Untersuchung unterzogen worden. Bei der Wichtigkeit des Gegenstandes für die Auffassung der natürlichen Immunität glaube ich seine Ausführungen hier nicht übergehen zu können, umsomehr, als sie sich in einigen Punkten nicht mit meinen Versuchsergebnissen decken.

Van de Velde glaubte die Ursache der Virulenz in einer erhöhten Widerstandsfähigkeit des virulenten Staphylokokkus gegenüber den bak-

tericiden Stoffen des thierischen Organismus gefunden zu haben. In der That konnte er, wenn er nach der *Buchner*'schen Versuchsanordnung Exsudate auf Staphylokokken verschiedener Virulenz einwirken liess, feststellen, dass die Keimzahl der unvirulenten Staphylokokken viel stärker abnahm als die der virulenten. Bei meiner Nachprüfung der Resultate benutzte ich centrifugirte Aleuronatexsudate von Kaninchen. Je 1 Ccm. eines solchen Exsudates wurde geimpft mit je 1 Oese verschiedener Verdünnungen der 24stündigen Bouilloncultur eines unvirulenten und eines virulenten Staphylokokkus. Die Resultate enthalten Tabelle 1—4.

Tab. 1. Impfmaterial: 1 Oese 24stündiger Bouilloncultur des unvirulenten Staphylokokkus O.I. in verschiedener Verdünnung mit 0·6%iger Kochsalzlösung. Exsudat von K. 84.

Grad der Verdünnung	Keimzahl nach Stunden			
	0	2	6	24
B.-Cultur 10mal verdünnt	4900	4000	200	5
B.-Cultur 100mal „	600	200	50	0
B.-Cultur 10.000mal „	8	8	2	0

Tab. 2. Derselbe Versuch mit dem virulenten Staphylokokkus O. II.

Grad der Verdünnung	Keimzahl nach Stunden			
	0	2	6	24
B.-Cultur 10mal verdünnt	5400	5000	2250	0
B.-Cultur 100mal „	800	350	250	0
B.-Cultur 10.000mal „	10	6	4	0

Tab. 3. Wiederholung der Versuche mit anderen Staphylokokken. Unvirulenter Staphylokokkus M. I. Exsudat K. 86.

Grad der Verdünnung	Keimzahl nach Stunden			
	0	2	6	24
B.-Cultur 10mal verdünnt	3600	200	34	0
B.-Cultur 100mal „	448	32	6	0
B.-Cultur 1000mal „	68	5	3	0
B.-Cultur 10.000mal „	7	5	0	0

Tab. 4. Virulenter Staphylokokkus M. II. Exsudat K. 86.

Grad der Verdünnung	Keimzahl nach Stunden			
	0	2	6	24
B.-Cultur 10mal verdünnt	5300	5400	3600	—
B.-Cultur 100mal „	480	500	400	—
B.-Cultur 1000mal „	60	40	50	—
B.-Cultur 10.000mal „	8	6	7	—

Wurden die geimpften Exsudatmengen nach 24stündiger Einwirkung auf die Staphylokokken in toto in Bouillon übertragen, so trat

fast in allen Fällen üppiges Wachsthum ein, auch bei den letzten Verdünnungen.

Betrachtet man diese Resultate, so ergibt sich, dass die Einwirkung der Exsudate auf die unvirulenten Staphylokokken ausgesprochener erscheint als auf die virulenten; es ergibt sich aber auch weiter, dass es sich weder bei den einen noch bei den anderen um Abtödtung handeln kann. In der That, eine Exsudatmenge, die in sechs Stunden die Keimzahl einer Oese von 4900 auf 200 heruntersetzt, also doch 4700 Keime abtödten müsste, vermag die Keimzahl von acht nicht auf Null zu bringen! Berücksichtigen wir die Abnahme mit steigender Verdünnung, so ergibt sich, dass dieselbe relativ mit steigender Verdünnung immer geringer wird. Für ein derartiges Verhalten kann ich die einzige Erklärung nur im Eintreten von Agglutination erblicken. Die Agglutination muss sich umsomehr bemerkbar machen, je enger die Keime zusammenliegen, d. h. je mehr Keime eingeimpft sind, und sie muss zurücktreten bei sehr geringer Keimzahl. Bei Einbringung grösserer Keimmengen als sie aus Gründen der Zweckmässigkeit zu dieser Art Versuchen in Anwendung gezogen werden, lässt sich die Agglutination auch meist mikroskopisch und makroskopisch demonstriren.*)

Durch Erhitzen der Exsudate, sowie durch Zusatz mancher Stoffe lässt sich das Phänomen inhibiren. Namentlich wirksam erwies sich mir in dieser Hinsicht die Staphylokokken-Leibessubstanz, und zwar sowohl der in Lösung gehende Theil wie der unlösliche Rückstand. Ich habe zu je 1 Ccm. Exsudat 0·5 Ccm von einer 2%igen Z. St. Fl. von einem virulenten Staphylokokkus O. III. und einem unvirulenten O. I, ferner 0·002 Grm. unlöslichen Z. St. R. [aufgeschwemmt in 0·5%iger Kochsalzlösung]) von denselben Staphylokokken zugesetzt und zur Controle nur 0·5 Ccm., 0·6%ige Kochsalzlösung zugefügt. Die Impfung geschah mit einer zehnfachen Verdünnung einer 24stündigen Bouilloncultur des unvirulenten Staphylokokkus M. I. Die Resultate gibt die Tabelle 5.

Tab. 5.

Mischung von Exsudat und Kokkensubstanz	Keimzahl nach Stunden		
	0	3	6
Controle:			
1 Ccm. Exsudat + 0·5 Ccm. 0·6%ige Kochsalzlösung	4000	700	20
1 Ccm. Exsudat + 0·5 Ccm. Z. St. Fl. O. I . .	3200	3500	2000
1 Ccm. Exsudat + 0·5 Ccm. Z. St. Fl. O. III . .	3400	3000	2450
1 Ccm. Exsudat + 0·5 Ccm. Aufschwemmung von 0·002 Z.St R. O. I. in 0·6%iger Kochsalzlösung	3500	3800	2600
1 Ccm. Exsudat + 0·5 Ccm. Aufschwemmung von 0·002 Z. St. R. O. III. in 0·6%iger Kochsalzlösung	3900	3700	800

Nach 24 Stunden war allerdings die Keimabnahme in sämmtlichen Mischungen deutlich. Immerhin zeigen die Versuche, die wiederholt in dem gleichen Sinne ausfielen, dass Zusätze von gelöster Kokkensubstanz

*) Am leichtesten agglutiniren ja bekanntlich die beweglichen Bakterien Cholera, Typhus etc., in Exsudaten aber auch makroskopisch deutlich Staphylokokken, Milzbrand etc.

die agglutinirende Wirkung der Exsudate zeitweise suspendiren können, ohne dass aber Unterschiede bemerkbar werden, je nachdem die Substanz von virulentem oder unvirulentem Materiale stammte. Die geringere Agglutinirbarkeit der virulenten Staphylokokken dürfte also nicht auf einer besonderen chemischen Beschaffenheit der Leibessubstanz beruhen. Weiter zeigen die Versuche, dass die agglutinirende Wirkung von Exsudaten auch ohne Zusatz von Nährstoffen (die eigene Leibessubstanz stellt eine solche für die Staphylokokken nur sehr ungenügend dar) und ohne dass Aenderungen der osmotischen Verhältnisse eintreten, erheblich beeinflusst werden kann.

Ohne mich an dieser Stelle weiter in das Gebiet der jetzt wieder eifrig ventilirten Alexintheorie zu verlieren, möchte ich nur nochmals betonen, dass wir bei den Staphylokokken die Keimverminderung in den Zählplatten nur zum allergeringsten Theile auf Rechnung einer wirklichen Abtödtung zu setzen haben. Möglich ist ja, dass es sich bei diesen Vorgängen um die Einleitung der Abtödtung handelt. Diese selbst aber dürfte doch erst das Resultat längerer complicirterer Processe sein, bei denen auch andere Factoren noch eine Rolle spielen.

