

**Bakteriologisches Taschenbuch : die wichtigsten technischen
Vorschriften zur bakteriologischen Laboratoriumsarbeit / von Rudolf Abel.**

Contributors

Abel, Rudolf, 1868-1942.

Publication/Creation

Würzburg : C. Kabitzsch, 1917.

Persistent URL

<https://wellcomecollection.org/works/t2dnpwcp>

License and attribution

Conditions of use: it is possible this item is protected by copyright and/or related rights. You are free to use this item in any way that is permitted by the copyright and related rights legislation that applies to your use. For other uses you need to obtain permission from the rights-holder(s).



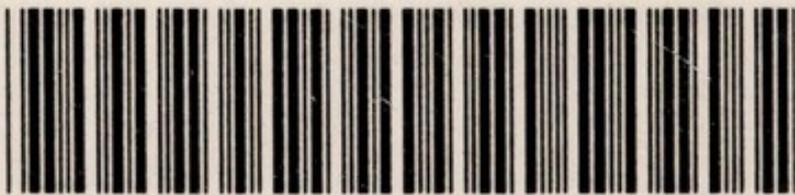
Wellcome Collection
183 Euston Road
London NW1 2BE UK
T +44 (0)20 7611 8722
E library@wellcomecollection.org
<https://wellcomecollection.org>

RUDOLF ABEL

BAKTERIOLOGISCHES
TASCHENBUCH

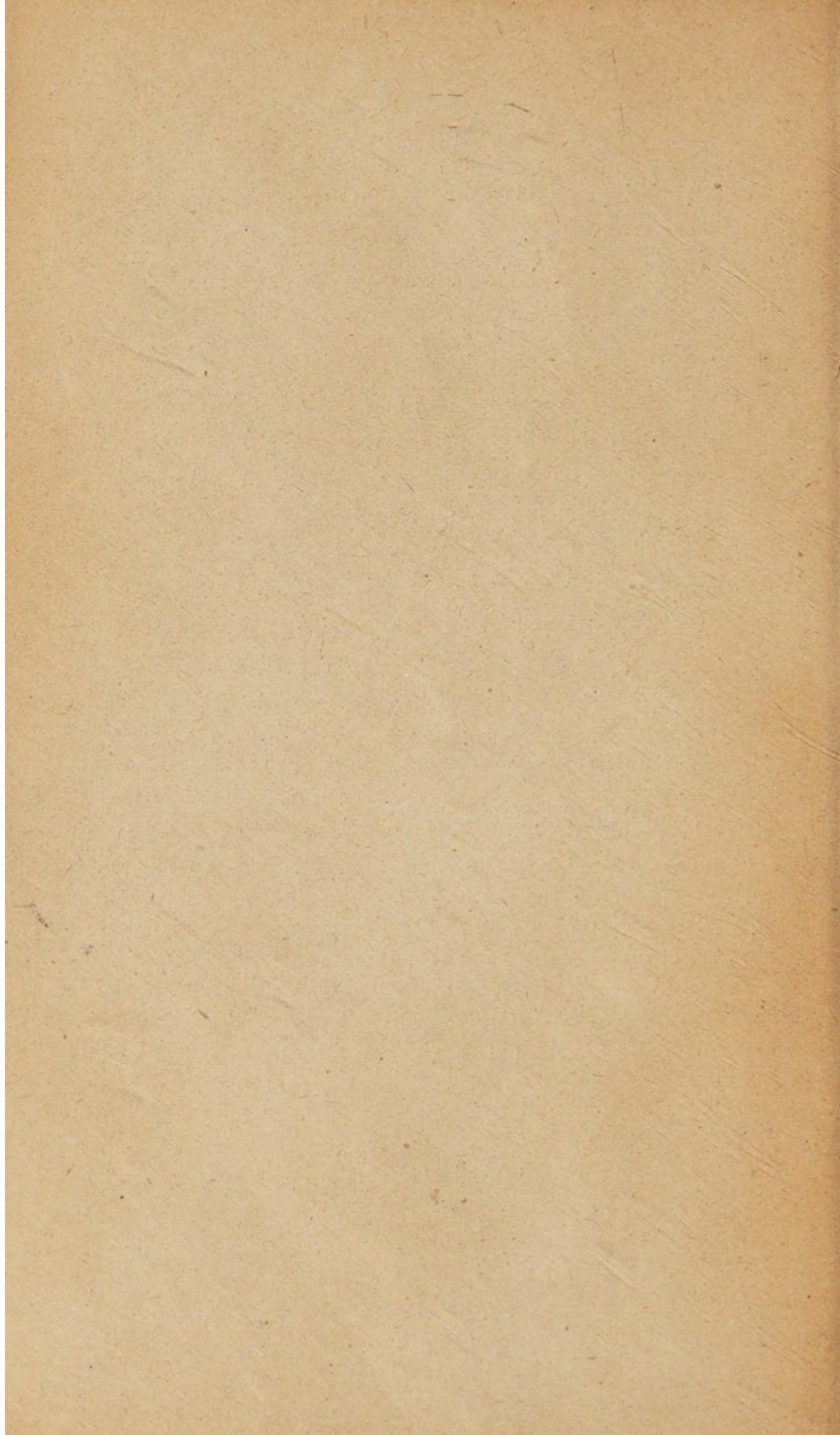
20. AUFLAGE

CURT KABITZSCH VERLAG, WÜRZBURG



22101615025

Med
K15359



Bakteriologisches Taschenbuch

Die wichtigsten technischen Vorschriften
zur
bakteriologischen Laboratoriumsarbeit
von

Dr. Rudolf Abel

Geheimem Ober-Medizinalrat, o. ö. Prof. der Hygiene
an der Universität Jena

Zwanzigste Auflage



Würzburg
Curt Kabitzsch Verlag
1917



36

12248431



Alle Rechte vorbehalten.

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY	
Coll.	welMOmec
Call	
No.	QW

- 1. Auflage 1889.
- 2. Auflage 1891.
- 3. Auflage 1894.
- 4. Auflage 1898.
- 5. Auflage 1900.
- 6. Auflage 1901.
- 7. Auflage 1903.
- 8. Auflage 1904.
- 9. Auflage 1905.
- 10. Auflage 1906.
- 11. Auflage 1907.
- 12. Auflage 1908.
- 13. Auflage 1909.
- 14. Auflage 1910.
- 15. Auflage 1911.
- 16. Auflage 1912.
- 17. Auflage 1913.
- 18. Auflage 1914.
- 19. Auflage 1916.
- 20. Auflage 1917.

Vorwort zur zwanzigsten Auflage.

Die 20. Auflage, die ihrer Vorgängerin ungeachtet der Kriegsläufe und trotz wesentlicher Vergrößerung der 19. Auflage nach wenig mehr als Jahresfrist folgt, bringt Veränderungen in grösserem Umfange. Abgesehen von zahlreichen Ergänzungen und Verbesserungen sind einige Abschnitte ganz neu gestaltet worden. So z. B. das Kapitel Cholerauntersuchung in Anbetracht der neuen amtlichen Vorschriften, ferner die Kapitel Milzbrand, Rotz, Tetanus. Neben grösseren Umgestaltungen im Abschnitt Typhus ist am Ende des Buches eine Übersichtstafel über die Bazillen der Typhus-Coli-Ruhrgruppe angefügt worden. Neu sind weiter Abschnitte über Gasbrand und ähnliche Erkrankungen, Schweinerotlauf und bakteriologische Fleischschau.

Bei verschiedenen dieser Änderungen lag der Wunsch vor, die tierärztlichen Interessen noch mehr als bisher zu berücksichtigen. Herr Reg.-Rat Prof. Dr. H o b s t e t t e r (Jena) hatte die Liebenswürdigkeit, dafür mir wertvolle Ratschläge zu geben. Gegenüber weitgehenden Wünschen der Kritik muss indessen betont werden, dass das Taschenbuch ja nur ein technisches Hilfsmittel, kein bakteriologisches Lehrbuch sein soll und sich schon des zu wahrenen Höchstumfanges wegen gewisse Beschränkungen auferlegen muss.

Anordnung und leitende Gedanken sind die gleichen geblieben. So der Grundsatz, von neuen Untersuchungsverfahren nur solche aufzunehmen, die sich bei Nachprüfungen bewährt haben. Auch wurde wie bisher mög-

lichst vermieden, Verfahren anzugeben, die nicht in Unterrichtskursen gelehrt und gelernt und nur in besonders reich ausgestatteten Laboratorien ausgeführt werden können. Auf noch nicht genügend erprobte, jedoch beachtenswert erscheinende neue und auf kompliziertere Methoden ist wenigstens durch Literaturhinweise aufmerksam gemacht worden. Ferner wurden die neu eingeführten Verfahren wieder durch Angabe des Ortes der Veröffentlichung belegt, soweit nach Lage der Dinge ein Zurückgehen auf die Quelle für den Benutzer des Buches in Betracht kommen kann.

Dem Anfänger wird empfohlen, vor Ausführung einer bestimmten Untersuchungsmethode jedesmal erst den ganzen dazu gehörigen Abschnitt durchzulesen, damit nicht die Vernachlässigung allgemeiner und besonderer Vorschriften und Regeln Fehlerfolge nach sich zieht.

Winke, wie auch mit einfachsten Mitteln im Laboratorium gearbeitet werden kann, bringt die kleine Schrift von R. Abel und M. Ficker „Über einfache Hilfsmittel zur Ausführung bakteriologischer Untersuchungen“, Würzburg, Curt Kabitzsch (A. Stubers Verlag) 1908, 2. Auflage, die namentlich auch für die bakteriologische Arbeit im Felde wird Dienste leisten können.

Möge der neuen Auflage die gleiche freundliche Aufnahme wie ihren Vorgängerinnen zuteil werden!

J e n a , im März 1917.

Dr. Rudolf Abel.

Inhalt.

	Seite
Vorwort	III, IV
Inhalt	V, VI
I. Das Mikroskop	1
II. Sterilisation und Desinfektion	6
III. Die Nährsubstrate. Allgemeines	9
IV. Die Kulturmethode. Allgemeines	21
V. Die Färbemethoden. Allgemeines	37
VI. Besondere Untersuchungsmethoden für	
Milzbrandbazillen	57
Tuberkelbazillen	59
Smegmabazillen	66
Leprabazillen	66
Rotzbazillen	67
Ulcus molle-Bazillen	69
Diphtheriebazillen	69
Influenzabazillen	72
Typhusbazillen (nebst Paratyphusbazillen)	73
Kolibazillen	86
Bakterien der Fleischvergiftungen	86
Ruhrbazillen	87
Cholera vibrionen	89
Bubone pestbazillen	92
Bazillen der hämorrhagischen Septikämie	93
Schweinerotlaufbazillen	94
Tetanusbazillen	94
Bazillen des Gasbrands, malignen Ödems, Rausch- brands. Nekrosebazillen	94

	Seite
Bacillus pyocyaneus	94
Pyogene Staphylo- und Streptokokken	96
Pneumokokken und Pneumobazillen	97
Meningokokken	97
Gonokokken	98
Aktinomyces	99
Hefen und Soor	100
Schimmelpilze und andere Pilze	101
Amoeben	102
Malariaparasiten	104
Trypanosomen	106
Syphilisspirochäten	106
Rekurrensspirochäten	114
Hundswutkörperchen	114
VII. Entnahme von Untersuchungsmaterial aus dem Körper	115
VIII. Tierimpfung und Sektion:	
Impfung	118
Sektion	123
IX. Bakteriologische Untersuchung von	
Wasser	125
Luft	129
Boden	130
X. Konservierungsmethoden für Präparate, Kul- turen und Tierorgane	130
Übersichtstafel über die Typhus-Coli-Ruhrgruppe	134
Sachregister	136
Literatur-Abkürzungen	142

I.

Das Mikroskop.

Bei bakteriologischen Arbeiten bedarf man der Trockenlinsen zur Orientierung in den mikroskopischen Präparaten und zur Betrachtung der Bakterienkolonien. Zur Untersuchung der Bakterien selbst bedient man sich der Immersionslinse.

Bei **Anwendung der Immersion** bringt man auf die **saubere** (Reinigung s. S. 6) Oberfläche des Deckgläschens (am gebräuchlichsten quadratische Form, 18 mm Seitenlänge, höchstens 0,16 mm Dicke) mit einem Glasstab ein Tröpfchen der Immersionsflüssigkeit (eingedicktes Zedernöl, nicht das zum Aufhellen von Gewebsschnitten dienende dünnflüssige). Dann senkt man den Tubus des Mikroskopes (von der Seite beobachtend) soweit, dass die Objektivlinse eben in die Immersionsflüssigkeit eintaucht. Nun blickt man durch das Mikroskop und senkt den Tubus durch Vorwärtsdrehung der grossen Trieb- schraube vorsichtig weiter, bis ein verschwommenes Bild des Objektes sichtbar wird, worauf man die genaue Einstellung mit Hilfe der Mikrometerschraube besorgt. — Der Tubus des Mikroskops muss bis zu einer bestimmten Länge herausgezogen sein, die von der Fabrik vorge- schrieben ist. Stets halte man beim Mikroskopieren beide Augen offen!

Man untersucht Bakterien in a) ungefärbten und b) ge- färbten Präparaten.

a) **Ungefärbte Präparate** dienen zum Studium leben- der Mikroorganismen und werden zumeist in Form des **hängenden Tropfens** hergestellt (Dunkelfeldbeleuchtung und Tuscheverfahren s. S. 5).

In die Mitte eines, auf den Rand des Mikroskop- Objektisches gelegten oder in eine Cornetsche Pinzette ge-

fassten, s a u b e r e n (s. S. 6) Deckgläschens bringt man mit der ausgeglühten Platinöse ein Tröpfchen steriler physiologischer (0,85 prozentiger) Kochsalzlösung (auch Bouillon-, Peptonwasser oder Agarquetschwasser, s. S. 9, 15 u. 12), in das man darauf eine Spur (nicht zu viel!) des bakterienhaltigen Materials mit der Platinnadel überträgt; hat man eine nicht zu bakterienreiche Flüssigkeit zu untersuchen, so bringt man von dieser ein Tröpfchen ohne weitere Verdünnung auf das Deckgläschen. Alsdann kippt man das Deckgläschen so auf einen hohlen Objektträger, dessen Ausschliff man dick mit Vaseline umzogen hat, dass das Tröpfchen frei in die Höhlung des Objektträgers hineinragt. Das Deckgläschen muss rings fest auf die Vaseline gedrückt werden, damit sich der Tropfen in einem völlig geschlossenen Raume befindet. Ist dies nicht der Fall, so entstehen Verdunstungsströmungen im Tropfen, die durch Mitreissen der Bakterien leicht Bewegung dieser vortäuschen können, und bei längerer Aufbewahrung trocknet der Tropfen ein. (Vor der gewöhnlichen Untersuchungsmethode mit Ausbreiten des Materials zwischen Objektträger und Deckgläschen hat die Untersuchung im hängenden Tropfen den Vorteil, dass das Wassertröpfchen in seiner abgeschlossenen Kammer vor Verdunstung geschützt ist und nicht Hände und Instrumente zu beschmutzen oder zu infizieren vermag.)

Zur Untersuchung des Tropfens stellt man nun zunächst mit enger Blende und schwachem Objektiv seinen Rand so ein, dass er gerade durch die Mitte des Gesichtsfeldes zieht. Vertauscht man sodann das Objektiv mit der Immersionslinse, so muss, vorausgesetzt, dass die Objektivlinsen gleich zentriert sind, was bei guten Mikroskopen der Fall ist, der Tropfenrand wiederum gerade durch die Gesichtsfeldmitte gehen, also leicht auffindbar sein. Man bringt nun, ohne das Präparat zu verschieben, einen Tropfen Immersionszedernöl auf das Deckglas und nimmt weitere Blende. (Näheres s. S. 4 unter B e l e u c h t u n g.) Dann senkt man den Tubus, bis die Frontlinse in das Öl eintaucht, und führt ihn, jetzt durch das Mikroskop blickend, mit grösster Vorsicht, schliesslich nur mit der Mikrometerschraube, langsam nach unten, bis der Tropfenrand sichtbar wird. Es ist zweckmässig, während des Suchens mit einer Hand den Objektträger ganz leicht hin und her zu schieben; man merkt es dann sofort, wenn die zu tief gesenkte Linse auf das Deckgläschen drückt

und es zu zersprengen droht; ausserdem wird der (bei der Einstellung zuerst schattenhaft erscheinende) Tropfenrand, wie jeder Gegenstand, leichter wahrgenommen, wenn er sich bewegt als wenn er still liegt. Nach aussen vom Tropfenrand sieht man ein feines Netzwerk = Wasserdampfniederschläge an der Unterseite des Deckglases um den Tropfen her. Geübtere suchen den Tropfen sofort mit der Immersionslinse auf. Anfänger können ihm eine Spur ganz verdünnter Fuchsinlösung zusetzen, um ihn leichter im mikroskopischen Bilde aufzufinden; die geringe Menge Farblösung schädigt die Bakterien nicht. — Man sucht den Tropfenrand auf, weil sein Umriss dem Auge leichter auffindbar ist als das Tropfeninnere; auch sammeln sich bewegliche Bakterien gern und bald am Tropfenrande wegen des dort regeren Gasaustausches zwischen Luft und Flüssigkeit an. — Zur Herstellung des Tröpfchens benutze man kein destilliertes Wasser, da dieses leicht die Beweglichkeit der Mikroorganismen beeinträchtigt. Soeben aus dem 37^o-Brutschrank kommende Kulturen untersuche man in etwas angewärmter Flüssigkeit, damit die Bakterien nicht infolge von Kältestarre unbeweglich erscheinen. Vermeide Verwechslung von Brownscher Molekularbewegung (Hin- und Herzittern!) mit Eigenbeweglichkeit (Verlassen des Platzes, Gesichtsfeldes usw.)! Der Tropfen soll möglichst flach sein, damit er in allen Teilen der Besichtigung mit der Immersionslinse zugänglich ist. (Bei grösseren Tropfen [und zu dickem Deckglas] liegen die tieferen Partien ausserhalb der Brennweite der Immersionslinse.)

Sterilisiert man das Deckgläschen in der Flamme und fertigt man das Tröpfchen aus einem flüssigen oder verflüssigten durchsichtigen Nährsubstrate, so hat man einen Kulturapparat, in dem man die Entwicklung der Bakterien, nötigenfalls unter Zuhilfenahme eines heizbaren Objektisches oder Mikroskopes, mit dem Auge verfolgen kann (s. auch S. 130).

Nach Untersuchung werden die Deckgläschen so vom Objektträger abgenommen, dass der Tropfen diesen nicht berührt. Sie werden dazu mit einer Ecke über den Rand des Objektträgers hinweggeschoben, an dieser Ecke mit einer Färbepinzette gefasst und vom Objektträger abgehoben, nicht abgezogen. Es gelingt dies leichter, wenn das Deckglas von vornherein so lag, dass

es mit zwei Ecken an die Kanten des Objektträgers stiess. Zur Abtötung der Bakterien werden die Deckgläschen in rohe Schwefelsäure geworfen. Der Objektträger kann unter Ergänzung des Vaselineringses sogleich für ein neues Präparat gebraucht werden, oder er wird mit Fliesspapier von der Vaseline befreit und mit benzinbefeuchtetem Tuch nachgeputzt.

b) Über die **Herstellung gefärbter Ausstrich- und Schnittpräparate** s. S. 37 ff.

Beleuchtung des mikroskopischen Bildes.

Bei der Untersuchung von hängenden Tropfen gebraucht man den Hohlspiegel und enge Blende (oder enge Stellung der Irisblende) zur Hervorrufung eines Kontur- oder Brechungsbildes. Je stärker das Objektiv, desto weiter öffnet man die Blende, etwa zur Hälfte bei der Immersion. Den Abbeschen Beleuchtungsapparat schaltet man durch die Anwendung der Blende aus, so dass man ihn nicht zu entfernen braucht.

Bei der Untersuchung gefärbter Präparate wendet man den Planspiegel ohne Blenden an zur Hervorrufung eines Absorptions- oder Farbenbildes. Dabei tritt der **Abbesche Beleuchtungsapparat** in Tätigkeit. Dieser soll so eingestellt sein, dass das von ihm entworfene Bild der Lichtquelle genau auf die Stelle fällt, an der das zu untersuchende Präparat liegt. Man stellt zunächst bei beliebiger Spiegelstellung durch Heben und Senken des Tubus das zu untersuchende Präparat mit schwacher Objektivlinse scharf ein. Dann richtet man den Planspiegel auf einen entfernten Gegenstand (z. B. einen Baum, ein Haus) und hebt und senkt den Beleuchtungsapparat ohne weitere Bewegung des Tubus so lange, bis man in und mit dem Bilde des Präparates gleichzeitig ein scharfes Bild von dem sich spiegelnden Gegenstande wahrnimmt. In dieser Stellung lässt man den Beleuchtungsapparat, richtet aber den Spiegel nunmehr statt auf den Baum oder das Haus auf eine andere gleichsam in unendlicher Entfernung liegende Lichtquelle, die kein störendes Eigenbild liefert, z. B. eine weisse Wolke. (Diese genaue Einstellung des Abbeschen Apparates ist nicht jedesmal erforderlich; es genügt in der Regel, den Apparat bei ferner Lichtquelle so hoch als möglich empor zu schieben oder zu schrauben, bei naher etwas

tiefer zu stellen, damit er gut wirkt; bei schlechter Beleuchtung stelle man ihn aber genau ein.) Blendendes Licht dämpft man durch Einlegen einer leicht blauen Glasscheibe in den Abblendungsapparat des Mikroskops oder durch Fenstervorhänge u. dergl.

Als künstliche Lichtquelle eignet sich elektrisches Licht (mattgeschliffene Birne) oder Gasglühlicht. Auch Petroleumlicht ist gut brauchbar bei Einlegen einer blauen Glasscheibe in den Blendenhalter des Mikroskopes oder bei Vorlage einer Schusterkugel oder eines Literkolbens mit Kupfersulfat-Ammoniak. (Lösung von 0,25 bis 0,5 g CuSO_4 in 1000 Aq. dest. versetzt mit 10 ccm 25%igen Ammoniaks oder mehr, bis mikroskopisches Bild rein weiss erscheint; Kugel- oder Kolbenöffnung mit Stopfen verschliessen.) — Bei naher Lichtquelle nehme man, wenn deren Bild die Untersuchung des Präparates stört, auch für gefärbte Präparate den Hohlspiegel; oder man hebe nach genauer Einstellung des Bildes der Lichtquelle den Abbeschen Apparat ein wenig.

Die sogen. **Dunkelfeldbeleuchtung**, die feinste Körper auf dunklem Grunde hell aufleuchten lässt, leistet z. B. zur Auffindung lebender Syphilisspirochäten Ausgezeichnetes und kann auch zur Beobachtung von Geisseln an lebenden Bakterien dienen. Man benutzt hierzu die Spiegelkondensoren (Reichert, Leitz) oder den Paraboloidkondensator (Zeiss); als Lichtquelle, die besonders stark sein muss, mit Vorteil eine Nernstlampe oder eine Handbogenlampe. Objektträger- und Deckglasdicke pflegen vorgeschrieben zu sein.

Ebenfalls hell leuchtend auf schwarzem Untergrunde erscheinen die Bakterien usw. in Tröpfchen von **Tuschenaufschwemmungen** nach Burri (S. 27).

Reinigung des Mikroskops. Will man ein Immersions-Präparat unter dem Mikroskope entfernen, so hebe man stets zuerst den Tubus, damit die Frontlinse nicht beim Fortziehen des Objektträgers geschrammt werden kann.

Nach dem Mikroskopieren entferne man die Immersionsflüssigkeit von der Linse mittels feinen Fliesspapiers (Josephpapiers), putze dann die Linse mit sauberem Lederlappen. Ist die Linse mit verharztem Öl, Kanadabalsam oder dergl. beschmutzt, so kann man sie (wie die anderen Linsen auch) mittels feinsten Fliesspapiers mit Benzin putzen (besser nicht mit Xylol, da dieses die Fassung der Linsen lösen kann!).

Das Mikroskop schützt man nach Gebrauch vor Licht und Staub (geschwärzte Glasglocke oder Pappkasten darüber stülpen oder es in den Mikroskopkasten bringen). Schraubt man dabei die Objektivlinsen nicht ab, so bringt man etwas feines sauberes Fliesspapier zwischen Abbeschen Apparat und die über ihm stehende Objektivlinse zur Verhütung unmittelbarer Berührung zwischen beiden!

Konservieren von Präparaten s. S. 39, 44.

Reinigung der Deckgläschen und Objektträger:

1. **Neue Gläser** werden mit Alkohol und Äther $\bar{a}\bar{a}$ oder mit Xylol oder Benzin und feiner Leinwand oder dünnem Fliesspapier geputzt. Wassertröpfchen müssen sich auf ihnen gleichmässig verreiben lassen; gelingt dies nicht, Behandlung wie gebrauchte (s. 2.). Auch Erhitzen der nebeneinander liegenden Deckgläschen auf einem Blechstreifen über der Flamme oder vorsichtiges Abbrennen in der Flamme erleichtert oft die Reinigung, genügt manchmal allein.

2. **Gebrauchte Gläser.** a) Die Gläschen werden nach beendeter Untersuchung in ein Wasserglas mit roher H_2SO_4 geworfen, zum Putzen mit der Säure in eine weite Porzellanschale geschüttet, nach Abgiessen der Säure mit wiederholt erneuertem Wasser gewaschen, mit starker KHO oder K_2CO_3 -Lösung gekocht, wieder mit Wasser gespült und geputzt wie neue mit Alkohol usw. b) Nach Zettnow: 1. Kochen der Deckgläschen 10 Minuten unter Umrühren in folgender Lösung: 200 g $K_2Cr_2O_7$ (gelöst in 2 Liter Aqua fervida + 200 ccm rohe H_2SO_4). 2. Abgiessen der Flüssigkeit, Nachspülen 5 Minuten in verdünnter NaOH. 3. Wiederholung von 1 (nur 5 Min.) und 2. Spülen mit Wasser, Alkohol, Putzen.

II.

Sterilisation und Desinfektion.

Alle Geräte und Nährböden, die man bei der Kultivierung von Mikroorganismen gebrauchen will, müssen frei von Keimen sein, weil diese sich sonst ebenfalls entwickeln, Verunreinigungen und Täuschungen bewirken können.

Man halte sich an folgende allgemeine Regeln:

1. Kleinere Gegenstände wie Platinnadeln, Messer, Scheren, Pinzetten, Glasstäbe kann man in der Flamme sterilisieren. Platingegenstände erhitzt man dabei bis zur Rotglut, die anderen Gegenstände nicht bis zum Glühen, sondern nur bis alle zur Berührung mit dem bakterienhaltigen Materiale bestimmten Stellen wenigstens ein paar Sekunden von der Flamme beleckt worden sind. Metallinstrumente werden durch Abbrennen stumpf und laufen an, bessere sind daher nach 2. oder 3. zu sterilisieren. Nur Platiniridiuminstrumente (teuer!) bleiben trotz häufigen Ausglühens schneidend (gut für Abimpfung von harten und zähen Kulturbelägen — Aktinomyces, Pilze —, auch zur Blutentnahme — s. S. 115). Auch Glasplatten, Reagenzgläser (bis der etwas hineingeschobene Wattebausch beginnt, sich zu bräunen!), kleinere Glasschalen, Pipetten, Spritzenteile (wenn sie keine durch Feuer angreifbaren Bestandteile enthalten) kann man im Notfalle in der Flamme sterilisieren oder mit Alkohol absol. befeuchtet abbrennen.

2. Alle grösseren Gegenstände, die trockene Hitze vertragen können — Glassachen, Metallgegenstände (gelötete nicht), Watte, Fliesspapier werden im Lufttrockenschranke $\frac{1}{2}$ St. bei $150-200^{\circ}$ sterilisiert. Watte erhitzt man nicht über 180° , da sie sonst braun wird und zerfasert, ebenso Fliesspapier, das sich bräunt.

3. Dinge, die trockene Hitze nicht, aber das Kochen, ohne Veränderungen zu erleiden, vertragen, werden durch Erhitzen im Dampf sterilisiert. Hierzu gehören Gummisachen, Flüssigkeiten und Nährsubstrate ausser den koagulierbares Eiweiss enthaltenden. Für die meisten Fälle genügt Aufenthalt im strömenden Dampf von 100° $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Std. lang. Grössere Flüssigkeitsmengen müssen länger als kleinere behandelt werden (bis 1 Std.), weil sie sich langsamer auf 100° erwärmen. Also Literkolben voll Flüssigkeit länger kochen als Reagenzgläser! Enthalten Nährmaterialien widerstandsfähige Sporen, so bringt man sie entweder an drei aufeinanderfolgenden Tagen je $\frac{1}{4}-1$ Stunde in den Dampfstrom und hält sie inzwischen bei ca. 20° oder auch bei 37° (man erwartet, dass hier die Sporen auskeimen und dass die so entstandenen vegetativen Formen durch die nächste Kochung abgetötet werden); oder man sterilisiert sie im Autoklaven bei Temperaturen bis 130° und entsprechendem Atmosphärendrucke

(hat den Vorteil, dass man nicht mehrere Tage bis zur erreichten Sterilisation warten muss, ist aber z. B. für Gelatine wegen Beeinträchtigung der Erstarrungsfähigkeit, für Milch und andere zuckerhaltige Nährböden wegen Eintretens brauner Färbung nur mit Vorsicht [s. die einzelnen Nährböden] verwendbar). Eine Dampftemperatur von 120° tötet in 10—15 Minuten, eine von 130° in 1 Minute alle Keime.

Instrumente zu chirurgischen Eingriffen sterilisiert man durch 15 Minuten langes Kochen in 1—5 % iger Soda-lösung (zweckmässig Apparate nach Schimmelbusch).

4. Gegenstände, die weder trockene Hitze noch Kochen vertragen, ohne Veränderungen zu erfahren (Serum, Eiereiweiss etc.), können

- a) steril aufgefangen werden (vgl. Blutserum S. 16);
- b) einer fraktionierten Sterilisation bei 56 bis 60° täglich 1—4 Stdn. lang mehrere (bis 8) Tage hintereinander unterworfen und inzwischen bei ca. 20° oder 37° (Begründung vgl. S. 7 unter 3!) gehalten werden. Die Methode wirkt aber nicht sicher, da für gewisse Organismen die Temperatur um 60° gerade erst das Entwicklungsoptimum darstellt, ferner nicht alle Sporen zwischen zwei Erhitzungen auszukeimen brauchen oder aber sich dabei schon neue bilden;
- c) durch Chamberland-, Berkefeld-, Pukall-, Jsny-Filter oder ein selbstgefertigtes Asbestfilter nach Heim (C. B. I. Ref. Bd. 38, Beiheft S. 52) mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe keimfrei filtriert werden. Eiweisshaltige Flüssigkeiten filtrieren aber schwer (eher noch bei leichter Anwärmung). Durch solche Filtration kann man gelöste Bakterienstoffwechselprodukte von den Bakterienleibern trennen.

Wegen Sterilisation von Serum usw. vgl. ferner S. 15 ff.

5. Abwaschen oder Ausspülen mit 5 % iger Sublimatlösung, dann mit Alkohol und Äther *ist* für manche Objekte zur Sterilisation brauchbar (z. B. für Gummisachen, Glasschälchen, Pipetten), wirkt aber nicht ganz sicher. Wo es angeht, brenne man die letzten Reste Alkohol-Äther in der Flamme ab.

6. Handelt es sich nur darum, Bakterien zu töten, z. B. gebrauchte Reagenzröhrchen zu *desinfizieren*, so bedient man sich am besten einer Sublimatlösung

1:1000 mit Zusatz von 1% HCl oder NaCl. Gebrauchte Kulturgefäße kann man auch durch 1—2 stünd. Kochen in einem Topf mit Wasser oder im Dampfstrom von lebenden pathogenen Keimen befreien. Mit Bakterien **infizierte Hände** reinige man durch gründliches Abspülen in Sublimatlösung 1:1000 oder Kresolseifenlösung 1:100. Dann Waschen mit Wasser, Seife, Bürste, darauf in frische Desinfektionslösung und nochmals waschen. NB.: Das erste Waschwasser nebst Bürste kann unter Umständen noch lebende Keime enthalten, ist daher eventuell zu desinfizieren! — Unschädlichmachung von Tierkadavern s. Abschn. VIII Sektion, S. 123.

III.

Die Nährsubstrate. Allgemeines.

Die Grundlage für die gebräuchlichsten Bakteriennährböden ist das

Fleischwasser.

1. 500 g feingehacktes möglichst fettfreies Rind- oder Pferdefleisch werden mit 1 Liter gewöhnlichen Wassers $\frac{1}{2}$ Std. oder länger bei ca. 50° im Kochtopf ausgezogen, dann $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Std. gekocht. (Vgl. auch S. 12 unter Ziffer 1!)

2. Die Brühe wird vom Fleisch abfiltriert oder durch ein Seihtuch koliert und in einem Kolben mit Wattebauschverschluss zu einem Liter mit Wasser aufgefüllt.

Aus diesem Fleischwasser werden hergestellt Nährbouillon, Nährgelatine und Nähragar. Soll es aufbewahrt werden, muss es an drei aufeinander folgenden Tagen je $\frac{1}{2}$ Std. im Dampfstrom oder einmal 15 Min. bei 120° im Autoklaven gekocht werden.

Nährbouillon.

1. Zu dem Fleischwasser werden zugesetzt 1% Pepton (am besten Witte-Rostock oder Chapoteaut-Paris oder nach Martin [Ann. Past. Bd. 12 S. 26] selbst hergestelltes) oder auch mehr, bis zu 5%, sowie $\frac{1}{2}$ % Kochsalz. Für die Züchtung mancher Bakterien ist auch ein Zusatz von

0,1—3 0/0 Traubenzucker nützlich. (Zucker erst gegen Schluss der Herstellung zufügen, weil bei längerem Kochen Karamelisierung und damit Braunfärbung des Nährbodens eintritt, — s. auch S. 7 Nr. 3. Zweckmässig setzt man erst zur fertigen Bouillon die nötige Menge 10 0/0 iger sterilisierter Zuckerlösung steril arbeitend hinzu.)

2. Kochen im Dampfstrom bis zur Lösung der Zusätze.

3. Neutralisieren mit gesättigter wässriger (auch 10 0/0 iger oder Normal-) Lösung von Natrium carbon. (auch biphosphor.) oder 25 0/0 iger NaOH. Die Grenze ist erreicht, wenn empfindliches blaues Lackmuspapier beim Tüpfeln nicht mehr gerötet wird (Benetzung des Papiers mit einem Tropfen Leitungswasser zum Vergleich der Färbung!); rotes wird dann schon gebläut. Hat man zuviel Alkali zugesetzt, fügt man tropfenweise Phosphorsäure (auch Milch- oder Salzsäure) zu. Ein geringer Überschuss von Alkali (Na_2CO_3 , nicht NaOH) schadet fast nie (vgl. Nährgelatine S. 11 Abs. 4).

Neutralisieren mit Phenolphthalein-Indikator s. S. 13 sub 4.

4. Kochen im Dampfstrom $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde.

5. Filtrieren. Nochmalige Prüfung der Reaktion des Filtrates, wenn nötig korrigieren, wiederum kochen und filtrieren. Falls das erkaltete Filtrat nicht klar ist, nochmals filtrieren oder Klärung wie bei Nährgelatine (s. unten Abs. 2).

6. Sterilisieren im Kolben oder nach Abfüllung in Röhrchen an zwei oder drei aufeinander folgenden Tagen je $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde im Dampfstrom oder nach S. 7 Ziffer 3 im Autoklaven.

Nährgelatine.

1. Zu dem Fleischwasser dieselben Zusätze wie bei Bereitung der Nährbouillon, ausserdem aber noch 10 0/0, im Sommer 15 0/0 feinste weisse Speisegelatine (frei von SO_2 !).

2.—6. Wie bei Nährbouillon (s. oben). Bekommt man trotz richtiger Reaktion und dichten Filters nicht ein völlig klares Filtrat, so setzt man zu der auf etwa 50° abgekühlten Gelatine das Weisse von einem Hühnerei oder 10—20 ccm Blutserum, schüttelt kräftig und filtriert nach tüchtigem Aufkochen noch einmal.

Die Gelatine bleibt bis zu 20—27° (s. nächsten Absatz) fest, schmilzt bei etwas höheren Temperaturen langsam, bei

35° schnell, erstarrt geschmolzen bei Temperaturen unter 20° bald wieder. Man koche Gelatine nicht zu häufig und zu lange, besonders vorsichtig im Autoklaven bei mehr als 100° (einmaliges Erhitzen auf 110° für 15 Min. verträgt sie), da sonst ihr Erstarrungsvermögen leidet. Der Schmelzpunkt liegt um so höher, je weniger oft und lange die Gelatine gekocht wird; bei eben fertig gestellter ist er stets etwas niedriger, als bei schnell (Eisschrank) abgekühlter und mindestens 1 Tag erstarrt aufbewahrter.

Nährgelatine mit besonders hohem Schmelzpunkt nach Forster: In 1 l 60° warmer, steriler Nährbouillon solve (in kleinem Kessel) 100—150 g Gelatine. (Im Handel gibt es besonders „harte“ Gelatine.) Adde KOH bis zu schwach saurer Reaktion, alkalisiere leicht mit Na_2CO_3 . Danach adde das Weisse eines Eies. Stelle Kessel in grossen Kochtopf mit kochendem Wasser, rühre Gelatine gut um; sie ist in etwa 3 Min. auf 98—99° erhitzt. Nun koche den grossen Kochtopf samt Gelatineessel mit aufgelegtem Deckel etwa 15 Min. Filtriere in 60° warmem Warmwassertrichter, der nebst Filter, Sammelkolben und Abzapfvorrichtung vorher sterilisiert ist. Sammle die ganze Gelatine in einem Kolben. Fülle sie steril ab in sterile Röhrchen und erhitze 20 Min. lang im strömenden Dampf. Kühle schnell ab durch Einsetzen in kaltes Wasser. Die Gelatine ist dann gebrauchsfertig und steril; ihr Schmelzpunkt liegt nach mehrtägiger Aufbewahrung bei 29—30°, vorher etwas niedriger. (Das Wesentliche der Methode liegt in der kurzen Kochdauer der Gelatine.)

Leicht alkalisierte Gelatine empfiehlt sich für manche Bakterien. Ein Zusatz von 10—15 ccm Normalsodalösung pro Liter Gelatine über die neutrale Reaktion hinaus schadet kaum jemals. Bestimmte Bakterien verlangen noch höhere Alkaleszenz (vgl. später).

Es entsprechen: 10 ccm Normalsodalösung 5,3 ccm 10%iger Lösung wasserfreier Soda oder 14,3 ccm 10%iger Lösung kristallisierter Soda. Eine 10%ige Lösung kristallisierter Soda enthält 3,7% Na_2CO_3 ; Normalsodalösung enthält 5,3% Na_2CO_3 .

Nähragar.

1. Zu dem Fleischwasser dieselben Zusätze wie bei Bereitung der Nährbouillon, ausserdem $1\frac{1}{2}$ — $2\frac{1}{2}$ % fein zerschnittenes oder pulverförmiges Agar-Agar. Es ist gut, das

schwer lösliche Agar schon ein paar Stunden vor den anderen Zusätzen zuzufügen und aufweichen zu lassen.

2. 3. 4. Wie bei Nährbouillon. (S. 9.)

Reaktion prüfen, wenn nötig korrigieren.

5. Der flockig trübe Nährboden müsste nun filtriert werden. Dies gelingt durch Filtrierpapier selbst unter Zuhilfenahme eines heizbaren Trichters oder im Dampfstrom nicht leicht. Daher filtriert man besser durch Watte: In einen Trichter bringt man eine vierfache Lage Verbandwatte, die über den Rand herausragen muss, kocht den so vorbereiteten Trichter 1 Stunde im Dampftopf und gibt sogleich das recht heisse Nähragar hinein. Oder man verzichtet auf Filtration ganz, lässt das flüssige Agar im Dampfsterilisator nach Löschen der Flamme einige Zeit stehen, wobei sich die Trübungen grösstenteils absetzen, giesst oder hebert die oberen ziemlich klaren Agarpartien ab und klärt sie wenn nötig nochmals durch Absitzenlassen (enge hohe Glaszylinder oder Spitzgläser sind hierzu sehr gut brauchbar; man kann das Agar auch darin erstarren lassen, es dann herausklopfen und die trüben unteren Partien durch Abschneiden entfernen).

6. Wie bei Nährbouillon. (S. 9.)

Wiederholtes Kochen schädigt das Erstarrungsvermögen des Nähragars nicht. Agar wird erst bei 90—100° flüssig, bleibt es dann bis auf einige 40° herab; bei noch niedrigerer Temperatur erstarrt es sehr schnell, fast plötzlich. Erstarrendes Agar scheidet etwas Flüssigkeit (sogen. Kondenswasser, besser: Quetschwasser) aus.

Modifikationen der Nähr-Bouillon-, Gelatine- und Agarbereitung.

1. Das Fleischwasser (S. 9) kann auch noch in etwa 4facher Verdünnung zu Nährböden verarbeitet werden, ohne dass deren Nährkraft beeinträchtigt wird. Man kann es auch aus Fleisch anderer Tiere als Rind und Pferd, ferner aus Plazenten, Bullenhoden (sehr billig!) u. dergl. bereiten. Ebenso aus zerkleinertem Blutkuchen (1 kg mit 1½ Liter Wasser 24 Stunden ausziehen unter öfterem Umrühren, abseihen, Kochen bis zur Gerinnung, filtrieren usw. Reaktion ist alkalisch, vorsichtig mit HCl oder Phosphorsäure neutralisieren). Auch die Brühe aus den Dampfsterilisatoren für bedingt

taugliches Fleisch auf den Schlachthöfen ist zu brauchen. S. auch Hottinger, C. B. I. Or. 67, S. 178.

2. Statt des Fleischwassers lässt sich auch eine 1—2 % ige Lösung Liebigschen Fleischextraktes verwenden. (Ein Kochsalzzusatz zu den Nährböden ist dabei unnötig.) Doch sind die damit hergestellten Substrate den Fleischwassernährböden nicht ganz gleichwertig. Für **Wasseruntersuchungen** wird amtlich folgende Gelatine empfohlen: Solve in 100 g Wasser Fleischextrakt Liebig 1 g, Pepton Witte 1 g, NaCl 0,5 g. Koche $\frac{1}{2}$ Stunde im Dampf, nach Erkalten und Absetzen filtra. Adde auf 900 g dieser Lösung 100 g Gelatine, koche nach Quellen und Erweichen der Gel. bis höchstens $\frac{1}{2}$ Std. im Dampf. Der heissen Lösung adde von 4% iger NaOH zuerst grössere Mengen, dann tropfenweise, bis blaues Lackmuspapier nicht mehr gerötet wird. Erhitze $\frac{1}{4}$ Std. im Dampf, prüfe Reaktion und korrigiere sie, wenn nötig. Adde pro Liter 1,5 g kristallisierte, nicht verwitterte Soda, koche $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Std. im Dampf, filtra. Fülle in sterile Röhrchen zu je 10 ccm (s. S. 14), sterilisiere einmal im Dampf für 15—20 Minuten.

3. Aus **Maggis gekörnter Bouillon** als Ausgangsmaterial werden von E. Merck-Darmstadt nach Marx (M. m. W. 1910, S. 861) unter dem Namen **Ragitbouillon** und **Ragitagar Pulver** in den Handel gebracht, aus denen durch einfaches Aufkochen und Zusatz von Sodalösung in bestimmter Menge brauchbare Nährböden hergestellt werden können, die auch zur Bereitung der verschiedensten Spezialnährböden (z. B. für Choleravibr. und Typhusbaz.) zu verwenden sind. Ähnliche **Trockennährböden** nach Dörr sind zu beziehen von Bram in Leipzig. Fertige Nährböden verschiedenster Art in Konservenbüchsen liefert **Ungemach, A.-G., Strassburg-Schiltigheim**; gut, aber teuer.

4. Die **Neutralisation** mit Lackmus als Indikator (S. 9) ist schwierig, weil nicht leicht zu entscheiden ist, wann blaues Papier eben nicht mehr gerötet wird. Genauer, aber umständlicher ist die **Neutralisation mit Phenolphthalein als Indikator**: Man verdünne in einem Kölbchen 5 ccm Nährboden mit 45 ccm frisch hergestellter Aq. dest., koche 3 Min. über der Flamme, füge dazu 1 ccm Phenolphthaleinlösung (0,5 g Ph. solve in 100 ccm 50 % igen Alkohols) und titriere mit $\frac{1}{20}$ Normal-NaOH oder -HCl bis zu deutlicher Hellrotfärbung der

Flüssigkeit. Nun setze zu der ganzen Nährbodenmasse nach Massgabe des Titrationsergebnisses soviel Normal-NaOH oder -HCl, dass die Reaktion vermutlich neutral wird. Titriere darauf wieder eine Probe des Nährbodens (5 ccm) wie oben und korrigiere eventuell die Reaktion der Nährbodenmasse. Koche das Substrat auf und prüfe wieder. Ist der Nährboden nun für Phenolphthalein neutral oder leicht alkalisch, so ist er für Lackmus stark alkalisch, da die in der Nährlösung vorhandenen Peptone und Diphosphate, die Lackmus gegenüber neutral oder alkalisch sind, sich gegen Phenolphthalein sauer oder neutral verhalten. Da erfahrungsgemäss die auf Lackmus neutral oder leicht alkalisch reagierenden Nährböden die für das Bakterienwachstum geeignetsten sind, so müssen die auf Ph. neutralisierten noch einen Zusatz von Säure erhalten. Adde 1,5 0/0 (bis 2,5 0/0, vermerke wieviel!) Normal-HCl, koche auf, filtriere, sterilisiere usw.