Wenn aber nun die Vernichtung des unvirulenten Staphylokokkus längere Zeit in Anspruch nimmt, weshalb vermehrt er sich während dieser Zeit nicht und bildet Gift? Hierin scheint mir der Kernpunkt der Frage zu liegen.

Betrachten wir einen Augenblick das Verhalten der Bakterien ausserhalb des Körpers auf künstlichen Nährböden, so sehen wir, dass ein Wechsel derselben auf Vermehrung und Giftbildung einen erheblichen Einfluss ausübt. Je mehr dann eine Gewöhnung an die neuen Verhältnisse eintritt, um so lebhafter gestaltet sich die Vermehrung, um so früher setzt vor allem die Giftbildung ein. Das sind für den Bakteriologen alltägliche Erfahrungen. Setzen wir nun an Stelle des künstlichen Nährbodens das Thier, so wird auch hier mit häufig wiederholter Passage eine Gewöhnung eintreten können, in dem Sinne, dass das Bakterium jetzt sehr bald nach seiner Einführung zu Vermehrung und Giftbildung kommt.

Van de Velde meint, dass in Bezug auf Vermehrung und Giftbildung der virulente Staphylokokkus sich nicht von dem unvirulenten unterscheide. Für Bouillon ist das richtig, ich fand sogar, dass die hochvirulenten in Bouillon, zunächst wenigstens, weniger Gift bildeten als die unvirulenten. Aber Vermehrungsfähigkeit und Giftbildung nach Uebertragung in Bouillon geben uns keinen Massstab für die Beurtheilung der gleichen Eigenschaften im Thierkörper. Dass auch das Blutserum nur unvollkommen die Verhältnisse des lebenden Organismus wiedergibt, ist auch sicher. Man vergleiche nur den Giftgehalt eines durch einen hochvirulenten Staphylokokkus in 8—12 Stunden angeregten Exsudats mit der einer gleich alten Serumcultur desselben Staphylokokkus; die Ueberlegenheit des ersteren wird ohne weiteres in die Augen fallen. Der Grund hierfür kann auch nicht in einer besonderen Gunst der Existenzbedingungen an sich liegen, unter denen sich der Staphylokokkus im lebenden Körper befindet; das geht wieder daraus hervor, dass im Beginn der Thierpassage, so lange der Staphylokokkus noch unvirulent ist, der Giftgehalt der Exsudate sich in mässigen Grenzen hält. Alle diese Erscheinungen finden nur ihre Erklärung,

wenn wir annehmen, dass für den virulenten Staphylokokkus die Säfte des thierischen Körpers mit allen ihren Eigenthümlichkeiten zu einem adäquaten Nährboden geworden sind.

Wenn ich kurz zusammenfasse, so ist der unvirulente Staphylokokkus nicht dadurch für den thierischen Organismus unschädlich, weil er ohne weiteres dessen baktericiden Wirkungen erliegt, sondern deshalb, weil er unter den für ihn ungewohnten Existenzbedingungen des lebenden Körpers nicht zu schneller Vermehrung und Giftbildung gelangt. Nicht dadurch wird der virulente Staphylokokkus zum Sieger, dass seine Substanz an sich der Abtödtung und Auflösung grösseren Widerstand entgegensetzt, sondern weil er infolge der durch Gewöhnung ermöglichten schnellen Vermehrung und Giftbildung an die Bakteriolyse und an die sonstigen Schutzvorrichtungen des Körpers unerfüllbare Forderungen stellt.

Uebersicht über die pathogenen Wirkungen der Staphylokokken bei Mensch und Thier.

Die durch die Staphylokokken bedingten pathologischen Processe im einzelnen sind Gegenstand klinischer und pathologisch-anatomischer Untersuchungen und können daher im Rahmen der vorliegenden Abhandlung keine eingehendere Berücksichtigung finden.

Die Staphylokokken in ihren verschiedenen Varietäten sind für den Menschen die häufigsten Erreger acuter eitriger Processe, sowohl solcher der äusseren Bedeckungen wie der inneren Organe. Wir kennen sie vor allem als die ausschliessliche oder doch vorwiegende Ursache der Furunkel, der Carbunkel, der Panaritien, circumscripten Phlegmonen und heissen Abscesse.*) Von den Eingangspforten an der äusseren Haut, viel seltener wahrscheinlich von den Schleimhäuten aus, kann es dann zu einem Uebergang der Kokken in die Blutbahn kommen, womit die Möglichkeit für herdförmige Erkrankungen anderer Organe, der Knochen, Gelenke, des Herzens, der Nieren etc. gegeben ist. Im Blute von Menschen sind die Staphylokokken (im Verein mit Streptokokken) zuerst von *Rosenbach* bei einem in Agonie liegenden Pyämiefall nachgewiesen worden. Bald darauf fand sie *Garré* (88) im Blute eines Osteomyelitischen. Bei Osteomyelitis hatten weiterhin *Sänger* (92), *v. Eiselsberg* (93) und namentlich *Canon* (94) positive Resultate. Prognostisch wird das Bestehenbleiben der Blutinfection als sehr ungünstig aufgefasst. Zur Technik der Blutuntersuchung sei bemerkt, dass immer mehrere Cubikcentimeter Blut (am besten mit

*) Die relative Ungefährlichkeit dieser Processe ermöglichte es, die ätiologische Bedeutung der Staphylokokken für dieselben durch Experimente am Menschen festzustellen. *Garré* (88) inficirte eine kleine Wunde am Nagelfalz mit einer Staphylokokkencultur, die aus Osteomyelitis stammte, und erzielte ein Panaritium. Dieselbe Cultur, in die Haut des Vorderarmes verrieben, liess einen mit vielen Furunkeln umsäumten grossen Carbunkel entstehen. Den gleichen Nachweis konnte nachher *Schimmelbusch* (90) führen. *Bockhart* (89) benutzte verdünnte Agarculturen und erhielt dem entsprechend nur kleine Furunkel und Impetigopusteln. *Bumm* (38) operirte wieder in der Weise, dass er sich und einigen anderen dünne Suspensionen einer Agarcultur subcutan injicirte. Das Resultat waren heisse Abscesse. In den so experimentell erzeugten Processen, die sich ganz wie die spontan acquirirten verhielten, konnten stets die Staphylokokken mikroskopisch und culturell nachgewiesen werden.

steriler Spritze aus der Armvene entnommen) zur Untersuchung verwandt werden müssen. Die Entstehung der herdförmigen Erkrankungen ist nach verschiedenem Modus denkbar. Wenn ein kokkenhaltiger Thrombus oder eine endokarditische Auflagerung sich löst und in den Kreislauf gelangt, so wird an der Haftstelle ein neuer Herd entstehen müssen. Aber nicht alle „pyämischen" Metastasen sind, wie *Klebs* besonders hervorhob, auf diese Weise zu erklären. Vielfach mögen die Ausgangspunkte kleinere Embolien darstellen, wie solche durch kokkenhaltige einzelne oder agglutinirte Leukocyten (Leukocidinwirkung) entstehen können. Aber auch ohne Embolien ist die Entwickelung neuer Herde denkbar. Ich erinnere nur an die Beobachtungen von *Wyssokowitsch* über die Aufnahme von Kokken durch die Gefässendothelien. Wichtiger noch erscheint mir die Thatsache, dass sich die Metastasen mit Vorliebe in denjenigen Organen etabliren, die eine besondere Affinität zu dem Gifte zeigen. Der Zusammenhang beider Erscheinungen dürfte einleuchtend sein. Ist ein Organ durch das an irgend einem primären Herde oder im Blute gebildete lösliche Gift in Entzündung versetzt und in seiner natürlichen Widerstandsfähigkeit herabgesetzt, so wird es für die Kokkenansiedelung die günstigsten Bedingungen bieten. Es stellt jetzt einen Locus minoris resistentiae dar, wie wir ihn experimentell durch mechanische oder andere Schädlichkeiten gerade bei den Staphylokokkeninfectionen mit Vortheil herstellen. Unter diesem Gesichtspunkte erscheint das in Lösung gehende und die ganzen Gewebe durchdringende Gift nicht nur als ein die Allgemeinfunction des Organismus störendes, sondern auch als ein den Weg der Infection beeinflussendes Agens.

Auch bei der Prädisposition des jugendlichen Knochens für die Staphylokokkeninfection haben wir uns des Giftes zu erinnern, nach dem *Denys* und *van de Velde* seine energische Wirkung auf die Zellen des rothen Knochenmarkes nachgewiesen haben. Wir dürfen aber hier auch die anatomischen Verhältnisse nicht unberücksichtigt lassen, namentlich die Weite der an den Grenzen der Intermediärknorpel vorhandenen Capillarschlingen, die die Blutströmung verlangsamen muss, sowie die Neigung der Staphylokokken zur Häufchenbildung, wodurch Gefässverschlüsse erleichtert werden [(*Lexer* (95)].

Die sich hier im jugendlichen Alter häufig abspielenden eitrigen, in ihrem Verlaufe zu Sequestrationen und Epiphysenlösung führenden Processe — die Osteomyelitis suppurativa — wurde schon von *Pasteur* (1880) auf die Wirkung derselben Kokkenart zurückgeführt, die von ihm in den Furunkeln nachgewiesen war und seiner Beschreibung nach unseren Staphylokokkus darstellte. *Pasteur* erklärte geradezu die Osteomyelitis für einen Furunkel des Knochenmarkes. Drei Jahre später fand *Becker* die Staphylokokken im osteomyelitischen Eiter und glaubte in der in goldgelben Colonien wachsenden Kokkenspecies den specifischen Erreger der Osteomyelitis gefunden zu haben. Die Untersuchungen von *Passet, Rosenbach, Krause, Garré* ergaben dagegen die Identität der Osteomyelitisstaphylokokken mit denen anderer Herkunft.

Trotz aller dieser Untersuchungen hat es jedoch Jahre gedauert, bis man allgemein die gewöhnlichen Staphylokokken als Erreger der Osteomyelitis anerkannte. Es war namentlich das vielfach beobachtete

endemische Auftreten der Osteomyelitis, ferner die prodromalen Allgemeinerscheinungen (Katarrhe des Respirations- und Digestionstractus), die die Identität der hier supponirten Noxe mit der des Furunkels unwahrscheinlich machten. Zur Zeit wissen wir, dass auch die Staphylokokken grosser Schwankungen der Virulenz fähig sind, ja dass sie auch eine gewisse specifische Virulenz erlangen können. So mögen auch die Osteomyelitiskokken durch Menschenpassage oder auch durch andere, uns zur Zeit noch unbekannte Momente eine besondere Fähigkeit zur Einleitung des besonderen Processes erlangt haben. Die Allgemeinerscheinungen aber, die dem Beginn der localen Erkrankung häufig voraufgehen, dürften in der Wirkung löslicher Gifte ihre Erklärung finden. Jedenfalls besteht kein Grund mehr, die Osteomyelitis anders als eine Pyämie der Wachsthumsperiode aufzufassen, die vorzugsweise von Staphylokokken bedingt wird.*)

Von den übrigen Organen neigen am meisten zur Localisation der Staphylokokken, wie schon erwähnt, die Nieren und weiter das Herz, in zweiter Linie kommen die Lungen, Leber, Milz. Die Grösse und Zahl der Herde schwankt je nach Dauer und Intensität in erheblichen Grenzen. Ausser kleinsten miliaren Abscesschen werden auch, namentlich in den Lungen, solche von grösserer Ausdehnung, von Walnussgrösse und darüber beobachtet. Histologisch weisen die ausgebildeten Abscesse ein innen erweichtes Centrum auf, in dessen Umgebung die Kokken in lebhafter Wucherung begriffen sind. Die Zone der Kokkenwucherung wird ihrerseits von nekrotischen Massen umschlossen, um die herum die Zone der entzündlichen Infiltration gelegen ist.

Neben den Processen, die sich in der unmittelbaren Nähe der Kokkenansiedelungen etabliren und die eigentlichen Herde vorstellen, finden sich dann noch Veränderungen in anderen Organtheilen und Organen, die nicht von der Kokkenwucherung betroffen sind; es sind das parenchymatöse Veränderungen, die vorwiegend in trüber Schwellung des Epithels (Niere) und weiter auch in fettiger Degeneration (Herz) ihren Ausdruck finden. Dieselben können gegenüber den Herdbildungen so in den Vordergrund treten, dass sie das Krankheitsbild beherrschen (toxische Formen der Staphylokokkenmykose). Sie haben ihre Analoga in den bakteriellen Vergiftungen mit Diphtheriegift oder Tetanusgift und sind hier aufzufassen als Intoxication mit dem (hitzeempfindlichen) löslichen Staphylokokkengifte. Am Orte seiner Einführung bewirkt dasselbe, wie früher auseinandergesetzt, Nekrose, im übrigen Körper, namentlich auch an den Nieren, degenerative Processe. Diesen toxischen Formen lassen sich diejenigen als parasitäre gegenüberstellen, in denen die Zahl und Grösse der Eiterherde in den Vordergrund tritt.

Ueber den Antheil der verschiedenen Varietäten der Staphylokokken an der Erregung eitriger Processe beim Menschen existirt

---

*) Auch andere Bakterien sind in osteomyelitischen Processen nachgewiesen worden, insbesondere Streptokokken [*Lannelongue* und *Achard* (96)] sowie Pneumokokken [*Leyden* (98), *Netter et Mariage* (99)]. Die durch diese Bakterien bedingten Osteomyelitiden scheinen sich jedoch in manchen Punkten abweichend zu verhalten und werden deshalb von manchen Autoren (*R. Müller*) nicht zur eigentlichen Osteomyelitis gerechnet. Näheres hierüber *Lexer* (95).

keine brauchbare Statistik Folgende Angaben mögen hier aber zur Orientirung dienen: *Rosenbach* fand bei 15 heissen Abscessen 13mal den Staphylokokkus aureus, 1mal den aureus mit dem albus zusammen, 1mal den albus allein. In *Passet's* 33 Fällen fand sich

11mal Staph. aureus und albus
4 „ Staph. albus
2 „ Staph. albus und citreus
8 „ Strept. pyogenes
1 „ Staph. albus und Streptokokken
1 „ Staph. albus und citreus und Streptokokken
2 „ Staph. cereus albus
1 „ Staph. cereus flavus.

Garré hatte bei 45 Untersuchungen von Furunkeln, heissen Abscessen und Phlegmonen folgende Resultate:

Staph. aureus in 13 Fällen,
Staph. albus in 18 Fällen,
beide Staphylokokken in 24 Fällen.

Welch (105) fand in leichten Fällen von Wundinfection meist den Staph. albus, 2mal den Staph. citreus, 3mal den Staph. cereus albus.

Maggiora und *Gradenigo* fanden den Staph. citreus verschiedentlich in Furunkeln.

In *Christmas'* 75 Fällen heisser Abscesse wurde 43mal der Staph. aureus, 26mal der Staph. albus nachgewiesen.

Lannelongue constatirte unter 90 Fällen von Osteomyelitis 56mal ausschliesslich den Staph. aureus, 11mal den albus, 1mal den citreus *(Lannelongue et Achard)*.