5. Ein Zusatz von 2—8% Glycerin. puriss. zu den Substraten vor der Sterilisation (besonders zu Agar — sogenanntes **Glyzerinagar** —) erhöht für manche Zwecke ihre Brauchbarkeit. (S. S. 59 Tuberkelbaz.)

Abfüllen und Sterilisieren der Nährböden.

Neue Reagenzgläser (üblich solche von 160 mm Länge, 16 mm Durchmesser) müssen vor Gebrauch mit Wasser + 1—2% HCl ausgekocht werden, da sie beim Erhitzen Alkali abgeben, wodurch die in ihnen enthaltenen Nährböden trübe und unbrauchbar werden können. Man kauft am besten Röhrchen aus Jenenser Glas (Firma Schott-Jena), die wenig Alkali abgeben (kenntlich an braunem Längsstrich). Man reinigt die Reagenzgläschen durch Ausbürsten sorgfältig, lässt sie austrocknen, versieht sie mit etwa 3 cm langen, fest hineingedrehten, über die Mündung etwas hinausragenden Wattepfropfen (Verband- oder auch nicht entfettete Watte) und sterilisiert sie im Trockenschrank gemäss S. 7 Ziff. 2 (die Sterilisation kann bei Röhrchen, die nachher, mit dem Nährsubstrat gefüllt, noch wiederholt sterilisiert werden, unterbleiben).

Zum Abfüllen versieht man einen Trichter unten mit einem Stück Gummischlauch, bringt in diesen ein kurzes Glasröhrchen, auf den Trichter ein Glasschälchen als Deckel und sterilisiert alles zusammen im Dampfstrom. Mittels dieses Apparates, auf dessen Gummischlauch man

einen Quetschhahn klemmt, füllt man etwa 5 ccm der Substrate in jedes Röhrchen ein. Man vermeidet durch diese Einfüllungsart das beim Eingiessen eintretende Beschmutzen des oberen Randes der Röhrchen, das den Wattepropfen festkleben lässt.

Zum Abfüllen bestimmter Mengen in Röhrchen benutzt man besondere Fülltrichter (Treskowsche) oder man versieht eine graduierte Bürette unten durch Schlauchverbindung mit einem Λ - oder \perp -förmigen Ansatzrohr, lässt durch dessen einen Schenkel von einem hochgestellten Kolben aus durch einen Gummischlauch die Nährflüssigkeit bis zur Marke 0 steigen, schliesst den Zufluss ab und füllt aus dem anderen Schenkel, der mit Gummischlauch, Glasrohr und Quetschhahn versehen ist, bestimmte Mengen ab. (Vor dem Sterilisieren der Röhrchen ist an einigen der Stand des Inhaltes durch Fettstiftstrich zu markieren, um zu kontrollieren, ob sich die Menge auch nicht beim Sterilisieren verändert hat!)

Die gefüllten Röhrchen sterilisiert man im Dampfstrom (der Regel nach 3 Tage hintereinander je $\frac{1}{4}$ Std., doch genügt, wenn Röhrchen und Abfüllvorrichtung sterilisiert waren, einmaliges Erhitzen für $\frac{1}{4}$ Std.) und lässt dann Agar und Gelatine in gerader Stellung der Röhrchen erstarren oder in schräger Lage, das obere Ende der Röhrchen auf einen Bleistift, ein Glasrohr oder dergl. gelagert; die Lösung darf dabei nicht den Wattestopfen benetzen, weil dieser sonst später festklebt!

Peptonwasser.

Als Ersatz für Bouillon kann man vielfach eine Lösung von Pepton (Witte-Rostock) 1—2 0/0 und NaCl $\frac{1}{2}$ —1 0/0 in Aq. dest. (oder Aq. comm.) verwenden. Für bestimmte Zwecke (s. Indolreaktion S. 34) fügt man noch 0,01 0/0 KNO_3 und 0,02 0/0 krist. Soda zu. Sterilisieren wie Fleischwassernährböden. Für Wasseruntersuchung auf Bact. coli (s. S. 128) hält man sich zweckmässig Peptonstamm-lösung steril in Kolben vorrätig und zwar: Pepton 10,0, NaCl 5,0, Traubenzucker 10,0, Aqua 100,0. Für Cholerauntersuchungen ist amtlich folgende Stamm-lösung vorgeschrieben: Pepton sicc. Witte (Rostock) und NaCl $\bar{a}\bar{a}$ 100,0, KNO_3 1,0, kristall. Soda 20,0, Aq. dest. 1000,0 kochen, filtrieren, sterilisieren. Für Kulturzwecke 1 + 9 Aq. verdünnen.

Blutserumnährböden.

Von dem beim Schlachten eines Tieres (Rind, Hammel, Pferd) aus der Stichwunde am Halse spritzenden Blut fängt man in grossen, mit Sublimat, Alkohol und Äther nacheinander gereinigten oder trocken sterilisierten Glaszylindern auf und lässt 24 Stunden an kühlem Orte stehen. Mit steriler Pipette oder sterilem Heber wird dann das ausgeschiedene klare oder leicht blutig gefärbte Serum abgehoben, ev. noch zentrifugiert und in sterile Reagenzgläser gefüllt. (Die Abscheidung des Serums befördert man, indem man den Blutkuchen einige Stunden nach dem Auffangen des Blutes mit sterilem Glasstabe oder Platindraht von der Gefässwand loslöst.)

Durch Erwärmen auf 70—90° für 1—2 Stunden lässt sich das Serum in eine ziemlich durchsichtig erstarrte Masse verwandeln, wobei sich etwas „Kondenswasser“ (Quetschwasser) ausscheidet; man benutzt dazu besondere Serumerstarrungsapparate und legt die Röhrchen darin schräg (S. 15 Abs. 3).

Das so gewonnene Blutserum enthält stets sehr resistente Keime. Um keimfreie Serumröhrchen zu erhalten, kann man fraktionierte Sterilisation anwenden (s. S. 8 sub 4 b), doch ist dieses Verfahren nicht ganz zuverlässig. Oder man stellt die erstarrten Röhrchen 24 Stunden in den Brutapparat und scheidet die durch Bakterienwachstum verunreinigten (Quetschwassertrübung, oft 50 0/0 und mehr!) aus. Oder man füllt das Serum in Flaschen, versetzt es mit 1—2 0/0 Chloroform und verschliesst fest mit Gummistopfen; dann ist es nach einigen Monaten Aufbewahrung (also Vorräte halten!) meist keimfrei (Chloroform durch Erwärmen verjagen!). Umständlich und langwierig ist die keimfreie Filtration von Serum (siehe S. 8 sub 4 c). Am sichersten ist es, das Blut keimfrei zu entnehmen, indem man selbst einem Hammel oder Kalb im Laboratorium eine sterile Kanüle, aseptisch operierend, in die Karotis bindet und das Blut durch einen an der Kanüle befestigten sterilen Gummischlauch in einen sterilen Kolben laufen lässt, dann wie vorbeschrieben weiter behandelt. Flüssiges Blutserum als Nährboden gewinnt man am zweckmässigsten auf diese Weise! — Kleinere Mengen Blut von grösseren Tieren kann man auch mittelst einer sterilen,

durch die geschorene und gereinigte Haut in die Jugularis gestossenen Kanüle entnehmen.

Für die meisten Zwecke kann man auf die geringe Durchsichtigkeit des erstarrten Serums verzichten und es sterilisieren, indem man es, nach dem Erstarren in schräger Schicht, drei Tage nacheinander je $\frac{1}{2}$ Stunde lang im Serumerstarrungsapparat auf $95-98^{\circ}$ erhitzt (oder auch im Dampfstrom auf 100° , wobei jedoch die Substratoberfläche meist durch Blasenbildung uneben wird). Zur Vorsicht kann man vor Gebrauch die Röhren dann noch 24 Stunden bei 37° halten und verunreinigte (Quetschwassertrübung!) ausscheiden.

Statt in Röhren kann man Serum auch in Doppelschälchen (s. S. 22) erstarren lassen (und wie vor sterilisieren). Bei frisch hergestellten Schälchen stört aber das Quetschwasser, so dass man sie mit dem Deckel nach unten aufstellen muss; bei älteren trocknet die Oberfläche stark aus, auch finden sich oft fremde Keime ein.

Ebenso wie Serum kann man durch aseptische Punktion gewonnene **Ascites-, Ovarialcysten- und Hydrocelenflüssigkeit** zum Erstarren bringen oder als flüssiges Substrat benutzen. (Reaktion manchmal sehr stark alkalisch, stets prüfen, nötigenfalls korrigieren!)

(Blutserumgewinnung für Serumreaktionen s. S. 116 u. 122.)

Blutserum mit Bouillonzusatz.

(Loefflersches Blutserum.)

Den Nährwert des Blutserums kann man dadurch erhöhen, dass man (vor dem Einfüllen in Röhren) zu 3—4 Teilen 1 Teil leicht alkalischer Bouillon (bereitet mit 1% Pepton, $\frac{1}{2}\%$ NaCl und 1% Traubenzucker) zusetzt. Die Erstarrungsfähigkeit wird durch den Zusatz nicht beeinträchtigt, doch muss man höhere Temperaturen ($90-95^{\circ}$) behufs guter Erstarrung verwenden.

Menschliches Blut und Serum

siehe sub Gonokokken S. 99 Nr. 1, ferner S. 115.

Blutserum-Agar.

Flüssiges steriles Blutserum wird auf $40-50^{\circ}$ erwärmt und mit flüssigem, auf $40-50^{\circ}$ abgekühlten Nähragar (mit $2-3\%$ Agargehalt) $\bar{a}\bar{a}$ oder 1:2 gemischt. Erstarrt beim Abkühlen. Wird vor der Erstarrung besät und dann schnell zu Platten verarbeitet (S. 21—23) oder in schräg-

liegenden Röhren oder in Schälchen zur Erstarrung gebracht und dann an der Oberfläche besät (S. 26). Ebenso wird **Ascites-** oder **Hydrocelenagar** hergestellt. (S. auch S. 99 unter 1!)

Eier.

Die Schale des Eies wird sorgfältig abgeseift und abgebürstet, mit warmer ca. 5 ‰ iger Sublimatlösung, dann mit sterilem Wasser gewaschen und mit steriler Watte getrocknet. Zur Besäung macht man in die Spitze des Eies mit steriler Nadel eine kleine Öffnung, impft durch diese und verschliesst die Öffnung mit Siegelack oder sterilem Papier und Kollodium. Schlechter Nährboden, weil häufig nicht steril.

Erstarrtes Eiweiss (mit oder ohne Eigelb) in Schälchen oder Röhren stellt man her, indem man den Inhalt eines Eies nach Sterilisierung seiner Schale und Anlegung einer Öffnung an jedem Pole in sterile Schälchen oder Röhren ausbläst und im Serumerstarrungsapparat wie Serum erstarren lässt und sterilisiert. Will man Eiweiss und Eigelb getrennt haben, schlägt man die äusserlich sterilisierten Eier nach Hausfrauenart vorsichtig auf.

Kartoffeln.

1. **Halbierte Kartoffeln mit Schale.** Gute Salatkartoffeln werden mit der Bürste unter der Wasserleitung gründlich gereinigt. Nachdem die sog. Augen und die faulen Flecke mit dem Messer ausgestochen sind, werden die Kartoffeln $\frac{1}{2}$ Stunde in 1 ‰ ige Sublimatlösung gelegt. Darauf werden sie in Wasser abgespült, $\frac{3}{4}$ Stunden im Dampfapparat gekocht, mit sauberen Händen gefasst, mit sterilisiertem Messer in der Zone des grössten Umfanges durchschnitten, auseinandergeklappt und in feuchten Kammern (grossen Doppelschalen mit wasserbefeuchtetem Fliesspapier am Boden) so, dass sich die einzelnen Kartoffelhälften nicht berühren, bewahrt. Besät wird das Zentrum der Schnittfläche.

An der Schale der Kartoffel sitzen viele die Kochung überlebende Sporen, von denen aus bald Entwicklung über die ganze Kartoffel statthat; daher sind die beiden folgenden Verfahren, bei denen die Schale entfernt wird, vorzuziehen.

2. **Kartoffelscheiben ohne Schale.** Die wie bei 1. gereinigte Kartoffel wird geschält und in

1—2 cm hohe Scheiben zerlegt. Die Scheiben werden in sterile Doppelschälchen gebracht und im Dampf sterilisiert (am sichersten bei 110—120° 1 Std. lang, wobei die Kartoffeln allerdings bräunlich werden und schrumpfen, oder aber wiederholt bei 100° $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Std.).

3. **Kartoffelkeile ohne Schale.** Mit einem weiten Korkbohrer sticht man aus der gereinigten Kartoffel, in der Richtung ihrer längsten Achse und nach Entfernung ihrer Schale an der Ein- und Ausbohrstelle, einen Zylinder aus, den man durch einen schrägen Schnitt mit sterilem Messer in zwei Keile zerlegt. Jeder Keil kommt mit der Basis nach unten in ein steriles Reagenzröhrchen, in dessen Kuppe ein Bäschen Watte oder ein Stückchen Glasrohr liegt, damit das Kartoffelstück nicht nach dem Kochen in dem dabei von ihm ausgeschiedenen Wasser steht. Sterilisieren wie bei 2.

4. **Kartoffelbrei.** Mit Wasser oder Milch zu Brei zerquetschte gekochte Kartoffeln werden in etwa 1 cm hoher Schicht in Erlenmeyersche Kolben gefüllt und im Dampf sterilisiert.

Kartoffeln reagieren sauer. Für manche säureempfindliche Bakterien erhöht sich ihr Nährwert, wenn sie in 3 % iger NaCl- oder 1 % iger Na₂CO₃-Lösung, die später vorsichtig abgossen wird, gekocht werden. Glycerinkartoffeln s. S. 59.

Brot.

Gedörrtes Graubrot wird fein zerrieben, davon soviel, dass der Boden bedeckt ist, in Erlenmeyersche Kolben geschüttet und mit Wasser soweit übergossen, dass ein dicker Brei entsteht. Im Dampfstrom oder besser Autoklaven sterilisiert. Sauer reagierend, gutes Substrat für Schimmelpilze.

Milch.

Frische, auf Lackmuspapier amphoter reagierende, am besten durch Zentrifugieren entrahmte Milch wird in Reagenzgläschen gebracht und an drei aufeinanderfolgenden Tagen je $\frac{1}{2}$ —1 Std. im Dampfstrom gekocht. (Temperaturen von 110° und darüber färben das Substrat bräunlich.) Vor Besäung behufs Prüfung der Sterilität mindestens 3 Tage bei 37° halten. Sterile Milch in Dosen liefert die Natura-Milch-Exportgesellschaft, Waren in Meckl. Lackmuskmolke s. S. 33.

Eiweissfreie Nährlösung nach Uschinsky- C. Fränkel.

NaCl 5,0, Kalium- oder Natriumbiphosphat 2,0, Asparagin oder asparaginsaures Natrium 4,0, Ammon. lactic. 6,0 (ev. Magn. sulfur. 0,5) solve in Aqua commun. 1000,0. Neutralisieren und leicht alkalisieren mit NaOH, sterilisieren wie Bouillon.

(Eine andere Lösung s. S. 35.)

Andere Nährsubstrate.

S. Abschnitt VI und Register.

Aufbewahrung von Nährböden.

Allgemeine Regel: Bei allen Nährboden-vorräten vermerke am Behälter Tag der Fertigstellung, Zusammensetzung, Reaktion!

Nährböden verderben bei der Aufbewahrung oft, besonders durch Austrocknen und, trotz dichten Watterverschlusses, durch Eindringen von Schimmelpilzen. Beides lässt sich verhüten, **entweder** indem man die Röhrchen und Kolben nach Absengen des Randes und des vorstehenden Teiles des Wattestopfens mit einer soeben im Dampfstrom gekochten dicht anschliessenden Gummikappe überzieht (oder einer sterilisierten Stanniolkappe oder einer Schmelzmetallkappe — s. S. 132 sub 4); **oder** indem man die Nährböden in Flaschen mit dichtem Gummibügelverschluss (z. B. von C. Raupert-Magdeburg) aufbewahrt; **oder** indem man die Nährbodengefässe in einer dicht verschliessbaren Blechschachtel (Keksbüchse) zugleich mit einem in Nelkenöl getränkten grossen Stück Fliesspapier oder Watte bewahrt.

Zu eingetrockneten Nährböden setze man das verdunstete Quantum Wasser wieder zu und sterilisiere aufs neue (gut durchmischen! Für koaguliertes Serum und Kartoffelstücke nicht anwendbar). Nährböden mit **beginnender** Schimmelbildung lassen sich ebenfalls durch erneute Sterilisation noch retten. (Reaktion nachprüfen!)

IV.

Die Kulturmethode n. Allgemeines.

Das Plattenverfahren.

Das Plattenverfahren dient zur Trennung der verschiedenen Bakterienarten in Bakteriengemischen. Die Keime werden, in einem flüssig gemachten Nährmedium verteilt, bei dessen Erstarren an verschiedenen Stellen festgehalten. Sie vermehren sich dann, wenn ihnen das Substrat zusagt, und bilden räumlich voneinander getrennte Kolonien.

1. Gelatineplatten: Man verflüssigt drei Röhrc hen mit Nährgelatine im Wasserbade bei 30—35°. Eines davon (Nr. 1) fasst man mit der linken Hand derart, dass es zwischen Daumen und nach oben gekehrter Hohlhand mit der Mündung nach rechts in schräger Lage ruht, dreht den Wattebausch heraus und nimmt ihn zwischen zwei Fingerspitzen der linken Hand so, dass die zum Einführen in die Röhrc henmündung bestimmten Teile der Watte nach unten hängen und von den Fingern nicht berührt werden. (Die gleiche Haltung des Röhrc hens beobachte bei allen Abimpfungen von Reinkulturen usw.!) Mit abgeglühter und wieder erkalteter Platinöse nimmt man nun eine Spur Bakterienmaterial auf und verreibt diese an der Glaswand mit dem obersten Teile der Gelatine im Röhrc hen. Platinöse abglühen und fortstellen, Röhrc hen mit dem Wattebausch verschliessen; Verteilen der Bakterieneinsaat in der Gelatine durch Neigen, Drehen und Wiederaufrichten des Röhrc hens (nicht Schütteln, weil die entstehenden Blasen später leicht Kolonien vortäuschen. Gelatine soll Wattebausch nicht berühren!).

Nun fasst man das Röhrc hen wieder wie vor angegeben, öffnet es und nimmt das zweite Röhrc hen ebenso daneben. Mit steriler Platinöse überträgt man drei Ösen Inhalt von Röhrc hen 1 in Röhrc hen 2, glüht die Öse ab und schliesst beide Röhrc hen. Nr. 1 zurück in das Wasserbad. Nr. 2 mischen wie vorher Nr. 1 und von Nr. 2 drei Ösen Inhalt in Röhrc hen 3 übertragen, dann dessen Inhalt mischen.

(Bei sehr bakterienreichem Material sät man weniger aus, überträgt von einem Röhrc hen zum andern nur

1—2 Ösen oder besät noch ein viertes und fünftes Röhrchen; ev. verzichtet man darauf, das Röhrchen 1, das dann statt Nährsubstrat sterile Kochsalzlösung (0,85 prozentig) enthalten kann, zur Platte auszugliessen.)

Die Gelatine giesst man nach Abbrennen und Wiederabkühlung des Röhrchenrandes auf dem horizontal gestellten Giessapparate auf vorher trocken (in genieteten Blechbüchsen) sterilisierte Glasplatten aus und verteilt sie mit dem Rande des Glases so, dass rings ein ca. 1 cm breiter Rand auf der Glasplatte bleibt. Nach dem Erstarren der Gelatine bringt man die mit Nummern (1, 2, 3) beschriebenen Platten auf Glasbänkchen in grosse Doppelschalen, auf deren Boden man ein Stück feuchtes Fliesspapier legen kann. Die Platten dürfen nur so gross sein, dass man jede Stelle unter dem Mikroskop betrachten kann.

Besser als Platten sind sterile **Doppelschälchen** (sog. Petrischalen, von 1,5—2 cm Höhe, 9—10 cm Durchmesser; grössere s. S. 81), da sie ohne Giessapparat beschickt werden können (Deckel beim Eingiessen nur an einer Seite ein wenig lüften), von Luftkeimen nicht so leicht verunreinigt werden und durch das Bakterienwachstum etwa flüssig werdendes Substrat nicht abfliessen lassen wie Platten. (Statt der Glasdeckel kann man für die Doppelschalen solche aus unglasiertem Ton wählen, die bei heiss eingegossenen Nährböden die Bildung störender, da auf die Kulturschicht herabtropfender, Kondenswassertropfen verhindern [Tonwarenfabrik zu Bürgel i. Thür.]. Noch besser sind Eisenblechdeckel [von Hackel u. Picht, Berlin NO, Landsbergerstr. 109, 1000 Stück von 102 mm Durchmesser 55 Mk.], lackiert mit Heizkörperglasurit von M. Winkelmann A.-G. in Hilstrup i. W. und innen ausgegossen mit einer Schicht Gipsbrei [400 g gesiebter Gips + 330 ccm Wasser, sofort nach Mischung einzugliessen]).

Hat man weder Platten noch Schälchen zur Verfügung, so stellt man **Rollröhrchen** her. Man zieht eine Gummikappe über den Wattepfropf des Röhrchens, hält dieses fast horizontal unter den Strahl der Wasserleitung und bringt die Gelatine durch schnelles Drehen des Röhrchens rings an den Wänden gleichmässig zum Erstarren. Der Wattepfropf soll nicht von der Gelatine berührt werden. Röhrchen mit wenig Gelatine nehmen (höchstens 5 ccm) und diese vor dem Rollen bis nahe an den Erstarrungs-

punkt abkühlen lassen! Cave das Berühren mit der warmen Hand beim Fortstellen! Wenig geeignet beim Vorhandensein stark verflüssigender Bakterien. Kolonien schwer abimpfbar.

Alle Kulturen sofort deutlich und genau mit Fettstift, Schreibdiamant oder Glastinte (auch gewöhnlicher Tinte) oder (besser) mit Etiketten unter Datumangabe bezeichnen!

2. Agarplatten werden genau wie Gelatineplatten aus verflüssigten, auf ca. 40° abgekühlten Nähragarröhrchen hergestellt (nur in Schälchen, nicht auf Platten, weil hier das Agar infolge Ausscheidens von Quetschwasser nicht festhaftet). Schnell arbeiten, weil Agar leicht erstarrt! (S. S. 12), Schälchen vor Eingiessen leicht anwärmen. Rollröhrchen gelingen schlecht. Man bewahre Agarschälchen mit der Deckelseite nach unten auf, weil aus dem Agar ausgepresstes Quetschwasser andernfalls leicht alle oberflächlich gelegenen Kolonien konfluieren lässt; zur Aufsaugung des Quetschwassers kann man dabei in den Deckel der Schale mit steriler Pinzette ein passendes rundes, trocken sterilisiertes Stück Fliesspapier legen, oder man benutzt Ton- oder Gipsschichtdeckel (s. S. 22). — Über Herstellung von **Serumagarplatten** vgl. S. 17.

Vorzüge der Gelatine: Kolonien meist in charakteristischen Formen wachsend.

Nachteile der Gelatine: Bleibt fest nur bis höchstens 30° (in üblicher Weise hergestellt nur bis 22—24°, besonders in Platten), also nicht bei Körpertemperatur. Schnelle Verflüssigung (Peptonisierung) durch manche Bakterien störend bei Isolierung auf Platten.

Vorzüge des Agars: Bei Körpertemperatur in festem Zustande zur Züchtung verwendbar. Keine Verflüssigung durch Bakterienwachstum, so dass Platten unter Umständen länger haltbar sind als solche von Gelatine.

Nachteile des Agars: Kolonien oft wenig charakteristisch wachsend.

Verdünnungen mit Verbrauch von wenig Gelatine oder Agar: Man bringt eine Anzahl von Bouillon- oder Gelatinetropfen auf eine sterile Platte oder die Innenseite des Deckels einer Petrischen Schale, besät den ersten Tropfen mit dem zu untersuchenden Materiale,

von diesem den zweiten, von diesem den dritten etc. und von beliebigen Tropfen ein oder mehrere Gelatine- oder Agarröhrchen, die man dann zu Platten ausgiesst.

Untersuchung der Platten.

Die auf Platten entwickelten Kolonien untersucht man mit schwachem Objektiv, enger Blende und Hohlspiegel. Von Doppelschälchen hebt man den Deckel ab oder bringt sie, wenn man nicht abimpfen will, geschlossen mit der Bodenseite nach oben unter das Mikroskop.

Liegen die Kolonien auf der Platte wenig dicht, so impft man unter Leitung des blossen Auges durch Auftupfen auf die ausgewählte Kolonie mit der Platinnadel ab. Zur Abimpfung bei dicht bewachsenen Platten dient das sogenannte **Fischen**: Man stellt die zu untersuchende Kolonie mit schwacher Vergrößerung ein, geht mit einer sehr feinen, kurzen, zweckmässig an der Spitze umgebogenen Platinnadel (ohne Mikroskopteile, Kulturapparat und Kultursubstrat mit ihr zu berühren!) unter das Objektiv, wobei man den kleinen Finger der die Nadel haltenden Hand fest auf den Objektivtisch stützt, und tupft mit der im Gesichtsfeld auftauchenden Nadelspitze unter Kontrolle des durch das Mikroskop schauenden Auges auf die Kolonie. Dann wird die Nadel ebenso vorsichtig wieder unter der Linse hervorgezogen. — Das von der Kolonie abgerissene Material benutzt man zur Herstellung von Präparaten oder Reinkulturen.

Zu orientierender Untersuchung fertigt man **Klatschpräparate**: Auf die zu untersuchende Stelle der Platte legt man ein in der Flamme sterilisiertes und wieder abgekühltes Deckglas, drückt es fest an und hebt es dann mit einer senkrecht gehaltenen, an zwei gegenüberliegenden Kanten des Deckglases anfassenden anatomischen Pinzette ab; Fixierung und Färbung nach den S. 37 gegebenen Regeln. Geeignet für allgemeine Unterrichtung über die vorhandenen Koloniearten oder zur Untersuchung ganz kleiner nicht fischbarer, oberflächlich liegender Kolonien. — Von einer Plattenstelle, an der ein Klatschpräparat gemacht ist, darf nicht mehr zu Kulturzwecken abgeimpft werden, da beim Abklatschen die einzelnen Kolonien sich gegenseitig verunreinigt haben können.

Zählung von Keimen s. S. 121 (Dosieren des Impfmaterials) und S. 126.

Herstellung und Fortzuchtung von Reinkulturen.

Herstellung aus Plattenkulturen: Abimpfen oder Fischen (S. 24) von etwas Material einer isolierten Kolonie mit der Platinnadel, Aussäen auf sterile Nährmaterialien in Röhrchen. In flüssigen Medien spült man die Nadel durch Hin- und Herbewegen ab. Auf festen undurchsichtigen Substraten streicht man sie an der Oberfläche mit einem Längsstrich oder durch Hin- und Herfahren über die ganze Fläche ab; bei den in schräger Röhrchenlage erstarrten durchsichtigen verfährt man ebenso (**Strichkultur**); cave Zerkratzen der Oberfläche! Sticht man die Nadel in das bei gerader Stellung des Röhrchens festgewordene durchsichtige Substrat ein, so entsteht eine **Stichkultur**. Will man das Wachstum im Stich unter dem Mikroskop (mit schwacher Vergrößerung) beobachten können, so macht man den Stich nahe der Wand des Röhrchens, sonst in dessen Mitte.

Fortzuchtung von Kulturen durch Übertragung einer kleinen Menge Materiales mit der ausgeglühten und vollkommen wieder erkalteten Platinnadel oder Öse auf neue Röhrchen mit Nährsubstrat. Haltung der Röhrchen dabei wie bei der Herstellung von Verdünnungen (vgl. S. 20) oder (nur Gelatineröhrchen!) mit der Mündung nach unten.

Zur Erhaltung der kultivierten Bakterien genügt in der Regel Übertragung alle 4—6 Wochen auf neue Nährböden, doch erfordern manche, namentlich pathogene Arten häufigere Übertragung (z. B. Influenzabazillen, Gono-, Meningo-, Pneumokokken). Verhütung des Eintrocknens von Kulturen, auch bei Züchtung im Brutschrank, durch Überziehen steriler Gummikappe über den abgesengten Röhrchenrand oder durch Eintauchen des Unterteils des Wattebausches in geschmolzenes Paraffin oder nach Analogie der Verfahren S. 132. Alte eingetrocknete Kulturen übergießt man steril mit Bouillon, bebrütet 24 Std. und impft dann ab. — Monate lang halten sich auch empfindlichere Bakterien lebensfähig, wenn man kurze Seidenfäden (Turnerseide 4) mit Kulturen von ihnen oder (besser) mit Blut und anderen eiweisshaltigen Flüssigkeiten, in denen sie enthalten sind, tränkt, die Fäden im Exsikkator über CaCl_2 in sterilen Schälchen trocknet und dann in kleinen Reagenzgläschen bewahrt, die in

grösseren, am Boden CaCl_2 unter Watte enthaltenden, mit Gummi- oder Glasstopfen fest verschlossenen stehen.

Ersatz des Plattenverfahrens durch fraktionierte Aussaat.

Statt das bakterienhaltige Material im Nährboden zu verteilen, diesen dann zu Platten auszugliessen und ihn beim Erstarren die Keime fixieren zu lassen, kann man durch Ausstreichen des Bakterienmaterials auf der Oberfläche von Nährböden, die in Doppelschälchen oder schräg in Röhrchen erstarrt sind, die Vereinzelung der Keime vornehmen. Man verfährt dabei derart, dass man mit einer Öse, einem ausgeglühten Platinpinsel (dieser zerkratzt leicht die Oberfläche bei der Aussaat!) oder einem sterilen Wattebäuschchen das auszusäende Material aufnimmt und über die ganze Oberfläche des Substrates verstreicht. Von Schälchen genügt bei ihrer grossen Oberfläche oft eine zur Erzielung isolierter Kolonien, wenn man nicht gar zu viel oder zu bakterienreiches Material aussät. Bei Aussaat mit der Öse tupfe man deren Inhalt auf eine Stelle der Oberfläche und verreise mit dem parallel zur Substratoberfläche umgelegten Platindraht das Material über die ganze Fläche; auch winklig gebogene Glasstäbe eignen sich zum Verteilen auf Platten. Von Agar- und Blutserumschälchen giesst man zuvor das Quetschwasser ab oder lässt sie durch Einstellen in den Brutschrank leicht betrocknen. Schräg erstarrte Röhrchen muss man gewöhnlich zu mehreren hintereinander besäen. Hat der Nährboden in ihnen Quetschwasser ausgeschieden, so kann dieses als Verdünnungsflüssigkeit für das Bakterienmaterial dienen. Man fährt mit der materialbeladenen Platinöse in das Quetschwasser eines Röhrchens, spült sie darin ab, streicht über die ganze Fläche des Serums hin und her und behandelt dann mit derselben Öse sofort, ohne wieder das Ausgangsmaterial zu berühren, ebenso ein 2., ev. auch 3. Röhrchen. Auf dem 2. oder 3. Röhrchen entwickeln sich dann meist isolierte Kolonien. — Bei Substraten, die man nicht beliebig oft aus dem festen Zustand in den flüssigen und wieder in den festen zurück verwandeln kann (so z. B. bei erstarrtem Blutserum, Kartoffeln), lässt sich das Plattenverfahren nur in dieser Modifikation anwenden. Für Gelatine ist es wenig geeignet.

Ein-Zell-Kulturen.

Beim Plattenverfahren und bei der fraktionierten Aussaat ist man nicht sicher, dass jede einzelne Kolonie nur aus einem Bakterium, nicht aus mehreren derselben Art entstanden ist. Zuverlässige Züchtung aus einer Bakterienzelle gestattet das **Tuscheverfahren** nach Burri („Das Tuscheverfahren“, Jena, G. Fischer, 1909): Pelikan-tusche 541 (von Dr. Grübler, Leipzig) 1 + 9 Aq. dest. zu je 10 ccm in Reagenzgläser einfüllen, im Autoklaven sterilisieren, 2 Wochen stehen lassen und zum Gebrauch von Oberfläche entnehmen. Mit einer grossen, nach dem Abglühen in sterilem Wasser abgespülten Platinöse bringt man auf einen fettfreien sterilen Objektträger vier einzelne Tropfen der Tuscheaufschwemmung. Nun trägt man von dem zu untersuchenden Bakterienmaterial schnell ein wenig in Tropfen 1 ein und überträgt mit kleiner Platinöse etwas von Tropfen 1 in Tr. 2, von diesem in Tr. 3 usw. Von Tropfen 4 macht man dann auf eine gut erstarrte Gelatineplatte mit einer in der Flamme (nicht bis zum Glühen) erhitzten und wieder abgekühlten Tuschfeder mehrere Reihen Punkte, die man nach $\frac{1}{2}$ Minute mit sterilem Deckglas bedeckt und mit starker Trockenlinse untersucht. Die Bakterien erscheinen hell leuchtend zwischen den schwarzen Tuschepartikeln. Man bezeichnet die Tuschepunkte, in denen nur eine Bakterienzelle liegt, auf der Unterseite der Schale, lässt die Bakterien zu Kolonien auswachsen, hebt dann vorsichtig das Deckglas ab und impft von der aus einer Zelle entstandenen Kolonie ab. — Soll die Züchtung auf anderem Nährboden als Gelatine erfolgen, so macht man wie beschrieben zunächst die Tuschepunkte auf eine Gelatineplatte, bedeckt jeden Punkt mit einem sterilen Deckglassplitter, hebt die Splitter, unter denen das Mikroskop nur ein Bakterium zeigt, ab und überträgt sie auf oder in beliebige Nährböden. Beim Abheben von der Gelatineplatte haften Tusche und Bakterien fest an dem Glasstück. — Die bakterienhaltigen Tuschetropfen eignen sich auch sehr gut zu mikroskopischer Untersuchung feiner Bakterien usw., die zwischen den Tuschepartikeln hell glänzend erscheinen.

Ein-Zell-Kulturen von Hefen s. auch S. 100.

Der Tierkörper als Reinkulturapparat.

Manche pathogenen Organismen kann man mit Hilfe des Tierkörpers aus Bakteriengemischen isolieren. Es ist dazu nötig, dass keine anderen für das Tier pathogenen und in dessen innere Organe eindringenden Keime in dem Gemisch vorhanden sind. Nach der Impfung (Technik S. 118 ff.) verbreitet sich nur die eine pathogene Organismenart durch den Körper und kann nach dem Tode des Tieres aus dessen inneren Organen rein gezüchtet werden. (Anwendbar z. B. zur Isolierung von Milzbrand-, Mäuseseptikämie-, Tuberkel-, Rotzbazillen, Pneumokokken.) Bei Aussaaten aus Tierkadavern ist es meist besser, nicht gleich Reinkulturen, sondern erst Plattenkulturen anzulegen. Will man sofort Reinkulturen zu bekommen versuchen, so mache man keine Stich-, sondern Strichkulturen, in denen sich leichter etwaige fremde Kolonien bemerken lassen, niemals Aussaaten in flüssige Substrate, weil hier Verunreinigungen oft schwer erkennbar sind.

Kulturen im hängenden Tropfen

von Bouillon, Gelatine etc. macht man zur direkten Beobachtung des Wachstums der Bakterien. Art der Anlage s. S. 1 und 3.

Kultur der Anaerobien.

Den zur Kultur der Anaerobien bestimmten Nährböden setzt man praktisch 1—2 % Traubenzucker zu, auch wohl 0,3—0,5 % Ameisensäuren Natrons oder 0,1 % Indigodisulfonsäuren Natrons (färbt blau, wird beim Wachstum von Bakterien meist durch Reduktion entfärbt — vgl. S. 34 sub 4).

Viele Anaerobien sind Sporenbildner. Man untersuche mikroskopisch das Material, aus dem sie isoliert werden sollen; findet man die Anaerobien Sporen tragend (sie sind dann oft an ihren Formen — Auftreibung durch die Sporen in der Mitte oder am Ende — als Anaerobien erkennbar), so kann man durch Erhitzen des ausgesäten Materials für $\frac{1}{2}$ Std. auf 55—70° die vegetativen Formen fakultativer Anaerobien, die man nicht mitzüchten will, abtöten, ohne die obligaten Anaerobien zu schädigen, und kann so unter Umständen diese sofort in Reinkulturen erhalten. Stets aber auch Kulturen von unerhitztem Materiale anlegen!

Als Kulturmethode empfehlen sich folgende:

1. Züchtung ohne Luftabschluss. Es gelingt, manche Anaerobien in hochgefüllten Bouillonröhrchen ohne Luftabschluss zu züchten, wenn man die frisch aufgekochte Bouillon ohne Schütteln reichlich in den tiefsten Schichten besät und reduzierende Substanzen ihr hinzufügt; als solche können dienen Stücke von Tier-Leber, -Milz, -Nieren, -Gehirn (alle möglichst lebensfrisch), gekochtem Ei, Kartoffeln oder Organbrei, auch Platinschwamm. Die Zusätze dürfen nicht zu klein sein (etwa 1 g auf 10 ccm Bouillon), sie werden mit der Bouillon sterilisiert; Besäung soll alsbald nach Abkühlen erfolgen. Möglichst ohne Erschütterung aufbewahren.

2. Züchtung mit mechanischem Sauerstoffabschluss:

a) Kultur in hoher Schicht. Reagenzglaschen, zu $\frac{1}{4}$ mit Nährgelatine oder Agar gefüllt, werden tüchtig gekocht, durch Kühlung in Wasser ohne Umschütteln schnell abgekühlt und besät. Zur Isolierung geeignet, wenn man das auszusäende Material im eben noch flüssigen Substrate, ohne dabei Luft durch Schütteln hinein zu bringen, gut verteilt und Verdünnungen wie beim Plattenverfahren durch Beimpfung weiterer 2—3 Röhrchen anlegt. Nach dem Erstarren giesst man vorsichtig (nach Abbrennen der Röhrchenmündungen) in jedes besäte Röhrchen den flüssig gemachten, aber höchstens noch einige 40° warmen Inhalt von zwei sterilen Röhrchen hinein und lässt schnell erstarren. Zur Untersuchung und Isolierung der entwickelten Kolonien zertrümmert man das Glas und zerteilt das Substrat an der gewünschten Stelle mit sterilisiertem Messer; oder man impft ohne Zertrümmerung des Glases von oben her mit langer Nadel oder einem soeben in der Flamme zu einer feinen Kapillare ausgezogenen (daher sterilen) Glasröhrchen von einer isoliert liegenden Kolonie ab.

Fortzüchtung von Reinkulturen durch Stichkulturen (Stich bis in die tiefsten Schichten reichend!) in Röhrchen, die zu $\frac{3}{4}$ mit Nährsubstrat gefüllt, frisch aufgeköcht und schnellstens erstarrt sind.

Auf die Oberfläche kann man steriles Öl giessen, um das Wiedereindringen der durch das Kochen verdrängten Luft in den Nährboden zu verhüten. Unter 3 cm hoher Öl-, Paraffin. liquid.- oder Vaseline-schicht wachsen viele Anaerobier auch in flüssigen, frisch ausgekochten

Substraten (unsaubere Methode, bei Fortimpfungen stört das Fett!). — Weitere Modifikationen s. bei Ghon und Sachs, C. B. I. Or. 32. S. 403.

Auch im geschlossenen Schenkel von Gärröhrchen (s. S. 33) vermögen Anaerobien zu gedeihen.

b) Unter Entfernung der Luft mittels der Luftpumpe (Gruber). Das besäte Röhrchen wird in ein Wasserbad von 30—35° (Agar 42°) gesetzt. Durch den das Röhrchen verschliessenden paraffinierten Gummistopfen geht ein dicht unter dem Stopfen endendes Glasrohr, das mit der Luftpumpe in Verbindung gesetzt wird. Das Nährsubstrat gerät im luftverdünnten Raum ins Sieden; nach etwa $\frac{1}{4}$ Std. ist alle Luft ausgetrieben, worauf das Saugrohr an einer vorher ausgezogenen Stelle zugeschmolzen wird. Gelatine kann man schliesslich wie im Rollröhrchen (s. S. 22) verteilen. — Die Methode mit 3. kombiniert vgl. Emmerling, Hyg. Rdsch. 1904 S. 452.

3. Züchtung unter Absorption des Sauerstoffes:

Man setzt die besäten Röhrchen oder Schälchen (diese offen, übereinander, durch Glasleisten von einander getrennt) in ein luftdicht verschliessbares Glasgefäss (z. B. in ein weites Reagenzglas mit paraffiniertem Gummistopfen oder in einen Exsikkator). Auf dessen Boden oder in ein offenes Schälchen in ihm bringt man Pyrogallussäurelösung und setzt dieser unmittelbar vor dem Schliessen des Gefässes mit einer Pipette Kalilauge zu. Die alkalische Pyrogalluslösung absorbiert den Sauerstoff. Für 100 ccm Luft rechnet man nach Buchner 1 g Pyrogallussäure (gelöst in 2—3 ccm Wasser) und 10 ccm 1,5 % iger Kalilauge (Liquor Kal. caust. 10fach verdünnt). Die völlige Absorption des O beansprucht bei Brutwärme etwa 24 Stunden; setzt man die Lauge heiss zu, erfolgt sie schneller. — Für einzelne Schälchen empfiehlt sich das Verfahren von Lentz (C. B. I. Or. 53. S. 358): Auf eine Glasplatte legt man einen mit Pyrogallolösung (1 g Pyrogallol) getränkten und wieder getrockneten dicken Fliesspapierring (Bierglasuntersatz, „Pyrogallolfilz“, F. u. M. Lautenschläger, Berlin), den man mit einem 3—4 mm starken Wulst von Plastilin aussen unten rings umgibt. Über den Ring wird das besäte Kulturschälchen gestülpt, nachdem unmittelbar zuvor der Ring mit 15 ccm 1%iger wässer. KOH (ohne Überfließen!) getränkt ist, und dann das Plastilin rings fest angedrückt. Mikroskopische Untersuchung ist ohne Öffnung des Ver-

schlusses möglich. In ähnlicher Weise lassen sich auch Röhrenkulturen mit „Pyrogallolstiften“ anlegen.

4. Züchtung bei Verdrängung des Sauerstoffes durch Wasserstoff: Durch eine Bohrung im Gummistopfen des mit Nährsubstrat beschickten und besäten Kulturkolbens oder Röhrchens reicht ein über dem Stopfen rechtwinklig geknicktes Glasrohr tief in die Nährflüssigkeit, durch die andere Bohrung geht ein ebenso gebogenes Glasrohr bis dicht unterhalb des Stopfens (Spritzenkonstruktion). Durch das erste Rohr wird reiner, in JK-Lösung und in Pyrogallussäurelösung + KOH gewaschener H von einem Kippischen Apparate zugeleitet, so lange bis das Gas, das aus der in eine feine Spitze ausgezogenen Mündung der anderen Röhre ausströmt, angezündet mit ruhiger kleiner Flamme abbrennt. Dann wird, während der H weiterströmt, zuerst diese Mündung, darauf das zuleitende Glasrohr zugeschmolzen. Der Gummistopfen kann zwecks besseren Luftabschlusses mit geschmolzenem Paraffin oder mit Plastilin abgedichtet werden. Aus Gelatinekulturen kann man nach beendetem Durchleiten des H Rollröhrchen (s. S. 22) machen.

Cave wegen Explosionsgefahr zu zeitiges Anzünden des ausströmenden Gases! Am besten hält man ein kleines Reagenzglas über die Ausströmungsöffnung und entzündet dessen Inhalt, wenn man annehmen kann, dass alle darin enthalten gewesene Luft verdrängt ist, über der Flamme. Brennt das Gas ruhig unter ganz geringem Puffen ab, so war es reiner Wasserstoff; man kann dann das ausströmende Gas anzünden. Oder man leitet das Rohr in Seifenwasser und wartet, bis die Seifenblasen angezündet nicht mehr knallen.