Fischer und *Levy* (100) fanden dagegen bei 200 Eiterungen den Staph. albus viel häufiger als den aureus, bei Osteomyelitis speciell den albus 9mal gegen 2mal den aureus.

Canon konnte unter 26 Fällen von Osteomyelitis den Staph. albus nur 4mal nachweisen. Auch *Lexer* erklärt, dass in der *Bergmann*'schen Klinik trotz sorgfältiger Untersuchung aller Fälle in einem Zeitraum von drei Jahren nur 1mal der Staph. albus als alleiniger Erreger der Osteomyelitis festgestellt werden konnte.

Diese wenigen Angaben mögen genügen, um zu zeigen, dass im allgemeinen der Staphylokokkus aureus in der Aetiologie der eitrigen Processe des Menschen eine grössere Rolle spielt als der albus, wogegen der citreus ganz zurücktritt. Es hat sich dagegen nicht ergeben, dass der Staphylokokkus albus an sich unvirulenter sei als der aureus. Es ist vielmehr auch jener zur Erregung schwerster Krankheitsformen befähigt, und zwar speciell auch bei der Osteomyelitis.

Für die Thierwelt scheint, soweit bis jetzt bekannt, der Staphylokokkus eine weit geringere Rolle als spontaner Krankheitserreger zu spielen.

Richet und *Héricourt* (102) fanden im Abscess eines Hundes einen hochvirulenten Staphylokokkus. *Lucet* (103) beschreibt eine infectiöse Osteoarthritis bei jungen Gänsen, die durch den Staphylokokkus aureus hervorgerufen wurde. Weiter citirt *Lexer* nach dem Handbuche der

thierärztlichen Chirurgie von *Fröhner* (Wien 1896) einen von *Haas* als „Osteomyelitis infectiosa beim Rinde“ beschriebenen Fall, wo sich im Marke des befallenen Knochens Eiterherde mit dem Staphylokokkus aureus und albus fanden.*)

Gegenüber der künstlichen Infection erwiesen sich dagegen unsere meisten Hausthiere (Pferd, Rind, Ziege, Hund) sowie auch die kleineren Versuchsthiere (Kaninchen, Maus, Meerschweine) in mehr oder minder hohem Grade empfänglich. Am meisten sind hiervon studirt die Infectionen beim Kaninchen, die auch hier eine kurze Erörterung erfahren sollen.

Eine Inficirung von der intacten Haut aus, die beim Menschen so leicht gelingt, ist beim Kaninchen noch nicht erzielt worden. Auch die cutane Impfung bleibt meist erfolglos, wenn das Material nicht sehr virulent ist. Bei subcutaner Application kleinerer Mengen weniger virulenten Materiales kommt es wohl zur Bildung eines kleinen Knötchens, das nach einigen Tagen verschwindet. Führt man jedoch grössere Mengen (mehrere Cubikcentimeter) ein, so gelingt es bei einer Reihe von Thieren, Abscesse zu erzeugen. Ist die Cultur virulent, so kommt es zu ausgebreiteter sulzig-ödematöser Schwellung des Unterhautgewebes, die bei ganz hochvirulenten Culturen aber wieder an Intensität geringer werden kann. Ganz analog ist das Verhalten bei intramusculärer Impfung, doch scheint von hier aus eine tödtliche Infection leichter zu gelingen als bei der subcutanen Impfung.

Bei Impfung grösserer Mengen weniger virulenten Materiales in die Bauch- und Brusthöhle kommt es, falls die Thiere nicht in ganz kurzer Zeit (24—30 Stunden) eingehen, zu eitrigen Processen, eitriger Pleuritis, Peritonitis, zu Pneumonien etc. Bei ganz acutem Tode finden sich die Erscheinungen acutester Entzündung mit reichlichen blutig-serösen Exsudaten.

Im Blute der durch die genannten Infectionen getödteten Thiere finden sich die Kokken spärlich oder auch gar nicht vor. Auch bei dem acuten Tode (innerhalb 24 Stunden nach der Infection) durch Impfung virulenter Culturen fand ich das Blut oft völlig steril. Jedenfalls spielt die Blutinfection, die bei der Infection mit virulenten Streptokokken nie fehlt, bei den Staphylokokken nur eine geringe Rolle. Die Staphylokokken gelangen bei der acut verlaufenden Infection zu reichlicher Entwicklung nur am Orte ihrer Einführung. Hier wird das Gift producirt, das in den Kreislauf übergehend den Tod bewirkt. Dem entsprechend finden sich im allgemeinen auch keine Metastasirungen, wohl aber parenchymatöse Veränderungen der inneren Organe, vor allen der Nieren.

Ist der Verlauf ein mehr chronischer, so tritt der Tod unter marantischen Erscheinungen ein. In der Hauptsache sind auch diese als Resultat der Giftwirkung anzusehen, wenn auch in einzelnen Fällen durch grobe anatomische Veränderungen (umfangreiche Verwachsungen

*) In neuester Zeit ist von *Vanselow* und *Czaplewski* (Centralbl. f. Bakt. XXV) ein Staphylokokkus quadrigeminus beschrieben worden, der sich in den Pusteln und Organen vaccinirter Kälber fand. Derselbe verflüssigt *Löffler*'sches Serum, sein Pigment ist mehr pfirsichblüthenfarben, das Korn ist grösser als das der übrigen Staphylokokken. Derselbe soll für Kälber und auch für den Menschen etwas pathogen sein.

von Darmschlingen bei intraperitonealer Infection) der Tod mit bedingt sein kann. Bei dieser chronischen Intoxication werden häufig auch die Darmepithelien besonders in Mitleidenschaft gezogen, was weiter secundäre Infectionen von Seiten der Darmbakterien zur Folge haben kann *(Mosny* und *Marcano)*. Auch diese Affection lässt sich, wie ich früher mittheilte, durch Einführung des Giftes erzielen. Das acute wie chronische Bild der Staphylokokkeninfection entspricht durchaus dem, was sich durch Application des löslichen Giftes erzielen lässt, und es lässt sich ohne weiteres behaupten, dass die Staphylokokkenmykose des Kaninchens in der Hauptsache auf eine Intoxication herauskommt.

Einen wesentlich anderen Verlauf der Erkrankung kann man jedoch erzielen durch directe Einführung der Kokken ins Blut, durch die intravenöse Infection. Jetzt erhalten wir, selbst bei acutem Verlaufe, Metastasirungen, deren Ausdehnung, abgesehen von der Virulenz des Coccus, von der Dauer der Erkrankung abhängt. Bei sehr kurzer Dauer der Erkrankung kommen die vorwiegend in Herz und Nieren sich etablirenden Abscesschen nicht über miliare Grösse hinaus. Bleiben die Thiere aber mehrere Tage oder gar Wochen am Leben, so finden wir auch grössere Herde von Stecknadelknopf- bis Erbsengrösse und darüber. Bei derartigem Verlaufe werden denn auch Herde an Stellen sichtbar, wo wir sie bei acuterem Verlaufe nicht auffinden können, also in den Gelenken, Muskeln, in Lungen, Leber und auch in der Submucosa des Darmes.

Bei weniger virulentem Materiale kann auch bei längerer Dauer der Erkrankung die Ausdehnung der Herde eine geringe bleiben. Tödtet man derartige Thiere 14 Tage bis 3 Wochen nach der Infection, so sind speciell an den Nieren interstitielle Processe nachweisbar. Die Oberfläche der Nieren kann dann dicht gesprenkelt erscheinen durch feinste grübchenartige Vertiefungen, von denen eine jede einem Herdchen zelliger Infiltration entspricht *(Ribbert)*. Auch Verkalkungen sah *Ribbert*, die in Form feinster weisser Pünktchen in den Nieren auffielen.

Als Resultat der Giftwirkung finden sich auch bei intravenöser Infection die vorher erwähnten parenchymatösen Veränderungen. Am deutlichsten pflegen dieselben hervorzutreten an den Organen, die zugleich der Sitz einer Herderkrankung sind.

Unter den metastasirenden Allgemeininfectionen des Kaninchens haben zwei Formen wegen ihrer weitgehenden Analogieen mit wichtigen Erkrankungen des Menschen ein besonderes Interesse erweckt, das ist die experimentelle Osteomyelitis und Endokarditis.

Schon Mitte der Achtzigerjahre am Reichsgesundheitsamte von *Rosenbach* ausgeführte Versuche hatten ergeben, dass nach intravenöser Injection von Staphylokokken sich Knocheneiterungen beim Kaninchen erzielen lassen, wenn der Knochen vorher durch Fracturirung oder Quetschung lädirt worden war. *Rodet* und *Courmont* (104) zeigten dann weiter, dass bei Benutzung junger Thiere die Lädirung des Knochens nicht nöthig ist. Diese Angabe hat sich auch weiterhin als richtig erwiesen. *Colzi* (106) gelang in dieser Weise die Erzeugung von Osteomyelitis in 50% der Fälle, ebenso waren erfolgreich die Versuche von *Lannelongue* und *Achard* (96), *Courmont* und *Jaboulay* (105),

Buday und *Lexer*. Die so experimentell erzeugten osteomyelitischen Processe verhalten sich ihrem Sitze wie ihrem Charakter nach ganz analog der durch Staphylokokken erzeugten Osteomyelitis des Menschen. Sie etabliren sich gleichfalls in der Nähe der Knorpelfugen in herdförmigen Eiterungen, die zu oberflächlicher Sequesterbildung und zu Lockerung oder Lösung der Epiphysen führen können. Ausser an jungen Kaninchen sind diese Versuche auch an jungen Hunden erfolgreich gewesen.

Nicht ganz so glatt gelingt die Erzeugung der experimentellen Endokarditis. Schon *Klebs* und *Rosenbach* hatten bei Thieren Endokarditis erzeugt, indem sie die Herzklappen durch von der Carotis aus eingeführte Sonden lädirten. Bei diesen Versuchen waren jedoch noch keine absichtlichen Infectionen gesetzt. *Wyssokowitsch* fügte dann der angegebenen Versuchsanordnung noch die intravenöse Injection von Staphylokokken bei und gelangte so zu einer echten Staphylokokken-Endokarditis. *Ribbert* ersetzte in seinen Versuchen die mechanische Läsion der Klappen durch Einbringung feinster Kartoffeltheilchen in den Kreislauf, indem er abgeschabte Kartoffelculturen einspritzte. *Passet* und *Lübbert* hatten schliesslich in einzelnen Fällen auch schon bei Benutzung von anderen Culturen, wo jede mechanische Wirkung ausgeschlossen war, Erfolg.

Bei Meerschweinchen gelang es mir nur mit grossen Dosen (5 Ccm.) meiner Staphylokokken tödtliche Infectionen zu erzielen. Auch bei Mäusen bedurfte es mindestens 0·1 Ccm. einer hochkaninchenvirulenten Bouilloncultur, um einen acuten Tod hervorzurufen. Die Untersuchung ergab, dass die Kokkenwucherung vorwiegend am Orte der Einführung, an dem sich dann meist ein Oedem befand, vor sich gegangen war. Die Milz war immer sehr stark geschwollen, die Zahl der Kokken im Blute aber stets eine geringe. Durch Verimpfung von Maus zu Maus liess sich die Virulenz der Cultur für Mäuse etwas heben. Die Kokken wurden dann auch zahlreicher im Blute der gestorbenen Thiere.

Zum Schlusse sei noch mit einem Worte der für die Staphylokokkeninfectionen empfehlenswerthen Bezeichnungen gedacht. In neuerer Zeit sind von *Kocher* und *Tavel* und weiter von *Brunner* Bestrebungen ausgegangen, auf Grund unserer jetzigen ätiologischen Kenntnisse präcisere und sinngemässere Ausdrücke für die verschiedenen Formen der Wundinfectionen einzuführen. In der Hauptsache scheinen mir die *Brunner*'schen Vorschläge beherzigenswerth, namentlich muss man mit ihm einverstanden sein, wenn er den Ausdruck Septikämie, der jetzt vorwiegend für Blutinfectionen ohne ausgesprochene Metastasenbildung verwerthet wird, wieder seiner alten Bedeutung — also der Bezeichnung einer Intoxication mit Faulgiften — zurückgeben will. Pyämie aber, welche Bezeichnung *Brunner* beibehält, würde man durch „metastasirende Staphylo-, resp. Streptomykose" ersetzen können. Reine Blutinfectionen kommen kaum vor. Für die meisten localen Processe werden sich die alten Namen wie Furunkel, Carbunkel etc. kaum verdrängen lassen. Wo solche fehlen, werden wir von Staphylomykosen unter Zusatz des anatomischen Sitzes des Processes und eventuell des pathologischen Charakters desselben sprechen, also „intramusculäre (phlegmonische) Staphylomykose".

Immunisirende Behandlung der Staphylokokkeninfectionen.

Von einer specifischen heilenden Therapie der Staphylokokkeninfectionen kann bislang ebenso wenig die Rede sein wie von einer solchen gegen die Streptokokkeninfectionen. Das Messer des Chirurgen und die thunlichste Beseitigung der Momente, die die krankmachende Wirkung der Staphylokokken unterstützen und auf die ich in der Hauptsache früher hingewiesen habe, stellen vor der Hand die Therapie dar. Daneben haben sich zeitweise Bestrebungen geltend gemacht, die dahin zielten, die Ausscheidung der Kokken zu befördern. So wurde auf Grund der Angaben von Seiten verschiedener Autoren *(Brunner)*, dass die Staphylokokken reichlich im Schweisse Pyämischer auftreten können, von *Gärtner* energische Diaphorese bei Allgemeininfection in Anwendung gezogen. Andere wieder wollten die Ausscheidung auf dem Wege der Nieren bewirken. *Ribbert* will gute Erfolge bei staphylokokkeninficirten Kaninchen bei Darreichung von kohlensaurem Natron gesehen haben. Die günstige Wirkung desselben soll auch hier auf der Anregung der Diurese beruhen, durch die vielleicht auch die Gifte zur Eliminirung kämen.

Wie steht es nun mit den bisherigen Aussichten für eine Therapie mit specifischen Antikörpern? Gibt es überhaupt eine Immunität gegen Staphylokokken und werden bei dieser Immunität specifische Schutzkörper gebildet? Die Erfahrung hat gezeigt, dass eine Immunität im Sinne der bei exanthematischen Krankheiten, wo eine auch leichtere Infection meist langjährigen Schutz zurücklässt, gegenüber den Staphylokokkeninfectionen nicht existirt.

Dagegen wird eine kürzer dauernde, auf Wochen und vielleicht auch Monate sich erstreckende Unempfänglichkeit von vielen Chirurgen behauptet (*Bardeleben* conf. *Petersen* pag. 368). Ausserdem aber ist neuerdings durch *Canon* und weiter durch *Petersen* der experimentelle Nachweis erbracht, dass im Blute von Personen, die Osteomyelitiden überstanden haben, Schutzkörper von unzweideutiger Wirksamkeit auftreten. *Canon* konnte mit 0·5—1·0 Ccm. Serum von solchen Personen bei intravenöser Injection junge Kaninchen gegen eine mehrere Stunden nachher erfolgende Infection mit der tödtlichen Dosis lebenden Materiales schützen. *Petersen* konnte bei gleichzeitiger intravenöser Injection von Kokken und Serum erst mit 1 Ccm. die tödtliche Dosis unschädlich machen, während er mit Bruchtheilen eines solchen ausreichte, wenn die Impfung erst 24 Stunden nach der Serumapplication vorgenommen wurde. Länger als 3 Stunden nach der Impfung hatten auch grössere Serummengen (3—5 Ccm.) keinen lebensrettenden Erfolg, auch nicht bei intravenöser Injection und nicht einmal gegenüber der tödtlichen Minimaldosis.