Modifikation der Methode für Kulturen in Schälchen (Blücher): In eine genügend grosse Glasschale füllt man etwa 1 cm hoch Pyrogallussäurelösung und setzt in ihre Mitte, auf einem Drahtgestell erhöht, das besäte Kulturschälchen mit Agar oder Gelatine ohne Deckel. Über das Schälchen stülpt man einen Trichter derart, dass sein Rand rings in die Pyr.lösung eintaucht, und beschwert ihn mit einem Bleigewicht. Durch das Rohr des Trichters wird H durchgeleitet, der die Luft unter dem Trichterrand hervordrängt. Nach längerer Durchleitung klemmt man den das Gas zuleitenden Gummischlauch über dem Trichterrohr mit einem Schraubenquetschhahn zu, schneidet den Schlauch über der Klemme

ab und füllt den Schlauchrest über dem Quetschhahn mit Paraffin. liq. Endlich lässt man mittels Pipette noch KOH (vgl. S. 30 unter 3) zu der Pyrogalluslösung hinzufließen und giesst zwischen Schale und Trichterrand etwas Paraffin. liquid. — Grosse Apparate für viele Kulturen von Botkin (Zschr. f. Hyg. Bd. 9) u. Novy (C. B. 16).

Verfahren zum Studium besonderer Lebens- eigenschaften der Bakterien.

1. Untersuchung auf Sauerstoffbedürfnis. Man lege Kulturen nach einer der Anaerobienzüchtungsverfahren 2 bis 4 (S. 28 ff.) an. Obligat aerobe Bakterien versagen dann das Wachstum. (Zugleich denselben Nährboden bei Luftzutritt besäen!) Einfachste Proben: Ob Entwicklung im geschlossenen Schenkel des Gärröhrchens (s. sub 2) bis oben hin und bei Kultur in hoher Schicht (s. S. 29 sub 2 a) in den tiefsten Teilen des Substrates auftritt.

2. Untersuchung auf Gärungsvermögen. Als Substrat dienen Nährmedien mit einem Gehalt von etwa 0,25—0,5% (auch mehr) Trauben- (ev. anderem) Zucker (vgl. S. 9 Nährbouillon unter 1!). Die Nährböden sollen von anderem Zucker als dem absichtlich zugesetzten frei sein. Man stelle daher, falls es sich um Bouillonsubstrate handelt, diese aus altem, etwas faulem Fleisch her. (NB. Die Fleischextrakte des Handels sind zumeist zuckerhaltig!) Dann prüfe man eine Probe der Bouillon mit Bact. coli-Einsaat im Gärröhrchen (s. unten) auf Zuckergehalt; ist vergärbare Zucker vorhanden, so besäe man die Bouillon mit Bact. coli, bebrüte 6—12 Std. bei 37°, koche auf, filtriere (ev. nach S. 8 Nr. 4 c), prüfe aufs neue im Gärröhrchen mit Coli und wiederhole, wenn noch Gasentwicklung erfolgt, den Vorgang. Schliesslich Neutralisation, Filtration und Zusatz der zu prüfenden Zuckerart. Man neutralisiere mit Natronlauge oder Dinatriumphosphat, nicht mit Natriumkarbonat, weil sonst durch stärkere, beim Bakterienwachstum entstehende Säure die CO₂ in Bläschen ausgetrieben werden kann und dadurch Zuckervergärung vorgetäuscht wird.

In festen zuckerhaltigen Nährböden bilden sich beim Wachstum gärungserregender Organismen (Aussaat in Stichtkultur oder durch Verteilung im verflüssigten Substrate) Gasblasen, die den Nährboden zerreißen.

Als besondere Kulturapparate benutzt man V-förmig gebogene Glasröhrchen (oder sogenannte Gärungskölbchen), deren einer Schenkel geschlossen ist und ganz mit der gärungsfähigen Nährflüssigkeit gefüllt sein muss; in ihm sammelt sich das bei der Gärung entwickelte Gas. Der offene mit Wattebausch versehene Schenkel soll nur wenig Flüssigkeit enthalten und lang sein oder eine kugelförmige Erweiterung über dem Flüssigkeitsspiegel besitzen, da er beim Eintreten von Gärung die vom Gas verdrängte Flüssigkeit aufnehmen muss. — Man kann auch in ein Bouillonröhrchen ein engeres, etwa 2—3 cm langes Reagensgläschen mit der Öffnung nach unten hineintauchen und durch Neigen es ganz mit Bouillon füllen. Wird dann durch eingesäte Bakterien Gas gebildet, so sammelt sich ein Teil davon in der Kuppe des engen Röhrchens an.

3. Untersuchung auf Alkali- und Säurebildung.

Qualitativ: Am einfachsten vergleichsweise Prüfung der Reaktion bewachsener und unbesäeter Proben desselben Nährbodens durch Tüpfeln auf Lackmuspapier. Quantitativ: Titrieren abgemessener Mengen mit $\frac{1}{10}$ oder auch $\frac{1}{100}$ Normal-Säure oder -Lauge mit Lackmus oder Phenolphthalein als Indikator.

Zur Sichtbarmachung der im Nährboden durch das Wachstum von Bakterien erfolgenden Reaktionsveränderung kann man dem Substrat einen geringen Zusatz von Lackmustinktur oder Azolitminlösung 1:100 Aq. geben und die Reaktion so einstellen, dass ein Tropfen $\frac{1}{10}$ Normal-Säure- oder -Alkalizusatz deutlich rote oder blaue Färbung gibt; dann sterilisieren (ändert sich die Reaktion dabei, sie korrigieren, dann nochmals sterilisieren) und besäen. Oft wird der Lackmusnährboden, besonders in den tieferen Schichten, durch Reduktion (vgl. auch unten sub 4) des Farbstoffes beim Wachstum der Bakterien entfärbt. Dann versuchen, ob beim Schütteln des Substrates (Sauerstoffaufnahme!) die Farbe wiederkehrt.

Reaktionsveränderung ist ferner sichtbar in Petruschky's Lackmus-Molke: Magermilch + Aq. commun. $\bar{a}\bar{a}$ wird auf 40—50° erwärmt und mit soviel (nicht zuviel) verdünnter Salzsäure (oder CaCl_2 -Lösung oder Labessenz) versetzt, dass alles Kasein ausfällt. Filtrat mit Sodalösung neutralisieren (genau, Prüfung in Reagenzglas mit Zusatz von Lackmuslösung), 1—2 Std.

kochen im Dampf, filtrieren bis zur Klarheit (ev. Reaktion korrigieren) — Farbe soll wasserhell bis grünlichgelb sein —, sterile Lackmustinktur bis zur Violettfärbung zusetzen, abfüllen, sterilisieren. — Fertig von Fabrik Kahlbaum, Berlin-Adlershof, erhältlich.

Weitere gefärbte Nährböden zum Nachweis von Reaktionsveränderungen s. unter Typhus-, Ruhrbaz. und Meningokokken.

Bei Agar und Gelatine ist auch Hinzufügen fein geschlammter sterilisierter Kreide zum Nährboden vor Besäung brauchbar. Durchsichtigwerden des Mediums in der Umgebung einer Kolonie oder Kultur zeigt Säurebildung.

4. Untersuchung auf Reduktionsvermögen. Züchtung auf Nährsubstraten mit Zusatz von farbigen, durch Reduktion leicht entfärbbaren Substanzen, wie indigodisulfonsaurem Natrium (S. 28 unten), Lackmus (s. S. 33 Abs. 3), Methylenblau (von diesem nicht mehr als 1—2 Tropfen 1%iger Lösung auf etwa 100 ccm Nährsubstrat, da sonst Entwicklungshemmung zu befürchten!). Entfärbung tritt nur in den der Luft nicht zugänglichen Nährbodenteilen ein, daher eignen sich anaerobe Kulturen und feste Substrate zur Beobachtung der Reduktion am besten. Durch Reduktion entfärbte flüssige Substrate gewinnen beim Schütteln mit Luft durch O-Aufnahme ihre Farbe wieder.

5. Untersuchung auf Schwefelwasserstoffbildung. Man setze dem Nährboden etwa 3% Eisentartrat zu (frisch durch Versetzen von FeCl_3 -Lösung mit KOH gefälltes $\text{Fe}(\text{OH})_3$ wasche aus, presse in Tuch aus, löse in Weinsäure, adde der fertigen Nährgelatine, sterilisiere im Dampf); oder man klemmt ein Stückchen angefeuchteten Bleipapiers unter den Wattepfropfen, so dass es in das Röhrchen hineinragt; oder man befeuchtet das untere Ende des Wattebausches in der Röhrchenmündung mit aufgekochter Bleizuckerlösung. Schwärzung des Nährbodens, Papiers oder Wattebausches zeigt H_2S -Bildung an.

6. Untersuchung auf Indolbildung.

1. Nach **K i t a s a t o - S a l k o w s k i**. Füge zur Reinkultur in Bouillon oder Peptonwasser 1 ccm frisch bereiteter 0,01%iger KNO_2 -Lösung und 1 ccm reinste H_2SO_4 (1 + 3 Aq. dest.). Rotfärbung innerhalb 5 Minuten zeigt Indolbildung an. Besonders empfindlich bei Unterschichten der mit der KNO_2 -Lösung versetzten Kultur mit H_2SO_4 (roter Ring!). — Manche Bakterien bilden Indol und reduzieren zugleich im Pepton enthaltene (oder eigens

zugesetzte, s. S. 15) Spuren von Nitraten zu Nitriten (Choleravibrio und ähnliche). Ihre Kulturen geben daher Rotfärbung bei Zusatz von H_2SO_4 allein (ohne KNO_2 Zusatz) — sog. Nitrosoindolreaktion (Nährboden s. S. 15).

2. Nach Ehrlich (Böhme, C. B. I. Or. 40 S. 129). Zu 10 ccm flüssiger Kultur 5 ccm Lösung a), dann 5 ccm Lösung b), Schütteln. Bei Indolbildung Rotfärbung binnen 5 Min. Empfindlicher als Verfahren 1. Lösung a): Paradimethylamidobenzaldehyd 4 + 96 0/0-igen Alkohol 380 + konzentr. HCl 80. Lösung b): Gesätt. wässer. Lösung von Kaliumpersulfat ($K_2S_2O_8$).
3. Nach Morelli (C. B. I. Or. 50 S. 413). Fließpapierstreifen in warm gesättigter wässer. Oxalsäurelösung tränken, nach Erkalten mit Wattebausch in frisch besätem Kulturröhrchen festklemmen, so dass der Streifen frei in das Röhrchen hineinragt. Bei Entwicklung von Indol in der Kultur färbt sich der Streifen rot. Bei allen Nährböden brauchbar, nur in Gelatine ist die Indolbildung langsam und gering.

Zipfel (C. B. I. Or. 64 S. 65) empfiehlt als Substrat für Indolreaktion: Asparagin, Ammon. lact. $\bar{a}\bar{a}$ 5,0, Kal. diphosph. 2,0, Magn. sulf. 0,2, Tryptophan 0,3, Aq. dest. 1000,0. Prüfung mit einer der Methoden 1—3, am besten Überschichten mit 1 ccm der Lösung 2 a; gibt auch bei Bakterien, die sonst nur langsam Indol bilden, stets schon nach 24 Stdn. deutliche Reaktion.

7. Untersuchung auf Lichtentwicklung (Phosphoreszenz). Züchtung vorteilhaft auf Gelatine oder Agar aus dünner Seefisch- oder auch Fleischbouillon mit 1 0/0 Pepton, 0,5 0/0 Glycerin und 3 0/0 NaCl oder KCl oder KNO_3 , neutralisiert; besäen in oberflächlicher Schicht (weil Luftzutritt nötig). Betrachtung der Kulturen im dunklen Raume mindestens einige Minuten, da Lichtschein oft erst allmählich wahrnehmbar wird. Manche Arten leuchten nur in ganz jungen Kulturen und kurze Zeit.

8. Untersuchung auf Resistenz gegen Erhitzen und Austrocknen. Resistenz gegen Erhitzen im feuchten Zustande. Man lässt gut entwickelte flüssige Reinkulturen in sterile Kapillarröhrchen aufsteigen, schmilzt diese an einer oder beiden Seiten zu und setzt sie im Wasserbade oder Dampfstrom der zu erprobenden Temperatur eine bestimmte Zeit aus. Die darauf mit Sublimat, Alkohol und Äther abgewaschenen Kapillaren werden

mit steriler Pinzette in Röhren mit geeigneter Nährlösung geworfen und darin mit sterilem Glasstabe zertrümmert. Beobachtung auf Wachstum stets mehrere Tage lang. Sporen vertragen stets 60° über 1/2 Stunde lang, meist 80° 10 Minuten lang. — Auch ganze Bouillonkulturen kann man wie vorbeschrieben erhitzen; sie müssen bis über ihren Flüssigkeitsspiegel in das Wasserbad eintauchen; Thermometer in ein Röhren zur Kontrolle des Temperaturganges! Schnell erhitzen und schnell abkühlen! Ehe man von ihnen aus andere Röhren beimpft, bebrütet man sie zweckmässig einige Tage lang bei geeigneter Temperatur; dabei haben etwa noch überlebende vereinzelte Keime Gelegenheit, sich zu vermehren und sind dann bei (reichlicher) Abimpfung auf frische Bouillon leicht nachweisbar.

Resistenz gegen Austrocknen: Kulturmaterial (Bouillonkultur oder fein und gleichmässig aufgeschwemmtes Bakterienmaterial von Kulturen auf festem Substrat) an sterile Deckglassplitterchen, Granaten oder Hornstäbchen in sterilem bedeckten Schälchen antrocknen lassen; von Zeit zu Zeit aussäen davon in Nährlösung. Auch zur Prüfung der Wirkung trockenen Erhitzens geeignet. Ebenso kann man sterile Seidenfäden (Turnerseide Nr. 4—7) mit Kulturmaterial tränken, trocknen lassen und zur Prüfung der Resistenz gegen Trockenheit, trockene Hitze, Dampfwirkung (in Fließpapierhüllen eingeschlossen für bestimmte Zeit in den Dampfapparat oder den Ohlmüllerschen Sporenprüfungsapparat bei 100° heissem Dampf gehängt etc.) benutzen. (Milzbrandsporenfäden s. S. 59.)

9. Untersuchung auf Resistenz gegen chemische Desinfektionsmittel. Entwicklungshemmende Kraft von Desinfektionsmitteln festzustellen durch Züchtung auf Nährböden mit bestimmtem Gehalt des Desinfektionsmittels.

Abtötende Wirkung von Desinfektionsmitteln am einfachsten zu prüfen durch Einlegen der an geeigneten Gegenständen (s. oben Abs. 2) angetrockneten Bakterien in verschieden starke Lösungen über wechselnde Zeit. Vor Aussaat in Nährlösungen Abspülen in sterilem Wasser oder Auswaschen in einer das Desinfizienz bindenden, selbst nicht desinfizierenden Lösung, oder aber Aussaat in reichlich Nährlösung unter kräftigem wiederholtem Um-

schütteln, womöglich unter Wechsel des Nährsubstrates nach einigen Stunden.

10. Untersuchung auf Pathogenität s. S. 118 ff.

11. Untersuchung auf Giftbildung. Gift kann entweder im Nährsubstrat gelöst oder in den Bakterienleibern enthalten sein. Gelöste Gifte (*Toxine*): Kulturen in flüssigen Medien keimfrei filtrieren (s. S. 8 sub 4 c) oder die Bakterien abzentrifugieren, die Flüssigkeit mit Toluol überschütten oder mit 0,5 % Phenol versetzen und nach mehrstündigem Stehen Tieren applizieren (vgl. S. 118). Gifte in Bakterienleibern (*Endotoxine*): Kulturen auf festem Substrat züchten. Zur Abtötung einige Tropfen Chloroform oder Toluol auf die Unterseite des Wattedropfens träufeln, Röhrchen mit dem Wattedropfen und doppelter Gummikappe schliessen, eine bis mehrere Stunden bei 37° halten (Vorsicht, dass andere Kulturen im Brutschrank nicht leiden!); dann ohne Substratbeimischung auf Tiere verimpfen; zugleich durch Aussaat auf Substrat prüfen, ob alle Keime abgetötet sind! (Dosieren des Impfmaterials vgl. S. 121.)

V.

Die Färbemethoden. Allgemeines.

Herstellung der Präparate.

1. Ausstrichpräparate.

Ausstrich: Auf ein sauber geputztes Deckgläschen (Objektträgerausstriche s. S. 40) bringt man mit der Platinöse ein Tröpfchen Wasser und überträgt in dieses ein wenig von dem zu untersuchenden Materiale mit Platinöse oder -Nadel. Nun verteilt man das Tröpfchen in gleichmässiger dünner Schicht über das Deckgläschen (das völlig fettfrei sein muss, damit dies gelingt, — Reinigung s. S. 6) und lässt das Präparat lufttrocken werden, was man durch leichtes Erwärmen des, zweckmässig zwischen zwei Fingern an den Kanten gehaltenen, Deckglases mit der bestrichenen Seite nach oben über der Flamme beschleunigen kann.

Flüssigkeiten, welche nicht zu zahlreiche Bakterien enthalten, Blut, Eiter bringt man direkt ohne Wassertropfen auf das Deckglas (Blut s. auch S. 117). Von Organen reisst man mit steriler Pinzette Stückchen ab und streicht damit über das Deckglas, oder man drückt das Gläschen leicht auf eine Organschnittfläche. Schwer austreichbare Substanzen, wie zähe Sputa, Geschwulstknoten, manche Bakterienkulturen es sind, kann man auch zwischen zwei Deckgläschen, die man darauf mit 2 Cornetschen Pinzetten voneinander zieht, zerquetschen. Vorsicht, dass die Finger nicht beschmutzt werden! (Klatschpräparate s. S. 24.)

Fixierung: Das lufttrockene Deckgläschen fasst man mit zwei Fingern (wenn der Rand nicht beschmutzt ist, sonst mit der Cornetschen Pinzette) an den Kanten und zieht es, mit der bestrichenen Seite nach oben, dreimal langsam durch die Gas- oder Spiritusflamme. Man muss dabei ein leichtes Brennen an den Fingern fühlen, dann ist die richtige Temperatur erreicht. Das so fixierte Deckgläschenpräparat kann man zu beliebiger Zeit färben.

Schonender und z. B. für Blutpräparate vorzuziehen ist Fixierung in Alkohol absol., auch + Äther $\bar{a}\bar{a}$, für 2—10 Min. und länger. Für Darstellung feiner Gebilde ist Fixierung mit Osmiumsäure angebracht: In kleinem Schälchen, das mit Drahtnetz bedeckt in grösserer Glasdose mit fest schliessendem Deckel steht, hat man 5 ccm 1 % iger Osmiumsäure (ev. + 10 Tropfen Eisessig bei Blutpräparaten). Auf das Drahtnetz lege man das Deckglaspräparat noch feucht mit der bestrichenen Seite nach unten $\frac{1}{2}$ —2 Min.; danach ev. Abspülen in ganz schwacher KMnO_4 lösung. Dann trocknen an Luft und färben. Drahtnetz jedesmal nach Gebrauch ausglühen! Osmiumsäurelösung bleibt mehrere Wochen wirksam. (S. auch S. 54.)

Ist man im Zweifel, welche Deckglasseite bestrichen ist, so hauche man auf das Glas — die unbestrichene Seite erscheint dabei gleichmässig matt (beschlagen), die bestrichene nicht — oder versuche, auf welcher Seite eine feine Nadel etwas von der Schicht abzukratzen vermag.

Färbung: Zum Färben fasst man das Deckgläschen in eine für gewöhnlich schliessende, bei Druck sich öffnende (Cornetsche) Pinzette, gibt soviel Farblösung mit einer Pipette (diese soll das Deckglas nie berühren!)

darauf, dass das ganze Deckgläschen schwappend bedeckt ist, und färbt bei einfachen Färbungen (Lösungen s. S. 45 ff.) 5 Minuten in der Kälte oder 10—60 Sekunden unter Erwärmen über der Flamme. Zur Färbung kann man die Deckgläschen auch mit der bestrichenen Seite nach unten auf Uhrschildchen voll Farblösung, eventuell unter Erwärmen der Schildchen (auf Dreifuss mit Drahtnetz) schwimmen lassen. Bequem bei lange dauernden Färbungen.)

Abspülung: Bei einfachen Färbungen spült man darauf mit Wasser (destilliertes hier nicht erforderlich) ab, legt das Gläschen mit der gefärbten Seite nach unten auf einen Objektträger und wischt seine Oberfläche, indem man eine Ecke des Gläschens mit einer Fingerspitze fest auf den Objektträger drückt, sorgfältig mit Fliesspapier ab. Darauf wird mikroskopisch untersucht (vgl. S. 1 ff.).

Sieht man Teilchen des Präparates sich bewegen und umherschwirren, so ist dies ein Zeichen, dass nicht genügend in der Flamme fixiert oder zu stark abgespült worden ist.

Verdunstet während der Untersuchung das Wasser zwischen Deckglas und Objektträger, so setzt man einen Tropfen Wasser an den Rand des Deckglases, der sich schnell zwischen beiden Gläsern verbreitet.

Soll das Deckgläschen nach der Färbung noch mit anderen Flüssigkeiten behandelt werden, so bringt man diese direkt auf das Deckglas oder in Likörgläser (mit flachem Boden) oder dergl., in die man das Deckglas eintaucht.

Einlegen der Präparate: Statt in Wasser kann man Deckglaspräparate auch in Immersionszedernöl oder Kanadabalsam untersuchen. Man stellt das gefärbte und abgespülte Deckgläschen senkrecht, an irgend einen Gegenstand gelehnt, auf Fliesspapier und wartet, bis es trocken geworden ist; oder man trocknet es vorsichtig zwischen Fliesspapier (nur drücken, nicht wischen, weil sonst Teile der Schicht verloren gehen! Abpinseln der Fliesspapierfasern mit trockenem Pinsel). Dann gibt man ein Tröpfchen Immersionszedernöls oder in Xylol gelösten, dickflüssigen Kanadabalsams auf die gefärbte Seite des Deckglases und kippt es mit dieser nach unten auf einen sauberen trockenen

Objektträger. Über den Rand des Deckgläschens soll Balsam oder Öl nicht hervorquellen; ev. entfernt man den Überschuss nach einigen Tagen, wenn er starr geworden ist und das Deckglas bereits fest an dem Objektträger haftet, mittelst xylobefeuchteten Fliesspapiers; ebenso beseitigt man auf dem Deckglas zurückgebliebenes Öl. — Kanadabalsam (auch angeblich säurefreier) zieht oft allmählich die Farben aus; daher ist Immersionszedernöl besser für aufzubewahrende Präparate. Noch schonender ist Paraffinum liquidum; die Deckgläser müssen dabei mit Deckglaskitt oder Wachs umrandet werden.

Alle Präparate sofort etikettieren! Im Dunkeln aufbewahren!

Will man in Wasser untersuchte Deckgläschen zur Aufbewahrung einlegen, so wischt man zunächst mit Fliesspapier das Immersionsöl von ihrer Oberseite, schwemmt sie dann, indem man rings um ihren Rand reichlich Wasser auf den Objektträger bringt, von diesem ab, lässt trocknen und legt ein wie oben beschrieben.

Präparate auf Objektträgern: Wie auf Deckgläschen kann man auf Objektträgern Trockenpräparate herstellen. Empfehlenswert, wenn man viel Material auf einmal färben und untersuchen will. Fixierung und Färbung der Schicht wie bei Deckgläschen. Zur Untersuchung Trocknung der Schicht mit Fliesspapier oder an der Luft, Auftropfen von Immersionsöl und Untersuchung ohne Deckglas. Falls Konservierung erwünscht, die wichtigsten Stellen mit einem oder mehreren Deckgläschen bedecken oder das Immersionsöl durch Spülen des Objektträgers in einem kleinen Becherglase mit Äther entfernen und das Präparat staubfrei aufbewahren.

Bestimmung der Grösse von Bakterien ungefähr durch Vergleich mit roten Blutkörperchen möglich (diese haben beim Menschen durchschnittlich 7,7—8 μ Durchmesser); sind solche nicht vorhanden (z. B. in Kulturen), Mischung des Bakterienmaterials mit einem Tröpfchen Fingerblutes. Genaue Messung mit Mikrometermassstäben im Okular usw.

2. Schnittpräparate.

Härten von Gewebstücken: Man härtet kleine, womöglich nicht über 1 ccm grosse Organstücke mindestens drei Tage in mehrfach erneuertem absoluten Alkohol. Auf den Boden des zur Härtung dienenden Ge-

fässes bringt man einen Bausch Fliesspapier; liegen die zu härtenden Gewebstücke darauf, so befinden sie sich stets in den höheren wasserärmeren Schichten des Alkohols. So können sie jahrelang konserviert werden, doch leidet die Färbbarkeit mancher Bakterien allmählich. Vor der Alkoholhärtung kann man die Stücke auch behufs guter Fixierung 12—24 Stunden in 5—10 fach verdünntes Formalin einlegen, dann unmittelbar in Alkohol übertragen. — Schnellmethoden s. S. 42.

Zum **Schneiden** braucht man ein Mikrotom und sucht sehr dünne Schnitte zu erreichen. Man bereitet die gehärteten Gewebstücke dazu durch **Aufkleben** oder **Einbetten** vor, wozu sich folgende Methoden empfehlen (1 nur für festere und parenchymatöse Gewebe):

1. Aufkleben mit Glyzeringelatine: Solve Gelatine 10 in Glyzerin 40 + Aq. 20 durch Erhitzen. Ein Tropfen davon wird auf ein Korkstück gebracht, das zu schneidende Stück darauf gedrückt und das Ganze nach ein paar Minuten in absoluten Alkohol geworfen. Nach einigen Stunden ist die Glyzeringelatine erstarrt und das Stück schnittfähig. Die Schnitte werden in einem Schälchen mit 50 % igem Alkohol aufgefangen; das Messer damit beim Schneiden befeuchten.

2. Einbettung in Celloidin: Die in Alkohol gehärteten Stücke kommen 1—8 Tage in dünnflüssiges, in Alkohol und Äther $\bar{a}\bar{a}$ gelöstes Celloidin, darauf ebenso lange in dickflüssiges, dann werden sie mittelst eines Spatels samt dem anhaftenden Celloidin auf Kork- oder Holzwürfeln übertragen, dabei nicht zu fest andrücken! Wenn das Celloidin nach einiger Zeit an der Luft leicht betrocknet ist, kommen die Stücke in 50—60%igen Alkohol (nicht absoluten!), um das Celloidin fest werden zu lassen, und sind dann nach etwa 24 Stunden schnittfähig. Die Schnitte werden in einem Schälchen mit 50%igem Alkohol aufgefangen; das Messer damit beim Schneiden befeuchten.

3. Einbettung in Paraffin: Die gehärteten Stücke werden für einige Stunden (bis sie durchscheinend sind) in Xylol gebracht, dann ebenso lange in eine gesättigte Lösung von Paraffin in Xylol, dann in verflüssigtes, ca. 50° warmes Paraffin (durch Mischen verschiedener Sorten stellt man sich Paraffin von diesem Schmelzpunkt her); hierin bleiben sie (im ca. 50° warmen Paraffinofen, re-

guliert wie Brutapparat) 2—5 Stunden. Das alsdann mit Paraffin vollgesaugte Organstück nimmt man mit angewärmter Pinzette heraus, bringt es in ein erwärmtes, mit Glyzerin ausgestrichenes Blockschälchen in etwas geschmolzenes Paraffin und übergiesst es mit geschmolzenem Paraffin. Dann stellt man das Schälchen in recht kaltes Wasser und taucht es, sobald das Paraffin oberflächlich erstarrt ist, ganz darin unter. Nach völligem Festwerden wird das Paraffin aus dem Blockschälchen herausgenommen und glatt soweit abgeschnitten, dass es das Organstück rings um 1—2 mm überragt. Die Paraffinblöcke werden durch eingeritzte Schrift oder mit Etiketten (anstecken mit Nadel) bezeichnet, zum Schneiden durch leichtes Erwärmen der Unterseite auf einem Holzklötzchen angeklebt und mit trockenem Mikrotommesser geschnitten. Auf eine Schale mit Wasser von 40 bis 45° gebracht, breiten sich die Schnitte an der Oberfläche sofort glatt aus. Man fängt sie dann aus dem Wasser mit einem sauberen Objektträger von unten her so auf, dass sie glatt auf dem Glase liegen, stellt den Objektträger schräg, damit das Wasser abläuft, trocknet vollständig durch Einstellen in den 37°-Brutapparat und bringt dann den Objektträger mit dem Schnitt in den Paraffinofen, bis das Paraffin eben schmilzt und abzulaufen beginnt. Alsdann entfernt man es durch Spülen mit Xylol, danach das Xylol mit Alkohol absol. Der Schnitt haftet fest am Objektträger. Färbung am besten senkrecht stehend in sog. Farbtrögen.

4. Einfrieren in Anisöl: Die Gewebstücke werden durch Abtupfen mit Fliesspapier vom Alkohol möglichst befreit und wenigstens 24 Std. in Anisöl eingelegt. (Anisöl im 37°-Brutschrank verflüssigt, mit den Organstücken in gut schliessende Glasbüchsen gegeben und im 37°-Brutschrank gehalten.) Dann werden sie mit einigen Tropfen des Öles auf das Gefriermikrotom übertragen; das Öl wird mit Äthergebläse zum Gefrieren gebracht und das Objekt nun geschnitten. Die Schnitte fängt man in 37° warmem Anisöl auf und befreit sie nach dem Auftauen durch Absaugen des Öles und Einlegen in wiederholt erneuerten Alkohol absol. vor der Färbung vom Öl. — Ähnlich lässt sich Kakaobutter verwenden.

Schnellhärtung und -einbettung:

a) nach Lubarsch (D. m. W. 03 Nr. 48). Die Gewebstücke (möglichst frisch), 1—5 mm dick, kommen in

der Wärme (Paraffinofen s. S. 41 sub 3) 1. in 10 0/0 iges Formalin 10—15 Min., 2. in 95 0/0 igen Alkohol (einmal wechseln!) 5—10 Min., 3. in absol. Alkohol (einmal wechseln!) 10 Min., 4. in klares Anilinöl, bis sie völlig durchsichtig sind (10—30 Min.), 5. in Xylol (zwei- bis dreimal wechseln, bis es nicht mehr gelb wird) 15—20 Min., 6. in Paraffin 10—60 Min. Dauer des Verfahrens 1¹/₂—3 Std.

- b) nach Henke-Zeller (Ctrbl. f. path. Anat. 05 Nr. 1). Die 1—3 mm dicken Gewebstücke bei 37° für 30—40 Min. in wasserfreies Aceton, ebenso lange in Paraffin. Dauer des Verfahrens 1—1¹/₂ Std.
- c) nach Scholz (D. m. W. 05 Nr. 11). Die Gewebstücke, 3—5 mm dick, im 37°-Brutofen 30—60 Min. in reines Aceton. Dann Ausschütteln in Äther + Alkohol absol. $\bar{a}\bar{a}$, Einlegen in dünnes Celloidin (ebenefalls im Brutofen). Nach 4—5 Std. in dickes Celloidin, mit diesem nach 2—3 Std. Ausgießen in flache Schälchen, Schnelltrocknung unter der Glasglocke durch Verdampfen von Chloroform. Schnittfähig nach 12 bis 14 Std.

Zum **Färben** kommen nicht aufgeklebte Schnitte aus dem Alkohol bei der einfachen Färbung zunächst — stets nur 1—3 auf einmal — in ein Schälchen (besser vier-eckige Salznäpfchen, Blockschälchen, als die leicht kip-penden Uhrschildchen) mit stets frisch filtrierter Farb-lösung. (Einstellung in den 37° Brutapparat beschleunigt die Färbung meist!) Dann werden sie „differen-ziert“ zwecks distinkter Färbung der zunächst diffus gefärbten Gewebselemente; dazu dienen verdünnte Säuren, verdünnter oder saurer Alkohol (s. besondere Vor-schriften bei den einzelnen Färbemethoden). Die vor-her intensiv gefärbten Schnitte bekommen hier eine hellere Farbe. Darauf folgt Entwässern in Alkohol absoi. (zur Vorbereitung der späteren Aufhellung der Schnitte). Die Schnitte werden hierbei schnell hart und unbiegsam, müssen also sogleich im Alkohol möglichst glatt aus-gebreitet werden; man halte sie in den oberen Schichten des Alkohols, weil diese wasserärmer bleiben. Nunmehr kommen sie zur Aufhellung in Zedernöl (nicht das Immersionsöl, sondern gewöhnliches, nicht eingedicktes Zedernöl) oder in Bergamott-, Origanum-, Nelkenöl (dieses zieht oft die Farbe stark aus, löst Celloidin!) oder in Xylol (trübt sich schon durch Spuren von Wasser!), Als-

dann wird der Schnitt auf den Objektträger übertragen und kann im Öl mit einem Deckgläschen bedeckt untersucht werden. Zur Aufbewahrung kann er im Öl liegen bleiben, das allmählich fest wird, oder nach Abspülen des Öls durch Xylol mit einem Tropfen in Xylol gelösten neutralen Kanadabalsams und Deckglas bedeckt werden. In Xylol aufgehellte Schnitte werden, da dieses schnell verdunstet, in Kanadabalsam untersucht. Der Balsam wird in wenigen Tagen hart. Entfernung überschüssigen Balsams s. S. 39 Abs. 2. — Einlegen in Paraffinum liquidum s. S. 39 Abs. 2. — Auf dem Objektträger aufgetrocknete Schnitte (vgl. S. 41 Abs. 2) werden entsprechend behandelt, nur werden die Lösungen auf die Schnitte gebracht oder die ganzen Objektträger in die Lösungen eingetaucht. Auch Schnitte nicht in Paraffin eingebetteter Organe kann man auf dem Objektträger antrocknen und färben. Näheres siehe bei den einzelnen Färbemethoden.

U n t e r s u c h u n g stets zunächst mit schwacher Vergrößerung zur Orientierung über Färbung des Schnittes und gröbere pathologische Veränderungen des Gewebes.

Zum Manipulieren der Schnitte verwendet man durch Ausziehen von Glasstäben gefertigte Glasnadeln mit rund geschmolzenem Ende (nicht Metallnadeln, da diese durch manche bei der Färbung gebrauchte Stoffe angegriffen werden). Spatel braucht man am besten nur beim Übertragen eines Schnittes auf den Objektträger.

Farbstoffe zu Bakterienfärbung.

Zur Färbung der Bakterien dienen hauptsächlich folgende **basischen Anilinfarben**: Gentianaviolett, Methylviolett, Dahlia, Methylenblau, Fuchsin und (das sehr ähnlich zusammengesetzte) Rubin, Bismarckbraun (Vesuvium). Sie tingieren ausser Bakterien Zellkerne intensiv und dauernd, die übrigen Gewebselemente in geringerem Grade. Methylenblaulösungen vertragen starkes Erhitzen nicht, die anderen Farbstoffe gut; auch blassen Methylenblaupräparate meist allmählich stark ab.

Zur Färbung der Gewebselemente in Kontrastfarbe zu den Bakterien dienen (ausser basischen) **saure Anilinfarben** (z. B. Eosin), die aber die Kerne wenig gut tingieren, — von anderen Farbstoffen Karmin. (Manche Mikroorganismen färben sich auch mit diesen Farbstoffen,

so z. B. Staphylococcus pyogenes.) Man verwende nur Farbstoffe von bekannten Fabriken, um sich Fehlschläge zu ersparen, und achte auf die nähere Bezeichnung des Farbstoffs!

Herstellung der einfachsten Farblösungen.

1. W ä s s e r i g - a l k o h o l i s c h e L ö s u n g e n :

Man hält sich Stammlösungen der Farbstoffe vorrätig, d. h. bei Zimmertemperatur gesättigte Lösungen in absolutem Alkohol. (In einer Flasche mit Glasstopfen soviel Farbstoff mit Alkohol absol. übergossen, dass ein Teil ungelöst bleibt.) Zum Färben sind die Stammlösungen schlecht geeignet. Man stellt aus ihnen Farblösungen her, indem man soviel von ihnen in destilliertes Wasser filtriert, bis die Lösung in Reagenzglasdicke eben anfängt, undurchsichtig zu werden.

2. W ä s s e r i g e L ö s u n g e n :

Man schüttet Farbstoff im Überschuss in destilliertes Wasser, schüttelt tüchtig um und filtriert nach einigen Stunden ab. Am besten immer frisch herzustellen!

Allgemein merke man, dass man stets besser gefärbte Präparate bekommt, wenn man mit dünnen Farblösungen, aber lange färbt, als wenn man mit starken Lösungen kurze Zeit färbt.

Verstärkte Anilinfarblösungen.

Intensiver färbend als die einfachen Farblösungen.

a) L o e f f l e r s c h e M e t h y l e n b l a u l ö s u n g :

30 ccm gesättigte alkohol. Methylenblaulösung,
100 ccm 0,01 % iger Kalilauge (= 1 ccm 1 % ige Kalilauge auf 100 Wasser). Haltbar.

b) A n i l i n w a s s e r - F a r b l ö s u n g e n :

Man gibt in ein Reagenzglas soviel (recht helles) Anilinöl, dass seine Kuppe damit gefüllt ist, giesst das Röhrchen $\frac{3}{4}$ voll Wasser und schüttelt kräftig durch. Nach dem Durchschütteln muss noch ungelöstes Anilinöl übrig sein. Das durch ein angefeuchtetes Filter durchlaufende Filtrat muss wasserklar und öltropfenfrei sein (das Öl nicht mit auf das Filter giessen, nicht alle aufgegossene Flüssigkeit filtrieren! Ev. nochmals filtrieren). Man setzt zu ihm soviel gesättigte alkohol. Gentianaviolett-, Methylviolett- oder Fuchsinlösung, dass

die Farbflüssigkeit in reagenzglasstarker Schicht eben noch durchsichtig ist oder bis ein schillerndes Häutchen an der Oberfläche entsteht. Oder man löst soviel des festen Farbstoffes im Anilinwasser, als sich lösen will. Die Färbkraft der Lösungen kann man durch Zusatz von 1 ccm 1 % iger NaOH auf 100 ccm Lösung erhöhen. Die Lösungen sind wenig haltbar, ebenso das Anilinwasser an sich.

- c) **Karbolfuchsin nach Ziehl-Neelsen:**
100 ccm 5%iges Karbolwasser, 10 ccm gesättigte alkohol. Fuchsinlösung. — Färbt in etwa 3—4facher Verdünnung langsamer, aber reiner, ohne leicht zu überfärben; sehr beliebt auch in Verdünnung 1:10 zu den verschiedensten Färbungen wegen der klaren Bilder, die es liefert. Sehr haltbar.
- d) **Karbolgentiana- oder methylviolett:**
100 ccm 2¹/₂%iges Karbolwasser + 10 ccm gesätt. alkohol. Lösung des Farbstoffs. Sehr haltbar.
- e) **Karbolglyzerinfuchsin nach Czaplewski:**
1 g Fuchsin mit 5 ccm Acid. carbol. liquefact. verreiben, 50 ccm Glyzerin, dann 100 ccm Aq. dest. zusetzen. Auf das 4—10fache verdünnt zur Färbung brauchbar. Haltbar.
- f) **Karbolmethylenblau nach Kühne:**
1,5 g Methylenblau, 10 ccm Alkohol absolutus, 100 ccm 5%iges Karbolwasser. Gut haltbar.
- g) **Karbolthionin nach Nicolle:**
Gesätt. Lösung von Thionin in 50 % igem Alkohol, davon 10,0 + 1 % igen Karbolwassers 100,0. Gut haltbar.
- h) **Boraxmethylenblau nach Manson s. S. 104.**

Einfache Färbung von Ausstrichen

führt man hauptsächlich mit Methylenblau-, Fuchsin, Gen-tianaviolettlösungen, wie auf S. 37 u. 43 beschrieben, aus.

Die Wahl des Farbstoffes richtet sich nach der Vorliebe des Untersuchers für die eine oder andere Farbe. Manche Bakterien färben sich jedoch besser mit einer bestimmten Farbe als mit den anderen (vgl. Diphtheriebazillen, Choleravibrionen). Blut, Eiter, Gewebsausstriche färben sich im allgemeinen am reinsten mit Methylenblau oder 1:10 verdünntem Karbolfuchsin (s. oben c).

Einfache Färbung von Schnitten.

a) Nach Loeffler:

1. Färben in alkalischer Methylenblaulösung (Anilinwasser- oder Karbolfuchsinlösung) [S. 45] 5—30 Min.
2. Differenzieren in $\frac{1}{2}$ —1% iger Essigsäure bis zum Distinktwerden des Gewebes (einige Sek. bis $\frac{1}{2}$ Min. je nach der Schnittdicke und Färbungsintensität).
3. Entwässern in absolutem Alkohol (wenn gefärbt, zu wechseln).
4. Aufhellen in Zedernöl etc. Bazillen und Gewebe blau (oder rot).

b) Nach R. Pfeiffer:

1. Färben in verdünntem Karbolfuchsin (Ziehlsche Lösung [S. 46 c] 1 + Aq. dest. 3) 15—30 Min.
2. Übertragen in Alkohol absol. + 1—2 Tropfen Essigsäure pro Schälchen. Sobald die Schnitte anfangen rotviolett zu werden
3. Übertragen in Zedernöl oder Xylol etc.

c) Mit Gentiaviolett:

1. Färben mit wässriger Lösung 15—30 Min.
2. Auswaschen erst in 50% igem Alkohol, dann in absolutem Alkohol, bis die Schnitte eine hellviolette Farbe haben. Aufhellen in Zedernöl etc.

d) Nach Kühne-Pregl:

1. Färben in Karbolmethylenblau (S. 46 f) $\frac{1}{2}$ —1 Min.
2. Kurzes Abspülen in Wasser.
3. Entfärben in 50% igem Alkohol, bis die Schnitte blassblau (mit Stich ins Grünliche) geworden sind.
4. Entwässern in Alk. abs., Aufhellen in Zedernöl etc.

e) Nach Nicolles Methylenblau-Tanninmethode:

1. Färben mit alkal. Methylenblau oder Karbolmethylenblau wie bei a und d.
2. Kurz Spülen in Wasser oder $\frac{1}{2}$ —1% iger Essigsäure.
3. Übertragen in 10% ige Tanninlösung (wodurch das Methylenblau unlöslich wird) für einige Sekunden. Auch 1% ige Tanninlösung genügt bereits.
4. Abspülen in Wasser, Entwässern in Alkohol, Aufhellen in Öl etc. Für leicht sich entfärbende Bakt. (Typhus, Rotz etc.) empfehlenswert.

f) Nach Nicolles Thioninmethode:

1. Färben in Karbolthionin (S. 46 g) $\frac{1}{2}$ —1 Min.
2. Abspülen in Wasser.

3. Entwässern in Alkohol absol.; dann Öl etc.

Wie Methode e für leicht sich entfärbende Bakterien empfehlenswert.

Die Methoden a, b und f sind wegen ihrer Einfachheit und ihrer guten Resultate vorzuziehen.

Isolierte und Kontrast-Färbung der Bakterien.

I. **Fuchsin-Blaufärbung.** a) nach Pick-Jacobson. Für Ausstriche: Färben höchstens 8—10 Sek. mit einer Mischung von Karbolfuchsin Ziehl (S. 46 c) 15 Tropfen, gesätt. alkohol. Methylenblaulösung 8 Tropfen, Aq. dest. 20,0. Bakt. dunkelblau, Kerne hellblau, übriges Gewebe rot. (Altgewordene Farblösung durch Zusatz von etwas Karbolfuchsin aufbessern!) b) nach Frosch (C. B. I. Or. 64 S. 118). Für Ausstriche: Färben mit verdünnter alkohol. Fuchsinlösung, dann unmittelbar in Patentblau Höchst (2—3 Tr. gesätt. wäss. Lös. + 15—20 ccm frischer Aq. dest. + 1—2 Tr. Eisessig), bis Präp. grünblau erscheint. Für Schnitte 1 Tr. Blaulösung: 30 Aq. dest. Bakt. u. Kerne rot, Gewebe blau, Erythrozyten grün.

II. **Methylenblau-Eosinfärbung.** Für Ausstriche. Färben $\frac{1}{2}$ Min. mit einer frischen Mischung von Löfflerscher Methylenblaulösung (S. 45) 30,0 mit gesättigter alkohol. Eosinlösung ca. 10,0 (Ausproben!). Abspülen in Wasser. Bakterien und Kerne blau, Zellprotoplasma usw. rot. Für Schnitte empfiehlt sich die Färbemethode von Lentz für Hunsrückkörperchen (s. S. 114).

III. Nach May-Grünwald. (Ztrbl. f. inn. Med. 02 S. 265.) Je 1000 ccm $\frac{1}{100}$ iger wäss. Lösung von Eosin und Methylenblau medicinale Höchst werden gemischt und nach einigen Tagen filtriert. Der Rückstand wird mit Wasser gewaschen, bis dieses fast farblos abläuft. Dann wird vom getrockneten Rückstand eine gesättigte Lösung in Methylalkohol hergestellt und (ohne Fixierung der Ausstriche) zum Färben kalt benutzt (5 Min. unverdünnt zwecks Fixierung, dann unter Zusatz der gleichen Menge Aq. dest.). Danach Abspülen in Wasser + einigen Tropfen der Lösung. Farbstoff zu beziehen von Dr. Schwalm, München, Sonnenstr. 10, und Dr. Grübler, Leipzig. Besonders für Blut- und Eiterpräparate — Assmann, M. m. W. 1906 Nr. 28, übergießt Ausstriche in Petrischale mit 40 Tr. der Lösung für 3 Min., setzt dann

20 ccm Aq. dest. + 5 Tr. 1⁰/₀₀ K₂CO₃ hinzu, schüttelt und lässt 5 Min. färben. Dann ohne Abspülen trocknen usw.