Zahlreich sind dann die Versuche, Thiere zu immunisiren und von ihnen wirksame Schutzkörper zu erhalten. Zahlreich sind vor allem auch die Methoden, nach denen dieser Zweck erstrebt wurde. Man kann fast sagen, dass hier jede theoretisch denkbare Möglichkeit einmal von irgend einem Experimentator in die Praxis umzusetzen versucht wurde. Ich will die verschiedenen Methoden, um thunlichst Wieder-

holungen zu vermeiden, in folgendem kurzen Schema zur Darstellung bringen.

I. Immunisirung durch einmaliges Ueberstehenlassen einer leichteren Infection.

Alter Typus der Immunisirung, ausgeführt von *Héricourt* und *Richet* bei Hunden im Jahre 1888. Das Blutserum derselben vermochte andere Hunde resistent zu machen.

II. Immunisirung durch Krankheitsproducte.

1. *Bonome* (109) injicirte Filtrate von Abscesseiter Kaninchen und fand, dass so behandelte Thiere, wenn sie hinterher mit lebenden Staphylokokken inficirt wurden, länger nach der Infection lebten als normale Controlkaninchen.

2. *Viquerat* (115) spritzte Jodtrichlorid 1‰ in Abscesse und erhielt dann aus denselben ein klares Serum, mit dem er angeblich Kaninchen immunisirte und auch beim Menschen Erfolge gehabt haben will.

III. Immunisirung durch methodische Application von Vollculturen.

1. Nicht sterilisirte Culturen.

a) Schwach virulente Culturen.

Versuche von *Terni* am Kaninchen und Meerschweinchen blieben negativ, die Thiere erlagen der Infection mit virulentem Materiale.

b) Virulente Culturen nach voraufgegangener künstlicher Abschwächung.

α) Abschwächung durch Erhitzen.

Versuche von *Kose* an drei Ziegen mit nachfolgender Behandlung von nicht abgeschwächtem, virulentem Material. Die Thiere wurden marantisch. Das Serum soll bei Kaninchen und Meerschweinchen eine lebensverlängernde Wirkung ausgeübt haben.

β) Abschwächung durch Jodtrichlorid.

Versuche von *Petersen* (an Ziegen). Auch hier wurde die Behandlung später mit vollvirulentem Materiale fortgesetzt. Nach mehrmonatlicher Immunisirung vermochte das Serum in Menge von 0·2 Ccm. eine Maus, in Menge von 1·0 Ccm. ein Kaninchen bei gleichzeitiger Injection der tödtlichen Dosis vor dem Tode zu retten.

Versuche von *Viquerat*.

c) Nicht abgeschwächte virulente Culturen in steigenden Dosen.

Reichel (111) immunisirte Hunde durch intraperitoneale Injection. Die Thiere vertrugen schliesslich sehr grosse Dosen, an denen nicht vorbehandelte schnell zugrunde gingen. Grosse Mengen von Blutserum eines immunisirten Hundes vermochten einem anderen Hund Impfschutz zu verleihen.

2. Sterilisirte Culturen.

Reichenbach (112) dampfte 4 Wochen alte Bouillonculturen bei 38°—42° im Vacuum auf ein Zehntel ihres Volumens ein und sterilisirte dann mehrere Stunden bei 55° C. 8 Ccm. hiervon tödteten ein Kaninchen von 1250 Grm. in 4 Tagen. Kaninchen, die wiederholt damit behandelt waren, wurden gegen die tödtliche Dosis immun. *Petersen* benutzte dieselben Präparate zur Vorbehandlung seiner Ziegen.

IV. Immunisirung durch Culturfiltrate in steigenden Dosen.

Versuche von *Mosny* und *Marcano* an Kaninchen. Das Serum der behandelten Thiere besass antitoxische Wirkungen. Es gelang, damit die tödtliche Giftdosis bei intravenöser gleichzeitiger Einspritzung zu neutralisiren.

Reichel behandelte in der gleichen Weise Hunde, die dadurch gegen das Gift und die lebenden Staphylokokken immun wurden.

Capmann (67) behandelte gleichfalls Hunde. Das Serum derselben bekam schützende und heilende Wirkungen gegen das Gift und die lebenden Staphylokokken bei Kaninchen und Meerschweinchen.

van de Velde und *Denys* (74) erhielten von vorbehandelten Kaninchen ein Serum, das Antileukocidin enthielt, also einen Antikörper, der die leukocytenzerstörenden Wirkungen des Staphylokokkengiftes neutralisirte.

Petersen hatte mit den Culturfiltraten negative Resultate.

V. Immunisirung mit gefällten Giften.

Rodet und *Courmont* fällten durch Alkohol ihre „vaccinirende" Substanz aus, mit der sie Kaninchen immunisiren konnten. *Tavel* hatte nach dem Verfahren dieser Autoren keine Erfolge.

Dieser Mannigfaltigkeit der Methoden gegenüber kann man die bisher erzielten Resultate, wenigstens was die Uebertragung der Immunität durch Blutserum auf andere Individuen betrifft, als recht mässige bezeichnen. Die *Viquerat*'schen Erfolge müssen schon nach der Nachprüfung von *Petersen* als äusserst problematische angesehen werden. *Parascandalo* habe ich nicht erwähnt, da seine Angaben in ihrer Totalität schwer verständlich erscheinen.

Andererseits aber ist es unzweifelhaft, dass eine Reihe von Experimentatoren wirksame Antikörper in der Hand hatte. Echte Antitoxine gegenüber dem labilen Staphylokokkengift haben vielleicht *van de Velde, Mosny* und *Marcano* und wahrscheinlich auch *Capmann* besessen. Die Antikörper der meisten übrigen Autoren — am weitesten scheint mir noch *Petersen* gekommen zu sein — dürften wohl zu den Lysinen gehört haben, also Substanzen gewesen sein, die in vitro unwirksam, im Körper dagegen durch einen eigenartigen Vorgang bakteriolytische Eigenschaften annehmen. Dieselben entstehen durch Einführung der lebenden oder todten Kokkensubstanz. Ihre Bildung vollzieht sich leichter als die der Antitoxine, und sie stellen nach meiner Erfahrung in der Hauptsache auch das wirksame Princip der Sera dar, die auf dem Wege der Immunisirung mit lebender Cultur gewonnen sind.

Die von mir hergestellten Antikörper, durch systematische Einführung von Producten der Kokkenleibessubstanz gewonnen, die ich vorläufig auch dieser Kategorie zurechnen muss, hatten schon nach 6wöchentlicher Immunisirungsdauer (Ziegenversuche) einen deutlichen Schutzwerth. 0·1—0·2 Ccm. schützten bei subcutaner Injection eine 2 Stunden nachher geimpfte Maus gegen eine in 8—12 Stunden tödtliche Infection. Bei intraperitonealer Injection und, wenn 24 Stunden bis zur Impfung gewartet wurde, war die Wirksamkeit noch grösser, so dass meist schon 0·02—0·03 Ccm. für den genannten Zweck ausreichend waren. Bactericide Wirkungen in vitro waren nicht nachweisbar.

Die Immunisirungsversuche mussten später aus Gründen privater Natur abgebrochen werden. Ueber die Methodik sei nur kurz hier noch bemerkt, dass am schnellsten und sichersten eine geeignete Application der z. St. R.-Präparate zum Ziele führte. Näheres hierüber, wie über die Eigenschaften der Sera, gedenke ich später in einer besonderen Mittheilung zu berichten.