IV. Gramsche Färbung. (Sowohl zur deutlichen Darstellung von Bakterien, wie auch als diagnostisches Mittel, da sich nur bestimmte Bakterienarten nach ihr darstellen lassen, — s. S. 50 — vorzüglich.

a) **Ausstriche:**

1. Färbung mit Anilinwasser- oder Karbol-Gentiana-violett-Methylviolett-Lösung (s. S. 46) unter Erwärmen mindestens 2 Min. lang. Geeignetste Farbstoffe sind Methylviolett Höchst 6 B u. BN. Dann ohne Abspülen
2. 30 Sekunden bis 2 Minuten in Jodjodkaliumlösung. (Solve Jodi 1,0, Kal. jodat. 2,0 in Aq. dest. 5,0; nach Lösung adde Aq. dest. ad 300,0.) Hierbei entsteht in den Leibern bestimmter Bakterienarten (s. S. 50 welcher) eine Farbstoffjodverbindung, die in Alkohol unlöslich ist.
3. Entfärben des Präparates in Alkohol absol., bis es dem Auge farblos erscheint. Jetzt sind die nach Gram färbbaren Bakterien isoliert schwarzblau gefärbt, alle anderen Bakterien und die Gewebselemente (bis auf einzelne Zellkerne) farblos. Man kann das Präparat nun untersuchen oder
4. Nachfärben mit wässerig-alkohol. Vesuvin-, auch Safranin- oder Fuchsinlösung einige Sek. oder mit Pikrokarmin (s. S. 51) 2—10 Min. Die Nachfärbung mit Vesuvin- oder Fuchsinlösung hat den Vorteil, dass durch sie im Präparate etwa vorhandene, nicht das Violett festhaltende Bakterien deutlicher gefärbt werden, als mit Safranin oder gar Karmin.
5. Abspülen in Wasser usw.
Gramfärbbare Bakterien schwarzblau, Gewebe rot.

b) **Schnitte** (vgl. hierzu die Bemerkungen unter a):

1. Färbung wie bei a) 5—30 Min.
2. Übertragen des Präparates 1—2 Min. in Jodjodkaliumlösung. Die Schnitte werden hier braunschwarz.
3. Auswaschen in Alkohol absolutus, bis der Schnitt ganz oder ziemlich farblos erscheint. Jetzt sind die nach Gram tingierbaren Bakterien isoliert schwarzblau gefärbt. Man kann nun in Zedernöl aufhellen etc. oder eine Gegenfärbung des Gewebes und etwa vorhandener, nach Gram nicht färbbarer Bakt. anwenden (4—7).

4. Nachfärbung mit Pikrokärmin (s. S. 51), Safranin- oder dünner Fuchsinlösung 5—10 Min. (nach Abspülung in Wasser oder verdünntem Alkohol).

5. Abspülen in 60 % igem Alkohol.

6. Entwässern in Alk. abs., Aufhellen in Zedernöl usw.

Man kann auch 4—5 vorausschicken und darauf 1—3 und 7 folgen lassen.

Gramfärbbare Bakterien schwarzblau, Gewebe rot (Zellkerne oft blassblau bis dunkelblau). Bakterien meist nicht an allen Stellen des Präparates gleichmässig gut gefärbt.

Zur Beschleunigung der Entfärbung kann statt des Alkohols bei a) u. b) 3 dienen nach Günther Alkohol absol. + 3% HCl für 10 Sek., dann Alkohol absol., nach Nicolle Alkohol absol. + 10—30 Volumproz. Aceton. (Nicolle empfiehlt Karbolwassergentianaviolett mit 1% igem Karbolwasser, Jodjodkaliumlösung 1 J + 2 KJ + 200 Aq.)

Nach der Gramschen Methode lassen sich färben, d. h. bleiben bei der Alkoholbehandlung (3) schwarzblau gefärbt: Milzbrandbazillen, Tuberkel- und Leprabazillen (für diese hat die Färbung nur dann Zweck, wenn man sicher ist, ausser ihnen keine anderen Bakterien im Präparat zu haben), Diphtheriebaz., Schweine-rotlaufbaz., Mäuseseptikämiebaz., Gasbrandbaz., die pyogenen Streptokokken und Staphylokokken, Pneumokokken, Micrococcus tetragenus, Aktinomyces, Hefen, Soor, Kartoffelbaz. u. a. m. (NB. Allzulange fortgesetzte Alkoholbehandlung entfärbt auch manche dieser Bakterien, insbesondere in älteren Kulturen!)

Die Gramsche Methode ist nicht anwendbar, weil die betreffenden Bakterien sich im Alkohol entfärben, zur Darstellung von Typhusbaz., Bact. coli und ähnlichen, Ruhrbaz., Cholera- und ähnlichen Vibrionen, Nekrose-, Hühnercholera- und Kaninchenseptikämiebaz., Baz. des malignen Ödems und Rauschbrandes (bleiben ab und zu gefärbt, s. auch S. 51 Nr. VI), Friedländers Pneumoniebaz., Bac. pyocyaneus, Bac. der Bubonenpest, Rotzbaz., Influenzabaz., Koch-Weeksschen Baz., Ulcus molle Baz., Rekurrens- und Syphilisspirochäten, Gonokokken, Meningokokken. Tetanusbazillen werden bis auf einzelne Stäbchen entfärbt.

Zur Prüfung einer Bakterienkultur auf ihr Verhalten bei der Gramschen Färbung benutze man

stets junge Kulturen und streiche zur Prüfung, ob man richtig gearbeitet hat, von einer jungen Staph. pyog. aur.- und Bact. coli-Kultur etwas Material neben den zu prüfenden Bakterien mit aus: bei richtiger Ausführung der Färbemethode sind die Staphylokokken schwarzblau, das Bact. coli rot gefärbt. Nicht zu kurze Alkoholbehandlung, weil sonst alle Bakterien nach Gram darstellbar sind!

V. Weigerts Färbung für Schnitte (sogenannte Fibrinmethode).

1. Färben mit Lithionkarmin (Karmin 2,5 gelöst in gesätt. wässer. Lösung von Lithium carbon. 100,0; aufkochen, filtrieren) oder wässer. alkohol. Safraninlösung $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde (auch mit Karbolfuchsin Ziehl 1 + 4 Aq. dest.).
2. Abspülen in Wasser oder 0,6%iger NaCl-Lösung.
3. Färben in Anilinwassergentianaviolett 5—30 Minuten. — Oder nach Kühne in folgender Lösung: Kristallviolett 1 gelöst in Alkohol absol. 10; davon 1 auf 10 Aq. dest. + 2 Tropfen Salzsäure.
4. Abspülen in 0,6 % iger Kochsalzlösung.
5. Abtrocknen des Schnittes auf dem Objekträger mit Fliesspapier.
6. Aufbringen von Jodjodkaliumlösung (s. S. 48 sub 2) 1—2 Minuten lang.
7. Sorgfältig abtrocknen mit Fliesspapier.
8. Entfärben mit Anilinöl, bis dieses sich nicht mehr färbt. Man kontrolliert mit Hilfe des Mikroskopes die Färbung des Schnittes!
9. Entfernen des Anilinöls mit Xylol, Einlegen.

Grampositive Bakterien violettblau, Fibrin tiefblau, Gewebe rot.

VI. Nach Claudius (Ann. Past. 11. 1897): Wie Gramsche Färbung (S. 49), doch statt Jodjodkaliumlösung gesätt. wäss. Pikrinsäurelösung + Aq. dest. $\bar{a}\bar{a}$. Danach Differenzieren in Alkohol oder Chloroform. Stellt auch die Baz. des malignen Ödems und des Rauschbrandes, nicht die des Tetanus schwarzblau dar, wirkt sonst wie Gramsche Färbung.

Pikrokarminlösung zur Kontrastfärbung der Gewebe.

- a) Nach Friedländer bereitet: Solve Karmin 1,0 in Aq. dest. 50,0 + Ammoniak 1,0. Adde gesättigte wässer. Pikrinsäurelösung so lange, bis der sich bildende

Niederschlag beim Umrühren nicht mehr gelöst wird. Etwas Ammoniakzusatz löst den Niederschlag wieder. Zur Verhinderung von Mikroorganismenwachstum in der Lösung setzt man einige Tropfen Karbolsäure zu. Vor dem Gebrauch zu filtrieren. Haltbare Lösung.

- b) Nach Weigert hergestellt: Karmin 2 + Ammoniak 4 steht 24 Stunden. Dann 200 g konzentrierte wässrige Pikrinsäurelösung hinzufügen, nach 24 Stunden Essigsäure tropfenweise, bis Niederschlag erfolgt, hinzu, dann Ammoniak tropfenweise, bis die Lösung klar ist.

Kapselfärbung.

Viele Bakterienkapseln lassen sich in Deckglaspräparaten durch längeres Erwärmen mit Löfflerscher oder Zienlscher Lösung (s. S. 45 a und 46 c) blass blauviolett oder rot färben. Besser in Wasser als Öl oder Kanadabalsam untersuchen, weil Kapseln hier weniger deutlich!

Besondere Färbungen:

- a) Nach Weidenreich-Hamm, C. B. I. Or. 43 S. 287: Ausstreichen des Präparates in einem Tröpfchen Serum. Fixierung mit Osmiumsäure (S. 38), nicht mehr als 30—40 Sek. Dann Färbung mit Giemsa'scher Lösung (vgl. Malariaparasiten, S. 104) oder Methylenblaulösung.
- b) Nach John e: Färbung mit 2%iger wässr. Genvianviolettlösung /unter leichtem Erwärmen $\frac{1}{2}$ Min. Abspülen in Wasser. Entfärben in 1—2%iger Essigsäure 6—10 Sek. Abspülen in Wasser und untersuchen darin.
- c) Nach Klett: Färben mit 10%iger gesätt. alkohol. Methylenblaulös. + 100 Aq. unter Erwärmen bis Kochen. Abspülen und mit klarem Spülwasser erhitzen. Gegenfärben 5 Sek. mit Fuchsinlös., die wie Methylenblaulös. bereitet. Abspülen. Baz. blau, Hülle rosa mit rotem Umriss.
- d) Nach Nicolle. (Für Ausstriche und Schnitte.)
1. Färben mit folgender Mischung: Gesätt. Lösung von Genvianviolett in 95%igem Alkohol 10,0, 1%iges Karbolwasser 100,0.
2. Abspülen in Alkohol absol. + $\frac{1}{3}$ Volumen Aceton. Abspülen in Wasser für Deckgläschen, für Schnitte, Alkohol absol., Öl etc.

- e) **Bunges** Geisselfärbmethode (S. 55), **Giemsa-**färbung (S. 104) und weitere Methoden S. 58.

Sporenfärbung.

Die Sporen färben sich schwer wegen ihrer starken Hülle, die nur durch kürzeres Erhitzen mit gut färbenden Lösungen oder durch Mazeration durchgängig wird. Gut sind folgende Verfahren:

a) Nach **Möller**:

1. Behandlung der Ausstriche (nach dem Fixieren) 5 Sekunden bis 10 Min. mit 5%iger wässriger Chromsäurelösung. Die Zeitdauer ist für jede Organismenart auszuprobieren.
2. Abspülen in Wasser.
3. Färben mit Anilinwasserfuchsin oder Karbolfuchsin 1 Minute unter Aufkochen.
4. Entfärben in 5%iger Schwefelsäure 5 Sekunden.
5. Abspülen in Wasser.
6. Nachfärben mit dünner Methylenblaulösung. Abspülen usw.

Vor der Chromsäurebehandlung kann man die Präparate 2 Minuten in Chloroform bringen, um Sporen vor-täuschende Fetttropfchen etc. zu entfernen. Danach Abspülen in Wasser.

b) Nach **Aujeszký** (C. B. I. 23 S. 329). Man bringt die lufttrockenen, nicht fixierten Ausstriche 3—4 Min. in heisse $\frac{1}{2}$ %ige HCl, spült in Wasser ab, trocknet, fixiert und färbt dann wie bei a) 3—6.

c) Nach **Orszag** (C. B. I. Or. 41 S. 397). Man streicht das Bakterienmaterial in einem Tropfen einer Mischung von 4 Teilen $\frac{1}{2}$ %iger Natr. salicyl.-Lösung und 1 Teil 5%iger Essigsäure aus, lässt lufttrocken werden, fixiert in der Flamme und behandelt dann wie bei a) 3—6 (bei 4. 1%ige H_2SO_4 oder 3%ige HNO_3).

Geisselfärbung.

(Beobachtung von Geisseln an lebenden Bakterien siehe Dunkelfeldbeleuchtung S. 5.)

Man nehme Bakterienmaterial von festen, nicht flüssigen Kulturmedien, — besonders gut sind junge Agarkulturen — nachdem man sich durch Untersuchung im hängenden Tropfen von der Beweglichkeit überzeugt hat.

Die zu reizenden Bakterien sollen möglichst isoliert liegen und wenig Nährbodenbestandteile beigemischt enthalten, was man auf folgende Weise erreicht: Man bringt von dem Bakterienmaterial eine Spur in mehrere Tröpfchen auf einem Objektträger nacheinander und streicht die letzten Tröpfchen, ohne viel zu verreiben, aus, lässt lufttrocken werden und fixiert in der Flamme. Oder man macht von einer Aufschwemmung mit 0,85%iger NaCl-Lösung im Reagenzglas Ausstrichpräparate. Oder man bringt etwas Bakterienmaterial in ein Tröpfchen Wasser auf einem Objektträger und überträgt davon eine Spur in einen grösseren Wassertropfen, dem 1—2 Ösen 2% iger Osmiumsäurelösung zugesetzt sind; von diesem Tropfen stellt man Deckglasausstriche her.

Die Deckgläschen müssen ganz sauber sein! (Reinigung s. S. 6.)

A. Geisselfärbung nach Loeffler:

1. Beizen der Geisseln mit der unten angegebenen Beize. Erwärmen derselben auf dem Deckglas bis zur Dampfbildung $\frac{1}{2}$ —1 Minute.
2. Abspülen der Präparate mit einem kräftigen Wasserstrahle. Sorgfältiges Entfernen der Beize an den Rändern (ev. mit Fliesspapier) und auf der Fläche.
3. Abspülen in Alkohol, bis nur die Stellen, an welchen Organismen liegen, gebeizt (gefärbt) erscheinen.
4. Färben mit Anilinwasserfuchsinlösung (zu der nach S. 45 b bereiteten Lösung zweckmässig Zusatz von 1% einer 1% igen NaOH oder noch mehr, bis zum Eintritt der Schwebefällung, d. h. zum eben beginnenden Trübwerden der Lösung, — jedesmal frisch bereiten!) unter Erwärmen.
5. Abspülen in Wasser usw.

Als Beize dient eine Mischung von 10 ccm 20% iger Tanninlösung, 5 ccm kalt gesättigter wässer. Lösung von Ferrosulfat oder Ferr. oxydul. ammon., 1 ccm wässeriger oder alkoholischer Fuchsin- (auch Methylviolett- oder Wollschwarz-) lösung. Diese Beize ist nach Loeffler für die Färbung der Geisseln von Spirillum concentricum gerade richtig; für die Typhusbazillen ist ein Zusatz von 1 ccm 1% iger NaOH auf die 16 ccm Beize nötig, für Bacillus subtilis sind 28—30 Tropfen, für den Bacillus des malignen Ödems 36—37 Tropfen der Lauge erforderlich. Um die Geisseln der Choleraspirillen resp.

die des Spirillum rubrum zu beizen, muss man $\frac{1}{2}$ —1 resp. 9 Tropfen einer auf die 1 % ige NaOH eingestellten H_2SO_4 zu den 16 ccm Beize zusetzen.

Nach Nicolle und Morax kann man von den Laugen- und Säurezusätzen absehen, wenn man 3—4 mal je 10 Sek. unter Erwärmen bis zur Dampfbildung (nicht zum Kochen) beizt und zwischen je zwei Beizungen sorgfältig mit Wasser abspült. Statt sub 3 in Alkohol kann man in Wasser abspülen.

Niederschläge im Präparat vermeidet man durch sehr sorgfältiges Spülen. Zweckmässig ist es auch, beim Beizen und Färben erst ein Stückchen Fliesspapier auf das Präparat und darauf die Lösung zu bringen.

Modifikation von Bunge (Fortschr. Med. 1894):

1. Beizen mit folgender Lösung: 30 ccm gesätt. wäss. Tanninlösung, 10 ccm Liquor ferri sesquichlor. 1 + 20 Aq., 8 ccm gesätt. wäss. Fuchsinlösung. Die Beize soll mindestens einige Tage stehen oder vor Gebrauch wird ihr tropfenweise Wasserstoffsperoxyd zugesetzt, bis ihre Farbe rotbraun wird (ca. 14 Tropfen 3%ige H_2O_2 -Lösung auf 5 ccm Beize). Die auf das zu beizende Deckgläschen filtrierte Lösung soll 1—5 Min. (unter Erwärmen) einwirken. (Die Beize mit dem H_2O_2 -Zusatz hält sich nur ganz kurze Zeit brauchbar.)
2. Abspülen in Wasser.
3. Färben mit Karbolgentianaviolettlösung (s. S. 46 d) unter leichtem Erwärmen.
4. Abspülen in Wasser, Trocknen, Einlegen.

Für alle Bakterien ohne weitere Zusätze zur Beize verwendbar. Auch Kapseln werden gefärbt, besonders wenn vor der Beizung $\frac{1}{2}$ —1 Min. 5 % ige Essigsäure eingewirkt hat, dann in Wasser abgespült worden ist.

Modifikation von Coerner-A. Fischer:

1. Beizen mit folgender Lösung unter Erwärmen ohne Kochen 1 Min.: 2 g Tannin, 20 ccm Wasser, 4 ccm Ferrosulfatlösung 1:2, 1 ccm gesätt. alkohol. Fuchsinlösung.
2. Abspülen in Wasser.
3. Färben mit Anilinfuchsin- oder Karbofuchsinlösung oder gesätt. wäss. Fuchsinlösung.
4. Abspülen in Wasser, Trocknen, Einlegen.

Für alle Bakterien ohne weiteres brauchbar.

B. Geisselfärbung nach Peppler (C. B. I. 29 S. 345):

1. Beizen 1—5 Min. ohne Erwärmen mit folgender Lösung: 20 Tannin + 80 Aq. dest. im Wasserbade unter gelindem Erwärmen lösen, abkühlen auf rd. 20°; langsam in kleinen Portionen unter Umschütteln hinzufügen 15 ccm Lösung von H₂SO₄freier Chromsäure 2,5 in 100 Aq. dest.; 4—6 Tage bei Zimmerwärme stehen lassen, durch doppeltes Faltenfilter geben. Aufbewahren in Zimmerwärme. Niederschläge belanglos. Vor Gebrauch filtrieren.
2. Kräftig abspülen.
3. Färben 2 Min. mit Karbolgentianaviolettlösung (S. 49 a) ohne Erwärmen.
4. Stark abspülen mit Wasser, trocknen.

C. Geisselfärbung nach van Ermengem:

1. Behandeln der Ausstriche 1/2 Stunde in der Kälte oder 5 Min. bei 50—60° in einer Mischung von 1 Teil 2 % iger Osmiumsäure mit 2 Teilen 10—25 % iger Tanninlösung, welcher 4—5 Tropfen Eisessig auf 100 ccm zugesetzt worden sind. Die Mischung soll womöglich einige Tage alt sein.
2. Abspülen in Aq. dest., dann in Alkohol absol.
3. Eintauchen einige Sekunden in 0,25—0,5 (—1,0) % ige AgNO₃-Lösung.
4. Ohne Abspülen in folgende Lösung: Acid. gallic. 5,0, Tannin 3,0, Natr. acet. fus. 10,0, Aq. dest. 350,0 für einige Sekunden.
5. Zurück in 3. und darin unter stetiger Bewegung lassen, bis die Lösung sich zu schwärzen beginnt.
6. Abspülen mit viel Wasser. Untersuchen. Erscheint die Färbung nicht intensiv genug, Wiederholung von 4—6.
7. Trocknen, Einlegen. Bakterien und Geisseln schwarz. — Womöglich bei Tageslicht arbeiten!

D. Geisselfärbung nach Zettnow: Klin. Jahrb. Bd. XI, S. 379 (ältere Vorschrift Zschr. f. Hyg. Bd. 30, S. 95).

1. Herstellung der Ausstriche nach dem Osmiumsäureverfahren (s. S. 54).
2. Beizen. Deckglas in Flamme fixieren, mit der Schicht nach unten in Blockschälchen legen, reichlich mit Beize übergießen und 5—7 Min. auf eine etwa 100° heisse Eisenplatte stellen. Herstel-

lung der Beize: Lösung von 10 Tannin in 200 Aq. erwärme auf 50—60°, adde 36—37 ccm Lösung von 2 g Tartarus stibiatus in 40 Aq., erhitzte bis Niederschlag gelöst. Ist die Trübung der erkalteten Beize sehr stark (milchweiss, — Probe in Reagenzglas giessen), adde etwas Tannin, ist die Beize klar, adde 1 ccm der Tart.-Lösung. Die Beize soll keinen Bodensatz bilden, beim Erhitzen völlig klar werden. Etwas Thymolzusatz sichert die Haltbarkeit. Sie ist heiss und klar anzuwenden.

3. Schälchen abkühlen lassen, bis die Beize sich zu trüben beginnt, dann sehr sorgfältig abspülen.
4. Auf Deckglas 3—4 Tr. Äthylaminsilberlösung geben und erhitzen, bis sie stark raucht und die Ausstrichränder (nur diese!) schwarz werden. Äthylaminsilberlösung: 2—3 g Silbersulfat (hergestellt aus Silbernitratlösung durch Zusatz von Magnesium- oder Natriumsulfat) schüttele kräftig mit 200 Aq. zur Erzielung einer gesättigten Lösung. Eine beliebige Menge davon + Aq. $\bar{a}\bar{a}$ versetze im Reagenzglas mit 33 % iger (käuflicher) Äthylaminlösung, bis anfänglicher Niederschlag eben wieder gelöst ist. Haltbar, allmähliche Braunfärbung belanglos.
5. Abspülen in Wasser. Geisseln schwarz, Grund völlig hell.

Besondere Untersuchungsmethoden für die wichtigsten pathogenen und einige andere Mikroorganismenarten.

1. Milzbrandbazillen.

Plumpe Stäbchen, unbeweglich, meist in kürzeren oder längeren Fäden angeordnet. Auf allen üblichen Nährböden wachsend. Leicht färbbar. Gefärbt scharf abgeschnittene oder konkave Begrenzungslinien mit Nachbarfäden zeigend; dies nicht bei Gramfärbung, die positiv. Sporenbildung nicht unter 18°, nicht im Tierkörper, nur bei Luftzutritt und Feuchtigkeit.

Kapselbildung meist nur im Tierkörper.

Kapselfärbung nach den Methoden S. 52. Ferner durch Färbung mit Safraninlösung (solve. 3 g in 100 g fast kochend heisser Aq. dest., filtriere nach Erkalten) unter Erhitzen 1—2 Min. (Olt) oder (nach Raebiger) durch Färbung mit Formalin-Gentianaviolett (kalt gesätt. Lösung von Gentianaviolett in Formalin, filtriert; Ausstriche ohne Fixierung 30 Sek. kalt färben). Untersuchen in Wasser! Die Kapselbildung der M.-Baz. kann bisweilen zur Unterscheidung zwischen ihnen und ähnlichen Baz. in faulen Tierkadavern helfen, nie aber allein ohne positive Kultur- oder Tierversuche Entscheidungen geben.

Nachweis im Körper mikroskopisch nur bei nicht fauligem Material einigermaßen sicher.

Zuverlässiger ist Nachweis durch Kultur und Impfung. Letztere versagt bisweilen, wo Kultur noch erfolgreich. Geeignetste Impftiere weisse Mäuse und Meer-schweinchen (subkutane Impfung); Blut, bei negativem Befund auch Impfstelle (Ödem) dieser untersuchen.

Sind auch Kultur und Tierversuch negativ, liefert die Präzipitationsmethode (Ascolische Reaktion) noch Erfolg: 2—3 g mit Quarzsand fein zerriebenes Organmaterial (Blut, Milz) mit 10 ccm Chloroform versetzt 5 Stunden im Zimmer stehen lassen; dann Chloroform abgiessen, zu Organbrei 5 ccm 0,85%ige NaCl-Lösung setzen, nach 6—12 Stunden klar filtrieren. Oder Organ-aufschwemmung in 5—10 facher Menge der NaCl-Lösung mehrmals aufkochen und nach Abkühlen klar filtrieren. Etwas von dem Filtrat schichtet man in engem Reagenzglas vorsichtig über Milzbrandserum von hohem Präzipitingehalt (käuflich bei L. W. Gans, Oberursel bei Frankfurt a. M.). Ringförmige Trübung beweist Milzbrand des Tieres, aus dessen Organ der Auszug gemacht war, wenn sie bei Überschichtung über normales Serum nicht auch eintritt. (Weiteres s. C. B. I. Or. 58 S. 63, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 38 Heft 3; Apparatur Zeitschr. f. Immunitätsforschung, 11, S. 103).

Kann milzbrandverdächtiges Tiermaterial nicht sofort untersucht werden, so kann man die M.-Baz. in ihm lebend erhalten durch Antrocknen des Materials (bei milzbrandverdächt. Tieren Ohr- oder Halsvenenblut oder Milzbrei) in dicker Schicht auf Objektträgern oder Fliesspapier oder Gipsstäbchen (käuflich). Zur Untersuchung aufweichen oder abschaben.

Zum Nachweis an Haaren usw. die Haare mit alkal. Bouillon waschen, diese $\frac{1}{2}$ St. auf 80° erhitzen (wobei die M.-Sporen überleben), zentrifugieren, Bodensatz auf Platten und Tiere verimpfen.

Herstellung von Sporenfäden: Als Testobjekt für Desinfektionsprüfungen gebraucht, vgl. S. 35 u. 36 Nr. 8 u. 9. Vertragen meist 2—5 Min. lang Dampf von 100° . Belag von Agar- oder Kartoffelkulturen, in denen das Mikroskop vollentwickelte Sporen gezeigt hat, wird mit sterilem Wasser gleichmässig verrieben. 1—2 cm lange ausgewaschene und sterilisierte Seidenfädchen (Turnerseide Nr. 4—7) werden mit der Aufschwemmung getränkt, sofort auf sterilen Doppelschalen im Dunkeln im Exsikkator getrocknet und dann dunkel in Reagenzgläschen aufgehoben. (Vorsicht beim Aufnehmen! Gefahr der Sporeninhalation!) Zur Prüfung auf Resistenz am besten Aussaat in 3%ige Traubenzuckerbouillon + 5% Rinder- oder Pferdeserum.

2. Tuberkelbazillen.

Als Nährböden für Tb. eignen sich von den üblichen Substraten: Blutserum (für Züchtung aus dem Körper am besten geeignet); Glycerinagar (4 % Glycerin Optimum); Glycerinkartoffeln (Keile auf ziemlich langem Glasröhrchen ruhend [S. 19], in Röhrchen etwas 4—5%iges Glycerinwasser geben, womit Kartoffel nach Kochen überrieselt wird); Glycerinbouillon (Wachstum nur von schwimmenden Partikeln an der Oberfläche aus). Züchtung bei 37° ; sehr langsames Wachstum. Eintrocknen der Röhrchen durch Gummikappe (s. S. 25) oder eines der Verfahren 2, 4, 5 S. 131—132 verhüten. So gut wie kein Wachstum auf Gelatine, Peptonagar etc. und bei Zimmertemperatur. Unbeweglich.

Als Spezialnährböden sind zu empfehlen (Wachstum schon nach 8 Tagen üppig); Hesses Heydenagar (s. S. 62) und Hirnnährböden nach Ficker: Fein zermahlenes Hirn mit Aq. dest. $\bar{a}\bar{a}$ unter stetem Umrühren zum Kochen erwärmt, $\frac{1}{4}$ Std. gekocht, dann koliert, bis Kolatur leicht breiig. Mische diese ohne Neutralisation $\bar{a}\bar{a}$ mit 2,5%iger Lösung von Agar in Aq. dest., adde 3% Glycerin, sterilisiere etc. Röhrchen gut mischen und schnell erstarren lassen, ehe Hirn- und Agarschicht sich trennen!

Züchtung aus menschlichen Körpergeweben, Auswurf usw. durch Tierimpfung (S. 65) oder durch direkte Aussaat (bei Gegenwart anderer Bakterien nach B 1 b S. 63). Beim Rind mit Verdacht auf Lungentub. Schleimentnahme mittels Schleimfänger oder Einstossen eines Troikarts in Trachea und Einführen eines Wattebausches an Draht bis in Bronchus; bei Verdacht auf Eutertub. Harpunieren des Knotens.

Färbemethoden für Tuberkelbazillen.

Die Tb. färben sich schwer infolge ihres Fettgehaltes; einmal gefärbt, halten sie die Farbe aber auch sehr fest. Die folgenden Methoden stellen nur die Tb. (und einige ähnliche Mikroben, sog. säurefeste; bezüglich der Unterscheidung vgl. S. 66—67) mit der ersten Farbe tingiert dar, während andere Bakterien und Gewebs-elemente die zur Nachfärbung benutzte Farbe annehmen.

a) Verfahren von Ehrlich-Ziehl-Neelsen.

Für Ausstrichpräparate:

1. Färben mit Anilinwasser- oder Karbolfuchsin (S. 45) 2 Minuten unter wiederholtem Aufkochen.
2. Entfärben 5 Sek. in 5%iger H_2SO_4 oder 25%iger HNO_3 .
3. Abspülen in 70%igem Alkohol, bis das Präparat farblos erscheint. (Ev. Wiederholung von 2 und 3.)
4. Nachfärben mit gesättigter wässriger Methylenblaulösung oder mit Loefflerscher Methylenblaulösung (S. 45) 1 + 3 Wasser 5—10 Sek.
5. Abspülen in Wasser.

Für Schnitte (Formalinhärtung beeinträchtigt Färbbarkeit der Tb.):

1. Färben mit Anilinwasserfuchsin (Karbolfuchsin nicht so gut, weil Präparate oft unreiner) 1—24 Std.
2. Entfärben 10 Sek. in 5%iger H_2SO_4 oder 25%iger HNO_3 .
3. Abspülen in 70%igem Alkohol, bis das Präparat farblos wird (um dies schneller zu erreichen, kann 2 rasch wiederholt werden).
4. Nachfärben in Methylenblaulösung [am besten Loefflerscher (S. 45) 1 + 3 Wasser] 2—5 Min.
5. Abspülen in $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ %iger Essigsäure.
6. Entwässern in Alk. absol., Aufhellen usw.

Tb. rot, Gewebe und andere Bakterien blau.

Für Ausstriche wie für Schnitte kann man bei 1. auch Anilinwassergentianaviolett, dann bei 2. die 25%ige HNO_3 und bei 4. schwache Lösungen von Fuchsin, Safranin oder Bismarckbraun anwenden. Die Tb. werden dann blau, die Gewebe rot oder braun gefärbt.

b) Verfahren von B. Fränkel-Gabbet.

Für Ausstriche:

1. Färben in Anilinwasser- oder Karbolfuchsin (S. 45) 2 Min. unter Aufkochen.
2. Entfärbung und Gegenfärbung findet zusammen statt in einer gesättigten Lösung von Methylenblau in Alkohol 30 + Aq. 50 + HNO_3 20 (oder in H_2SO_4 10,0, Aq. dest. 30,0 + Methylenblaupulver bis zur Sättigung). $1\frac{1}{2}$ —2 Min.
3. Abspülen in Wasser;
oder
 1. Färben mit Anilinwasser-Gentiana- oder Methylviolett-lösung 2 Min. unter Aufkochen.
 2. Entfärbung und Gegenfärbung ($1\frac{1}{2}$ —2 Min.) findet zusammen statt in einer Lösung von Alkohol 70, HNO_3 30 + soviel Bismarckbraunpulver wie sich löst.
 3. Abspülen in Wasser.

Das Verfahren b) hat gegen a) den Nachteil, dass man nicht alle Stadien der Entfärbung und Gegenfärbung mit dem Auge verfolgen kann; es lässt ausserdem bisweilen andere säurefeste Baz. gefärbt, so dass es sich zu sicherer Diagnose nicht eignet.

c) Verfahren von Pappenheim. Für Ausstriche:

1. Färben mit Karbolfuchsin (S. 45) 2 Min. unter Aufkochen.
2. Ohne Abspülen für 1 Min. in folgende Lösung: Corallin 1, gesätt. Lösung von Methylenblau in Alkohol absol. 100, Glycerin 20.
3. Abspülen in Wasser. Trocknen. Einlegen.

Nachteil gegen a), dass Entfärbung und Gegenfärbung nicht in allen Stadien kontrolliert werden kann.

d) Verfahren von Kronberger (Beitr. z. Klin. der Tub. 16, S. 157). Für Ausstriche:

1. Färben mit Karbolfuchsin (S. 46) bis zur Dampfbild.
2. Entfärben mit 15%iger HNO_3 .
3. Abspülen mit 60%igem Alkohol.

4. Tinct. Jodi + 4fache Menge 60%igen Alkohols einige Sekunden.
5. Stark abspülen, trocknen.
Tb. rot mit dunkelroten bis schwarzen Körnchen, die auch freiliegend gefärbt (M u c h s c h e Granula).
Andere Bakt. und Gewebe ungefärbt.

Untersuchung von Sputum auf Tuberkelbazillen

(ähnlich Untersuchung von Exsudaten, Urin, Milch und dergl.):

A. Man nimmt zunächst die mikroskopische Untersuchung von Ausstrichpräparaten vor. Bei Sputumuntersuchung bringt man eine sog. „Linse“ aus dem in einer Glasschale, die auf schwarzem Untergrunde steht, ausgebreiteten Auswurf auf einen Objektträger, verreibt sie gleichmässig mit einem darauf gelegten zweiten Objektträger, zieht beide voneinander, fixiert und färbt nach einer der angegebenen Methoden. Urin, Exsudate, durch Lumbalpunktion entnommene Zerebrospinalflüssigkeit usw. zentrifugiert man und macht Präparate vom Bodensatz. Die Färbung eines Präparates ist nur dann als gelungen anzusehen, wenn ausser den Tb. nichts (ausgenommen höchstens leichte Tinktion von Plattenepithelien und Zellkonturen) in der für ihre Darstellung benutzten Farbe erscheint. — Findet man bei dieser einfachen Untersuchung in mehreren Präparaten keine Tb., so kann man Anreicherungsverfahren (B) oder den Tierversuch (C) verwenden.

B. Anreicherungsverfahren.

1. Biologische Verfahren (zum kulturellen Nachweis der Tb.):

a) mit schneller Vermehrung der Tb. auf geeigneten Nährböden.

A u s s a a t auf Heydenagar nach Hesse. Solve 5 g Nährstoff Heyden in Aq. dest. 50,0 unter Quirlen, füge die Auflösung zu einer Lösung von NaCl 5, Glycerin 30, Agar 10—20, Normalsodalösung 5, in Aq. dest. 950, koche unter stetem Rühren 15 Min., filtriere im Dampfstrom. Fülle nach Sterilisieren den Nährboden in Doppelschälchen, lasse erstarren und verteile eine „Linse“ des Sputums, event. nach wiederholtem Waschen in sterilem Wasser, auf der Oberfläche fein in einzelne Flöckchen. Bei 37° vermehren

sich die Tb. auf diesem Substrat sehr schnell, sind schon nach 6—7 Stunden zahlreich, bilden nach 2 bis 7 Tagen (Schälchen durch Einstellen in feuchte Kammer vor Eintrocknung bewahren!) für das bloße Auge sichtbare Kolonien, während die Entwicklung der anderen Sputumbakterien sehr behindert ist. Untersuchung im Klatschpräparat. Sehr gutes Verfahren zur Schnell diagnose bei tuberkelbazillenarmen Sputis. Gewinnung von Reinkulturen durch Fortzüchtung. — Man kann auch das Sputum mit der 5fachen Menge der angegebenen Nährstoff-Heydenlösung (ohne Agarzusatz) versetzen und 24 Std. bei 37° bebrüten, wobei sich die Tb. vermehren, und dann nach einem der Verfahren S. 64 behandeln. — Aussaat auf Glycerin-Wasser-Agar nach Hesse s. C. B. I. Or. 35 S. 386.

b) mit Auflösung aller Bakterien ausser den Tb.

Behandlung mit Antiformin nach Uhlenhuth (Arb. K. G. A. 32, S. 158). 20 ccm Sputum werden mit 65 ccm steril destill. Wassers und 15 ccm Antiformin in Doppelschale von ca. 15 cm Durchmesser auf schwarzem Grunde gemischt. Nach 1—2 Stunden ist Sputum homogenisiert, was durch Rühren beschleunigt werden kann. Mit steriler Spritze 10 ccm aufsaugen, zentrifugieren, vom Bodensatz abgiessen, diesen mit 10 ccm steriler 0,8% iger NaCl-Lösung aufrühren, wieder zentrifugieren und nochmals in gleicher Weise verfahren. Von Bodensatz dann je 4—5 Ösen auf 6—8 Röhrchen mit schräg erstarrtem Serum (auch + 4% Glycerin) fest einreiben und bebrüten. Nur die Tb. sind im Sediment lebend enthalten, die anderen Bakterien sind abgetötet und aufgelöst. — Antiformin, eine Mischung von Liq. Natr. hypochlor. und Liq. Natr. caust., zu beziehen von Oskar Kühn, Berlin C 25, Dircksenstr. 20.

2. Sedimentierverfahren (zum mikroskopischen Nachweis der Tb. = Verflüssigung des Sputums, infolge deren die Tb. sich absetzen können oder sich mit der Zentrifuge ausschleudern lassen).

a) Mit Antiformin (vgl. oben 1 b). 1. 2—10 ccm Sputum mit dem 2—3fachen 15%igen Antiformins kräftig bis zur völligen Homogenisierung in Flasche oder Reagenzglas mit Stopfen oder Lentz'schem Sicherheitsmischzylinder (C. B. I. Or. 70 S. 108) schütteln

- (ca. 5 Min.). 2. Aufkochen im Reagenzglas. 3. Zentrifugieren. 4. Antiformin absaugen. Sediment mit etwas Aq. dest. auf Objektträger ausbreiten oder zu besserem Haften etwas Eiweiss, Serum oder unbehandeltes Sputum zusetzen. Fixieren. Färben.
- b) Nach Loeffler (D. m. W. 1910, Nr. 43): Sputum mit 50%igem Antiformin $\bar{a}\bar{a}$ aufkochen. 10 ccm davon in Flasche mit Patentverschluss schütteln mit 1,5 ccm einer Mischung von 10 ccm Chloroform + 90 ccm Alkohol. 15 Min. zentrifugieren. Die dabei über dem Chloroform entstehende Scheibe herausnehmen, auf Objektträger bringen, abtupfen und mit Zusatz von 1 Tropfen Eiweiss (0,5% Karbol enthaltend) zwischen zwei Objektträgern verreiben. Nach Fixierung färben mit Karbolfuchsin, entfärben mit Alkohol absol. + 3% HCl, Abspülen mit Wasser, Nachfärben mit 0,1 % iger wäss. Lösung von „Malachitgrün cryst. chem. rein“ (Höchster Farbwerke).
- c) Nach Sachs-Mücke (M. m. W. 07 S. 988). H_2O_2 in refracta dosi zum Sputum zusetzen (etwa 1:2 Sputum), das dadurch unter Gasentwicklung verflüssigt wird. Dann soviel Alkohol, dass Schaum verschwindet. Zentrifugieren. Präparate von Schaum und Sediment.
- d) Nach Biedert-Mühlhäuser-Czaplewski. Sputum mit 2—4 facher Menge 0,2 % iger NaOH in Zylinder mit Gummistopfen 1 Min. kräftigst schütteln, bis gleichmässig flüssig. Dann unter Umrühren in Porzellanschale erhitzen bis zum Sieden. Nun kann man noch 1—2 Tr. Phenolphtaleinlösung zufügen und tropfenweise 5%ige Essigsäure unter starkem Umrühren, bis die Rotfärbung eben verschwindet (nicht mehr!). Darauf absitzen lassen im Spitzglase oder zentrifugieren nach Zusatz des doppelten Volumens 96%igen Alkohols; das Sediment zu gefärbten Präparaten verarbeiten.
- e) Nach Ellermann und Erlandsen (Zschr. f. Hyg. Bd. 61 S. 219): 10—15 ccm Sputum in verkorktem Messglas mit dem halben Volumen 0,6 % iger Soda-lösung 24 Stunden bei 37° halten. Abgiessen, Bodensatz zentrifugieren, abgiessen. Bodensatz mit der vierfachen Menge 0,25 % iger NaOH versetzen, sorgfältig umrühren, aufkochen, zentrifugieren und vom Bodensatz Präparate machen.

f) Nach Lange und Nitsche (D. m. W. 1909, S. 435): 5 ccm Sputum mit 50 ccm Normal-KOH unter öfterem Schütteln bei 37° homogenisieren. 50 ccm Leitungswasser zusetzen, schütteln. 2 ccm Ligroin zusetzen; schütteln, bis dichte Emulsion. Erwärmen im Wasserbad auf 60—65°, bis Schichten gut geschieden. Ausstriche machen von Grenzschicht unterhalb des Ligroins.

C. **Tierversuch.** Führt langsamer als A und B, aber am sichersten zum Ziel. Nach subkutaner (vorzuziehen, wenn Impfmateriale reich an anderen Bakt. ist, — ev. Vorbehandlung mit Antiformin nach B 1 b S. 63; nötig für Verimpfung von Stuhl und Tierkot!) oder intraperitonealer oder intramuskulärer (Hinterschenkel) Impfung mit tuberkelbazillenhaltigem Material sterben Meerschweinchen, meist in 4—8 Wochen, mit zahlreichen Tuberkelknoten in Leber, Milz (wenigeren in Lunge) und Verkäsung der Lymphdrüsen. In den Knoten, die stets zur Vermeidung von Verwechslungen mit ähnlichen Erkrankungen mikroskopisch zu untersuchen sind, zahlreiche Tb. Zur Züchtung zerquetscht man Knoten zwischen zwei sterilen Objektträgern und sät viele, mindestens stecknadelkopfgrosse, Stücke auf erstarrtem Blutserum aus. Züchtung s. S. 60; Wachstum beginnt erst nach 8—14 Tagen deutlich; Verunreinigung mit anderen Bakterien macht Kultur unbrauchbar.

2—3 Wochen post infectionem findet man meist schon die Lymphdrüsen zunächst der Infektionsstelle hart geschwollen, falls Tbc. vorlag, und deutlich entwickelte Tbc.-haltige Knötchen in den inneren Organen. Zur Beschleunigung der Diagnose kann man also, ohne den Tod der Tiere abzuwarten, sie nach dieser Zeit töten. Zweckmässig impft man stets 2—3 Tiere von demselben Material, tötet nur eins und wartet bei den anderen den weiteren Verlauf ab.

Der Tierversuch liefert **Differentialdiagnose** gegenüber anderen säurefesten Bakterien: Lepra- und Smegmabaz. (diese im Urin! — s. S. 66) sind nicht für Tiere pathogen. In Butter, Milch, Mist, auf bestimmten Pflanzen, manchmal auch im menschlichen Körper (z. B. bei Lungengangrän) kommen wie Tb. färbbare und für Meerschweinchen z. T. ähnlich pathogene Bazillen vor, die sich aber durch die Kultur (Wachstum schnell auf allen Nährböden, auch bei Zimmertemperatur) unterscheiden.

Die vom Rinde (Perlsucht) stammenden Tuberkelbazillen (*Typus bovinus*) unterscheiden sich von den menschlichen (*Typus humanus*) durch kürzere, plumpere Form, schwerere Züchtbarkeit, Wachstum auf flüssigen Nährböden als zarte, kaum gefältelte, die Glaswand nicht erreichende Haut, und stärkere Infektiosität (Erzeugung allgemeiner Tuberkulose, nicht nur lokaler Reaktionen, bei subkutaner Einimpfung im Körper des Kaninchens und Rindes). Ebenso sind die Tb. aus Vogel- und Kaltblütertuberkulose durch besondere Eigentümlichkeiten gekennzeichnet.

3. Smegmabazillen.

Im Präputial- und Vulvasekret, im Urin (die späteren Portionen des mit dem Katheter nach Säuberung der äusseren Genitalien entnommenen Urins sind meist frei von den Bazillen), in der Analfalte, im Ohrenschmalz, gelegentlich auch an anderen Körperstellen. Kürzer und zarter als Tb., sehr zahlreich auf Epithelien liegend; Tb. bei Nierentuberkulose dagegen meist in Haufen für sich allein ohne Zellen zusammenliegend.