Literatur:

[1]) *Hippokrates*, Praedict. II, 20. — [2]) *Celsus*, De re med. L. V. sect. 26 et L. III. sect. 3. — [3]) *Haller*, Corp. hum. fabrica et function. III, 153, 154. — [4]) *Pasteur*, Recherches sur la putréfaction. Comptes rendus de l'Académie des Sciences. 1863, LVI, pag. 1189—1194. — [5]) *Gaspard*, Mémoires sur les maladies purulentes et putrides. *Magendie's* Journal de physiologie. 1822, II, pag. 1—45, und 1824, IV, pag. 1—69. — [6]) *Magendie*, Quelques expériences sur les effets des substances en putréfaction. Journal de physiologie. III, pag. 81. — [7]) *Leuret*, Recherches et expériences sur l'altération du sang. Archiv génér. de méd. 1826, XI, pag. 98. — [8]) *Virchow*, Ueber Injection putrider Stoffe. Medic. Reform. October 1848. — [9]) Derselbe, Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftl. Medicin. 1856, pag. 219. — [10]) *Stich*, Die acute Wirkung putrider Stoffe im Blut. Annalen des Charité-Krankenhauses. 1853, III, pag. 192. — [11]) *Panum*, Bidrag til Laeren om den saakalette putride eller septiske Infection. Bibliothek for Laeger. April 1856, pag. 253. — [12]) Derselbe, Experimentelle Beiträge zur Lehre von der Embolie. *Virchow's* Arch. XXV, pag. 308. — [13]) *Bergmann*, Das putride Gift und die putride Infection. Dorpat 1868. — [14]) *Bergmann* u. *Schmiedeberg*, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1868, Nr. 32. — [15]) *Rindfleisch*, Lehrb. d. path. Gewebelehre. 1. Aufl., pag. 204. — [16]) *v. Recklinghausen*, Vortrag in der Würzburger phys.-med. Gesellschaft. 10. Juni 1871. — [17]) *Waldeyer*, Arch. f. Gyn. 1871, II. — [18]) *Heiberg* und *Orth*, Med. Jahrb. CLXVI, pag. 188. — [19]) *Birch-Hirschfeld*, Ebenda. CLV, pag. 105. — [20]) *Klebs*, Beiträge zur path. Anatomie der Schusswunden. 1872, Vogel, Leipzig. — [21]) Derselbe, Correspondenzbl. f. Schweizer Aerzte. Jahrg. 1, Nr. 9. — [22]) *Tiegel*, Ueber die fiebererregende Eigenschaft des Mikrosporon septicum. Inaug.-Dissert. Bern 1871. — [23]) *Zahn*, Zur Lehre von der Entzündung und Eiterung. Inaug.-Dissert. Heidelberg 1871. — [24]) *Hüter*, Die allgemeine Chirurgie. Leipzig 1873, Vogel. — [25]) *Billroth*, Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica. Berlin 1874, Reimer. — [26]) *Pasteur*, Bulletin de l'Académie de méd. 2. Serie. Tome 7, 1878. — [27]) Derselbe, Comptes rendus. Paris 1880, pag. 1033. — [28]) *Doléris*, La fièvre puerpérale et les organismes inférieurs. Paris 1880, Baillière et fils. — [29]) *Koch*, Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig 1878, Vogel. — [30]) *Ogston*, Report upon microorganism in surgical disease. Brit. med. Journal. 1881, March 12, pag. 369. — [31]) Derselbe, Ueber Abscesse. Arch. f. klin. Chir. 1880, XXV. — [32]) Derselbe, Micrococcus poisoning. Journal of anatomy and physiology, normal and pathological. 1882, XVI, pag. 526 u. XVII, pag. 24. — [33]) *Koch*, Zur Untersuchung von pathogenen Mikroorganismen. Mittheilungen aus dem kais. Gesundheitsamte. 1881, I. — [34]) *Becker*, Deutsche med. Wochenschr. 1883, Nr. 46. — [35]) *Rosenbach*, Mikroorganismen bei den Wundinfectionskrankheiten des Menschen. Wiesbaden 1884, Bergmann. — [36]) *Passet*, Ueber Mikroorganismen der eiterigen Zellgewebsentzündung des Menschen. Fortschritte der Medicin. 1885, III, Nr. 2 und 3. — [37]) Derselbe, Untersuchungen über die Aetiologie der eitrigen Phlegmone des Menschen. Berlin 1885, Fischer. — [38]) *Bumm*, Ueber einen abscessbildenden Diplococcus. Sitzungsber. d. phys.-med. Gesellsch. zu Würzburg. 1885, Nr. 1. — [39]) Derselbe, Zur Aetiologie d. puerperalen Mastitis. Arch. f. Gyn. 1886, XXVII, H. 3. — [40]) Derselbe, ebenda 1884, XXIV. — [41]) *Hadelich*, Ueber die Form und Grössenverhältnisse des Staphylococcus pyogenes aureus. Inaug.-Dissert. Würzburg 1887. — [42]) *Lübbert*, Biologische Spaltpilzuntersuchung. Der Staphylococcus pyogenes aureus und der Osteomyelitiscoccus. Würzburg 1886. — [43]) *Heidenreich*, Ueber den Bau des Staphylococcus pyogenes. Wratsch, 1887, Nr. 42. — [44]) *Netter*, Pyohémie due à une ostéomyélite ancienne. La Semaine méd. 1894, pag. 240. — [45]) *Schnitzler*, Ueber den Befund virulenter Staphylokokken in einem seit 35 Jahren geschlossenen osteomyelit. Herde. Centralbl. f. Bakteriol. XV, pag. 270. — [46]) *Gärtner* und *Plagge*, Arch. f. klin. Chir. XXXII, H. 2. — [47]) Dieselben, Deutsche med. Wochenschr. 1885, Nr. 22. — [48]) *Fermi*, Beitrag zum Studium der von den Mikroorganismen ge-