Züchtung auf Blutserum versuchen.

Färbung: Sind säureresistent, ähnlich wie Tb. und Leprabaz., aber schwächer. Zur Unterscheidung von Tb. vor allem Tierversuch (s. S. 65 sub C); dann das Anreicherungsverfahren S. 63, 2 a (das 15%ige Antiformin löst binnen 1 Std. Smegmabaz., dagegen Tb. nicht); ferner von Färbeverfahren die nur Tb. färbenden S. 61 c u. d, sowie folgendes: 1. Färben mit Karbolfuchsin 2 Min. unter Kochen. 2. Abspülen mit Wasser, Trocknen. 3. Entfärben mit Alkohol absol. + 3% HCl für 10 Min. 4. Abspülen in Wasser. 5. Gegenfärben in gesätt. alkohol. Methylenblaulösung + Aq. āā. Tb. bleiben rot gefärbt, Smegmabaz. färben sich blau.

4. Leprabazillen.

Kultur bisher nicht sicher möglich.

Färbung wie für Tuberkelbaz. angegeben, doch sei Säure- und Alkoholbehandlung kürzer. Die Leprabazillen finden sich in den leprös erkrankten Geweben bei der tuberösen Form der Lepra viel massenhafter als die Tb. in tuberkulösen Geweben, spärlich bei der makuloanästhetischen Form; sie sind leichter färbbar als die

Tb. Unterscheidung zwischen beiden nach Baumgarten:

1. Färbung in Fuchsinlösung (5 Tr. gesätt. alkohol. Lösung zu 5 ccm Aq.) 6—7 Min.
2. Entfärben $\frac{1}{4}$ Min. in Alkohol 10 + HNO₃ 1.
3. Abspülen in Wasser. Für Schnitte statt dessen absoluter Alkohol, Zedernöl. Ev. Nachfärbung mit dünner wäss.-alkoh. Methylenblaulösung.

Bei dieser kurzdauernden Färbung tingieren sich die Leprabaz. schon, die Tb. noch nicht. — Ausserdem Tierversuch (s. S. 65 sub C) zur Unterscheidung; Leprabaz. sind für Tiere nicht pathogen.

Bei frischen Fällen und Lepraverdacht Untersuchung des Nasenschleims neben derjenigen verdächtig erkrankter Körperstellen empfehlenswert. Ev. Anreicherung mit Antiformin ähnlich wie bei Tuberkelbaz. (S. 63, 2 a), — s. Uhlenhuth, Lepra, Bd. IX, Heft 2.

5. Rotzbazillen.

Grösste Vorsicht wegen Infektionsgefahr!
Erlaubnis zum Arbeiten mit Kulturen beschränkt!

Züchtung bei 37° auf Blutserum, Agar, Kartoffeln (hier honigähnlicher, allmählich rotbraun werdender Belag). Glycerinzusatz (4%) und leicht saure Reaktion nützlich. Unbeweglich. Jung kürzere, älter längere körnige Stäbchen bildend; Körnchen mit der Neisser'schen Methode S. 70 färbbar.

Färbung etwas schwierig, nicht nach Gram. Am besten mit den Lösungen S. 45/46 a, c, f, g, der Methode Loefflers S. 106 und nach Giemsa S. 104/5. Für Schnitte die Verfahren S. 47 a, d, e u. f; bei a kann man zur Differenzierung der 1%igen Essigsäure Tropäolin 00 in wäss. Lös. bis zu rheinweingelber Färbung zusetzen.

Nachweis in Krankheitsprodukten rotzkranker oder verdächtiger Menschen und Tiere am sichersten durch Tierversuch. Meerschweinchen intraperitoneal oder (bei verunreinigtem Material) subkutan geimpft, sterben nach 10—20 Tagen; die Knötchen in den inneren Organen und der Lymphdrüseneiter enthalten die Baz. in Reinkultur. Schnell eintretende Schwellung der Hoden bei intraperit. Impfung männl. Tiere (Strauss'sche Methode) ist nicht

völlig spezifisch. Feldmäuse subkutan geimpft sterben nach 3—4 Tagen, erliegen aber bei unreinem Material Nebeninfektionen leichter als Meerschweinchen.

Rotzdiagnose ausser durch Bazillenzüchtung möglich durch

a) Malleinprobe (subkut. Injektion und Ophthalmoreaktion). Mallein mit Gebrauchsanweisung vom Sächs. Serumwerk Dresden erhältlich.

b) Agglutinationsprüfung des Serums. Nötig gut agglutinabler Baz.-Stamm. 2—3 täg. Agarkultur durch 3 stünd. Erhitzen auf 60° abtöten, in 0,85%iger NaCl-Lös. + 0,5% Phenol aufschwemmen. Stärke der Aufschwemmung mit Serum bekannter Wirkung ausprobieren; in Eisschrank bewahrt 4—6 Wochen brauchbar. Serum rotziger Pferde agglutiniert meist in Verdünn. 1:1000 und darüber, das rotzfreier meist nur bis 1:400. Technik siehe unter Typhusbaz. S. 83.

c) Komplementablenkung des Serums. Ähnlich der Wassermannschen Reaktion (S. 108). Als Antigen Rotzbaz.-Extrakt. Vom hämolyt. Ambozeptor wird das Doppelte der noch eben wirksamen Menge, vom Komplement die kleinste hiermit noch Blutkörperchen lösende Menge angewendet.

d) Konglutinations- und K. H. - Methode (Zeitschr. f. Vet.-Kunde 1915, H. 10, 1916, H. 12).

e) Präzipitationsmethode, ähnlich wie bei Milzbrand (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1909, S. 323).

6. Bazillen des Ulcus molle.

Züchtung auf Blutagar (s. S. 116), am besten aus Menschenblut möglich (gelingt nicht stets). Kolonien in toto abhebbar. Im Quetschwasser lange Ketten. Kulturen sterben in wenigen Tagen ab.

Färbung nach den gewöhnlichen Methoden, nicht nach Gram, in Schnitten mit vorsichtiger Entfärbung. Gut brauchbar sind Nicolles Tanninmethode (S. 47 e) und als Doppelfärbung Unna-Pappenheims Methode: Färben 5—10 Min. in Methylgrün 00 krist. gelbl. Dr. Grübler-Leipzig, 0,15 + Pyronin 0,25 + 96%igen Alkohols 2,5 + Glycerin 20,0 + 0,5%igen Karbolwassers 100,0. Abspülen in Wasser (Schnitte: Alkohol kurz, Trocknen, Xylol, Einlegen). Gewebe blaugrün, Baz. rot.

7. Diphtheriebazillen.

Kulturen bei Temperaturen über 20^o, am schnellsten bei Körpertemperatur zu erzielen. Bestes Wachstum auf Loefflerschem Blutserum (vergl. S. 17), zumal wenn es aus Hammelblut hergestellt ist. Geringeres Wachstum und Bildung weniger charakteristischer Bakterienformen auf Nähragar, Glycerinagar und dem S. 70 angegebenen Serumagar.

Zur Färbung ist vornehmlich die alkalische Methylenblaulösung nach Loeffler (S. 45) geeignet. Färbung auch nach Gram. (Nicht zu stark entfärben!) Körnchenfärbung s. S. 70. Unbeweglich.

Diphtheriediagnose.

Entnahme von Untersuchungsmaterial aus dem Rachen s. S. 117. Ausstriche färben mit Loefflers Methylenblau (S. 45) und nach Gram. Db. erscheinen als schlanke Stäbchen, winklig (V-förmig) oder gekreuzt liegend. Ev. Körnchenfärbung (S. 70) anwenden. Diagnose nach Ausstrichpräparat meist nicht ganz sicher zu stellen. (Befund von Bac. fusiformis und feinen Spirochäten annähernd in Reinkultur spricht für Plaut-Vincentsche Angina oder Stomatitis ulcerosa. Doch stets Kultur auf Db. anlegen!)

Kultur durch Ausstreichen in fraktionierter Aussaat (S. 25) auf Loefflerschem Blutserum in Röhren oder Petrischalen (s. S. 17). (NB.: Von jedem Posten Serum sind vor seinem Gebrauch für die Diagnose einige Röhren durch Besäung mit Db.-Reinkulturen auf Tauglichkeit als Nährboden zu prüfen!) Zum Nachweis weniger Db. raten Neisser und Schuster (V. G. M. Bd. 3 H. 6 S. 1) Schmierröhren anzulegen: Entnahmesonde im Quetschwasser des Serumröhrchens hin und her bewegen, dann Nährboden sorgfältig damit bestreichen. Sonde bleibt im Röhrchen; nach rd. 6 Std. wird das Quetschwasser noch einmal über Nährboden durch Neigen des Röhrchens verteilt. Bebrüten bei Körpertemperatur (zur Not Röhrchen in der inneren Westentasche!). Die Db. wachsen auf Loefflerserum schnell, üppig und in charakteristischen Formen, unterscheidbar von den v. Hofmann-Loefflerschen (Rachen-) Pseudob. durch die Form der Bazillen, von den Xerosebazillen (Augenpseudodb.) ebenfalls hierdurch und schon durch die

Grösse der Kolonien (Db.-kolonien weit grösser!). — Statt des Loeffler serums werden, weniger gut, auch folgende Substrate benutzt:

1. Glycerinagar, Kolonien bleiben klein, sind daher weniger leicht auffindbar. Verwechslung der Db. mit manchen Pseudob.-Arten wegen Ähnlichkeit der Form möglich.

2. Serumagar nach Tochtermann. 2% ige wässerige Agarlösung + 1% Pepton, 0,5% NaCl, 0,3 bis 0,5% Traubenzucker wird filtriert, mit Hammelblutserum, das nicht steril zu sein braucht, $\bar{a}\bar{a}$ oder im Verhältnis von 3 Serum zu 2 Agar $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ Std. gekocht, filtriert, in Reagenzgläser gefüllt und sterilisiert (nicht mehr als 1 — $1\frac{1}{2}$ Std. kochen, weil Nährwert leidet!) — Kolonien gross und leicht erkennbar, aber die Baz. in ihren Formen den Pseudodb. ähnlich.

Untersuchung der Kulturen von der 6. Std. nach Aussaat an Erfolg versprechend. Bei Röhren Ausstrichpräparate von grösseren Partien der Oberfläche und aus dem Quetschwasser, bei Platten Klatschpräparate. Färbung mit Loefflerschem Methylenblau (S. 45). Db. an ihren eigenartigen Formen (gefärbte und ungefärbte Stellen im Bazillus abwechselnd, Keulen- und Spindel-formen etc.) erkennbar. Wenn keine Db. in mehreren Präparaten auffindbar, öftere Wiederholung der Untersuchung (bis 48 Std. nach Aussaat, — namentlich auch bei Rekonvaleszenten und Bazillenträgern!) Von der 12. bis 16. Stunde an werden meist auch die Kolonien der Db. typisch und leicht erkennbar (halbkugelig, weissgelb, feucht); dann Präparate von verdächtigen Kolonien.

Zur Erleichterung der Diagnose Färbung der Polkörnchen nach M. Neisser (Hyg. Rdsch. 1903 Nr. 14):

1. Färben 10 Sek. mit einer Mischung von 2 Teilen Lösung a und 1 Teil Lösung b. Lösung a: Methylenblau (Grübler) 1,0, gelöst in Alkohol absol. 20,0; dazu Aq. dest. 950,0, Acid. acet. glac. 50,0. Lösung b: Kristallviolett (Höchst) 1,0, Alkohol absol. 10,0, Aq. dest. 300,0.
2. Abspülen mit Wasser und sofort.
3. Nachfärben mit Chrysoidin (1 oder besser 2 in 300 Aq. ferv. gelöst und filtriert) etwa 10 Sek.
4. Abspülen mit Wasser. — Zwischen 2. u. 3. kann eingeschaltet werden Behandeln mit Jodjodkaliumlösung

(S. 49 Nr. 2), der 1% konzentrierte Milchsäure zugesetzt, 2—3 Sek. Danach gut abspülen! (Gins, D. m. W. 1913 S. 502).

Die Polkörnchenfärbung ist anzuwenden für Belagausstriche wie für 12—24 Std. alte bei 35—36° gewachsene Serumkulturen. Db. zeigen dabei an einem Pole oder an beiden, auch wohl in der Mitte, blaue Körnchen im braungefärbten Bazillenleibe, während die den Db. ähnlichen Baz. zur angegebenen Zeit Körnchenfärbung noch nicht aufweisen. Die Methode ist nicht unbedingt zuverlässig, da bisweilen, allerdings selten, auch Pseudodb. (Xerosebaz. ähnliche) und andere Bazillenarten Körnchen wie die Db. zeigen, ferner Db. manchmal erst später, ausnahmsweise auch gar nicht die Körnchenfärbung geben.

Andere Färbemethoden s. Loeffler, D. m. W. 07 Nr. 5; ferner C. B. I. Or. 38 S. 359, D. m. W. 1911 S. 2384, M. m. W. 1912 S. 930.

Wenn Zweifel entstehen, ob Db. oder Pseudodb. vorliegen, hat man therapeutisch zu handeln, als sei die Diphtherie sicher festgestellt (also Heilserum injizieren, falls dies nicht, was stets besser, sofort geschehen ist), bakteriologisch aber weiter Reinzüchtung der verdächtigen Baz. vorzunehmen. Sind isolierte Kolonien zum Abimpfen nicht vorhanden, verteile man das Material von einer Stelle, an der das mikroskopische Präparat die Baz. reichlich nachgewiesen hat, in einem Röhrchen mit steriler Bouillon und lege von dieser sofort fraktionierte Aussaaten (S. 26) auf Serum an. Hiervon sobald als möglich isolieren. Oft gelingt auf der zweiten Kulturserie die Differentialdiagnose zwischen Db. und Pseudodb. leichter wegen der grösseren Zahl von Kolonien in der Kultur und von Baz. im Präparat. Falls noch Zweifel bestehen, folgt:

a) Tierversuch. Eine grosse Platinöse 1—2-tägiger bei 37° gewachsener Serumreinkultur oder 0,2 bis 1,0 ccm gleich alter Bouillonreinkultur werden einem Meersch. von ca. 200 g Gewicht subkutan auf der Brust beigebracht. (Technik s. S. 119.) Handelt es sich um virulente Db., so erkrankt das Tier nach 1 Tage mit starkem Infiltrat an der Impfstelle und stirbt meist nach 2 Tagen. (Organe steril, Nebennieren blutreich, gross, seröser Pleuraerguss, vor allem und stets grosses, oft hämorrhagisches Infiltrat an der Impfstelle.) Bei Injektion der gleichen Dosis Db.-Kultur gemischt mit einer reich-

lichen Menge D.-Heilserum (0,2 ccm 200 faches Serum und mehr) bleibt das Tier am Leben, die Impfstelle ganz oder fast ganz frei von Reaktion. Pseudodb., in gleichen Kulturdosen wie für Db. angegeben injiziert, machen höchstens minimales Ödem an der Impfstelle (doch auch dies nur sehr selten!), töten nicht; wenn sie überhaupt Reaktion erzeugen, tun sie dies auch bei Injektion in Mischung mit D-Heilserum.

b) Ferner zur Differentialdiagnose Reaktionsprobe: Besäung von sterilisiertem, leicht alkalisch gemachtem Fleischwasser (s. S. 9) aus frischem Fleisch zu je 10 ccm in Röhrchen. Db. bilden Säure (in 24—28 Stunden bei 37° ca. 0,35—1,0 $\frac{1}{10}$ -Normal- H_2SO_4 [Indikator Phenolphthalein] entsprechend), von Hofmann-Loefflers Pseudodb. Alkali (ca. 0,2—0,4 $\frac{1}{10}$ -Normal-NaOH entsprechend). Die Bakterien der Xerosebazillengruppe bilden Säure, einzelne so viel wie manche Db.-Stämme; daher ist zwischen diesen die Probe nicht entscheidend. (In Nährbouillon wegen der gelben Substratfarbe genaue Titration schwerer.)

Diphtheriebazillengift: Enthalten in der Kulturflüssigkeit. Züchtung der Db. bei 37° in Kolben mit Bouillon in flacher Schicht. Herstellung der Bouillon aus altem Fleisch, ferner Zusatz von gepulverter Kreide ratsam. Nach 1—4 Wochen keimfrei filtrieren (s. S. 8, 4c) — oder auch durch Überschichten mit Toluol abtöten —, zum Filtrat, das das Gift enthält, $\frac{1}{2}$ 0/0 Karbolsäure zwecks Konservierung fügen.

Immunisierung s. S. 122.

Diphtherieheilserum von hochimmunisierten Tieren zu gewinnen. Mit 0,5 0/0 Karbolsäure konserviert. — Methodik für die Bestimmung des Heilwertes s. bei Ehrlich, Klin. Jahrbuch Bd. VI.

8. Influenzabazillen.

Kulturen gelingen nur bei Temperatur über 30° auf Agar, das mit Blut (bes. gut Taubenblut, aus einem Gefäß an der Flügelinnenseite leicht steril zu entnehmen) bestrichen oder noch besser gemischt ist (nur soviel Blutbeimischung nötig, dass die Farbe des Agars eben rötlich ist). Als Nährboden auch Bouillon mit $\frac{1}{2}$ —1 0/0 Blutzusatz brauchbar (gefrieren lassen, wieder auftauen, damit sich Hämoglobin löst). Alle Blutnährböden womöglich

vor Besäung erst 24 Stunden bei 37° bebrüten, um Sterilität zu prüfen. — Unbewegliche, sehr kleine Baz. Infizierbar sind nur Affen.

Zur **I s o l i e r u n g** der Ib. wird das Ausgangsmaterial, Bronchialsputum (das zunächst durch Abspülen in mehreren Schälchen mit sterilem Wasser nacheinander von anhaftendem Mundschleim befreit werden kann) oder bei tödlich verlaufener Influenzapneumonie Saft aus bronchopneumonischen Lungenpartien mit 1—2 ccm Bouillon verrieben, bis eine gleichmässige, leicht getrübe Emulsion entsteht. Durch diese Verteilung wird erstens die Zahl der Ib. soweit verringert, dass bei der Aussaat auf Nährböden getrennte Kolonien sich entwickeln können, zweitens das im Ausgangsmaterial enthaltene Hämoglobin so stark verdünnt, dass auf Nährböden ohne Blutzusatz Wachstum ausbleibt. Platinösen voll der Emulsion werden nun auf gewöhnlichem oder Glycerin-Agar und auf Blut-Agar ausgesät. Nach 24 Std. im Brütapparat sieht man auf dem Blutnährboden ganz feine tautropfenartige Kolonien der Ib., auf den gewöhnlichen Nährböden nicht. Kolonien in der Nähe von Staphylococcus aureus-Kolonien können sehr gross werden. — Den Ib. morphologisch und biologisch sehr ähnliche Baz. im **K e u c h h u s t e n s p u t u m** und bei bestimmten **B i n d e h a u t e r k r a n k u n g e n** (**K o c h - W e e k s s c h e B a z.**)!

Zur **F ä r b u n g** Loefflersche Methylenblaulösung, besser aber noch eine zehnfach mit Wasser verdünnte Karbolfuchsinlösung (s. S. 46; mehrere Minuten färben!); ferner die S. 107 angegebene **L ö f f l e r s c h e F ä r b u n g**. Die Gramsche Färbung ist nicht anwendbar. Schnitte nach Pfeiffers Methode (s. S. 47) färben.

NB.: **N i c h t a l l e h e u t e I n f l u e n z a g e n a n n t e n E r k r a n k u n g e n s i n d w i r k l i c h I n f l u e n z a !**

9. Typhusbazillen

(einschl. Paratyphusbazillen) (s. Tafel S. 134).

K u l t u r der Tyb. auf allen gewöhnlichen Substraten möglich. Wachstum auch bei Zimmertemperatur und auf leicht sauren Nährböden.

F ä r b u n g mit allen üblichen Anilinfarben, nicht nach **G r a m**; Kulturpräparate gut auf dem Deckglas fixieren, da sich die Bazillen leicht loslösen. Bei Untersuchung von Schnitten (sehr schonend differenzieren, weil Tyb.

sich leicht entfärben!) aus der menschlichen Milz suche man zunächst mit schwacher Vergrößerung die Bazillenherde auf, die sich bei Färbung mit alkalischem Methylenblau als himmelblaue, bei Färbung mit Karbol- oder Anilinfuchsin als glänzend rote, bei Thioninfärbung als leuchtend violette Fleckchen zeigen. (Um grosse Herde zu erzielen, lege man die frische Milz 6—12 Std., zur Verhütung oberflächlicher Fäulnis in ein sublimatbefeuchtetes Tuch gewickelt, in den Brutschrank bei 37°; dabei vermehren sich die Tyb. reichlich. Dann härte man.) — Keine Sporenbildung.

Differentialdiagnose von Ty. und Ty. ähnl. Bazillen

(Bact. coli, Paratyphusbaz., Ruhrbaz. usw.) (s. Taf. S. 134).

1. Tyb. sind lebhaft beweglich (ähnlich Ameisenzügen), besitzen zahlreiche, lange, leicht abreissende peritriche Geisseln.

2. Tyb. bilden in Gelatineplatten rein graue bis gelbliche, runde, ovale oder wetzsteinförmige tiefe Kolonien und sehr zarte graue, schleierartige tiefgefurchte oberflächliche Kolonien. Die Kolonien werden erst nach einigen Tagen leicht braun. Keine Verflüssigung.

3. Tyb. wachsen auf Kartoffeln als kaum sichtbarer Rasen. Aussaat der zu vergleichenden Kulturen (Tyb. und Tyb. ähnliche) auf Stückchen derselben Kartoffel oder an verschiedenen Stellen der gleichen Kartoffelscheibe.

4. Tyb. wachsen in Milch, bringen sie aber nicht zur Gerinnung. (Bebrütung bei 37° mehrere Tage.)

5. Tyb. produzieren in Lackmusmolke (S. 33) nicht mehr als 3⁰/₀ 1¹/₁₀-Normalsäure. (Molke bleibt fast klar und wird nur violettrot.)

6. Tyb. vermögen Traubenzucker nicht zu vergären. (Prüfung s. S. 32; empfehlenswert Verteilung oder Stich in Zuckeragarröhrchen oder Besäung von Zuckerbouillon in Gärröhrchen. Optimum 37°.)

7. Tyb. bilden kein Indol. (Prüfung s. S. 34.)

8. Tyb. verändern die Farbe von Neutralrot-agar nicht (Nähragar mit 0,75% Agar und 0,3% Traubenzucker, versetzt mit 1% kalt-gesätt. wäss., im Dampf steril. Neutralrotlösung. Besäung im Stich in hochgefülltem Röhrchen oder durch Verteilen im verflüss. Substrat).

9. Tyb. lassen dünne Lackmuslösung + 1% Nutrose, 0,5% NaCl, 1% Milchzucker (Barsiekow'scher Nähr-

boden, bereitet mut. mut. wie das Lackmusnutroseagar S. 81; Nutrose-NaCl-Lös. filtrieren, bis klar, — lange!) bei 37° binnen 24 Stunden unverändert.

10. Tyb. färben dieselbe Lösung mit 1% Traubenzucker statt Milchzucker rot und koagulieren sie in 24 Stunden bei 37°.

Malachitgrünlösungen mit ähnlichen Reaktionen s. Loeffler, D. m. W. 1909 Nr. 30, Orseillen Nährböden siehe Buchholz, Zschr. f. Hyg. Bd. 56 S. 220.

Die erwähnten Eigenschaften oder einzelne von ihnen können zur Abgrenzung gegen ähnliche Bakt. der sog. Typhus-Koligruppe dienen. Als solche kommen besonders in Betracht *Bact. coli* (s. S. 86) und die *Paratyb.* Diese, als A und B bezeichnet, erregen dem Ty. klinisch ähnliche Erkrankungen, B auch akute Magendarmkatarrhe (s. auch Fleischvergift. S. 86). Viel Ähnlichkeit haben ferner der *Bac. faecalis alcaligenes* (bisweilen im Darminhalt) und die *Ruhrbaz.* Die Übersichtstafel S. 134/135 gibt die wesentlichsten Unterschiede an. Zur schnellen Prüfung benutzt man gewöhnlich folgende Nährböden in Röhrchen als sog. Kolireihe: Agar, Bouillon (Form, Bewegl.), Peptonwasser (Indolbild!), Lackmusalb, Milch, Lackmus-(Nutrose-)Milchzuckerlös., desgl. Traubenzuckerlös., Neutralrotagar (Unterscheid. der Ruhrbaz.-Stämme s. auch S. 88). Doch sind die kulturellen und biologischen Merkmale nicht immer ganz konstant, zumal bei älteren Stämmen. Die sicherste Unterscheidung liefern die Serumreaktionen, die streng spezifisch sind: d. h. jede Baz.-Art der Gruppe wird nur durch das auf sie eingestellte Serum beeinflusst (höchstens in geringem Grade mit durch wenig verdünnte, auf verwandte Arten eingestellte Sera).

Die **Serumreaktionen** werden angewendet in Form der **Bakteriolyse** im Tierkörper (a) oder der **Agglutination** (b).

a) **Bakteriolyse im Tierkörper** (sog. **Pfeiffersche Reaktion**).

Prinzip: Tyb. werden im Peritonealraum des Meerschweinchens, gemischt mit Serum eines hoch gegen Tyb. immunen Tieres injiziert, schnell „aufgelöst“ (zu sichtbarem Schmelzen gebracht), nicht aber bei gleichzeitiger Einspritzung von Serum eines normalen Tieres. Ty.-ähnliche Baz. werden weder durch Ty.- noch durch normales Serum beeinflusst. (Nur

gültig für bestimmte quantitative Verhältnisse von Serum und Kultur und bestimmte Virulenz der Baz.!)

A u s f ü h r u n g. Erforderlich

- α) genaue Kenntnis der Wirksamkeit des Immun-Serums (Titerstellung). Diese ist zu bestimmen mit Hilfe virulenter Ty.-Kultur, von der etwa $\frac{1}{10}$ Öse = 0,2 mg (Art der Dosierung s. S. 121) in 1 ccm Bouillon aufgeschwemmt ein Meerschweinchen von ca. 250 g bei intraperitonealer Injektion unter Temperaturabfall und starker Vermehrung der Baz. in ca. 24 Stunden tötet. Man verdünnt das Serum so mit Nährbouillon, dass 1 ccm der Mischung 0,01 resp. 0,005, 0,001 ccm oder noch weniger Serum enthält, schwemmt eine Öse 20 stündiger Agarkultur des erwähnten virulenten Ty.-stammes (also die 10fache tödliche Dosis) in jedem ccm Serum-Bouillonmischung auf und injiziert jeden ccm in die Peritonealhöhle je eines Meerschweinchens. (Technik S. 119.) In verschiedenen Zeitabständen (nach 30, 60, 120 Min.) nimmt man Proben aus dem Peritonealinhalt (Technik S. 119, 3) und untersucht im hängenden Tropfen. Wenn nach spätestens 2 Stunden die Baz. verschwunden oder in Auflösung begriffen sind, höchstens noch vereinzelte unbewegliche aufgefunden werden, so ist erwiesen, dass die dem Tiere gegebene Serumdose vor der Baz.-wirkung schützt. Das Tier überlebt dann ohne starken Temperaturabfall. Die kleinste Serumdose, die noch diese Wirkung hat, ist der Titer des Serums. Für die Reaktion verwendbares Serum soll womöglich einen Titer von 0,001 oder noch darunter (z. B. 0,0001) haben. (Gewinnung von Immuns serum s. S. 122.)
- β) Serum eines normalen Tieres der gleichen Spezies, der das Immuns serum liefernde Tier angehört. (Schützt erst in viel grösseren Dosen als Immuns serum, meist erst in Mengen von mehreren $\frac{1}{10}$ ccm.)
- γ) eine ca. 20 stündige bei 37° gewachsene Agarkultur der zu prüfenden Bakterienart.
- δ) zwei Meerschweinchen von ca. 250 g Gewicht. Meerschw. A erhält intraperitoneal injiziert: Aufschwemmung von 1 Öse = 2 mg von der Agar-

kultur der zu prüfenden Bakterienart in 1 ccm Bouillon-Immunserrummischung, die das zehnfache der dem Titer des Serums entsprechenden Serummenge enthält (event. auch ein anderes Vielfaches, aber nie über 0,02 ccm, weil sonst ev. die Wirkungskraft des normalen Serums mit ins Spiel kommen könnte). Meerschw. B erhält dieselbe Dosis Kultur in einer Mischung von 0,95 ccm Bouillon und 0,05 ccm des normalen Serums.

Nach 30, 60 und 120 Minuten Untersuchung des Peritonealinhaltes der Tiere (Entnahme mit Kapillare); weitere Beobachtung der Tiere. Es können eintreten:

Möglichkeit 1. Bei Meerschw. A verschwinden die Baz. schnell, das Tier überlebt. Bei Meerschw. B verschwinden die Baz. nicht, vermehren sich vielmehr, das Tier stirbt unter Temperatursturz. **Folgerung:** Die Kultur ist eine echte Tyb.-kultur, denn das Ty.-Immunserrum hat sie beeinflusst, das in grösserer Menge angewandte normale Serum nicht.

Möglichkeit 2 (bei frisch gezüchteten Stämmen selten). Bei Meerschw. A u. B verschwinden die Baz., die Tiere überleben. **Folgerung:** Die Kultur ist zu wenig virulent, um die Probe anzustellen. (NB. Steigerung der Kulturdosis über 1 Öse ist nicht zulässig!) Ev. Versuch zur Virulenzsteigerung mittels Durchzüchtung durch den Meerschw.-körper. Z. B. 1. Tier 2 Ösen intraperitoneal, stirbt. Agarkultur aus dem Bauchhöhleninhalt angelegt, 2. Tier von dieser Kultur 1 Öse intraperitoneal, stirbt. Agarkultur wie vor, davon 3. Tier $\frac{1}{4}$ Öse, stirbt. Nun Anstellung der Reaktion mit 1 Öse Kultur + Serum, wie oben beschrieben.

Möglichkeit 3. Die Bazillen verschwinden weder bei Meerschw. A noch B. Beide Tiere sterben. **Folgerung:** Die Kultur ist keine Tyb.-kultur. (Tyb.-kulturen von solcher Virulenz, dass selbst die im Versuch angewandte zehnfache Titermenge des hochwertigen Serums gegen die Infektion mit einer Öse Kultur Meerschw. nicht schützen kann, kommen nicht vor.)

- b) **Agglutination** (Gruber-Durham). Prinzip: Ty.-immunserum macht noch in sehr grosser Verdünnung Tyb. unbeweglich und ballt sie zu Häufchen zusammen (normales Serum nur in viel stärkerer Konzentration; auf ty.-ähnliche Baz. wirkt Ty.-immunserum höchstens etwas stärker als normales ein).

Ausführung. Erforderlich

- α) Immunserum von bekannter Wirksamkeit. Zu deren Feststellung fertigt man wie bei S. 76 α) Aufschwemmungen von virulenten Tyb. in 0,85%iger ganz klarer NaCl-Lösung mit verschiedenen grossen Zusätzen des Immunserums (Technik s. S. 84) in kleinen Reagenzgläschen (0,5—0,8 cm Weite, 6 bis 8 cm Länge, die konisch zugespitzt sein können) an und beobachtet **erstens**, bei welchem Serumzusatz im hängenden, bei 37° bewahrten, mit schwacher Vergrösserung beobachteten Tropfen nach spätestens 2 Stunden Unbeweglichwerden und Zusammenballen der Tyb. eintritt, — die geringste dazu nötige Menge ist der Titer des Serums für den Tropfenversuch; **zweitens**, bei welchem Serumzusatz im Röhrcheninhalt nach höchstens zwei Stunden eine für die Beobachtung mit blossem Auge oder der Lupe in dem von der Zimmerdecke reflektierten Tageslicht oder mit dem Woitheschen Agglutinoskop deutliche Flockenbildung stattfindet; die geringste nötige Menge ist der Titer für den Röhrchenversuch. Das Serum soll mindestens in einer Verdünnung von 1:1000 im Röhrchenversuch wirksam sein.

- β) Eine ca. 20 stündige bei 37° gewachsene Agarkultur der zu prüfenden Bakterienart.

Man stellt sich verschiedene Verdünnungen des Immunserums mit 0,85%iger NaCl-Lösung, z. B. 1:100, 1:300, 1:500, 1:1000 (Technik s. S. 84) zu je 1 ccm in den bei α) erwähnten Röhrchen her, bezeichnet die Röhrchen genau und schwemmt in jedem eine kleine Öse (2 mg) der zu prüfenden Kultur auf unter sehr sorgfältiger Verreibung des Baz.-Materials an der Berührungsstelle von Flüssigkeit und Glaswand bei schräger Haltung des Röhrchens. Höhere Konzentration als 1:100 ist nicht zu nehmen, damit nicht etwaige normal dem Serum eigene Agglutinationswirkung in Kraft tritt.

Zur Kontrolle stellt man ferner eine Aufschwemmung des Baz.-Materials in einem Röhrchen mit 1 ccm der Kochsalzlösung ohne Serumzusatz (wegen etwaiger spontaner Agglutination) her. Von jedem Röhrchen kann auch ein hängender Tropfen hergestellt und mit den Röhrchen im Brutschrank bei 37° aufbewahrt werden. Beobachtung bis zu 2 Stdn. wie unter α angegeben (hängende Tropfen nur mit s c h w a c h e r Vergrößerung!).

Beurteilung:

1. Ballen sich die Baz. in allen Serumverdünnungen oder wenigstens in den das Serum bis zur halben Titergrenze enthaltenden, dagegen in der Kochsalzkontrolle nicht, so ist der Stamm eine Ty.-Kultur.

2. Ballen sich die Baz. nur in den konzentriertesten Verdünnungen, so kann eine Kultur ty.-ähnlicher Baz., aber auch ein schwer agglutinabler Ty.-Stamm vorliegen. Sprechen die sonstigen Beobachtungen für Ty., so ist der Versuch nach einigen Umzüchtungen zu wiederholen.

3. Ballen sich die Baz. in kleinen Röhrchen, so ist im allgemeinen anzunehmen, dass keine Ty.-Kultur vorliegt. Doch kommt es vor, dass frisch aus dem Körper gezüchtete Tyb. erst nach mehrmaliger Umzüchtung agglutinierbar werden; also ev. wie bei 2 Versuch wiederholen!

4. Ballen sich die Baz. auch in der Kochsalzkontrolle, so ist die Kultur für die Agglutinationsprüfung ungeeignet (kommt bei frisch aus dem Körper gezüchteten Tyb. kaum vor).

Zur Ersparung von Arbeit und Immuns Serum kann man der geschilderten quantitativen Agglutinationsprobe einen V o r v e r s u c h vorausschicken: Auf einen Objektträger bringt man einen grossen Tropfen Verdünnung des Immuns Serums 1:10 0,85%iger NaCl-Lös. und daneben 1 Tropfen der NaCl-Lös. allein. In beiden verreibt man je 1 Nadelspitze der zu prüfenden Kultur (zuerst im NaCl-Tropfen!) und prüft unter Hin- und Herwenden des Objektträgers, ob alsbald in dem Serumtropfen Agglutination eintritt. Ist dies nicht der Fall, kann in der Regel geschlossen werden, dass keine Tyb. vorliegen.

Statt in engen Röhrchen lässt sich die Agglutinationsprüfung auch in B l o c k s c h ä l c h e n mit Glasdeckel vornehmen. Beobachtung mit Lupe auf dunkler Unterlage.

Gewinnung des Immuns erums s. S. 122. Serum von Ty.-Rekonvaleszenten ist zur Differentialdiagnose von Kulturen nicht verwendbar, da es hierfür meist zu schwach wirksam ist, ausserdem manchmal auch Ty.-ähnl. Baz. agglutiniert! (s. S. 85 c).

Bakteriologische Diagnose einer Typhuserkrankung beim Menschen.

Die sicherste Methode ist der Nachweis von Tyb. in den Geweben oder in den Entleerungen; die Agglutinationswirkung des Blutserums erscheint erst allmählich im Verlauf der Erkrankung, bisweilen spät oder gar nicht. Am besten bedient man sich, wenn die Möglichkeit vorliegt, der Untersuchung zu 2 (s. unten), aber auch 1, 3 und 5 sind gut, in letzter Linie kommt 4; 2 und 5 lassen sich an einer Blutprobe ausführen (vgl. 2 am Schlusse). — Aus dem Körper gezüchtete Ty.-artige Keime prüfe man sich mittelst mehrerer Kriterien (s. S. 75 Abs. 4, besonders aber mittelst Serumprobe, da Ty.-artige Erkrankungen vorkommen, die nicht durch Tyb., sondern durch ähnliche Mikroben hervorgerufen werden.

1. Untersuchung von Roseolen. Reinigen der Hautstelle durch mässiges Reiben mit Wattebausch, Alkohol und Äther. Leichter Einschnitt in die Roseole mit Skalpell und mit dessen Spitze sofort, noch ehe Blut austritt, etwas Gewebssaft abschaben, der in Bouillon ausgesät wird. Auf die Wunde ein paar Tropfen Bouillon bringen, um dickere Gerinnsel des auftretenden Blutes zu vermeiden, das so verdünnte Blut in Bouillon aussäen. Stets mehrere und nur frische Roseolen untersuchen. Methode hat in etwa 75 % aller Fälle Erfolg.

2. Untersuchung von Blut auf Tyb. Entnahme von 10—20 ccm Blut aus der Vena mediana mittelst Kanüle (s. S. 116). Aussaat mit ca. 45° warmem Nähragar (3 zu 1 Blut) gemischt in Platten (Ty.- und Paraty.-Kol. erscheinen schwarzgrün). Bis zu 90% der Fälle erfolgreich, schon in der ersten Krankheitswoche. Anreicherung möglich durch Zusatz des Blutes (etwa 2,5 ccm:5 ccm) zu sterilisierter Rindergalle (auch mit Beigabe von je 10% Pepton und Glycerin oder [zur Lösung des Blutkuchens] einigen Tropfen einer Lösung von 2,0 Trypsin sicc. Grübler in 10 ccm Glycerin pur. steril., die 8 Tage im Brutschrank bei 37°, dann 8—12 Wochen im

Eisschrank gestanden hat, — s. KIRSTEIN, C. B. I Or. 59, S. 478) und Züchtung 12—24 Std. bei 37°. Dann Aussaat auf Platten (s. unter 3). Die Gallenmischung, in der das Blut ungeronnen bleibt, empfiehlt sich auch für Versendung des Untersuchungsmaterials. (Gebrauchsfertige Gallerörhrchen nach CONRADI-KAYSER von E. MERCK-DARMSTADT und F. u. M. LAUTENSCHLÄGER-BERLIN erhältlich). — Auch das bei der Blutentnahme für die Widalprobe (S. 83, Nr. 5) sich ergebende Blutgerinnsel kann zum Nachweis der Tyb. benutzt werden; zuvor Anreicherung im Gallenröhrchen unter Zerkleinerung des Gerinnsels.

3. Untersuchung der Fäzes auf Tyb.

Tyb. von Ende der 1. Krankheitswoche an reichlich vorhanden, in 4. und 5. Woche meist spärlich, in der Rekonvaleszenz oft wieder sehr reichlich. Zur Züchtung folgende elektive Nährböden:

a) Lackmus (nutrose) agar nach v. DRIGALSKI und CONRADI (Zschr. f. Hyg. Bd. 39): 1 Liter Nähragar, bereitet aus Fleischwasser mit 3 $\frac{1}{2}$ 0/0 Agar, 1 0/0 Pepton, $\frac{1}{2}$ 0/0 Kochsalz (falls aus Fleischextrakt bereitet, ohne NaCl-Zusatz), ev. auch 1 0/0 Nutrose, schwach alkalisiert gegen Lackmus, wird verflüssigt und etwa 50° heiss mit folgender, eben so heisser Lackmus-Milchzuckerlös. versetzt: Lackmuslösung nach KUBEL-TIEMANN (von O. Kahlbaum-Berlin-Adlershof) 130 ccm, 10 Min. gekocht, dazu chem. reiner Milchzucker 15 g gefügt, nochmals 15 Min., nicht länger, gekocht. Zu der gut umgeschüttelten Mischung von Agar und Lackmus-Milchzuckerlösung wird sogleich tropfenweise soviel 10%ige Lösung wasserfreier Soda in Aq. dest. zugesetzt, dass der beim Schütteln entstehende rote Schaum in wenigen Sek. blauviolett wird; dann werden noch 10 ccm frisch bereiteter Lösung von 0,1 g Kristallviolett B der Höchster Farbwerke in 100 ccm steriler, noch heisser Aq. dest. hinzugefügt. Von der Mischung zu sofortigem Gebrauch Petrischalen oder grössere (20 cm Durchmesser) Doppelschalen mit 2 mm Agarschichtdicke vorrätig halten oder 200 ccm-Kölbchen (nicht grössere, weil deren Verflüssigung zu langes Erhitzen fordert). Aussaat fraktioniert auf Oberfläche, Verteilen mit Glasspatel. Dünnen Stuhl direkt und nach Verdünnung mit 10—20 facher Menge steriler 0,85%iger NaCl-Lösung auf mehreren Platten nacheinander ver-

reiben, von festen Stühlen dünne Verreibung mit der gleichen NaCl-Lösung aussäen. Besäte Platten mindestens $\frac{1}{2}$ Std. staubgeschützt offen stehen lassen, dann mit Deckel nach unten bei 37° bebrüten. Nach 14—24 Std. untersuchen. Ty.-kol. 1—3 mm gross, blau, glasig, nicht doppelt konturiert, tautropfenähnlich, ebenso Paraty.-kol.; Kolikol. 2—6 mm, leuchtend rot, nicht durchsichtig. Ty.-ähnl. Kolonien auf Schrägagar abimpfen.

b) Fuchsinährboden nach Endo (C. B. I. Or. 35 S. 109): 1 Liter 3% Nähragar (s. S. 11), neutralisiert und mit 10 ccm 10% Sodalös. alkalisiert, versetzen mit 10 g chemisch reinen, in wenig Aq. dest. durch Kochen gelösten Milchzuckers u. 5 ccm gesätt. alkohol. filtrierter Fuchsinlös., dann mit soviel (etwa 25 ccm) frisch bereit. 10%iger Natriumsulfidlösung, dass der heiss rosa gefärbte Nährboden kalt ganz oder fast farblos ist (ev. Probeplatte giessen). Nach Sterilisation Aufbewahren im Dunkeln und möglichst unter Luftabschluss in kleinen Portionen (Flaschen mit Patentverschluss). Besäung in Schalen wie bei a). Ty. u. Paraty.-Kol. farblos, Kolikol. intensiv rot gefärbt. (Nicht vor 20—22 Std. abimpfen!) — Endo-Tabletten, die zu neutralem Agar zugesetzt einen fertigen Endonährboden ergeben, sind zu beziehen von E. Merck-Darmstadt.

c) Kongorotnährboden nach Liebermann und Acél (D. m. W. 1914 S. 2093): Zu 1 Liter mit Sodalösung schwach alkalisierten Nähragers hinzusetzen 15 g Milchzucker und 3 g Kongorot in Substanz. Kochen, gut durchmischen. Sterilisiert in kleinen Portionen aufbewahren. Ty.-Kol. rot, durchsichtig; Kolikol. blauschwarz.

d) Loefflers Malachitgrün-Safranin-Reinblau-Agar (D. m. W. 1909 Nr. 30): 3%iges neutral. Nähragar + 5 ccm Normal-NaOH pro Liter + (am Schlusse der Steril.) 100 ccm 10%iger Nutroselösung pro Liter wird in Flaschen aus Jenenser Glas aufbewahrt und durch Absitzen geklärt. Zum Gebrauch werden zu 100 ccm des verflüss., auf etwa 45° abgekühlten Agars zugesetzt 3 ccm durch Kochen steril., filtrierter Rindergalle, 1 ccm 0,2%iger wäss. Lös. von „Safranin rein“ Dr. Grübler, 3 ccm 1%iger wäss. Lösung von „Reinblau doppelt konzentriert“ Höchster Farbwerke und 3 bzw. 4 ccm 0,2%iger wäss. Lösung von „Malachitgrün cryst. chem. rein“ Höchster Farbwerke. Gut durchmischen, aus-

giessen in Platten und besäen wie bei a). Ty-Kol. blau durchscheinend, flach pyramidal mit unebener Oberfläche und Metallganz nach mehr als 24 Std.; Paraty.-B. sehr ähnlich, Paraty.-A. rund, glashell, bläulich, Baz. Gärtner rund, saftig, rot, Kolikol. rot oder rötlich.