bildeten diastatischen u. Inversionsfermenten. Centralbl. f. Bakteriol. XII, Nr. 20. — [49]) *Terni*, Le fermentazioni dei micrococchi piogeni. Rivista d'Igiene e Sanità publica. 1893, Nr. 14. — [50]) *Emmerling*, Ber. d. deutschen chem. Gesellsch. XXIX, pag. 2721. — [51]) *Pfeffer*, Ueber die lockere Verbindung von Sauerstoff in gewissen Bakterien. Ber. über d. Verhandl. d. königl. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. Leipzig, Mathemat.-physiol. Classe, pag. 379. — [52]) *Fermi*, Ueber die tryptischen Enzyme der Mikroorganismen. Centralbl. f. Bakteriol. X, u. Arch. f. Hygiene. X. — [53]) *v. Schrötter*, Vorläufige Mittheilung über das Pigment von Sarcina aurantiaca und Staphylococcus pyogenes aureus. Centralbl. f. Bakteriol. XVIII, Nr. 25. — [54]) *Zopf*, Ueber Pilzfarbstoffe. Vorkommen von Lipochromen bei Spaltpilzen. Botanische Zeitung. 1889. — [55]) *Buchner*, Centralbl. f. Bakteriol. VIII, Nr. 11. — [56]) Derselbe, Berliner klin. Wochenschr. 1890, Nr. 47. — — [57]) Derselbe, Centralbl. f. Chir. 1890, Nr. 50. — [58]) *de Christmas*, Recherches expérimentales sur la suppuration. Paris 1888, Doin. — [59]) Derselbe, Annales de l'Institut Pasteur. 1888. — [60]) *Leber*, Ueber die Entstehung der Entzündung und die Wirkung der entzündungserregenden Schädlichkeiten. Leipzig 1891. — [61]) Derselbe, Ber. d. VII. intern. ophthalmol. Congresses. Heidelberg 1888. — [62]) *Rodet* et *Courmont*, De l'existence simultanée dans les cultures etc. La province méd. 1891, pag. 481. — — [63]) Dieselben, Produits du Staphylocoque pyogène. Le Bulletin méd. 1892, pag. 84. — [64]) *Courmont*, La Semaine méd. 1894. — [65]) *Mosny* et *Marcano*, De l'action de la toxine du staphylocoque pyogène etc. La Semaine méd. 1894, pag. 544. — [66]) *Petersen*, Ueber Immunisirung und Serumtherapie bei der Staphylomykosis. *Bruns'* Beiträge. 1897, XIX. — [67]) *Capmann*, La Semaine méd. 1896. — [68]) *Bail*, Ueber leukocide Substanzen. Arch. f. Hygiene. XXX, pag. 349. — [69]) *Terni*, Le fermentazioni dei micrococchi piogeni. Rivista d'Igiene e Sanità publica. 1893, Nr. 14. — [70]) *Römer*, Darstellung und Wirkung proteinhaltiger Bakterienextracte. Berliner klin. Wochenschr. 1891, Nr. 51. — [71]) *Hahn*, Münchener med. Wochenschr. 1897, pag. 1343. — [72]) *Brieger* und *Fränkel*, Berliner klin. Wochenschr. 1890. — [73]) *van de Velde*, Étude sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyogène. La Cellule. 1894, X. — [74]) *Denys* et *van de Velde*, Sur la production d'une antileucocidine chez les lapins vaccinés contre le staphylocoque pyogène. La Cellule, XI. — [75]) *Terni*, Aumento della virulenza negli stafilococchi piogeni etc. Riforma med. Nr. 115. Maggio 1893. — [76]) *Grawitz*, Ueber die Ursachen der subcutanen Entzündung und Eiterung. *Virchow's* Arch. 1887, CVIII, pag. 67. — [77]) Derselbe, Statistische und experimentelle Beiträge zur Kenntniss der Peritonitis. Charité-Annalen. 1886, XI. — [78]) *Waterhouse*, Experim. Untersuchungen über Peritonitis. *Virchow's* Arch. 1890, CXIX, pag. 342. — [79]) *Reichel*, Zur Aetiologie und Therapie der Eiterung. Münchener med. Wochenschr. 1894, Nr. 48. — [80]) *Herman*, De l'influence de quelques variations du terrain organique sur l'action des microbes pyogènes. Annales de l'Institut Pasteur. 1891, Nr. 3. — [81]) *A. Fränkel*, Ueber peritoneale Infection. Wiener klin. Wochenschr. 1891, Nr. 13—15. — [82]) *Bujwid*, Traubenzucker als Ursache der Eiterung neben Staphylococcus aureus. Centralbl. f. Bakteriol. IV, pag. 577. — [83]) *Nicolas*, Influence de la glycose sur le pouvoir pyogène et la virulence du staphylocoque pyog. aur. Arch. de Méd. expér. VIII, Nr. 3, pag. 332. — [84]) *Gärtner*, Beitrag zur Aufklärung des Wesens der sogen. Prädisposition durch die Impfversuche mit Staphylokokken. *Ziegler's* Beitr. z. path. Anat. 1891, IX. — [85]) *Büdinger*, Ueber die relative Virulenz pyogener Mikroorganismen in per primam geheilten Wunden. Wiener klin. Wochenschr. 1892, Nr. 22, 24, 25. — [86]) *van de Velde*, Contribution à l'immunisation des lapins contre le Staphylocoque et le Streptocoque pyogène. Annales de l'Institut Pasteur. 1896, pag. 580. — [87]) *Burginsky*, Ueber die pathogene Wirkung des Staphylococcus aureus auf einige Thiere. Arbeiten aus dem Gebiete der path. Anat. u. Bakteriol. I, H. 1; herausgegeben von *Baumgarten*. — [88]) *Garré*, Fortschritte der Medicin. 1885, III, Nr. 6. — [89]) *Bockhardt*, Ueber die Aetiologie u. Therapie des Impetigo, Furunkels und der Sykosis. Monatsh. f. prakt. Dermat. 1887, Nr. 10. — [90]) *Schimmelbusch*, Ueber die Ursachen der Furunkel. Arch. f. Ohrenhk. XXVII, pag. 252. — [91]) *Wyssokowitsch*, Ueber die Schicksale der ins Blut injicirten Mikroorganismen im Körper der Warmblüter. Zeitschr. f. Hygiene. I. — [92]) *Sänger*, Deutsche med. Wochenschr. 1889, Nr. 8. — [93]) *v. Eiselsberg*, Berliner klin. Wochenschr. 1891, Nr. 23. — [94]) *Canon*, Beitr. zur Osteomyelitis mit Immunisirungsversuchen Deutsche Zeitschr. f. Chir. XXXVII u. XLII, H. 1 u. 2. — [95]) *Lexer*, Die Aetiol. u. die Mikroorganismen der acuten Osteomyelitis. Samml. klin. Vortr. N. F. Nr. 173. — [96]) *Lannelongue* et *Achard*, Étude expérimentale des ostéomyélites à staphylocoques et à streptocoques. Annales de l'Institut Pasteur. 1891, Nr. 4. — [97]) *Ribbert*, Die path. Anat. und die Heilung der durch den Staphylococcus pyogenes aureus hervorgerufenen Erkrankungen.

Bonn 1891. — [98]) *Leyden*, Charité-Annalen. 1885. — [99]) *Netter* et *Mariage*, Soc. de biologie du 7 Juin 1890. — [100]) *Welch*, Conditions underly in the infection of Wounds. American. Journal of the medical sciences. Nov. 1891. — [101]) *Levy*, Ueber die Mikroorganismen der Eiterung etc. Arch. f. experim. Path. u. Pharm. 1891, XXIX, pag. 42. — [102]) *Richet* et *Héricourt*, Sur un microbe pyogène et septique etc. Comptes rendus de l'Académie. Paris. CVII, pag. 690. — [103]) *Lucet*, De l'ostéoarthrite aiguë infectieuse des jeunes oies. Annales de l'Institut Pasteur. VI, pag. 841. — [104]) *Rodet* et *Courmont*, Lyon médical 1890. — [105]) *Courmont* et *Jaboulay*, Sur les microbes de l'ostéomyélite aiguë infectieuse. Comptes rendus de la soc. de biol. 1890, pag. 274. — [106]) *Colzi*, Sulla etiologia della osteomielite acuta. Lo Sperimentale, LXIV, Fasc. 11, 12. — [107]) *Brunner*, Beitr. z. Aetiol. acuter Zellgewebsentzündungen. Wiener klin. Wochenschr. 1891, Nr. 20, 21. — [108]) *Gärtner*, Versuch der prakt. Verwerthung des Nachweises von Eiterkokken im Schweisse Septischer. Centralbl. f. Gyn. 1891, Nr. 40. — [109]) *Bonome*, Di alcune condizioni patologiche sperimentali che modificano l'attività microbicida del sangue. Riforma medica. Luglio 1890. — [110]) *Nannotti*, Sur le pouvoir pathogène des produits des staphylocoques. Annales de Microgr. Oct. 1891. — [111]) *Reichel*, Ueber Immunität gegen das Virus von Eiterkokken. *Langenbeck's* Arch. 1891, XLII. — [112]) *Reichenbach*, Ueber Immunisirungsversuche gegen Staphylococcus pyogenes aureus. *Bruns'* Beiträge. 1897, XVIII. — [113]) *Kronacher*, Die Aetiologie und das Wesen der acuten eiterigen Entzündung. Jena 1891. — [114]) *Kocher* und *Tavel*, Vorlesungen über chir. Infectionskrankheiten. — [115]) *Viquerat*, Das Staphylokokkenheilserum. Zeitschr. f. Hygiene. XVIII, pag. 483. — [116]) *Kose*, Serum antistaphylococcicum. Ref. Centralbl. f. Bakteriol. 1896, XIX.

Druck von Gottlieb Gistel & Comp. in Wien.