Malachitgrünagar zur Anreicherung von Tyb. und Paratyb. (s. Lentz und Tietz, Klin. Jahrb. 1905 S. 495): Zunächst je 20 ccm Nähragar in Röhrchen mit verschiedenen Mengen 0,5%iger Malachitgrünlösung versetzen, Platten davon je zur Hälfte mit Ty. u. Koli besäen. Mit dem Zusatz, der Koli hemmt, Ty. nicht (meist etwa 1:6000), Agarvorrat bereiten. Bei Untersuchungen Platte mit Stuhlaufschwemmung reichlich besäen, nach 24 Stdn. Bebrütung Platte mit 5 ccm 0,85%iger NaCl-Lösung abschwemmen (nicht abschaben), davon 1—3 Ösen auf Platten der Nährböden a—c aussäen.

Fernere Anreicherungsverfahren der Tyb. im Stuhl:

a) Durch Bolus (Kuhn, M. Kl. 1916 Nr. 36). Stuhl mit 0,85%iger NaCl-Lös. verreiben, filtrieren durch Wattescheibe auf Porzellanfilterplättchen im Glastrichter. Zu 4—5 ccm Filtrat Argilla alba pulvis subtilis 0,02 g zusetzen, schütteln. Von Bodensatz nach einigen Min. Flüss. absaugen, Bodens. mit 0,2 ccm NaCl-Lös. aufschwemmen und auf Platten aussäen.

b) Durch Petrolätherverfahren s. Bierast, B. kl. W. 1916 Nr. 20.

4. Untersuchungen von Urin auf Tyb. Entweder Zentrifugieren und Aussäen des Bodensatzes auf den Nährboden S. 81—82 a—d, auch nach Anreicher. durch Bolus (s. oben); oder Urin wie Wasser (S. 86) behandeln. — Tyb. finden sich im Urin meist erst von der 3. Krankheitswoche an, dann aber nicht selten längere Zeit.

5. Die Widalsche Serumreaktion. Prinzip: Das Blutserum Ty.-Kranker besitzt der Regel nach schon nach den ersten 8 Krankheitstagen agglutinierende Kraft gegenüber Tyb. (vgl. S. 78). Blutserum nicht Ty.-Kranker gibt Agglutination nur in starker Konzentration (bis 1:50). (NB. Die einzelnen Ty.-Stämme können sehr verschieden stark agglutinabel sein, also erst geeigneten mit Immuns serum ausprobieren!)

Ausführung (vgl. auch Dienstanweis. f. die zur Ty.-Bekämpfung eingerichteten Untersuchungsämter. Arb. K. G. A. Bd. 41 S. 18*):

Das nach S. 116 gewonnene Serum, möglichst blutkörperchenfrei (zentrifugieren) wird in einer 1 ccm-Pipette mit $\frac{1}{100}$ Teilung abgemessen und mit der 9fachen Menge 0,85%iger steriler NaCl-Lösung in einem kleinen Reagensglase gemischt. Von dieser Verdünnung 1:10 werden 0,2 ccm + 0,8 ccm der NaCl-Lösung in ein zweites Röhrchen gebracht (Verdünnung 1:50). Weitere 0,2 ccm werden mit 1,8 ccm der NaCl-Lösung gemischt (Verd. 1:100). Von dieser letzten Mischung wird 1 ccm entnommen, und davon werden in 3 ferneren Röhrchen gemischt 0,34 ccm + 0,66 NaCl-Lösung (Verd. 1:300), 0,2 + 0,8 (Verd. 1:500), 0,1 + 0,9 (Verd. 1:1000). Etwa erwünschte noch stärkere Verdünnungen werden entsprechend hergestellt. Hat man sehr wenig Serum zur Verfügung, ersetzt man einen Teil der NaCl-Lösung durch eine dichte gleichmässige Aufschwemmung der zu prüfenden Bakt. (s. u.) in NaCl-Lösung.

Man stellt die Agglutination an

a) **m i k r o s k o p i s c h**. In Tröpfchen der Verdünnung 1:50 und 1:100 wird auf dem Deckglase je eine Nadelspitze nicht über 24 Stdn. alter Tyb.-Agarkultur verrieben (Tropfen muss deutlich und gleichmässig trübe werden), in anderen Tröpfchen entsprechend Paratyb. B (bei negativem Ausfall der Proben auch Paratyb. A). Dann die Deckgläschen als hängende Tropfen mit **s c h w a c h e r** Vergrösserung des Mikroskops untersuchen.

b) **m a k r o s k o p i s c h**. In Röhrchen mit je 1 ccm Serumverdünnung wird je 1 Normalöse (2 mg — s. S. 122) Ty.-Kultur (vgl. a) an der Wand sorgfältig mit der Flüssigkeit verrieben, dann gut durchgemischt. Andere Röhrchen entsprechend mit Paraty. B (bei negativem Ausfall der Proben auch mit Paraty. A) versetzen. Untersuchung wie S. 79.

Bei a) und b) Beobachtung 2 Stdn. bei 37° oder 12 Stdn. bei Zimmerwärme.

Beurteilung: Deckglasprobe 1:50 hat nur orientierenden Wert. Dagegen ist die 1:100 als positiv zu bezeichnen, wenn in jedem Gesichtsfeld reichlich Häufchen bei einem ursprünglich nur isolierte Baz. enthaltenden Präparat zu finden sind, selbst neben noch einzelt liegenden Baz. Röhrchenprobe 1:100 positiv auf Tyb. beweist Ty.-Infektion. Positiver Ausfall von 1:50 macht nur verdächtig und Wiederholung der Prüfung mit neu entnommenem Blut nach einigen Tagen rätlich. —

Agglutination der Paratyb. erweckt den Verdacht einer Paraty.-Infektion; zum Beweise ist aber Züchtung der Paratyb. aus dem Körper nötig. Zweckmässig Wirkungsgrenze des Serums gegen Tyb. und Paratyb. feststellen!

Die Widalsche Serumreaktion hat zahlreiche Fehlerquellen, insbesondere folgende:

- a) Das Blutserum von Menschen, die vor Monaten oder selbst Jahren an Ty. gelitten haben, zurzeit aber andersartig erkrankt sind, kann Ty. agglutinieren. Ebenso das von Typhus-Schutzgeimpften. Auch Serum Iktetischer kann erhöhte Agglutinationskraft zeigen.
- b) Das Agglutinationsvermögen des Blutserums entwickelt sich bei Ty.-Kranken (zumal bei leicht Kranken) nicht zu bestimmter Zeit der Krankheit, manchmal anscheinend selbst gar nicht. Bei negativem Ausfall der Agglutination und andauerndem klinischem Verdacht auf Ty.-Infektion empfiehlt sich Wiederholung der Probe in Abständen von einigen Tagen.
- c) Bei Ty.-Infektion kann das Blutserum auch gegen Paratyb. an Agglutinationskraft wachsen und umgekehrt bei Paraty.-Infektion gegen Tyb. Doch wird der die Infektion veranlassende Baz. in der Regel um das Vielfache stärker agglutiniert, als der andere, auf den das Serum nur infolge einer sog. „Gruppenreaktion“ (Familienzusammengehörigkeit ähnlicher Baz.-Arten) in gewissem Mass agglutinierend wirkt. (Auswahl geeigneter Ty.-Kultur für Versuch s. S. 83 unten).

Als Unterstützung für die klinische Diagnose behält die Widalsche Reaktion trotzdem bei richtiger Beurteilung grossen Wert. Therapeutisch und sanitätspolizeilich sind Ty.- und Paraty.-Infektionen gleichmässig zu behandeln.

Man beschränke sich nie auf die Angabe, dass „die Widalsche Reaktion positiv war“, sondern gebe die Art der Prüfung (Röhrchen- oder Deckglasversuch), die Höhe der wirksamen Serumverdünnung, die Zeit, innerhalb deren die Agglutination auftrat, und die Stärke der Reaktion (völlige Agglutination usw.) an.

Ty.- und Paraty.-baz.-zubereitungen zur Anstellung der Widalschen Reaktion, frei von lebenden Keimen, sind von E. Merck-Darmstadt zu beziehen (Fickersches Ty.-diagnosticum, B. Kl. W. 1903 Nr. 45); für den Röhrchenversuch brauchbar, bequem für die Praxis. Oder: eintägige Bouillonkultur der Tyb. + 1% 40%igen

Formalins 2 Tage bei 37° gehalten, vom Bodensatz abgegossen, im Eisschrank bewahrt. Haltbar, allmählich aber immer leichter agglutinierbar!

Isolierung von Tyb. aus Wasser.

Schwierig. Zu versuchen durch Filtration grösserer Wassermengen nach Hesse (S. 128) oder Verdunstung von je 5—10 ccm Wasser auf vielen Platten (S. 128) oder durch Fällung nach Müller (Zschr. Hyg. 51 S. 1): Auf 3 Liter Wasser 5 ccm Liq. ferri oxychlorati officin. setzen. Nach einigen Stunden von Fällung abgiessen, Bodensatz zentrifugieren und aussäen auf Platten. Bei allen Verfahren zur Aussaat die Platten S. 81/2 a—d verwenden.

10. Bacillus (Bacterium) coli.

(S. Tafel S. 134.)

Die typischen Vertreter dieser Bakteriengruppe sind etwas beweglich, besitzen 4—12 seitliche Geisseln, bilden auf Gelatine oberflächliche kräftige häutchenartige Beläge und tiefe runde bräunliche Kolonien, ohne zu verflüssigen, auf Kartoffeln starke graugelbliche Rasen, vergären Traubenzucker, Milchzucker, Mannit und Maltose, zum Teil auch Saccharose, und röten die damit hergestellten Lackmusnährböden (s. bei Typhus- und Ruhrbazillen), bilden Indol, koagulieren Milch, produzieren in Lackmusmolke stark und dauernd Säure. Es kommen Varietäten vor, denen eine oder mehrere dieser Eigenschaften mangeln; doch verflüssigt keine Abart Gelatine. Unterscheidung von Typhusbaz. s. S. 74 ff., vom Ruhrbaz. s. S. 88. Nach Gram nicht färbbar. Für Meersch. bei intraperitonealer Injektion pathogen (Peritonitis, Septikämie), bisweilen auch für diese Tiere und für Mäuse bei subkutaner Impfung (Eiterung, Septikämie). Agglutination durch spezifisches Immuneserum analog S. 78, doch wirkt ein Immuneserum nicht allen Stämmen gegenüber, sondern nur auf den immunisierenden und ev. einige andere.

Eijkman'sche Probe s. S. 128.

11. Bakterien der Fleischvergiftungen.

(S. Tafel S. 134.)

Fleischvergiftungen in Form akuter Magendarmkatarrhe entstehen durch Genuss von Fleisch kranker

Tiere oder post mortem infizierten Fleisches. Erreger sind meist *Paratyphus B-Baz.*, von denen man noch eine nur durch Serumreaktionen (Beeinflussung nur durch das spezifische, auf sie eingestellte Serum) unterschiedene Gruppe des *Bac. enteritidis* Gärtner absondert. Bei Rindern machen Darmkatarrhe, Euterentzündungen und jauchige Uterusinfektionen post partum, bei Kälbern Nabeileitung mit Sepsis das Fleisch besonders verdächtig. In solchen Fällen wie bei jedem Verdacht septischer Infektion empfiehlt sich die

Bakteriologische Fleischschau (s. V. K. G. A. 1914 S. 681). Zu untersuchen Fleischwürfel von 6—8 cm Seitenlänge aus faszienumgebenen Muskel je von Vorder- und Hinterschenkel, je 1 Fleischlymphdrüse aus anderen Schenkeln, Milz, 1 Niere, kürzerer Röhrenknochen. Zur Versendung (eiligst!) in Kleie verpacken. Oberfläche abbrennen, halbieren mit sterilen Instrumenten. Abschabsel von Mitte mit flüssigem Agar zu Platte ausgiessen und auf Platten S. 81/82 a, b, d ausstreichen. Auch Anreicherung von Muskelstückchen durch 6—12 stünd. Bebrüten in Bouillon bei 37°, dann Aussaat wie vor. Wächst *Paraty. B* oder *Enteritid. Gärtner* oder sonst ein Erreger von Infektionskrankheiten, so ist der Tierkörper als genussuntauglich zu erklären; ebenso wenn im Muskelfleisch zahlreiche andere Bakterien nachgewiesen. Einzelne Bakterien nicht pathogener Arten gestatten Fleischgenuss.

Wurst- und Pökelfleischvergiftung (*Botulismus*) kann hervorgerufen werden durch postmort. Ansiedelung von *Bac. botulinus*. Schlanker, bewegl. Baz. mit 4—8 peritrichen Geisseln. Sporen eiförmig, endständig. Gramfärbung unsicher. Obligat anaerob. Opt. 25—30° in Traubenzuckernährböden. Gel. verflüss., gasbildend. Schon sehr kleine Mengen Bouillonkultur erzeugen subkutan schnell bei Tieren motor. Paresen, Mydriasis usw. und Tod. Keine Vermehrung im Körper.

12. Ruhrbazillen.

(S. Tafel S. 134.)

Dem Typhusbaz. morphologisch und biologisch sehr ähnlich, aber unterschieden durch ihre Unbeweglichkeit (sie zeigen nur sehr starke Molekularbewegung), bestimmte kulturelle Merkmale und die Serumreaktionen.

Züchtung aus möglichst frisch entleerten Fäzes (Schleimflöckchen ab gespült in steriler 0,85%iger NaCl-Lösung) auf Lackmusnutroseagar, nach S. 81 a, aber ohne Kristallviolettzusatz bereitet (auch Nutrose ist entbehrlich); Kol. blau, wie Ty. Auch Endoagar (S. 82 b) ist brauchbar; Kol. farblos, wie Ty. — Anreicherung mit Bolus (S. 83 a) versuchen!

Man unterscheidet einen giftigen Typus (Baz. Kruse-Shiga) und giftarme Typen (besonders Baz. Flexner und Baz. Y) und bezeichnet die letzteren auch wohl als Pseudodysenteriebaz.

Typus A (Kruse-Shiga).

1. Keine Indolbildung (Prüf. S. 34).
2. Keine Koagulation in Milch.
3. Keine Vergärung von Traubenzucker (Prüf. wie S. 74 Nr. 6; bei S. 75 Nr. 10 nur Rötung, höchstens später Trübung.
4. Keine Vergärung und Farbenänderung in Neutralrot-Traubenzuckeragar (S. 75 Nr. 4).
5. Wachstum in Lackmusmolke wie Tyb. (S. 74 Nr. 5).
6. Auf Platten von Lackmus-Mannit- und Lackmus-Maltose-Agar (Bereitung wie S. 81 a, doch statt Milchzucker 2% der anderen Zuckerarten) keine Rotfärbung, im Stich höchstens Entfärbung in der Tiefe (Tyb. röten, Paratyb. u. Koli röten und vergären, Ruhr Typus B s. u.).
7. Kulturen und Kulturfiltrate in sehr kleinen Dosen stark toxisch für Mäuse und Kaninchen.
8. Agglutination durch Serum von Tieren, die mit Ruhrbaz. vom gleichen Typus immunisiert sind, bis in die Nähe der Titergrenze. Durch andere Ruhrsera keine Agglutin. Immunisierung schwierig wegen starker Giftwirkung.

Blutserum Ruhrkranker, bei denen Infektion mit Typus A vorliegt, agglutiniert gewöhnlich vom 5. Krankheitstage an die Typus A-Baz. Agglutin. durch Serumverdünnung 1:100 kann als beweisend für Ruhr gelten, besonders wenn die Agglutination grobklumpig ist; 1:50 macht wahrscheinlich, wenn keine Mitagglut. für Ty. und Paraty. dabei zu beobachten ist.

Typus B.

Baz. Flexner: Verhalten wie Typus A bei dort angegebenen Proben 2, 3, 4, 5. Dagegen Rötung von

Lackmus-Mannit- und Maltose-Agar (Probe 6) und Indolbildung nach 3—5 Tagen. Wenig toxisch für Tiere, deren Immunisierung daher leicht. Agglutin. mit Serum Kranker auch nicht bei Verdünnung 1:100 und darüber immer für Ruhr beweisend, da manchmal auch normales Serum so hoch agglutiniert.

Baz. Y: Verhalten wie Baz. Flexner, doch keine Rötung von Lackmus-Maltose-Agar (Probe 6) und Indolbildung nicht regelmässig.

Baz. Flexner und Y werden durch Serum von Tieren, die gegen Baz. Kruse-Shiga immunisiert sind, bis zu einem gewissen Grade mit agglutiniert, ebenso wechselseitig durch die Sera der gegen sie immunisierten Tiere.

Im Ruhrstuhl findet man nicht selten Baz., die nur in einigen Eigenschaften abweichen, z. B. Milch koagulieren; ihr alleiniger Befund erlaubt die Diagnose Ruhr nicht sicher.

13. Choleravibrionen.

Kulturen auf den gewöhnlichen Nährsubstraten erhältlich. Etwas alkalische Reaktion ist vorteilhaft. Eigenartiges Wachstum auf Gelatine (helle „Glasbröckchen“-Kolonien auf der Platte, klare „luftblasenartige“ Verflüssigung an der Oberfläche in der Stichkultur; doch kommen in frischen Kulturen auch dunkel gelblich gefärbte Kolonien mit gefasertem Rand allein oder zwischen hellen Kolonien vor). Auf Agar bläuliche durchscheinende Kolonien. Reichliches Wachstum in Peptonwasser (s. S. 15), auf Kartoffeln nur, wenn sie mit Sodalösung (1%ig) oder Salzwasser (s. S. 19 Abs. 2) gekocht sind. Eine endständige Geißel. Bewegung schiessend, „mückenschwarmartig“. Keine Sporen. Kulturen geben Nitrosoindolreaktion (s. S. 35), keine Phosphoreszenz (s. S. 35).

Färbung am schönsten mit Fuchsinlösungen; bei Anwendung der Gramschen Methode tritt Entfärbung ein.

Differentialdiagnose von Cholera- und ähnlichen Vibrionen ist oft schon mit Hilfe der Gelatineplattenkultur und bei Berücksichtigung von Nitrosoindolreaktion und Phosphoreszenz möglich, ganz sicher und schnell, aber meist nur durch die Serumreaktion in Form der Agglutination (oder auch des Pfeifferschen Versuchs) — s. S. 92 u. 91.

Die bakteriol. Diagnose einer Ch.-Erkrankung beim Menschen. (Vgl. Anweis. des Bundesrats v. 9. Dez. 1915, V. K. G. A. 1916 S. 210.) Zur Diagnose sind nur bestimmte Institute zugelassen.

Zur Untersuchung Stuhlprobe von 10—20 ccm oder der Inhalt einer 10 cm langen Darmschlinge aus dem untersten Teile des Ileum. Bei abgelaufenen Fällen 3 ccm Venenpunktions- oder Schröpfkopfblood.

I. Untersuchung von Stuhl, Darminhalt, Erbrochenem.

1. Ansetzen der Kulturen.

a) 1 ccm Mat. in 50 ccm angewärmtes Peptonwasser (S. 15) im Kölbchen bebrüten. Bei ersten Fällen am Ort 3 solche Kölbchen. Auch grössere Mengen, ganze Darmschlinge in 500 ccm Peptonw.

b) 4—6 Ösen des ev. mit Peptonw. verdünnten Mat. auf 1 Dieudonnéplatte (S. 91) mit Glasspatel ausstreichen, mit Spatel sofort 1 desgl. Platte und 2 Agarplatten nacheinander bestreichen. Platten sollen vorgetrocknet sein. In wichtigen Fällen 2 Reihen Platten. Falls Dieudonnéagar nicht vorhanden, Agarpl. allein nehmen, doch auf erste nur 1 Öse Mat.

2. Mikroskopische Untersuchung.

Ausstriche möglichst von Schleimflocken mit 10 fach verdünntem Karbolfuchsin (S. 46 c) färben, hängende Tr. in Peptonw. sogleich und nach $\frac{1}{2}$ stünd. Bebrütung untersuchen. Reichliche Vibrionen lassen Ch.-Verdacht aussprechen.

3. Weitere Untersuchung.

Nach 5—8 stünd. Bebrütung von Oberfläche des Peptonw. 4 Ösen auf Dieudonnéplatte verreiben, mit Spatel 2 Agarplatten bestreichen. Wiederholen nach 18—24 stünd. Bebrütung. Falls mehrere Peptonkölbchen angelegt, Aussaat von dem mikroskopisch verdächtigsten.

Platten nach 8—16 stünd. Bebrütung untersuchen. Vibrionenkol. werden auf Objektträger in 1 Tr. 1:100 verdünntem Choleraserums (s. u.) auf Agglutination vorgeprüft; falls 1. Fall am Orte, wird Reinkultur angelegt und Agglutinationshöhe genau geprüft (s. u.). Reinkultur aufbewahren.

4. Beurteilung der Befunde.

Diagnose hängt ab vom Ausfall der Agglutination. — Wenn bakt. Untersuchung an 3 je durch 1 Tag getrennten Tagen negativ, sind Genesene als nicht mehr ansteckungs-

fähig, Krankheitsverdächtige als unverdächtig anzusehen. Bei Ansteckungsverdächtigen genügt 2 mal. neg. Befund, getrennt durch 1 Tag Zwischenraum.

II. Untersuchung von Wasser.

1 Liter Wasser mit 100 ccm Peptonw.-Stammlös. (S. 15) durchgeschüttelt, zu je 100 ccm in Kölbchen verteilt und nach 8- und 24 stünd. Bebrütung in der Weise untersucht, dass Präparate von Oberfläche gemacht und von dem Kölbchen, in dem die meisten Vibr. sich fanden, Dieudonné- und Agarplatten angelegt und wie bei I untersucht werden.

III. Feststellung abgelaufener Cholerafälle.

Vom Blutserum mit 0,85%iger NaCl-Lös. abgestufte Verdünn. machen und Agglutination gegen bekannten Ch.-Stamm prüfen (Technik wie S. 84). Falls Ergebnis nicht eindeutig positiv, folgt Pfeifferscher Versuch:

Je 1 ccm Verdünn. des Serums mit 20, 100 und 500 Teilen Bouillon wird mit je 1 Öse 16—20 stünd. Ch.-Agarkultur versetzt und je 1 Meerschw. von rund 200 g Gewicht intraper. injiziert. 1 Kontrolltier erhält 1 Öse Kultur in 1 ccm Bouillon ohne Serum injiziert. Vom Peritonealinhalt alsbald, nach 20 und 60 Min. hängende Tropfen machen. Tritt bei den Serumtieren Körnchenbildung oder Auflösung der Vibr. ein, während sie beim Kontrolltier reichlich, beweglich oder in der Form erhalten sind, so ist überstandene Ch. anzunehmen. Negativer Ausfall macht Verdacht nicht hinfällig. (Wegen der Technik vgl. S. 75.)

IV. Nährböden.

1. Peptonwasser s. S. 15.
2. Agar nach S. 11 mit 3% Agar, alkalisiert mit 30 ccm 10%iger Lös. von Kristallsoda auf den Liter.
3. Dieudonnéagar. Durch Schütteln mit Glasperlen defibrin. Rinderblut + Normal-KOH $\bar{a}\bar{a}$ 45 Min. kochen. In verschlossenen Flaschen einige Monate haltbar. Davon 30 Teile + 70 Teile neutralen Nähragars mischen und in Schalen ausgießen. Diese müssen mindestens 24 Stdn. stehen, da sie vorher Entwicklung hemmen, und werden, wenn nötig, noch $\frac{1}{2}$ Std. im Brütapparat vor Besäung getrocknet. Über 8—10 Tage alte Platten sollen nicht mehr verwendet werden.

Falls Dieudonnéplatten nicht vorrätig, sind sofort verwendbare zu bereiten wie folgt (E s c h): 5 g käufl. Hämoglobin in Mörser zerreiben, lösen in Normal-NaOH + Aq. dest. $\bar{a}\bar{a}$ 15,0, steril. im Dampf 1 Std.; 15 ccm zu 85 ccm neutr. Nähragars setzen.

(Andere Ch.-Nährböden s. A r o n s o n, D. m. W. 1915 Nr. 35 u. 37, L a n g e, ebenda Nr. 38.)

V. Ausführung der Agglutinationsprobe mit verdächtigen Kulturen.

Benutztes Serum soll, wenn vom Kaninchen, bis 1:2000, wenn vom Pferd, bis 1:5000, und in Verdünnung 1:100 Ch. sofort agglutinieren.

Jedesmal Kontrollen

1. mit der zu untersuchenden Kultur und normalem Serum derselben Tierart in 10 fach stärkerer Konzentration,
2. mit der Kultur und der zu den Serumverdünn. benutzten NaCl-Lös. (Ganz junge, frisch aus dem Körper gezücht. Ch.v. agglutin. bisweilen mit der NaCl-Lös.; dann Wiederholung mit 12—15 Stdn. bebrüteter Kultur.)

a) Probe im hängenden Tropfen.

Je 1 Tr. anzulegen mit Serumverdünn., die echte Ch. gerade noch augenblicklich agglutin. und mit 5 fach konzentrierter Serumverdünn. Die zu untersuchende Kultur ist Ch., wenn sie in spätestens 20 Min. bei 37° agglutin. wird (schwache Vergröss.! Vorsicht, dass nicht schwere Verreibbarkeit von Vibr. Agglutin. vortäuscht!).

b) Probe im Röhrchen.

Wenigstens 4 Serumverdünn., die in annähernd gleichmässiger Progression bis etwa Titergrenze gehen. Zu je 1 ccm je 1 Normalöse (S. 121) Kultur gut verreiben. Sofort und nach $\frac{1}{2}$ Std. Bebrütung prüfen. Nur unzweifelhafte Haufenbildung in regelrechter Stufenfolge bis annähernd Titergrenze bei gleichmässiger Trübung der Kontrollröhrchen ist als positiv anzusehen. Technik s. auch S. 78.

14. Bacillus der Bubonenpest.

Vgl. Anweisung des Bundesrates zur Bekämpfung der Pest, Berlin 1905, Rich. Schötz, 0,60 Mk., Anl. 7. Das Vorrätighalten von lebenden Pestkulturen, sowie wissenschaftliche Untersuchungen und Tierversuche mit ihnen sind in Deutschland auf bestimmte, besonders eingerichtete

Laboratorien beschränkt: in der Praxis sind nur kulturelle Untersuchungen zur Feststellung der Diagnose bei pestverdächtigen Fällen erlaubt.

Als Untersuchungsmaterial bei Pestverdacht kommt hauptsächlich Bubonensaft oder -eiter (durch Spritze oder Inzision gewonnen), Blut, Sputum und Rachensekret in Betracht. Färbung mit den gewöhnlichen Lösungen. Zur Polfärbung Trockenpräparat 25 Min. in Alkohol absol. fixieren (besser noch Alkohol absol. auftropfen und nach 1 Min. Rest durch Erwärmen entfernen) und färben (dünne wässrige Methylenblaulösung am besten). Züchtung auf Agar, Blutserum, Gelatine (schwach alkal.; für unreines Material Gel. am besten). In 1. Gen. ziemlich langsames Wachstum (48 Std. und mehr, bis deutliche Kolonien entstehen). Unbewegl. kleine Baz., nach Gram entfärbt, auf Agar mit 3% NaCl-Gehalt verzerrte und aufgeblähte (Involutions-)Formen, in Bouillon Ketten bildend, Zucker nicht vergärend, Gelatine nicht verflüssigend. Pathogen für Ratten, Meerschweinchen und andere Tiere bei jeder Infektionsart, auch durch Einreiben auf die rasierte Haut des Meerschw.; hierdurch und durch Agglutin. Unterscheidung von pestähnl. Bazillen bei spontan gestorbenen Ratten und den Bazillen der hämorrhag. Septikämie. Agglutinierbar durch Serum von immunisierten Tieren; durch Serum von Pestrekonvaleszenten nicht konstant, doch schon bei Verdünn. 1:5—10 für Pest beweisend.

15. Bazillen der hämorrhagischen Septikämie.

Die Erreger der Geflügelcholera, Schweine-, Wild-, Rinderseuche, Kälberpneumonie sind unbewegl., bipolar färbbar, gramnegativ, leicht züchtbar (Gel. nicht verflüss., Milch nicht koagul.). Zu weit. Diagnose bei Geflügelchol. Verimpfung auf Hühner oder Tauben, bei Wild- und Rinderseuche auf Kaninchenohr. Schweineseuche ist durch den Bazillenbefund nur erwiesen, wenn auch charakter. Lungenerscheinungen und Infektiosität der Krankheit nachweisbar.

Bei Schweinepest bewegl., peritrich begeißelte, an den Polen stärker färbbare, gramnegative Baz., kulturell dem Paratyphus B ähnlich; auch im Darm gesunder Schweine, aber dann nicht pathogen f. Versuchstiere (Kan., Meerschw., Mäuse). Erreger der Schweinepest jedoch ein filtrierbares Virus.

16. Schweinerotlaufbazillen.

Sehr feine, unbewegl., grampos. Baz. Auf Agar tau-tropfenart., in Gel. knochenkörperchenähnl. Kol., im Gelstich wie Gläserbürste wachsend. Diagnose durch Grampräp., Kultur und subkut. Verimpfung auf weisse Mäuse, die an Septikämie nach ca. 2 Tagen sterben. Faule Organe nicht zu Diagnose brauchbar, weil in ihnen die nicht zu unterscheidenden, auch ebenso pathogenen Mäuse-septikämiebazillen vorhanden sein können.

17. Bacillus pyocyaneus.

Auf allen üblichen Substraten züchtbar. Beweglich (1 Geissel). Typische Stämme bilden tiefgrünen, in Chloroform löslichen, allmählich braun werdenden Farbstoff (Pyocyanin), der den ähnlichen fluoreszierenden Bazillen fehlt. Pathogen, besonders für Meerschweinchen intraperitoneal. Nach Gram nicht färbbar. Gelatine verflüssigend.

18. Tetanusbazillen.

Streng anaerob. Schlanke Stäbchen, in Kultur auch Fäden. Gramfärb. unsicher. Bewegl. durch zahlreiche peritriche Geisseln. Nur an Infektionsstelle reichlich, vermischt mit and. Bakt. Endständ. Sporen (Trommelschlägerform), auch im Körper gebildet. Auf allen Nährböden wachsend (Zusätze S. 28), Optim. 37°. Gel. langsam verflüss., Hirnbrei (2 Hirn, 1 Aq.) schwärzend.

Zur Isolierung am besten erst Verimpf. von Eiter, Erde usw. subkutan auf mehrere weisse Mäuse. Wenn diese an Tet. erlegen, Vorkultur mit Wundeiter oder Ödem anaerob in Bouillon bei 37° für 1—2 Tage. Dann Erhitzen der Kultur, in der die Tetanusbaz. Sporen gebildet haben (mikroskop. untersuchen!); zur Abtötung von Fremdkörpern 1 Std. auf 65—80°; hierauf anaerobes Plattenverfahren oder hohe Kultur. Isolier. schwierig, wenn auch andere anaerobe Sporenbildner vorhanden. Ev. Herz oder Milz der an Tet. gestorb. Mäuse 24 Std. bebrüten und daraus Kultur versuchen.

Toxin in Kulturfiltraten.

19. Bazillen des Gasbrands, malignen Ödems, Rauschbrands. Nekrosebazillus.

Erreger sind nahe verwandte, streng anaerobe Baz. Namentlich Gasbrand scheint durch verschied. Bazillen-

arten verursacht werden zu können, wobei zugleich grosse Variabilität der einzelnen Stämme in Betracht kommt. Sicherste Unterscheid. durch Agglutin. mit Serum immunis. Tiere (für jede Art. spezifisch). Zur Gewinn. homogener Bazillenaufschwemmungen die durch Gas zerrissene Agarkultur in hoher Schicht wie Fieberthermometer zu Wiederverein. des Agars schleudern und Baz. von Oberfl. mit 0,85%iger NaCl-Lös. abschwemmen. Bei Agglutin. prüf. im häng. Tr. ev. mit Platinnadel ständig reiben, um Pseudoagglutin. zu vermeiden. — Bewegl. leidet oft schnell durch O-Zutritt; daher Begeißelung durch Färbung oder Dunkelfelduntersuch. prüfen.

Gasbrand beim Menschen nach schweren Verletz., Gewebsnekrose mit schnell fortschreit. subkut. und intermuskul. gashalt. Ödem. Erreger nur an und um Infektstelle, in inneren Organen erst post mortem (dann dort ev. Gasbild. = Schaumorgane). Häufigster Erreger Baz. E. Fraenkel: Diplobaz. oder Fäden, unbewegl., grampos., Sporenbild. in alkal. Nährböden, mittel- oder endständig. Gel. verflüss. In Milch Gerinn., Gas-, Buttersäurebild. Auf Hirnbrei (2 Hirn + 1 Aq.) keine Schwarzfärb. Pathogen f. Meerschw. (subkutan Gasgangrän), nicht f. Kan.

Malignes Ödem bei Mensch und Pferd, seltener Rind u. a. Schnell fortschreit. subkut. u. intermuskul. Ödem, bisweilen mit Gasbildung. Erreger in vivo nur an und um Infektionsstelle, nur bei Mäusen auch in inneren Org. Typ. Erreger (Koch) Stäbchen oder gebog. Fäden bildend, bewegl. durch peritriche Geißeln, gramnegativ. Bei Jodbehandl. (Lös. S. 49 a 2) häufig blaue Körnchen in Baz. Sporen mittel- oder endständ. Gel. verflüss. In Milch Gerinn., später Lös. des Kaseins. Keine Laktosevergär. Hirnbrei schwärzend. Stink. Gas in Kulturen. Path. f. Kan., Meerschw., Mäuse.

Rauschbrand beim Rind, Gasgangrän in subkut. und intermuskul. Gewebe. Schlanke Baz., keine Fäden, bewegl. durch peritriche Geißeln, gramnegativ. Sporenbildung schon im Tierkörper, meist endständ.; Baz. auch in inneren Organen (Galle), spärlich im Blut. Gel. verflüss. In Milch Gerinn., keine spät. Lös. des Kaseins. Laktosevergär. Hirnbrei nicht geschwärzt. Buttersäuregeruch in Kulturen. Path. f. Meerschw., weniger f. Mäuse, nicht f. Kan. — Zücht. aus Körper am leicht. bei Zusatz von Muskelstückchen zu Nährboden.

Nekrosebazillen (Bang). Erreger diphther. u. nekrot. Prozesse bei Tieren. Schlanke Stäbchen und Fäden, Lücken und Verdick. zeigend. Baz. zahlr. am Rande des Krankheitsprozesses. Gramnegativ. Bewegl. nur in jungen Kult. Streng anaerob. Zur Isolier. serumhalt. Substrate. Stinkende Gasbild. Auf Kan. subkut. verimpft progrediente Nekrose.

20. Pyogene Staphylo- und Streptokokken.

Kulturen auf den gewöhnlichen Substraten zu erzielen. Bestes Wachstum bei Körperwärme. Staph. aureus und albus verflüssigen Gelatine, Streptok. und Tetragenus nicht. Alle 4 nach Gram färbbar. Streptokokkenketten am schönsten in flüssigen Substraten (auch Agarquetschwasser) ausgebildet.

Blutuntersuchung bei Kokkeninfektionen, besonders bei Septikämie und Pyämie: Blutentnahme aus der Vena mediana mit der Spritze (s. S. 116). Sofort Aussaat zu je 2—3 ccm in Röhrchen verflüss. Agars von etwa 42° und Ausgiessen zu Platten. Bei 37° bebrüten. (Auch anaerobe Kulturen — in hoher Schicht, S. 29 Nr. 2a — anlegen, da es anaerobe pathogene Kokken gibt.) Es zeigen:

Streptoc. pyogenes et erysipelatis (longus) kleine helle Kol. mit breitem hellem Hof (Hämolyse).

Streptoc. mitis (selten) sehr kleine, grünliche Kol., keinen oder nur geringen Hof. In der Regel nicht tierpathogen.

Streptoc. mucosus zarte grüne, deutlich schleimige Kol. (selten, mehrfach bei Pneumonie gefunden). Kokken kapseltragend. Hoch tierpathogen.

Staph. pyogenes üppige Kol. mit hellem Hof. (Desgl. Botryomykokken des Pferdes.)

Gonokokken kleine graugrüne Kol. ohne Hof.

Pneumokokken desgleichen.

Die Streptoc. der Drüse des Pferdes wachsen am besten auf Serum (glasig-schleim. Tropfen) und serumhaltigen Substraten bei 37°. Sie gleichen sonst wie die Mastitisstreptoc. der Kuh dem Streptoc. pyogenes.

21. Pneumokokken und Pneumobazillen.

Reinkulturen der Pneumokokken am leichtesten zu gewinnen durch subkutane Impfung von Mäusen oder Kaninchen mit pneumonischem Sputum und Aussaat von Blut der nach ca. 48 Std. an Septikämie gestorbenen Tiere auf Serum, Serumagar oder Agar. Auch aus Mundspeichel vieler gesunder Menschen auf die gleiche Weise züchtbar. Wachstum am besten bei 37° (feine Tautropfchen auf Agar), nicht unter 20°. Kulturen alle 6—8 Tage umzüchten, weil sie schnell absterben. In Blut (s. S. 25 Abs. 3) erhalten sich die Pneumok. jedoch monatelang lebend.

Die (A. F r ä n k e l schen) Pneumokokken, auch mit den gewöhnlichen Methoden tingierbar, färben sich nach Gram, die (F r i e d l ä n d e r schen) Pneumobazillen nicht. Letztere wachsen auch bei gewöhnlicher Temperatur, im Gelatinestich in nagelförmiger Kultur, auf Agar als schleimige glasig-weiße Auflagerung. Sie sind grösser als die Pneumokokken, haben Bazillenform, erzeugen bei Mäusen subkutan verimpft ebenfalls Septikämie. Kapsel-färbung bei beiden in Präparaten aus dem Körper möglich. (Methoden S. 52.)

Pneumok. unterscheiden sich von manchen pyogenen Streptok. nur durch ihre Kerzenflammenform, ihre Neigung zur Bildung von Diplok. mit Kapseln im Körper, die Bildung von sehr kurzen Ketten in flüssigen Nährböden, die fehlende Hämolyse (S. 96 unter 20) und dadurch, dass sie in 24 stünd. Bouillonkultur durch Zusatz 10%iger wässer. Lösung von taurocholsaurem Natron $\bar{a}\bar{a}$ in wenigen Minuten aufgelöst werden, Streptok. pyog. (auch mucosus) dagegen nicht.

22. Meningokokken.

Wachstum nur bei mehr als 25°. Zur Züchtung (Gehirneiter, Cerebrospinalflüss., Nasenrachenschleim [siehe S. 118] am besten Blutagar nach Esch (C. R. I. Or. 52 S. 150): 60 ccm Nähragar mit 1% Pepton Witte + 20 ccm sterilem defibrinierten Hammelblut + 10 ccm Aszitesflüssigkeit + 1,0 g in 3 ccm Bouillon gelöster Maltose); gut auch Aszitesagar, Loeffler serum (S. 16) oder Plazentaagar: Fleischwasser aus Plazenta 1 + 2 Aq., 1% Traubenzucker, 0,5% NaCl, je 2% Nutrose und

Pepton Chapoteaut + $2\frac{1}{2}\%$ Agar, davon 3 Teile gemischt mit 1 Teil Rinderserum. (Kutscher, C. B. 1 Or. 45 S. 286.) Nach Conradi zentrifugiert man die bei der Lumbalpunktion gewonnene Flüssigkeit, erwärmt den flüssigen klaren Teil des Zentrifugats auf 45° , mischt mit 3 Teilen gleich warmen neutralen Nähragars, giesst in Schalen aus und besät mit dem Bodensatz des Zentrifugats. Erste Generation zart, spätere üppiger. Kulturen feucht (Gummikappe) und bei 37° bewahren, weil sie sonst schnell absterben. Anfangs täglich, später alle 5—7 Tage umzüchten. In Bouillon Trübung und Häutchen (Gonokokken geben hier kein Wachstum).

Nach Gram nicht darstellbar. Form ähnlich den Gonokokken; meist wie diese als Diplokokken, in Zellen eingeschlossen. In Lumbalpunktat, falls Kokken spärlich, Anreicherung durch 24 stünd. Bebrüten bei 37° möglich.

Für Tiere (Mäuse und Meerschw.) schwach pathogen (toxisch) vom Peritoneum aus. — Blutserum Erkrankter agglutiniert in der Regel (über 1:50 beweisend, 24 Stdn. bei 37° beobachten). Zur Diagnose von Kulturen Agglutination mit Serum immunisierter Tiere (Beobacht. 24 Stdn. bei 37 u. 55°).

Der in Nase und Rachen vorkommende Mikrok. catarrhalis ist dem Meningok. in der Form ähnlich, ebenfalls nach Gram nicht darstellbar, wächst aber auf gewöhnlichem Agar gut, auch auf Gelatine (ohne Verflüssigung) und ist vor allem, wie andere ähnliche Kokken, durch den Agglutinationsversuch zu unterscheiden.

Ferner Unterscheidung durch Lackmuszuckernährboden (v. Lingelsheim, Klin. Jahrb. XV S. 410, Rothe C. B. Or. 46 S. 645): 10%ige Zuckerlösungen in Lackmuslösung (Kahlbaum, Berlin-Adlershof), 2 Min. gekocht, auf je 10 ccm nach Abkühlen 0,5 ccm Normal-sodalösung. Davon 1,5 ccm zu 13,5 ccm Mischung von 3 Teilen 3%igen Nähragars und 1 Teil Aszitesflüss. In Schale durch Strich beimpfen. Meningok. röten nur bei Dextrose oder Maltose, Gonok. nur bei Dextrose, andere Kokken auch bei dieser nicht (so Mikrok. catarrhalis) oder auch bei Lävulose.

23. Gonokokken.

Kulturen gelingen nicht auf den gewöhnlichen Nährböden, wenigstens nicht in erster Generation, bisweilen aber

glückt Fortzuchtung in späteren Generationen darauf. Als besondere Substrate dienen folgende, auf denen die G. in feinen tautropfenähnlichen Kolonien bei 36° (zweckmässig Temperatur nicht höher nehmen!) wachsen:

1. Menschenblutserum- oder Aszites-agar nach Wertheim. Nähragar (neutral) mit Serum oder Aszites $\bar{a}\bar{a}$ gemischt, in Schale durch Oberflächenausstrich besät. Feuchte Oberfläche nötig!

2. Blutbestrichenes Agar nach Abel. Man säe aus auf Nähragar, das man mit etwas Blut aus einer desinfizierten und gut vom Desinfiziens mit sterilem Wasser und steriler Watte wieder befreiten Hautstelle des Kranken oder einer anderen Person bestrichen hat. Erste Generation geht nicht immer an; wegen der einfachen Herstellung zur Fortzuchtung empfehlenswert.

3. Nutrose-Nährboden nach Wassermann. Mische im Kolben 15 ccm Schweineblutserum, 30—40 ccm Wasser, 2—3 ccm Glyzerin, 0,8 g Nutrose, koche unter beständigem Schütteln 15 Min. Wiederhole Kochung (Schütteln!) am folgenden Tage 15 Min. Mit 2%igem Peptonagar $\bar{a}\bar{a}$ gemischt in Schälchen durch Oberflächenausstrich besät. Besonders für Fortzuchtung empfehlenswert.

Unterscheidung von den sehr ähnlichen Meningokokken durch Fundort und Kultur auf Lackmuszuckernährböden (s. S. 98 Abs. 5).

Färbung der Gonokokken in Eiter- etc. Präparaten (Diplokokken-Semmelformen, Lagerung sehr vielfach in Eiterzellen) mit den gewöhnlichen Anilinfarben, besonders Loefflers Methylenblau (S. 45) oder für Kontrastfärbung zu den Gewebselementen nach den Methoden S. 48 I—III, nach Giemsa (S. 104) und besonders schön nach Unna-Pappenheim (S. 68). Gon. sind nach Gram nicht darstellbar.

Bei Gon. armen Sekreten (alten Gonorrhöen) dicke Ausstriche auf Objektträgern färben, ev. nach Gram (hierbei bis nach der Entfärbung mit Alkohol Abspül. in Wasser vermeiden!).

24. Aktinomyces.

Kulturen aus Aktinomycesdrusen im Eiter auf den üblichen Nährböden, bes. Glyzerinagar und Blutserum

zu erzielen. Viele Kulturen anlegen, auch anaerob, da manche Stämme besser bei Luftabschluss angehen. Drusen vor Aussaat mit etwas Bouillon in sterilem Mörser zerreiben. Wachstum in erster Generation meist langsam, in späteren üppig. Trockene, fest am Nährboden haftende, in diesen sich „einfressende“ Kolonien, später kalkweiss oder gelb pulverig bestreut aussehend. Wachstum auch in Gelatine bei Zimmertemperatur, diese und Serum langsam verflüssigend. (In Kulturen nur selten Keulen, in jungen Kulturen kokken- und stäbchenartige Gebilde, in älteren lange Fäden.)

Zur Diagnose von Eiter auf Aktinomyces am besten die Pilzkörnchen heraussuchen, auf dem Objektträger mit dem Deckglas zerdrücken und ungefärbt untersuchen (ev. etwas Essigsäure zur Aufhellung zusetzen).

Färbung nach den gewöhnlichen einfachen Methoden möglich, aber in den Schnitten die Pilze nicht sehr gut darstellend; besser dafür Kontrastfärbungen:

- a) Nach Gram (s. S. 49). Schnitte 24 Stunden färben. (Ev. vorher einige Min. in 0,01%ige KOH einlegen.) Dann 15 Min. in die Jodlösung. Nachfärben mit Eosin oder Vesuvin. — Zentrale Fäden dabei gut, Keulen weniger gut gefärbt.
- b) Nach Weigert (s. S. 51). — Drusenzentrum (Fäden) blau, Keulen und Gewebe rot gefärbt.
- c) Nach Boström. 1. Färbung in Anilinwassergentianaviolett 15 Min. 2. Übertragung ohne Abspülen in Pikrokarmine (n. Weigert s. S. 52) 5—10 Min. 3. Auswaschen in Wasser. 4. Entfärben in Alkohol absol., bis die Schnitte rotgelb sind. 5. Aufhellen in Zedernöl usw. — Drusenzentrum (Fäden) blassblau, Keulen rot, Gewebe gelbrot.

25. Hefen und Soor.

Kultur auf schwach sauren zuckerhaltigen Nährböden; bes. gut sterilisierte Bierwürze oder Backpflaumenabkochung oder Traubenmost + Agar oder Leitungswasser-Gelatine, ohne weiteren Zusatz. Isolierung im Plattenverfahren (S. 21 ff.) oder durch Anlage von Einzelkulturen: Starke Verdünnung in Gelatine, Anlage kleiner hängender Tropfen (mehrere auf einem Deckglas); Untersuchung mit schwacher Vergrößerung, Bezeichnung der Tröpfchen, in denen nur eine Zelle liegt, durch

Tintenpunkt auf der Deckglasoberseite, Abimpfung von den an diesen Stellen erwachsenen Kolonien.

Färbung mit den gewöhnlichen Anilinfarben.

Färbung der Kerne nach Möller: 1. Einlegen der Präparate mindestens 2 Stunden in 3—4%ige Lösung von schwefelsaurem Eisenoxyd-Ammoniak. 2. Abspülen in Wasser. 3. Färbung $\frac{1}{2}$ Stunde in gesätt. Lösung von Hämatoxylin in Brunnenwasser. 4. Auswaschen in Wasser. 5. Differenzieren in der Lösung 1 für $\frac{1}{2}$ bis 2 Min. bei beständiger Kontrolle unter dem Mikroskop. 6. Abspülen in Wasser. Lufttrocken werden lassen. Kanadabalsam.

Färbung der Sporen nach S. 53.

Darstellung von Hefen im Körpergewebe nach O. Busse: 1. Färben mit Hämalaunlösung (Grübler-Leipzig) 15 Min., 2. Spülen in Wasser 5 Min., 3. Färben mit Karbolfuchsin Ziehl (S. 45) 1:20 Aq. $\frac{1}{2}$ bis 24 Std., 4. Differenzieren in 60%igem Alkohol, dann absol. Alkohol, Zedernöl usw. Gewebskerne blau, Hefen (nicht alle!) leuchtend hellrot.

26. Schimmelpilze und andere Pilze.

Zur Kultur der Schimmelpilze benutzt man die üblichen Bakteriennährböden, auch ohne Neutralisation, Brotbrei (S. 19) und die unter Nr. 25 S. 100 für Hefenzüchtung genannten Substrate. Von den gewöhnlichsten Schimmelpilzen wachsen die Penizillien meist nur bei Zimmertemperatur, einige Aspergillus- und Mucorarten bei Körpertemperatur; z. T. sind diese für Kaninchen bei intravenöser Injektion pathogen.

Zur mikroskopischen Untersuchung bringt man womöglich zunächst den Pilz mit dem ihn tragenden Substrat unter das Mikroskop bei schwacher Vergrößerung, dann Teile des Pilzes zwischen Deckglas und Objektivträger ohne Wasserzusatz. Will man in Luft gewachsene Pilze in Flüss. untersuchen, so nimmt man nicht Wasser, das sie schlecht benetzt, sondern befeuchtet sie mit folgender Mischung: Alkohol u. Liq. Ammon caust. \overline{aa} 25,0, Glycerin 15,0, Aq. dest. 35,0 (ev. Gelatine 1,0, — diese zuerst im Wasser unter Erwärmen lösen). Zur Konservierung Deckglas mit Lackrand umziehen. Auch in die S. 131 angegebene Glyzeringelatine kann man die Präparate einlegen.

Zur Färbung der Schimmelpilze benutzt man basische Anilinfarben, zur Färbung in Schnitten z. B. die Loefflersche Methylenblaulösung (s. S. 45).

Nachweis von Arsen durch Schimmelpilze: Vermische die zu untersuchende Substanz in einem Kolben reichlich mit Graubrotkrumen, wenn nötig nach vorheriger Neutralisierung. Sterilisiere im Dampf, besäe mit *Penicillium brevicaulis*. Schliesse Kolben fest mit 2 Gummikappen über Wattebausch. Wenn nach 24—48 Std. Bebrütung bei 37° das *Penicillium* kräftig gewachsen ist, zeigt Knoblauchgeruch des Kolbeninhalts Vorhandensein von As an. (S. Abel u. Buttenberg, Zschr. f. Hyg. Bd. 32.)

Die **Hautparasiten** (*Favus*-, *Trichophytie*-pilze usw.) lassen sich auf Gelatine und Agar kultivieren und wie Bakterien färben. Nährboden für Züchtung aus dem Körper nach Plaut: Aq. 100, Pepton 1—2, Traubenzucker 1, Glyzerin 0,5, Kochsalz 2, Agar 2. Zur Isolierung zweckmässig Verreibung der Borken, Haare etc. mit ausgeglühter, erkalteter Infusorienerde im sterilen Mörser, Anlage von Platten mit Oberflächenaussaat, Züchtung bei Zimmerwärme und 30°. Ev. Einlegen des Untersuchungsmaterials vor der Aussaat in 50%igen oder stärkeren, bis absoluten Alkohol für 1—24 Stdn. Dabei sterben die Bakterien sämtlich oder grossenteils ab, während die Pilze meist überleben. — Sehr einfach und erfolgreich ist die Züchtung *in situ* nach Plaut: Man legt einige erkrankte Haare oder Hautschüppchen auf einen sterilisierten Objektträger, drückt einen zweiten sterilen Objektträger fest darauf, nimmt beide auseinander und bedeckt nun das Material mit einem sterilen Deckgläschen, das man an den Ecken mit Wachströpfchen befestigt. Jeden Wasserzusatz vermeiden! Einlegen in eine feuchte Kammer (s. S. 22 Abs. 2, — so feucht, dass eine an den Objektträger geklebte Etikette sich nach 24 Stdn. leicht verschieben lässt). Die Pilze wachsen gut, etwa vorhandene Bakterien vermehren sich dagegen nicht oder nur sehr mässig. Nach einigen Tagen vom Rande der Pilzwucherung Abimpfung.

27. Amöben.

Kulturen mancher Arten (Wasser-, Erd-, auch Darmbewohner, aber nicht der Dysenterieamöben) möglich. Zu versuchen in folgenden Substraten:

1. Heu- oder Strohnährboden. 20—40 g Heu oder Stroh werden mit 1 Liter Aq. communis $\frac{1}{2}$ Std. gekocht. Das Filtrat mit Natriumkarbonat leicht alkalisch machen, aufkochen, filtrieren. — Durch Zusatz von $1\frac{1}{2}\%$ Agar vor der Neutral. in festen Nährboden zu verwandeln.

2. Fucus crispus-Substrat: In dünner Bouillon oder Leitungswasser aufweichen $2\frac{1}{2}$ —5% Fucus crispus, kochen bis zur Lösung (lange!), leicht alkalisieren.

3. Den üblichen Bakteriennährböden, auch folgender Kombination: Agar 0,5, Aq. commun. 90,0, alkal. Nährbouillon 10,0.

Reinkulturen zu erzielen ist nicht möglich, stets müssen Bakt. vorhanden sein, von denen die Amoeben sich nähren. Behandelt man solche Mischkulturen, in denen keine Bakteriensporen, Schimmelpilze und Hefen vorhanden sind und in denen die Amoeben Zysten gebildet haben, für ca. 72 Std. mit 20%iger Lösung wasserfreier Soda (vgl. S. 11 Abs. 3), so sterben die Bakterien ab; die Amoebenzysten wachsen dann auf gewöhnlichen sterilen Substraten nicht aus, wohl aber, wenn sie auf Kulturen von solchen Bakterien übertragen werden, die ihnen als Nahrung dienen können. (So sind also Kulturen einer Amoebenart mit einer bestimmten Bakterienart möglich.)

Untersuchung von Amoeben am besten ungefärbt zwischen Deckglas und Objektträger oder im hängenden Tropfen.

Technik für Dysenterieamoeben: Zunächst Flöckchen möglichst frisch entleerten Stuhls zwischen Objektträger und Deckglas ohne Zusatz untersuchen, nur bei sehr festem Stuhl etwas angewärmte 0,85%ige NaCl-Lösung zusetzen. Unterscheidung von Leukozyten und anderen Körperzellen durch Grösse, Bewegung, Kernform, Einschlüsse. Zur Färbung Fixieren noch feuchter dünner Deckglasausstriche durch Eintauchen in 60—70° heissen Sublimatalkohol (2 g Sublimat in 30 g Aq. Kochen, nach Erkalten filtrieren; davon 2 Teile + Alk. absol. 1 Teil) einige Sekunden eintauchen. Dann Auswaschen in Jodalkohol 30 Min. (60%iger Alk. + Jod bis zu bräunl. Färbung), darauf in 70%igem Alk.; Abspülen in Aq. dest. Zur Färbung 1. 2 Stdn. in 5%ige Eisenoxydammoniumsulfatlösung. 2. Sorgfältig abspülen. 3. 5 Min. in alte 1%ige alkohol. Hämatoxylinlös., der vor Gebrauch gesätt.

wäss. Lithiumkarbonatlös. bis zur dunklen Rotfärbung zugesetzt ist. 4. Abspülen, ev. differenzieren mit Lösung 1. Entwässern in Alkohol, Zedernöl. — Gewebsschnitte entsprechend behandeln. Gegenfärbung mit Eosin. Färbung auch nach Giemsa (s. unten). — Dysenterieam. zeigen hyalines Ektoplasma, ungefärbt kaum sichtbaren Kern, gefärbt Karyosom von hellem Hof umgeben, die häufigste Art (*Entamoeba tetragena*) vierkernige Zysten; durch diese Merkmale Unterscheidung von *Entamoeba coli*, — ausserdem Tierversuch an Katzen!

28. Malariaparasiten.

Herstellung und Fixierung von Blutausstrichen vgl. S. 117. Bei wenig Parasiten (behandelten Fällen) 1—2 Tr. Blut mit Glasstab in Zehnpfennigstückgrösse auf Objektträger ausstreichen und (vor Insekten geschützt) völlig lufttrocken werden lassen. Einige Min. einlegen in 2%iges Formalin + $\frac{1}{2}$ —1% Essigsäure, wodurch das Hämoglobin dadurch ausgezogen wird. Färbung ohne Fixieren, Präparate dürfen nicht scharf abgespült werden!

a) Einfache Färbung nach Manson:

Solve Methylenblau med. pur. Höchst 2,0, Borax 5,0 in kochendem Wasser 100,0. Zum Färben mit Wasser verdünnen, bis Lösung in Reagenzglas eben durchsichtig ist. Bei frisch hergestellten Trockenpräparaten genügt Färbung in der Kälte ca. 10—15 Sek. Alte Präparate färbt man besser mit Methylenblau 1,0, kristall. Soda 0,2, Aq. 100,0 für einige wenige bis zu 20 Sek. ohne Erhitzen. Abspülen in Wasser. Parasiten blau, rote Blutscheiben grünlich.

b) Chromatinfärbung nach Giemsa (Modifikation der Methode Romanowsky-Nocht), C. B. I. Or. 37 S. 308.

1. Fixieren des Ausstrichs in Äthylalkohol 15—20 Min. oder (nur 2—3 Min.!) in Methylalkohol. Abtupfen mit Fliesspapier.
2. Färben mit „Giemsas Lösung für die Romanowskyfärbung“ (von Dr. Grübler, Leipzig). — Farblösung in eine mit Alkohol absol. ausgespülte Tropfflasche füllen, davon in Mischzylinder je einen Tropfen auf je 1 ccm 30—40° warmen, völlig säurefreien destill. Wassers unter leichtem Umschwenken geben. Sofort auf Ausstrich in Schälchen giessen, 10—15 Min.

(auch länger) einwirken lassen, Lösung womöglich einmal erneuern. (Alle Gefässe müssen peinlich sauber und völlig säurefrei sein!)

3. Abwaschen mit scharfem Wasserstrahl.

4. Trocknen, Einlegen in Immersionszedernöl. Chromatin der Parasiten leuchtend rot, Protoplasma blau. Leukozytenkerne rot bis violett, Protoplasma blau. Rote Blutzellen rosa bis braunrot.

c) Schnellfärbung nach Giemsa (C. B. 1. Or. 73 S. 493).

1. Lufttrockenen, unfixierten, sehr dünnen Objektträgerausstrich mit Schicht nach oben in ein trockenes, horizontal stehendes Färbewännchen (von Carl Zeiss, Jena, „für die Schnellfärbung nach Giemsa“) legen. Aus Tropfgläschen so viel „Farbfixierlösung nach Giemsa“ (von Dr. Grübler, Leipzig) darauf träufeln, bis Schichtseite völlig benetzt (8—15 Tr., Lösung soll nicht über Objektträgerrand fließen). Wanne zudecken, $\frac{1}{2}$ Min., nicht über 1 Min. einwirken lassen.

2. In Messzylinder hergestellte Mischung von je 1 Tr. der Lösung 1 oder der bei b) 2 S. 105 erwähnten auf je 1 ccm Aq. dest. in das Färbewännchen giessen, so dass Objektträger ganz unter Flüss., u. sofort durch Schwenken gut mischen, dann 10. Min. ruhig stehen lassen.

3. Abspülen in Wasser, Trocknen, Einlegen in Paraffin. liq. oder säurefreien Balsam (v. Dr. Grübler, Leipzig).

Färbung von Schnittpräparaten nach Giemsa (D. m. W. 1910 Nr. 12):

1. Fixieren von nicht über 5 mm dicken Organstücken in Sublimatalkohol (s. S. 106 unten) mindestens 48 Std. unter Erneuerung nach 24 Std.; Einlegen usw. mit Hornpinzette! Längeres Aufbewahren hierin unschädlich für die Färbung.

2. Überführen in Alkohol von steigender Stärke, Xylol, Einbetten in Paraffin, Schneiden und Schnitte auf Objektträger bringen (s. S. 41).

3. Überführen durch Xylol, Alkohol von abnehmender Stärke in Wasser.

4. 10 Min. in Jodkali 2 g, Aq. dest. 100 ccm, Lugolsche Jodjodkalilösung (S. 49 sub 2) 3 ccm.

5. Nach Abwaschen in Aq. dest. 10 Min. in 0,5%ige wäss. Natriumthiosulfatlösung, 5 Min. in Leitungswasser, kurz in destill. Wasser.
 6. Färben in Giemsalösung (s. S. 104 b 2. — bei längerer Färbung 1 Tr. auf 2 ccm Aq. dest. statt auf 1 ccm nehmen) 2—12 Std. (Farblösung nach 1/2 Std. erneuern).
 7. Abspülen in Aq. dest. und Hindurchführen durch Azeton 95 + Xylol 5, Azeton 70 + Xylol 30, Azeton 30 + Xylol 70, Xylol, Zedernöl.
- Farben wie bei S. 105 b 4. — Entsprechend Behandlung von Feuchtpräparaten auf Deckgläschen.

29. Trypanosomen.

Züchtung gewisser Arten möglich im Kondenswasser einer Mischung von Nähragar + defibrin. Kaninchenblut $\bar{a}\bar{a}$. Reichlich besäen, bei 20—37° halten. S. auch Nöller, Arch. f. Schiffs- und Tropen-Hyg. Bd. 21. S. 53.

Im Blut lebend untersucht im häng. Tropfen + etwas 0,85%iger NaCl-Lösung oder ausgebreitet zwischen Objektträger und Deckglas (mit Vaseline oder Wachs umrandet). Herstellung von Blutaussstrichen s. S. 117. Färbung nach Giemsa (s. S. 104 b oder 105 c, — bei b 2 5 Min. färben) oder nach Loeffler: Präp. dünn ausstreichen und mit Alkohol absol. + Äther $\bar{a}\bar{a}$ fixieren. Auf Deckglas 3 Tropfen 0,5%iger Natr. arsenicosum-Lösung in Aq. dest. + 1 Tr. 0,5%iger wässer. Lösung von „Malachitgrün krist. chem. rein“ (Höchster Farbwerke), erwärmen bis zur Dampfbildung 1 Min. Abspülen m. kräft. Wasserstrahl. In Reagenzglas zu 5 ccm einer Mischung von Glycerin puriss. 0,5 mit Aqua dest. 100,0 5—10 Tropfen Giemsa-Romanowsky-Lösung (s. S. 105 c) geben; über der Flamme zum Sieden erhitzen und heiss auf Deckglas giessen. Nach 1—5 Min. abgiessen, kräftig im Wasserstrahl abspülen. (Glycerin-Giemsamischung immer wieder brauchbar.) Plasma der Tryp. blau, Kerne, undulier. Membran und Geißel rot, Erythrozyten rosa.

Färbung von Feucht- und Schnittpräparaten nach Giemsa wie S. 104 ff.

30. Syphilisspirochäten.

Die Sy.-spir. zeichnen sich vor andern Arten (Spir. refringens u. balanitidis im Genitalsekret, dentium u. buc-

calis im Munde) aus durch ihre verhältnismässig schwere Färbbarkeit, ihre ausserordentliche Feinheit und durch ihre Gestalt: Besonders zahlreiche (10—26), regelmässige, tief eingeschnittene, korkzieherartige Windungen, auch in der Ruhe, beiderseits stark zugespitzte Enden. Lebend gut mittelst Dunkelfeldbeleuchtung (S. 5) zu beobachten; ungefärbt auch bei Mischung eines Tröpfchens spir.-haltiger Flüssigkeit auf Deckglas mit Tusche (s. S. 27 und dünnem Ausstreichen).

Züchtung anaerob in erstarrtem Pferdeserum in hoher Schicht (S. 29 2 a), auch in Mischung von neutralem Agar und Pferdeserum $\bar{a}\bar{a}$ oder 1:2. Bei Mischkulturen Abimpfung von den äussersten Ausläufern der feinen wolkigen Kol. der Sy.-spir.

Nachweis zu diagnostischen Zwecken am besten in Ausstrichen von unbehandelten Schankern, Papeln usw. Diese mit Wattebausch + Petroläther gut reinigen, durch festes Ausdrücken oder durch Ankratzen mit Deckglasecke „Reizserum“ gewinnen und ausstreichen auf Objektträger.

Zur Färbung in Ausstrichen statt der gewöhnlichen Färbeverfahren, bei denen der Farbstoff stundenlang einwirken muss (nicht nach Gram färbbar), folgende:

a) Nach Giemsa (D. m. W. 1905 Nr. 26, 1907 Nr. 17):

1. Fixieren in Alkohol oder vorsichtig in Flamme. Bei älteren Präp. Fixieren entbehrlich.
2. Färben wie auf S. 104 b 30—60 Min. ohne Erwärmen; bei Nr. 2 dort dem Wasser vor Zusatz der Farblösung 1—10 Tropfen 1%iger K_2CO_3 -Lösung zugeben.
3. Ganz kurz abspülen in säurefreiem Wasser. Spirochäten intensiv dunkelrot, Grund schwach rötlich oder farblos, Zellen blau, Kerne rot, Erythrozyten rosa.

b) Schnellfärbung nach Giemsa mit der S. 105 unter c angegebenen Methode (5 Min. färben bei 2).

c) Nach Loeffler: Wie Trypanosomen, s. S. 106.

Zur Färbung in Schnitten nach Levaditi (Hoffmann, D. m. W. 1906 Nr. 22).

1. Höchstens 2 mm dicke Organscheiben 24 Std. fixieren in Formalin 1 + Aq. 9.
2. In 96%igen Alkohol ca. 15 Std.

3. In Aq. dest., bis Scheiben sinken. Aq. mehrmals wechseln.
4. Einhängen der Scheiben an Zwirnsfäden in frische Mischung von 90 ccm 1,5%iger AgNO_3 -Lösung + 10 ccm reinsten Pyridins in dunkler Flasche mit Glasstopfen bei 37° 1—6 Tage.
5. Kurz abspülen in 10%igem Pyridin.
6. Übertragen in frische Mischung: 90 ccm frisch hergestellter 4%iger wässer. Pyrogallollösung + 10 ccm Aceton; davon 85 ccm + 15 ccm Pyridin puriss. In dunkler Flasche mit Glasstopfen 15 Stdn. bis 2 Tage. Zweckmässig vor Einlegen in Flasche Scheibe in Schälchen mit Lösung im Dunkeln abspülen.
7. Abspülen in Wasser, verdünntem, dann absol. Alkohol, Xylol, Einbetten in Paraffin, Schneiden und ohne weitere Färbung untersuchen. Spirochäten schwarz infolge Versilberung.

Färbung in Gehirnpräparaten s. Noguchi, M. m. W. 1913 S. 737.

Serodiagnostik der Syphilis:

Wassermannsche Reaktion.

Prinzip: Durch Erwärmen inaktiviertes Serum von Syphilitischen bindet in Berührung mit Auszügen aus syphilitischen Geweben (und Lipoid-Lösungen) die Komplemente normalen Meerschweinchenserums und verhindert sie dadurch, Lösung des Blutfarbstoffes in einer zugesetzten Mischung von Blutkörperchen und zu diesen passenden inaktivierten hämolytischen Serums herbeizuführen.

Erläuterung: Bestimmte Stoffe, die man allgemein als Antigene bezeichnet, wie z. B. Bakterien, Toxine, Blutkörperchen, Eiweissarten, erzeugen bei Einspritzung in den Körper geeigneter Tiere in deren Serum Stoffe, die insgesamt Antikörper heissen, nur auf das sie erzeugende Antigen, nicht auf andersartige Antigene wirken und ihre Wirkung in verschiedener Weise zeigen können (als Antitoxine, Hämolytine, Agglutinine usw.). Ebensolche Antikörper entstehen im Körper des Menschen oder der Tiere beim Überstehen einer natürlichen Infek-

tion, z. B. Agglutinin im Serum des typhuskranken Menschen (s. Widalsche Reaktion S. 83).

Durch $\frac{1}{2}$ stünd. Erwärmen auf 55° verlieren manche Antikörper ihre Wirksamkeit; sie erhalten sie aber wieder durch Zusatz von frischem Serum eines normalen Tieres. Im Serum von Kaninchen z. B., die mit Einspritzungen vom Hammelblutkörperchen (= Antigen) behandelt sind, entstehen als Antikörper Hämolysine, so dass das Serum solcher Kaninchen, auch in weitgehender Verdünnung, Hammelblutkörperchen unter Freiwerden des Blutfarbstoffes löst. Erwärmt man das Kaninchenserum $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° , so löst es die Hammelblutkörperchen nicht mehr, es ist inaktiv geworden. Setzt man aber zu der Mischung von Hammelblutkörperchen und erwärmtem Kaninchenserum eine kleine Menge frischen Serums eines normalen Tieres, am besten eines Meerschweinchens, hinzu, so tritt wieder Auflösung der Blutkörperchen ein.

Man nennt die durch Erwärmen inaktivierten Antikörper im Serum der vorbehandelten Tiere (im vorstehenden Falle also das inaktivierte Serum des mit Hammelblutkörperchen vorbehandelten Kaninchens) **A m b o z e p t o r e n**, das normale Meerschweinchenserum, dessen Zusatz die Ambozeptoren zur Wirkung kommen lässt, **K o m p l e m e n t**. Die Mischung von Hammelblutkörperchen + Ambozeptor + Komplement im vorstehenden Beispiel bezeichnet man als ein **h ä m o l y t i s c h e s S y s t e m**; das Zusetzen von Ambozeptor zu den Hammelblutkörperchen heisst man **S e n s i b i l i s i e r e n** der Blutkörperchen.

Wenn ein Antigen mit einem zugehörigen inaktivierten Antikörper (Ambozeptor) gemischt und dazu Komplement gegeben wird, so gehen die drei Substanzen eine feste Verbindung ein: das Komplement bleibt nicht frei (disponibel), sondern wird gebunden (fixiert). Werden also z. B. Typhusbazillen mit inaktiviertem Serum eines durch Injektionen von Typhusbazillen vorbehandelten Tieres zusammengebracht und ferner mit frischem Meerschweinchenserum als Komplement versetzt, so ist nach einigem Stehen des Gemisches das Komplement gebunden; es tritt daher, wenn nun dem Gemisch nachträglich noch Hammelblutkörperchen + zugehörigem Hammelblutambozeptor (d. h. also inaktiviertes Serum eines mit Hammelblut vorbehandelten Kaninchens) = sensibilisierte Hammelblutkörperchen hinzugefügt werden, **keine** Lösung der Blutkörperchen ein, weil eben das dazu nötige Komple-

ment schon bei der Bindung zwischen den Typhusbazillen und dem inaktivierten Typhusserum Verwendung gefunden hat. Mischt man dagegen Typhusbaz. + inaktiviertes Choleraserum (erwärmtes Serum eines mit Cholera vibrionen vorbehandelten Tieres) + Komplement miteinander und fügt nach einigem Stehen sensibilisierte Hammelblutkörperchen dazu, so tritt Lösung der Blutkörperchen ein, weil Typhusbazillen und Choleraserum nicht zu einander gehören, keine Verbindung eingehen und daher auch das Komplement für die Blutkörperchenlösung freilassen.

Es erhellt daraus, dass die Versuchsanordnung, selbstverständlich bei genauester Innehaltung bestimmter quantitativer Mischungsverhältnisse, brauchbar ist, um nachzuweisen, ob zu einem bekannten Antigen ein unbekanntes Serum als Ambozeptor passt oder nicht und umgekehrt. Tritt Lösung der Blutkörperchen nicht ein, so gehören Antigen und Serum zu einander, im anderen Falle nicht. Bringt man Extrakt eines syphilitischen Organes (Antigen) zusammen mit dem durch Erwärmen inaktivierten Serum eines Menschen, fügt Komplement und nach einiger Zeit sensibilisierte Hammelblutkörperchen hinzu, so tritt Lösung der Blutkörperchen nicht ein, wenn der Mensch mit Syphilis infiziert ist, also Syphilisantikörper im Serum hat; ist er nicht infiziert, erfolgt Lösung.

A u s f ü h r u n g: Erforderlich sind:

1. Als Antigen wässriger oder alkoholischer Auszug aus fötaler luetischer Leber. Für Zwecke der Praxis kann auch alkohol. Auszug aus normalen Organen (z. B. Meerschweinchenherz, normaler Menschenleber) verwendet werden. (Zu je 1 g zerkleinerten Organs 50 ccm 96%igen Alkohols, bei ca. 60° 1—2 Tage unter öfterem Schütteln ausziehen lassen, filtrieren.) Stets jedes Serum mit mehreren Extrakten zu untersuchen, wobei es mit allen die Reaktion geben muss, wenn Syphilis diagnostiziert werden soll. Anzuwendende Mengen des Antigens durch Versuche mit sicher luetischen Seris ausprobieren.
2. Die zu untersuchende inaktivierte seröse Körperflüssigkeit (Blutserum, Lumbal-, Aszitesflüss. usw.). Erforderliche Menge 2—3 ccm. Die Inaktivierung durch Erhitzen auf 55° (im Brutschrank oder Wasserbad) für $\frac{1}{2}$ —1 Std. muss möglichst bald

nach der Gewinnung ausgeführt werden, insbesondere soll Blutserum sofort nach der Gerinnung vom Blutkuchen getrennt und inaktiviert werden. Steril und kühl aufbewahrt halten sich die inaktivierten Flüssigkeiten mehrere Tage geeignet für die Reaktion. Liquor cerebrospinalis braucht nicht inaktiviert zu werden, weil er komplementfrei ist.

3. Als Komplement frisches, nicht erhitztes, blutkörperchenfreies (zentrifugiertes) Serum von normalen Meerschweinchen (Methode der Blutentnahme s. S. 122). Das Serum bleibt nur einen Tag wirksam. Es wird in 10facher Verdünnung mit 0,85%iger NaCl-Lösung verwendet.
4. Eine Aufschwemmung von ausgewaschenen Hammelblutkörperchen. Frisches defibriertes Hammelblut wird zentrifugiert, nachdem der Füllungsgrad des Zentrifugenglases mit Fettstift bezeichnet worden ist. Dann wird das Serum abgesaugt und unter Umschütteln durch 0,85%ige Kochsalzlösung ersetzt. Nach erneutem Zentrifugieren wird die Kochsalzlösung wieder abgesaugt und durch neue ersetzt und dies Verfahren nochmals wiederholt. Schliesslich ist Kochsalzlösung bis zur Marke aufzufüllen. Zum Versuch werden 5 Teile dieser konzentrierten Aufschwemmung mit 95 Teilen 0,85%iger Kochsalzlösung gemischt.
5. Hämolytischer Ambozeptor in Gestalt von Serum eines mit Hammelblutkörperchen vorbehandelten Kaninchens. Von der (unter 4 angegebenen, besser einer 25—50%igen Aufschwemmung von gewaschenen Hammelblutkörperchen werden einem Kaninchen 5 ccm in die Ohrvene (s. S. 120), 8 und 14 Tage später nochmals je 4 ccm eingespritzt. 8 Tage nach der letzten Injektion wird dem Tiere etwas Blut zur Probe entnommen (S. 122). Ist es brauchbar, wird das Tier entblutet, sein Serum zentrifugiert und mit 0,25% Karbol versetzt. Es soll mindestens noch in Verdünnung 1:1000 wirksam sein. Dunkel und kühl aufbewahrt hält es sich lange Zeit, seine Stärke muss aber vor jedem Komplementbindungsversuch geprüft werden.
6. Serum eines Syphilitischen, das deutliche Wassermann'sche Reaktion gibt.

7. Serum eines Gesunden, das keine Wassermann'sche Reaktion gibt.

In einem Vorversuch wird jedesmal zunächst der Titer des hämolytischen Systems festgestellt. Die früher schon erprobte, eine etwas grössere und kleinere Menge des Serums 5) in je 0,5 ccm 0,85%iger NaCl-Lösung werden mit 0,5 ccm Blutkörperchenaufschwemmung 4), 0,5 ccm einer Verdünnung 1:10 0,85%iger Kochsalzlösung des Serums 3) und 1 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung (damit das gleiche Volumen wie später im Hauptversuch hergestellt wird) gemischt und in den 37°-Brutschrank gestellt. Als Prüfungsdosis für den Hauptversuch wird dann das vierfache derjenigen geringsten Menge des Serums 5) genommen, von der die Blutkörperchen innerhalb 2 Std. bei 37° noch eben gelöst werden (d. h. so, dass das Röhrchen eine lackfarbene rote Flüssigkeit ohne Sediment enthält). An einer gleichzeitig angesetzten und gleich behandelten Mischung, die keinen hämolytischen Antiozeptor, sondern statt dessen 0,5 ccm 0,85%iger NaCl-Lösung mehr enthält, wird erprobt, ob die Hammelblutkörperchen nicht auch ohne Serum 5 schon sich lösen, was sie als unbrauchbar erweisen würde.

Zum Hauptversuch gehören nach Wassermann folgende Proben:

Röhrchen 1: a) 0,5 ccm der mit 0,85%iger NaCl-Lösung 5 fach verdünnten zu untersuchenden inaktivierten Flüssigkeit (2); b) 0,5 ccm Komplementverdünnung (3); c) die ausgeprobte Antigenmenge (1) zu 0,5 ccm mit 0,85%iger NaCl-Lösung verdünnt. (Probe auf die Wirksamkeit der zu untersuchenden Flüssigkeit.)

Röhrchen 2: a) 0,5 ccm eines mit 0,85%iger NaCl-Lösung verdünnten, sicher luetischen, inaktivierten Serums (5) statt der zu prüfenden Flüssigkeit; b) und c) wie bei Röhrchen 1. (Kontrolle für die Wirksamkeit des Antigens.)

Röhrchen 3: a) 0,5 ccm eines mit 0,85%iger NaCl-Lösung 5 fach verdünnten, sicher nicht luetischen, inaktivierten Serums (6) statt der zu prüfenden Flüssigkeit; b) und c) wie bei Röhrchen 1. (Kontrolle für die Brauchbarkeit des Antigens.)

Röhrchen 4: a) 0,5 ccm 0,85%iger NaCl-Lösung; b) wie bei Röhrchen 1. (Kontrolle, dass das Antigen allein die Blutkörperchenlösung nicht hemmt.)

Röhrchen 5: a) 1 ccm von a) wie bei Röhrchen 1; b) wie bei Röhrchen 1. (Kontrolle, dass die zu prüfende Flüssigkeit ohne Antigen die Blutkörperchenlösung nicht hemmt.)

Röhrchen 6: a) 1 ccm von a) wie bei Röhrchen 2; b) wie bei Röhrchen 1. (Kontrolle, dass luet. Serum ohne Antigen die Blutkörperchenlösung nicht hemmt.)

Röhrchen 7: a) 1 ccm von a) wie bei Röhrchen 3; b) wie bei Röhrchen 1. (Kontrolle, dass nichtluet. Serum ohne Antigen die Blutkörperchenlösung nicht hemmt.)

Die Röhrchen kommen 1 Std. in den Brutschrank bei 37°. Dann erhält jedes einen Zusatz von 0,5 ccm der Hammelblutkörperchenaufschwemmung (4) und dem Vierfachen der durch den Vorversuch ausgeprobten Titermenge des hämolytischen Ambozeptors (5), verdünnt auf 0,5 ccm mit 0,85%iger NaCl-Lösung. (Beide Zusatzflüssigkeiten sollen schon vorher gemischt und dann zusammen zugesetzt werden.) Nach gutem Durchmischen kommen die Röhrchen nochmals 2 Stdn. in den Brutschrank bei 37°. Dann wird das Ergebnis festgestellt, die Ablesung aber nach 24 stündiger Aufbewahrung im Eisschrank noch einmal vorgenommen.

In Röhrchen 2 müssen die Blutkörperchen stets ungelöst sein (Flüssigkeit ungefärbt, roter Bodensatz), in Röhrchen 3—7 stets gelöst (Flüssigkeit lackfarben rot, kein Bodensatz). Völliges Fehlen der Lösung in Röhrchen 1 beweist Lues, wenn nicht Lepra, Rekurrens, Malaria vorliegt. Völlige und besonders teilweise Lösung in Röhrchen 1 schliesst Lues nicht sicher aus. Bei Bestehen von Luesverdacht dann Wiederholung der Untersuchung nach einigen Wochen. Verminderung der Lösung nach dieser Zeit spricht bei nicht spezifisch behandelten Fällen für Lues. Umgekehrt macht sich spezifische Behandlung durch Abnahme und Verschwinden der Lösungshemmung bei Wiederholung der Untersuchung bemerkbar.

Empfehlenswert ist es, die Reaktion stets mit mehreren Antigenen (1) anzustellen.

Liquor cerebrospinalis kann unverdünnt und ohne Inaktivierung (s. oben) in Menge von 0,5 ccm angewendet werden.

Von Modifikationen ist besonders verbreitet die von M. Stern: Statt Meerschweinchenkomplement (3) wird Menschenkomplement verwendet, indem das zu

untersuchende (frische!) Serum nicht inaktiviert, sondern unerhitzt benutzt wird. Verdünnung und Kontrollen ähnlich wie bei der Wassermannprobe, nur Antigenmenge (1) weniger ($\frac{2}{5}$ und $\frac{1}{5}$ der für die Wassermannreaktion ausgetesteten) und Ambozeptor (5) mehr (statt 3—4 fach 10—12 fach die im Wassermannvorversuch erprobte Menge). Nicht anwendbar ist die Methode für Liquor cerebrospinalis, weil dieser kein Komplement enthält. Die Methode sollte nur mit der Wassermannprobe zusammen verwendet werden. Sind beide negativ (tritt also Blutkörperchenlösung ein), so ist Lues auszuschliessen. Positiver Stern allein dagegen beweist nicht Lues.

Die Stoffe für die Reaktionen sind erhältlich bei L. W. Gans-Oberursel a. T. und Merck-Darmstadt.

31. Rekurrensspirochäten.

Lebenduntersuchung wie Syphilisspirochäten, Windungen weniger tief. Färbung wie diese oder wie Malaria-Parasiten (S. 104 a), nicht nach Gram. Im Blut beim Anfall zahlreich. Ausser Anfall dicke Tropfen wie bei Malaria (S. 104) untersuchen. Züchtung in hoher Schicht in Aszitesflüss. mit Zusatz eines Stückes frischen sterilen Tierorgans möglich (Noguchi, M. m. W. 1912 Nr. 36) Zahn- und andere Spirochäten wachsen anaerob bei 37° in Pferdeserum 1 + Nähragar 2 bei Züchtung nach Methode S. 29 2 a; nach ca. 10 Tagen hauchartige Kolonien.

32. Hundswutkörperchen.

Nachweis der Negrischen Körperchen nach Lentz (C. B. Or. 44 S. 374):

1. 2—3 mm dicke Querschnitte vom Ammonshorn nach Methode S. 43 b fixieren, härten u. einbetten. Schnitte auf Objektträger antrocknen (S. 41 Nr. 3), dann 1 Min. in Alkohol absol.
2. Färben 1 Min. mit Eosin extra B Höchst 0,5, 60%iger Alkohol 100,0.
3. Abspülen in Wasser.
4. Färben 1 Min. in Loefflers Methylenblau (S. 45).
5. Abspülen in Wasser, Trocknen mit Fliesspapier.
6. Differenzieren in Alkohol absolutiss. 30,0 + 5 Tropfen 1%iger Lösung von NaOH in Alkohol absolutiss. bis zur blassrosa Färbung.

7. Differenzieren in Alkohol absol. 30,0 + 1 Tropfen 50%iger Essigsäure, bis Ganglienzellenzüge nur noch als schwachblaue Linien erscheinen.

8. Kurz abspülen in Alkohol absol., Xylol usw.

Negrische Körperchen karmoisinrot, ihre Innenkörperchen blau, Ganglienzellen nebst Kernen helblau, ihre Kernkörperchen schwarzblau, Erythrozyten zinnoberrot.

Man kann auch aus einem frischen Ammonshornquerschnitt die Ganglienzellschicht mit Skalpell herausheben, zwischen 2 Objekträgern zerquetschen, die Ausstriche noch feucht einige Min. in Methylalkohol fixieren, in Alkohol absol. abspülen und färben wie vor.

S. ferner Stutzer, Zschr. f. Hyg. 69, S. 25.

VII.

Entnahme von Untersuchungsmaterial aus dem Körper.

Körperflüssigkeiten, Sekrete, Exkrete usw., die bakterioskopisch untersucht werden sollen, sind so zu entnehmen und aufzubewahren, dass sie erstens nicht durch Keime der Aussenwelt verunreinigt werden, zweitens nicht mit Desinfektionsmitteln in Berührung kommen.

Die öffentlichen bakteriologischen Untersuchungsämter in Deutschland haben für Einlieferungen an sie besondere, verschiedenartige Versandpackungen, die den Ärzten auf Wunsch kostenlos zugeschickt werden; zumeist haben auch die Apotheken Niederlagen für kostenfreien Bezug.

1. Blut. Kleine Quantitäten werden aus dem Ohrläppchen oder der Vorderarmbeugeseite, auch wohl der Fingerstreckseite entnommen (Fingerkuppe ist weniger zu empfehlen, da sie schwer zu säubern ist und die zur Blutentnahme notwendige Verletzung Belästigung schafft). Abwaschen der Haut mit Wasser und Seife (oder Seifenspiritus), dann mit Alkohol, Äther und Watte. Gut reiben, damit die Hautstelle blutreich wird. Trocken werden lassen, dann Einstechen mit steriler Nadel oder Lanzette.

Auffangen des Blutes in sterilen Röhrchen oder Schälchen, in denen man, will man das Serum gewinnen,

den Blutkuchen bald nach der Gerinnung mit der Platin-
nadel von der Wandung löst. Oder mit dem Blut Watte-
bäuschchen tränken, das in kleinem Zentrifugenröhrchen
an einer im Korkstopfen durchbohrenden Nadel befestigt
ist. Zieht man später Nadel durch Kork hoch hinauf und
zentrifugiert, so erhält man in Kuppe genügend Serum
für Agglutinationsprobe. Oder Blut in Ka-
pillaren aufsteigen lassen (etwa 6—8 cm Länge, 2 mm
lichte Weite, abgeschmolzene Enden abbrechen, nach Ein-
tritt des Blutes mit Siegelack oder Wachs verschliessen).
Serumabscheidung kann man fördern durch Zentrifugieren.
Zur Entnahme des Serums bricht man die Kapillaren an
der Grenze von Serum und Blutkuchen durch (Strich
mit dem Glaserstahl) und berührt die freie Öffnung mit
der Spitze einer mit Hundertstel-Teilung versehenen 1 ccm-
Pipette, in die das Serum von selbst hineinsteigt. In der
Pipette sammelt man das Serum aus mehreren Kapillaren,
bläst es dann in ein Röhrchen aus und verdünnt beliebig.
— Hautwunde mit steriler Watte und Heftpflaster be-
decken!

Grössere Mengen Blut entnimmt man
entweder durch Schröpfkopf am Rücken (Rei-
nigen der Haut wie beschrieben, Ansetzen eines trockenen
sterilen, über der Flamme erwärmten Schröpfkopfs; In-
zision mit sterilem Schnepfer, Schröpfkopf wieder an-
setzen, nach Abnahme mit sterilem Wattebausch schliessen)
oder aus der Vena mediana (Reinigen der Haut
wie beschrieben, Esmarchschen Schlauch am Oberarm
anlegen, so dass Venen anschwellen, aber Radialpuls noch
deutlich fühlbar ist, sterilisierte Spritze in die Vena
mediana parallel zu Arm einstechen; das Blut steigt
bei richtiger Lage der Spritze von selbst in sie ein).
Aussaat des Blutes sofort (noch flüssig) in verflüss. 42°
warmen Agar (s. S. 96 Nr. 20). Soll das Blut nicht auf
Bakteriengehalt untersucht werden, sondern als Nährboden
dienen, wird 1 Blut zu 3—10 Agar oder Bouillon zu-
gesetzt (s. auch S. 72 und 99 sub 2). Plazentar-
blut erhält man durch Auffangen aus dem desinfizierten
Ende der Nabelschnur unter Ausdrücken der Plazenta.

Blutentnahme an der Leiche am besten aus
dem Herzen mit weit- und kurzkanüliger Spritze nach
vorherigem Verschorfen der Oberfläche mit glühendem
Messer an der Einstichstelle.

Um Blutpräparate zur mikroskopischen Untersuchung herzustellen, taucht man in das aus der Stichwunde austretende Bluttröpfchen eine Kante eines in der Flamme sterilisierten und wieder erkalteten Deckglases, setzt dieses in spitzem Winkel mit der Kante derart quer an das Ende eines Objektträgers, dass sich das Bluttröpfchen längs der ganzen Deckglaskante ausbreitet, und schiebt das Deckglas dann in einem Zuge nach der Richtung des stumpfen Winkels über die ganze Länge des Objektträgers hin. Es entsteht so ein gleichmässiger, dünner Blutausrich. Fixieren nach Trockenwerden in Alkohol. absol. allein oder + Äther $\bar{a}\bar{a}$ 10—15 Min., oder in Methylalkohol 2—3 Min., oder auch noch feucht mit Osmiumsäuredämpfen (s. S. 38; möglichst kurz, weil Färbbarkeit leidet; Abspülen in blasser KMnO_4 -Lösung danach). Fixieren in der Flamme schädigt die Form der roten Blutkörperchen. — Präparate aus dicken Blutstropfen s. S. 104.

2. Eiter. Gewinnen durch aseptische Inzision oder Punktion, Auffangen in sterilem Gefäss (Röhrchen oder Schälchen oder Kapillaren, wie Blut). Ausrichpräparate herstellen durch Aufbringen eines Tropfens auf einen Objektträger, Auflegen eines zweiten und Abziehen beider voneinander.

3. Rachensekret und -belag (Angina, Diphtherie). Betupfen der erkrankten Teile entweder mit einem am Ende eines Holzstäbchens oder Drahtes befestigten sterilen Wattebausch, mittelst der Platinöse oder mit einem am Ende raufgefeilten sterilen Glasstab. Man hält sich zweckmässig sterile Reagenzgläschen vorrätig, in denen die Stäbe oder Drähte durch den Wattestopfen oder im Korkstopfen des Reagenzglases festgehalten werden. Zum Herabdrücken der Zunge benutzt man zweckmässig Holzspatel (1000 Stück etwa 7 M.), die nach Gebrauch verbrannt werden. — Nasensekret entnimmt man unter Benutzung des Nasenspiegels ebenso oder durch Platinöse oder durch Kornzange mit sterilem Wattebausch. — Nasenrachenraumsekret entnimmt man mit Hilfe biegsamer (Kupfer-) Drähte, an deren Ende ein Wattebausch befestigt ist, vom Munde her. Der Draht wird in einem Reagenzglas steril bewahrt, vor Benutzung mit steriler Pinzette in die gewünschte Form gebogen, nach der Entnahme wieder zurückgebogen, damit er wieder in das Reagenzglas einzuführen ist.

4. Sputum. Auffangen möglichst speichelfrei in sterilen (oder wenigstens ganz sauberen) Gefäßen, die steriles Wasser, aber kein Desinfiziens enthalten dürfen.

5. Fäzes. Auffangen in sauberem Gefäß ohne Desinfiziens. Stuhlröhrchen mit Blechlöffelchen in Korkstopfen käuflich. Event. direkt aus dem Anus mit geeignetem sterilen Instrument entnehmen. Falls Schleimflocken zur Untersuchung erwünscht (Cholera, Ruhr), in Schale mit sterilem Wasser den Stuhl zerrühren.

6. Urin. Nach Reinigung der Urethramündung ersten Strahl fortlaufen lassen, den Rest in sterilem Kolben auffangen. Auch Entnahme mittelst sterilen Katheters. Zur Untersuchung ev. zentrifugieren.

7. Ex- und Transsudate. Zu entnehmen durch Punktion mit steriler Spritze oder Troikart nach Desinfektion der Haut; Zerebrospinalflüssigkeit durch Lumbalpunktion. Zur Untersuchung ev. zentrifugieren. — Nährböden daraus s. S. 17 u. S. 99 sub 1.

VIII.

Tier-Impfung und Sektion.

Impfung.

Wenn Haare oder Federn an der für die Impfung ausgesuchten Stelle stören, rasiere od. schneide man sie fort. Haare können auch durch Calciumsulfhydrat (hergestellt durch Sättigen von Kalkmilch mit H_2S) entfernt werden, das auf die Haut gebracht und nach einigen Minuten mit Watte abgewischt wird. Reinigen der Haut durch Abseifen, dann mit Alkohol, dann mit Sublimat, dann mit sterilem Wasser kann erfolgen.

1. **Kutane Impfung.** Man ritzt die Haut des Tieres leicht ein und bringt mit der Platinöse das Impfmateriale in die Wunde. Oder man rasiert eine Hautstelle, reibt sie ev. noch mit Sandpapier ab und das Infektionsmateriale kräftig darauf ein. Oder man sticht die Spritzennadel in die Unterhaut, schiebt sie vorsichtig in die Kutis empor und spritzt dann ein (wenig!).

2. Subkutane Impfung:

a) In eine Hauttasche. Man hebt mit der Pinzette eine Hautfalte auf, schneidet mit steriler Schere eine kleine Öffnung hinein und bohrt mit steriler Lanzennadel oder einer Scherenhälfte eine kleine Tasche ins Unterhautbindegewebe. In die Tasche führt man darauf das Infektionsmaterial mit der Platinöse tief ein.

Als Impfstelle wählt man bei Ratten und Mäusen vorzugsweise die Gegend über der Schwanzwurzel; die Tiere werden im Nacken mit einer Kornzange gefasst, am Schwanz mit der Hand gehalten. Bei Meerschweinchen nimmt man als Infektionsstelle gern die Bauch- oder Brustseite, bei Kaninchen die Innenseite des Ohres, die man mit der Lanzennadel ein Stückchen weit einritzt und unterminiert. Vögel infiziert man mit Vorliebe in den Brustmuskel.

b) Mit der Spritze. Zur subkutanen Injektion bedient man sich verschiedener Arten von Spritzen; den älteren von Pravaz (Modifikation mit verstellbarem Asbeststempel!), Koch, Stroschein, Loeffler (mit einem leicht selbst zu fertigenden Gummistempel) überlegen ist die Rekordspritze mit Metallstempel. Die Spritzen müssen vor und nach Gebrauch im Dampfstrom oder mit Alkohol-Äther sterilisiert werden. Eine vorherige Desinfektion der Einstichstelle ist unnötig. Impfung an denselben Stellen wie bei a) angegeben (Kaninchen unter die Bauchhaut).

3. Intraperitoneale Impfung. Aufheben einer Hautfalte in der Mitte oder an der Seite des Bauches, Einstechen in die Unterhaut, dann langsames Einbohren der Kanüle durch die Muskulatur in die Bauchhöhle. Kanüle soll stumpf sein, um Darmverletzungen zu vermeiden. — Entnahme von Bauchhöhleninhalt: Kleinen Schnitt durch Bauchhaut mit Schere machen. Durch freiliegende Muskulatur ein durch Ausziehen einer Glasröhre hergestelltes Kapillarröhrchen einstossen; in die Kapillare steigt etwas Flüssigkeit auf, die man durch Erwärmen der Kapillare in der Hand unter Verschluss der oberen Öffnung mit dem Finger oder durch Ausblasen mit Gummiballon oder mit dem Munde (auch ohne die Kapillare mit den Lippen zu berühren!) wieder entleeren kann.

4. Intramuskuläre, intrapleurale etc. Impfungen ähnlich wie die vorigen.

5. Zur Impfung in die vordere Augenkammer durchtrennt man die kokainisierte Kornea oben nahe dem Skleralrande (wie bei der Iridektomie) und schiebt das Infektionsmaterial ein. Auge danach für einige Zeit verbinden. Auch Injektion mit der Spritze. — Impfung in die kokainisierte Kornea (z. B. mit Vakzine) durch ganz flachen tangentialen Einstich, wobei Pinzette durch Fassen einer Bindehautfalte Auge fixiert.

6. Injektion in die Blutbahn: Freilegen einer beliebigen, leicht erreichbaren Vene (z. B. Jugularis externa), Einführen einer feinen, spitzen Kanüle zentripetal in diese und langsame Injektion. Achtung, dass keine Luft mit injiziert wird (Tod an Luftembolie!). — Bei Kaninchen wählt man gewöhnlich eine Ohrvene zur Injektion, und zwar am besten die ziemlich fest auf dem Knorpel liegende sog. Randvene an der äusseren Kante des Ohres. Erweiterung der Vene durch Reiben des Ohres mit alkohol- oder xylogetränktem Wattebausch und Zusammendrücken der Ohrwurzel zu erreichen. Schwillt das umgebende Gewebe bei der Injektion auf, so liegt die Kanülenspitze nicht in der Vene! — Zu intrakardialer Impfung Einstechen sehr feiner Spritzenkanüle an Ort des Herzspitzenstosses und, wenn Blut heraustropft, Aufsetzen der gefüllten Spritze und Einspritzen.

7. Zu Injektionen in den Magen steckt man den Tieren einen Holzknebel zwischen die Vorderzähne, durch dessen Bohrung man einen elastischen Katheter bis in den Magen hindurchschiebt. Durch diesen werden dann die Infektionsmaterialien etc. den Tieren in den Magen gespritzt. Grösseren Tieren kann man auch so tief in den Rachen, dass sie sie verschlucken müssen, Kartoffelstückchen stecken, die man ausgehöhlt, mit Infektionsmaterial gefüllt und wieder mit einem Deckelchen aus Kartoffelsubstanz geschlossen hat (desgl. infizierte Brotkügelchen!).

8. Impfung durch Fütterung. Das zu verfütternde Material wird, wenn es selbst kein Nahrungsmittel ist, mit einem solchen gemischt gereicht (z. B. Kulturen auf Brot gestrichen oder geträufelt).

9. Infektion von den Luftwegen aus. Inhalation verstäubter oder versprengter Keime in besonderen dicht schliessenden Inhalationsapparaten. Oder Injektion in die Trachea durch Einstechen der Spritzennadel zwischen zwei Trachealringen.

Dosieren des Impfmaterials:

Zur Injektion bestimmter Impfstoffmengen in den Körper verfährt man wie folgt:

1. **Flüssige Impfstoffe** (wenn nötig Verdünnung abgemessener Mengen mit bestimmten Quanten steriler Bouillon oder 0,85%iger NaCl-Lösung vorher) injiziert man mit Hilfe kalibrierter Spritzen in der gewünschten Menge.

2. **Nichtflüssige Impfstoffe.** Zur Impfstoffentnahme dient eine Platinöse an einem kurzen Platindraht, dessen anderes Ende sich an einem Stab durch eine Schraubvorrichtung (wie bei Taschenbleistiften) befestigen lässt. Der Draht wird in ein Stück Kork gesteckt und auf der Präzisionswaage gewogen, dann mit Impfmateriale beladen und schnell wieder gewogen. Die Differenz beider Wägungen gibt das Gewicht des Impfmaterials. Nun spült man die Öse in einem Röhrchen mit soviel steriler Flüssigkeit ab, dass eine bestimmte, leicht abmessbare Menge davon (z. B. 0,5 ccm) die zu verimpfende Materialmenge (z. B. 0,2 mg) enthält, mischt durch Verreiben und Umschütteln gut und injiziert. Bei Verwendung der gleichen Platinöse, gleichen Impfmateriales und stets ungefähr gleicher Füllung der Platinöse bekommt man so gleichmässige Werte, dass man von der Wägung Abstand nehmen kann. Man fertige sich Ösen, die etwa 2 mg 24 stündigen Agarkulturrasens von Typhusbaz. oder Cholerav. bei vollständiger Füllung aufnehmen, — sog. **Normalösen**; Massstäbe zur Herstellung gleichgrosser Ösen (Czaplewski) käuflich.

Bestimmung der Bakterienzahl im Impfmateriale. Man entnehme das Impfmateriale wie vorher beschrieben und säe eine gleiche Menge der Aufschwemmung, wie injiziert wird, in Agar oder Gelatine zur Platte aus. Ev. verdünne man vorher nochmals mit steriler Bouillon in bestimmter Menge und säe einen aliquoten Teil der Verdünnung aus. Nach Entwicklung zählen wie bei Wasserplatten (s. S. 126). Auf dieselbe Weise Bestimmung der Bakterienzahl in allerlei Materialien.

Bezeichnung und Aufbewahrung der Versuchstiere. Mäuse und Ratten in hohe Gläser (Einmachgläser) mit beschwertem Drahtnetzdeckel setzen, die Gläser etikettieren. Meerschweinchen in Steintöpfen mit Drahtdeckel halten, nach Gewicht, Geschlecht, Färbung beschreiben. (Man hat besondere Gummistempel mit Tier-

bildern zur Einzeichnung der Farben.) Kaninchen zur Kennzeichnung die Ohren mit verschiedenen Anilinfarben tingieren oder, wie ev. auch Meerschweinchen, mit bezifferten Metallmarken, die durch das Ohr gestochen werden, Vögel mit Blechringen an den Füßen bezeichnen. Infizierte Tiere in besondere Käfige setzen, möglichst jedes für sich!

Temperaturmessungen infizierter Tiere mittelst Einführung eines Maximalthermometers mit kleinem Hg-Gefäss in anum. Normale Temperaturen sind für Hund 37,5 bis 39,9° C, Kaninchen 38,3—39,9°, Meerschweinchen 37,3 bis 39,5 (meist ca. 38°), Taube 41,0—42,5°, Huhn 41,0 bis 42,5°.

Immunisierung von Tieren durch Injektion steigender Dosen von Bakteriengiften, abgetöteten oder lebenden Bakterien, wechselnd nach der Art der Bakterien und dem verfolgten Zweck. Allgemein verfährt man so, dass die erste Injektion subkutan, intravenös oder intraperitoneal mit einer unter der Dosis letalis minima belegenen Kultur- oder Giftmenge erfolgt. Man beobachtet genau Änderungen im Befinden des Tieres und lässt die zweite Injektion mit etwas grösserer Gift- oder Kulturmenge erst folgen, wenn es völlig wiederhergestellt ist, namentlich auch an Gewicht zu- oder wenigstens nicht abgenommen hat. Ebenso geht man bei den folgenden Injektionen vor. — **Immunisierung zur Gewinnung von Serum für Serumreaktionen** durch Injektionen der durch Erwärmen über 1 Std. auf 60—65° abgetöteten Typhus-, Cholera- usw. Kulturen. Bei Kaninchen genügen meist schon 3—5 Einspritzungen bei intravenöser Applikation in Abständen von je 7 Tagen und mit Steigung von 1 zu 10 Ösen abgetöt. Agarkultur. Frühestens 7 Tage nach der letzten Injektion **Blutentnahme** aus einem Blutgefäss des Ohres, der Jugularis oder Karotis: Gefäss aseptisch frei legen, oben und unten lose Unterbindungsschlingen anlegen, Eröffnen durch Schlitzschnitt in der Längsachse, Unterbindungsschlingen nach genügender Blutung (Auffangen in sterilem Gefäss) zuziehen. Entnahme auch durch Herzstich (siehe S. 120 unter 7). Um möglichst viel Blut zu gewinnen, Tier tief chloroformieren, Brusthöhle schnell öffnen, Lungen entfernen und Herz durchschneiden, Blut aus Brustkorb mit weiter Pipette aufsaugen. Bei grösseren Tieren ohne Hautschnitt Jugularis gegen Wirbelsäule andrücken und distal davon mit Troikart oder Spritze

einstechen. Blutentnahme von Vögeln s. S. 72 unter Nr. 8. Blut im Eisschrank bewahren, nach einiger Zeit Blutkuchen von der Wand mit Platinnadel ablösen, nach 24 bis 48 Std. Serum steril abpipettieren, ev. zentrifugieren, damit es frei von Blutkörperchen wird; zur Konservierung ev. 0,5% Phenol zusetzen.

Sektion.

Die Sektion soll sobald als möglich nach dem Tode erfolgen. Muss sie aufgeschoben werden, so halte man das Kadaver durch Aufbewahrung in kühlem Raume frisch.

Das zu sezierende Tier soll vor der Sektion wemöglich nicht, bei der Sektion keinesfalls (ausgenommen grosse Tiere) mit den Händen, sondern nur mit Instrumenten berührt werden. Die bei der Ausführung der Sektion zu benutzenden Instrumente werden bereit gelegt. Alsdann wird das Tier aufgespannt mit der Bauchseite nach oben und mit weit vom Rumpf abgezogenen Extremitäten. Die Pfoten, Füsse oder Flügel werden mit Stecknadeln, Nägeln oder Pfriemen auf dem Sezierbrett befestigt oder auch mit Fadenschlingen an eingeschraubten Haken auf dem Brett angebunden. Nun befeuchtet man die Bauch- und Brusthaut mit Sublimatlösung tüchtig, um das Umherspritzen der Haare beim Durchtrennen der Haut zu vermeiden, oder mit Kreselseifenlösung, durch deren Geruch Fliegen ferngehalten werden, oder mit Xylol, um auch etwaiges Ungeziefer zu töten, oder man rasiert von der eingeseiften Haut die Haare ab; auch Abbrennen der Haare vor dem Anfeuchten ist zweckmässig. Vögel rupft man an Brust und Bauch und feuchtet die Haut darauf an. Dann wird die Haut vom Hals bis zur Symphyse mit sterilisierten (siehe S. 6 und 7 sub 1, 2, 3) Instrumenten in der Mittellinie durchtrennt und nach beiden Seiten bis auf die Innenseite der Beine hin abpräpariert und zurückgeschlagen. Dabei subkutane Lymphdrüsen zu beachten! Abbrennen der freigelegten Muskulatur zur Beseitigung darauf gefallener Haare. Nunmehr durchtrennt man mit frisch sterilisierten Instrumenten eine hochgehobene Falte der Bauchmuskulatur unterhalb des Proc. xiphoideus, schlitzt die Bauchmuskulatur mit der nach oben gekehrten Messerschneide in der Mittellinie oder noch besser mehr nach der rechten Körperseite des Tieres zu auf, löst sie von den Rippenbögen und schlägt die Muskellappen nach beiden

Seiten auseinander, worauf man sie zweckmässig mit Stecknadeln, über den zurückgeklappten Hautlappen befestigt. Den nach der linken Seite des Tieres fallenden Muskellappen macht man deshalb grösser als den rechten, damit die später hervorzuziehende Milz, dieses bei vielen Infektionskrankheiten so wichtige Organ, auf ihm ruhen kann und durch ihn von Verunreinigungen von der Haut her geschützt ist. Bei Ratten und Mäusen zerreisst man die Bauchmuskulatur mit zwei Pinzetten anstatt sie zu durchschneiden. Nach Besichtigung der Organe der Bauchhöhle und Anlage der gewünschten Kulturen aus ihnen öffnet man die Brusthöhle, indem man von unten her anfangend die Rippen ein Stück seitwärts vom Sternum beiderseits mit steriler Schere durchschneidet; dann zieht man den Processus xiphoideus in die Höhe und klappt an ihm nach Ablösung des Diaphragma das Sternum mit den daran haftenden Rippenpartien nach oben, so dass die Organe der Brusthöhle freiliegen.

Man brenne jedesmal die Instrumente sorgfältig ab oder wechsele sie, sobald man glaubt, dass sie mit irgend etwas nicht gewolltem in Berührung gekommen sind. Lege nie gebrauchte Instrumente anderswohin, als an die dafür bestimmte Stelle, oder ohne sie vorher abzubrennen aus der Hand!

Organe, aus denen man Kulturen anlegen will (vergl. auch S. 38 Abs. 1), ritzt man mit einem spitzen sterilen Instrument an; mit der Platinöse geht man dann durch den Ritz ins Innere des Organes ein und sät die an der Nadel haftenden Organteilchen sofort aus. Muss man annehmen, dass die Oberfläche des Organs verunreinigt worden ist, so verschorfe man sie erst durch Auflegen einer heissen Messerklinge und verfähre dann wie angegeben. Will man grössere Stückchen aussäen, so schneidet man sie mit steriler Schere ab und nimmt sie mit noch heisser Platinöse, an der sie leichter haften, auf. Harte Knoten (z. B. in tuberkulösen Organen) schneidet man mit steriler Schere heraus, zerquetscht sie zwischen zwei sterilen (S. 7 sub 1) Objektträgern oder Skalpellen oder mit einer breiten Pinzette und bringt Stückchen auf Nährböden und Deckgläschen.

Sollen die Aussaaten erst später erfolgen, so schneidet man Stücke der Organe steril ab und legt sie in sterile Doppelschälchen (jedes Organ für sich!).

Stets bakterienhaltige Organe, wie der Darm, dürfen erst zu allerletzt, nachdem für Aussaaten aus den andern Organen Sorge getragen worden ist, geöffnet werden.

Man beachte bei der Sektion stets den Zustand der Impfstelle!

Zur Herstellung mikroskopischer Präparate reißt man mit der Pinzette Gewebstückchen ab, verreibt sie auf dem Deckglase und färbt dann (s. S. 37 ff.).

Konservierung von Gewebstücken zur Untersuchung in Schnitten s. S. 40 ff.

Nach Beendigung der Untersuchung wird das Kadaver in einem Ofen (Kesselfeuerung) verbrannt oder in Pergamentpapier eingehüllt vergraben oder in ein Gefäß mit konzentr. H_2SO_4 geworfen, worin es sich auflöst, oder im Dampf je nach Art der Infektionskeime 1—4 Std. gekocht und dem Abdecker übergeben; das Sezierbrett wird mit 1—2⁰/₀₀ igem Sublimat + 3⁰/₀ HCl abgewaschen; die Pfriemen etc. werden abgebrannt.

IX.

Bakteriologische Untersuchung von Wasser, Luft und Boden.

Wasseruntersuchung.

Entnahme der Wasserproben: Aus Pumpbrunnen fängt man das Wasser in sterilen Reagenzröhrchen (nach Abbrennen ihres Randes) im Anfange des Pumpens und nach längerem Abpumpen auf. Aus offenen Brunnen, Quellen, Wasserläufen etc. entnimmt man das Wasser in ein steriles Reagenzglas, wenn möglich von Hand oder durch Herablassen des Röhrchens an einer Schnur, oder man braucht besondere Apparate, die auch zur Entnahme des Wassers aus tieferen Wasserschichten dienen (z. B. von Esmarchs Kolben, dessen dichter durch ein gummibezogenes Bleigewicht erfolgender Verschluss in verschiedener Wassertiefe gelüftet werden kann, oder sog. Abschlaggläser nach Slavov: Reagenzgläser, deren in ein dünnes Röhrchen ausgezogener, um-

gebogener und, unter Luftverdünnung im Röhrchen, zugeschmolzener Hals nach Herablassen des Röhrchens in die gewünschte Tiefe durch ein an einer Schnur herabfallendes Gewicht zerschlagen wird, worauf Wasser in das Röhrchen tritt).

Aufbewahren der Proben bis zur Untersuchung: Kann man nicht sofort, was das Beste ist, das Wasser untersuchen, so bewahrt man die Proben in Eis verpackt.

Ansetzen der Proben zur Untersuchung: Will man nur die Arten der im Wasser vorhandenen Bakterien kennen lernen, so bringt man eine beliebige Menge des zu untersuchenden, unmittelbar vorher umgeschüttelten Wassers (nach dem zu erwartenden Keimreichtum 1 Öse bis 1 ccm) in verflüssigte Gelatine, mischt gut, macht ev. Verdünn. und giesst zur Platte aus.

Zur Bestimmung des Keimgehaltes eines Wassers verfährt man wie folgt: Mit steriler Pipette bringt man 0,5—1,0 ccm des Wassers in ein steriles, leeres Petrischälchen. (Man mache von jeder Wasserprobe stets mindestens zwei Aussaaten und zwar verschiedener Mengen!) Von sehr keimreichem Wasser (aus Ziehbrunnen, Flüssen, Sümpfen etc.) verdünnt man vor der Aussaat 1 ccm auf das 10—100 fache mit sterilem Wasser (also mit 9 bis 99 ccm!) und sät von der Verdünnung 0,1—1,0 ccm (gleich dem zehnten bis hundersten Teile des zu untersuchenden Wassers) aus. Zu dem Wasser in dem Schälchen fügt man etwa 10 ccm steriler, flüssiger, 30—40° warmer Nährgelatine aus einem Röhrchen nach Abbrennen seines Randes hinzu, vermischt durch Neigen und Drehen des Schälchens Gelatine und Wasser sorgfältig, lässt auf waagrechter Unterlage erstarren und bebrütet bei 20—22° 48 Std. lang. (Rezept der amtlich empfohlenen Gelatine zur Wasseruntersuchung s. S. 13 sub 2.) **Dann Zählung der Kolonien:** Man stellt das Schälchen auf eine schwarze Glasplatte mit eingeritzter Teilung in 1 qcm und $\frac{1}{9}$ qcm-grosse Flächen (Platte des Wolffhügelschen Apparates), zählt bei geringer Kolonienzahl mit der Lupe sämtliche Kolonien und berechnet daraus die Zahl der in 1 ccm Wasser enthaltenen, in Gelatine nach 48 Std. zur Entwicklung kommenden Keime. Bei dichter bewachsenen Platten zählt man die Kolonien in mindestens 10 qcm (oder, wenn qcm nicht mehr zählbar sind, in 20 $\frac{1}{9}$ qcm).

Aus den erhaltenen Zahlen zieht man den Durchschnitt für die Kol.-Zahl in 1, bzw. $\frac{1}{9}$ qcm, berechnet durch Multiplikation mit der Schälchenfläche in qcm oder $\frac{1}{9}$ qcm (Schälchenfläche = $r^2\pi$, r in cm ausgedrückt) die Zahl der gesamten Kolonien in dem Schälchen und, bei Aussaat von weniger als 1 ccm, daraus wieder die Zahl der in 1 ccm Wasser enthaltenen Keime. — Statt Quadrate kann man auch Sektoren zählen. Man benutzt dabei schwarze Glasplatten mit eingeritzter Sektorenteilung oder man stellt das Schälchen auf Fliesspapier, umzieht es mit Bleistift und teilt den entstandenen Kreis in eine Anzahl gleich grosser Sektoren; von diesen zählt man einige aus, um daraus die Zahl der Kolonien in dem Schälchen und in 1 ccm Wasser zu berechnen. Die Resultate werden dabei, weil die Schälchen stets gewölbten Boden haben, etwas genauer als bei Auszählung von Quadraten. — Sehr stark bewachsene Schälchen zählt man unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrösserung. Man berechnet mit Hilfe eines Objektivmikrometers die Grösse des Gesichtsfeldes bei Anwendung einer bestimmten Linsenkomposition und Tubuslänge. Dann zählt man die Kolonien in mindestens 10 Gesichtsfeldern, zieht den Durchschnitt und multipliziert ihn mit dem Faktor, der angibt, wie vielmal das Schälchen grösser ist als ein Gesichtsfeld. So weiss man, wie viele Kolonien im Schälchen, also aus der ausgesäten Wassermenge entwickelt sind, und berechnet daraus die Zahl der Keime in 1 ccm Wasser.

Geben verschiedene Aussaaten derselben Probe verschiedene Zahlen, so betrachte man die gefundene höchste als die richtige.

Fehlen Schälchen zur Kulturanlage, so bringt man die auszusäenden Wasserquanta in Röhrchen mit verflüss. Gelatine, stellt Rollröhrchen her (vgl. S. 22), bebrütet diese wie Schalen und zählt sie nach 48 Std. mit besonderem Zählapparate.

Vermischt man das Wasser im Röhrchen mit Gelatine und giesst dann zu Platten aus, so muss man ausser den Platten den im Röhrchen bleibenden Gelatinerest bebrüten und die Kolonien darin zählen.

Man füge bei der Angabe des Keimgehaltes eines Wassers stets eine Bemerkung bei, nach welcher Zeit die Zählung der Platten erfolgt ist (manche Keime entwickeln sich erst nach 3, 4 und mehr Tagen auf der Gelatine

zu sichtbaren Kolonien), bei welcher Temperatur das Wachstum erfolgte und welche Reaktion (Menge von Alkali über den Lackmusneutralpunkt hinaus), ev. auch, welche Zusammensetzung die Gelatine hatte. Am besten und stets für vergleichende Untersuchungen ist die Gel. S. 13 sub 2 zu benutzen und die Aussaat 48 Std. bei 20—22° zu züchten.

Zum Nachweis spärlicher Keime in grossen Wassermengen (und in sonstigen Flüssigkeiten) kann das Verfahren von Hesse (Zschr. f. Hyg. 69 S. 522, 70 S. 311) dienen: Durch eine sterilisierte Berkefeld-Filterkerze wird zunächst eine Aufschwemmung von geschlämmter, durch Kochen sterilisierter Kieselgur, filtriert, wobei sich die Kieselgur wie ein Mantel rings um die Kerze legt. Darauf wird das zu untersuchende Wasser (usw.) in beliebiger Menge hindurchfiltriert. Seine Bakterien bleiben in dem Kieselgurmantel hängen, lassen sich mit diesem und etwas Wasser durch einen kurzen Pumpenrückstoss ablösen und durch Aussaat auf passende Nährböden züchten. Geeignet z. B. für den Nachweis von Koli- und Typhusbaz. (Aussaat auf die Spezialnährböden S. 81 ff), Choleravibrionen u. a.

Untersuchung von Wasser auf Typhusbaz. und Cholera-vibr. s. im übrigen S. 86 u. 91.

Auch mit dem Verdunstungsverfahren kann man nicht zu grosse Wassermengen schnell zu Platten verarbeiten. 1—10 ccm Wasser werden auf die Nährbodenschicht in einer Petrischale aufgebracht. Dann wird im Faust-Heimischen oder einem ähnlichen Apparat keimfrei filtrierte, auf etwa 42° erwärmte Luft darüber geblasen, wobei die Schälchen zweckmässig ständig gedreht werden (Drehscheibe Germania von Dr. Ötker, Bielefeld, mit Uhrwerk). Das Wasser verdunstet in 15—60 Min. Bei geeignetem Nährboden z. B. zum Nachweis von Koli-keimen gut brauchbar. (Mar mann, C. B. I. Or. 50, Gins, V. M. V. 3 H. 6 S. 53.)

Bakteriennachweis im Wasser durch Einsaugen in oder Filtration durch Gipsplatten s. A. Müller, Arb. K. G. A. 47 S. 513.

Die Eijkmansche Probe zum Nachweis von Bact. coli (C. B. I. Or. 37 S. 742) beruht darauf, dass dieses abweichend von den meisten anderen Bakt. des Wassers noch bei 46° C sich vermehrt. 100, 50 oder weniger ccm

des Wassers werden mit $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{8}$ ihres Volumens der S. 15 angegebenen Traubenzucker - Peptonlösung versetzt in grossen Gärkölbchen (nach Art der S. 33 erwähnten) bei 46° C bebrütet. Trübung und Gasbildung zeigt Bact. coli an, das jedoch noch durch weitere Prüfung als solches zu identifizieren ist (S. 86). Bei negativem Ausfall ev. 50 ccm Wasser mit 50 ccm Bouillon 24 Std. bei 37° bebrüten und dann 1 ccm davon + 10fach verdünnter Traubenzucker-peptonlösung bei 46° in Gärkölbchen bebrüten. — Ein ähnliches Verfahren mit gleichzeitiger Farbenreaktion s. bei Bulir, Arch. f. Hyg. 62.

Luftuntersuchung.

1. Zur ungefähren Bestimmung der Keimarten in der Luft setzt man ihr Gelatine-, Agarplatten oder auch nach S. 18 Nr. 1 präparierte Kartoffeln längere oder kürzere Zeit offen aus. — S. auch Ficker, Arch. f. Hyg. 69 S. 48.

2. Aus grösseren Luftmengen die Keime quantitativ abzufangen erlaubt die Methode von Petri-Ficker (Zschr. f. Hyg. Bd. 22 S. 33). Mittelst einer Pumpe mit Zählwerk oder eines geeichten Gummiballons wird eine bestimmte Menge Luft durch zwei kleine Filter aus Glasbröckchen von 0,25—0,5 mm Korngrösse gesaugt, die in einer Glasröhre besonderer Form, mit Metall-Gazestückchen nach aussen und voneinander abgegrenzt, natürlich alles sterilisiert, sich befinden. Filtermaterial und Gaze wird dann mit Gel. oder Agar zu Platten verarbeitet. Bei fester Zusammenpressung der Filter hält schon das erste alle Keime zurück. Als Filtermaterial ist auch gepulverter Zucker zu verwenden, der sich dann bei der Aussaat in der Gelatine auflöst (ist aber schwer zu sterilisieren!).

3. Brauchbar ist auch l a n g s a m e s Durchsaugen der Luft durch 3 mit je 2 ccm sterilen Wassers gefüllte, wie Spritzflaschen mit Gummistopfen und Glasröhren versehene und miteinander verbundene Reagenzgläschen. Die Luft gibt ihre Keime an das Wasser ab. Dieses wird zum Schluss in bestimmten Mengen mit Nährgelatine zu Platten verarbeitet, — vergl. S. 126.

A u s d e r L u f t a b g e s e t z t e n S t a u b nimmt man mittelst steriler, mit Bouillon befeuchteter Schwämmchen auf. Man drückt diese in flüssiger Gelatine oder Agar aus und giesst daraus Platten. Will man auf Tuberkel-

bazillen untersuchen, so drückt man die Schwämmchen in Bouillon aus und spritzt diese in die Bauchhöhle von Meerschweinchen.

Bodenuntersuchung.

Mit der zu untersuchenden Bodenprobe füllt man ein Platinlöffelchen von bestimmtem Inhalt und sät in Platten oder Rollröhrchen aus. Im Boden viele anaerobe Bazillen; ev. speziell auf diese hin Kulturen anlegen. Oder man schüttelt ein bestimmtes Quantum Boden mit steriler 0,85%iger Kochsalzlösung kräftig und sät ein aliquotes Quantum dieser Lösung in Nährgelatine etc. aus. (Nicht quantitativ genau, denn selbst starkes Schütteln löst nicht alle Keime von den Bodenkörnchen ab.)

Zur Untersuchung tieferer Bodenschichten gräbt man entweder eine Grube, von deren Wänden man Erde abkratzt und aussät, oder man benutzt den Fränkelschen Bohrer. Dieser wird unter Umdrehungen in einer bestimmten Richtung in die Erde getrieben; hat er die gewünschte Tiefe erreicht, so wird er in umgekehrter Richtung einige Male gedreht, wodurch sich eine an der Spitze des Bohrers befindliche Kammer öffnet und mit Erde füllt. Dann wird er unter Drehen in der ersten Richtung wieder herausgezogen. Aussaat wie vorbeschrieben.

Zur Prüfung von Bodenproben auf infektiöse Mikroorganismen (Tetanus, malignes Ödem, Milzbrand) bringt man Versuchstieren etwas von dem Materiale selbst oder damit geschüttelte 0,85%ige NaCl-Lösung subkutan bei.

X.

Konservierungsmethoden für Präparate, Kulturen und Tierorgane.

A. Präparate.

Hängende Tropfen kann man lange Zeit konservieren, doch tritt dabei eventuell Weiterentwicklung und schliesslich Zerfall der Mikroorganismen ein. Will man

ein bestimmtes Entwicklungsstadium festhalten, so nimmt man das Deckglas ab, setzt zu dem Tropfen oder an eine Ecke des Deckglases ein Tröpfchen Formalin oder eine Spur 2%iger Osmiumsäure und bringt das Deckglas wieder in seine Lage.

Konservierung gefärbter Präparate s. S. 39 u. 43.

Schimmelpilze und Hefen bewahrt man ungefärbt am besten in Glyzeringelatine (Glyzerin 7, Aqua 6, Gelatine 1, 1%ige Karbolsäure 1, zusammen erwärmt und filtriert). Umranden mit Lack.

B. Kulturen.

Fortzucht von Kulturen und Aufbewahrung lebenden Bakterienmaterials s. S. 25.

Will man Kulturen, die ein bestimmtes charakteristisches Entwicklungsstadium aufzeigen (z. B. Gelatinestichkulturen von Choleravibrionen mit dem typischen „Luftbläschen“ an der Oberfläche) zu Demonstrationszwecken aufbewahren, so tötet man sie zunächst durch Formaldehyddämpfe ab.

Bei Kulturen in Röhrrchen bringt man dazu auf das untere Ende des Wattebausches einige Tropfen Formalin, setzt den Bausch wieder auf, verschliesst das Röhrrchen mit einer Gummikappe und lässt es mindestens 24 Stunden stehen. (Ist die Kultur in Gel. angelegt und hat diese verflüssigt, so lange stehen lassen, bis der Nährboden unter der Wirkung des Formaldehyd wieder fest geworden ist!) Dann kann man in verschiedener Weise verfahren, nämlich:

1. Man kann das Röhrrchen, so wie es ist, dauernd aufbewahren. Bedingung: Fester Schluss der Gummikappe, sonst trocknet die Kultur allmählich ein.

2. Man lüftet die Gummikappe, schiebt den Wattebausch etwas tiefer in das Röhrrchen, giesst eine dicke Schicht flüssig gemachten Paraffines auf ihn und lässt das Paraffin erstarren. Nachfüllen von Paraffin, wenn Sprünge darin auftreten.

3. Man entfernt die Gummikappe, legt auf die Rohrmündung ein diese genau verschliessendes rundes Deckgläschen, bepinselt Rohrmündung und Deckglas dick mit Glyzeringelatine (s. oben; statt Karbolsäure kann 1% Sublimat zugesetzt sein), lässt antrocknen und überzieht mit Lack.

4. Man erhitzt eine leicht schmelzende Metalllegierung (R o s e s ches Metall, fusible metal) mit dem Bunsenbrenner und lässt Tropfen davon aus $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ m Höhe auf eine Glasplatte fallen. Die aus solch einem Tropfen dabei entstehende flache Metallscheibe legt man nach Entfernung der Gummikappe auf die Röhrenmündung, drückt die überstehenden Ränder fest ans Glas und bringt sie durch langsames Drehen in der Bunsenflamme zum luftdichten Anlegen.

5. Man entfernt Gummikappe und Wattebausch und schmilzt das Röhren etwas unterhalb der Mündung zu. Vorsicht, dass der Nährboden beim Erhitzen des Glases nicht leidet!

NB. Röhren, die Kondenswasser enthalten, bewahre man stets in senkrechter Stellung auf; oder man giesst oder saugt mit Glaskapillare vor der Formalinbehandlung das Wasser vorsichtig ab.

Kulturen in Schälchen kann man auf folgende Weise konservieren:

1. Man bringt ein paar Tropfen Formalin auf den Deckel und lässt 24 Std. stehen. (Wenn angängig, Schälchen umgekehrt aufstellen, damit das Formalin nicht auf den Nährboden tropft; sonst befestigt man mit Wachs ein Stück Fliesspapier an der Deckelinnenseite und befeuchtet es mit Formalin). Dann entfernt man das Formalin (falls es nicht schon verdunstet ist) und legt ein breites Gummiband um den Rand der Schale.

2. Man kultiviert in Schälchen mit überfassendem, aufgeschliffenen Deckel, behandelt wie bei 1. mit Formalin und dichtet schliesslich den Berührungsring beider Schälchenhälften mit Paraffin oder Plastilin.

3. Man kultiviert in flachen Kolben von der Form plattgedrückter Reagenzgläser etc. (käuflich) und behandelt sie wie Röhren (vgl. S. 131).

Stücke von Agar- oder Gelatineplatten kann man folgendermassen konservieren:

1. Behandeln der Platte mit Formaldehyd ähnlich wie oben angegeben. Vorsichtiges Umschneiden und Loslösen der zu konservierenden Teile, Übertragung auf einen Objektträger (ev. Trocknen über H_2SO_4 , bis nur eine dünne Schicht übrig ist), Bedecken mit Glyzerin und Deckglas, Umranden mit Asphaltlack. Aussehen der Kolonien leidet. Nur für Agarplatten gut brauchbar.

2. Anlage der Platte auf einem Deckglase, nach Entwicklung Trocknen im Exsikkator über H_2SO_4 , Färben wie ein Trockenpräparat, trocknen und in Kanadabalsam konservieren (nicht zur Betrachtung der Kolonien selbst, aber zum Studium der Bakterienlagerung in den Kol. geeignet).

C. Tierorgane für Demonstrationszwecke.
(Kaiserlingsches Verfahren.)

1. Einlegen der Organe bis zur völligen Entfärbung (u. U. mehrere Wochen) in folg. Lösung: Aq. comm. 4000, Formalin 800, Kal. acet. 85, Kal. nitric. 45.

2. Abspülen in Wasser und Einlegen in 85%igen Alkohol, bis die natürlichen Farben wiedergekehrt sind (einige Stunden). Mehrmals wechseln, um alles Formalin zu entfernen.

3. Aufbewahren in folg. Lösung dauernd: Aq. dest. 900, Glyzerin 300, Kal. acet. 200.

Die Flüssigkeiten müssen die Organe ganz bedecken; event. Beschweren mit Wattebausch und Gewicht.

Übersicht für die

	Typhus	Paratyphus A	Paratyphus B ¹⁾
Beweglichkeit	lebhaft, 8-14 peritriche Geisseln	lebhaft, peritriche Geisseln	^{infr} lebhaft, peritriche Geisseln
Gelatine	zart, grau, später gelbl., oberfl. Kol. Weinblattform	zart, grau, später gelbl., oberfl. Kol. rundlich	grauweiss, später gelbl., oberfl. Kol. rundlich, schleimig
Agar	zart, durchscheinend	zart, durchscheinend	weisslich bis gelb
Kartoffel	kaum sichtbarer Rasen	kaum sichtbarer Rasen	graugelber Rasen
Bouillon u. Peptonw. Indolbildung	Trübung <u>0</u>	Trübung 0	Trübung 0
Milch ^{zink}	keine Gerinnung	keine Gerinnung	keine Gerinn., nach 1-3 W. Aufhellung
Lackmusmolke	sehr geringe Trüb., geringe Rötung	geringe Trübung und Rötung	Trübung u. Rötung, nach einig. T. Aufhellung u. Bläuung
Neutralrotagar ^{Milchzucker} ^{Agar} ^{Agar}	keine Veränderung	Fluoresz., Gasbild., leichte Entfärbung	Fluoresz., Gasbild., leichte Entfärbung
Lackmus-Milchz.-Agar ^{Agar} ^{Agar}	Kol. zart, durchsichtig, blau	Kol. zart, durchsichtig, blau	Kol. saftig, blau
Endoagar ^{Agar} ^{Agar}	zart, farblos	zart, farblos	farblos
Kongorotagar ^{Agar} ^{Agar}	zart, durchsichtig, rot	zart, durchsichtig, rot	zart, rot
Lackmus-Nutrose-Dextroselösung	Rötung, (meist) Trübung	Rötung, Trübung	Rötung, Trübung
Lackmus-Nutrose-Milchzuckerlösung	keine Veränderung	keine Veränderung	keine Veränderung
Lackmus-Saccharoseagar	keine Veränderung	keine Veränderung	keine Veränderung
Lackmus-Mannitagar ²⁾	Rötung	Rötung	Rötung
Lackmus-Maltoseagar ²⁾	Rötung	Rötung	Rötung

¹⁾ Desgl. Bac. enteritidis Gärtner.

²⁾ Für Ruhr, mit 2% Zucker.

* Neutralrot: nur in manchen Lösungen rot, bei Tünnen (Coli) färbung

Typhus-Coli-Ruhrgruppe.

Bact. coli	Bac. faecalis alcalig.	Ruhr Shiga-Kruse	Ruhr Flexner	Ruhr Y
mässig, 4—8 Geisseln	lebhaft, peri- triche Geisseln	nur starke Molekularbew.	nur starke Molekularbew.	nur starke Molekularbew.
grau, bald gelb- braun, oberfl. Kol. flach, wenig gefurcht	grauweiss, später gelbl., oberfl. Kol. rundl., schleimig	zart, grau, spät. gelbl., oberfl. Kol. Weinblatt- form	zart, grau, später gelbl., oberfl. Kol. rundlich	zart, grau, später gelbl., oberfl. Kol. rundlich
dick, weisslich	weisslich	zart, durch- scheinend	zart, weisslich	zart, durch- scheinend
graubrauner Rasen	graugelber Rasen	kaum sichtbarer Rasen	kaum sichtbarer Rasen	kaum sichtbarer Rasen
Trübung stark	Trübung 0	Trübung 0	Trübung nach 3—5 Tagen	Trübung bisweilen nach Tagen
Gerinnung	keine Gerinn., ev. Aufhellung	keine Gerinn.	keine Gerinn.	keine Gerinn.
starke Trübung und Rötung	geringe Trüb., starke Bläuung	keine Trübung, geringe Rötung	keine Trübung, geringe Rötung	keine Trübung, geringe Rötung
Fluoresz., Gas- bildung, starke Entfärbung	keine Veränder.	keine Veränder.	keine Veränder.	keine Veränder.
Kol. undurch- sichtig, rot	Kol. saftig, blau	Kol. zart, durchs., blau	Kol. zart, durchs., blau	Kol. zart, durch- sichtig, blau- violett, gezackt
dick, rot, später Metallglanz	farblos	farblos	farblos	farblos
dick, blau- schwarz	zart, rot	zart, durch- sichtig, rot	zart, durch- sichtig, rot	zart, durch- sichtig, rot
Rötung, Gerinn., Gasbildung	keine Veränder. oder schwache Bläuung	Rötung, später zuw. Trübung	Rötung, später zuw. Trübung	Rötung, später zuw. Trübung
Rötung, Gerinn., Gasbildung	keine Veränder. oder schwache Bläuung	keine Veränder.	keine Veränder.	keine Veränder.
Rötung (nicht stets)	keine Veränder.	keine Veränder.	keine Veränder.	keine Veränder.
Rötung	keine Veränder.	keine Veränder.	Rötung	Rötung
Rötung	keine Veränder.	keine Veränder.	Rötung	keine Veränder.

Sachregister.

	Seite		Seite
Abbe, Beleuchtungsapparat, Einstellung desselben	4	Bac. enterit. Gärtner	86, 134
Abschlaggläser	125	Bac. faecal. alcalig.	75, 134
Agar, als Nährboden	11	Bacterium coli	86, 134
„ Glyzerinagar	14	„ „ in Wasser	128
„ Blutbestrichenes	72, 99	Bakterienfilter	8
„ mit Blutzusatz 72, 91, 99, 116		Bakteriengrösse, Bestimmung	40
„ Vorzüge und Nachteile	23	Bakterienstoffwechselpro- dukte, Filtration	37
„ -plattenherstellung	23	Bakterienzahl, Bestimmung in Platten	126
„ s. auch Blutserum		„ Bestimmung in Impfmateriel etc.	121
Agglutination bei Typhus	77, 83	Barsiekowsche Nährböden	74, 88
„ bei Cholera	92	Bauchhöhle, Injektion in	119
„ bei Ruhr	88	„ „ Entnahme aus	119
„ bei Meningo- kokken	98	Beleuchtung bei mikroskopi- schen Untersuchungen	4
„ bei Rotz	68	Beleuchtungsapparat, Abbe- scher, Einstellung	4
Aktinomyces	99	Bierwürze-Nährböden	100
Alkalibildung, Untersuchung auf	32	Blücherscher Kulturapparat	30
Alkalisierung von Nährböden	11	Blutagar	72, 91, 92, 99, 116
Ambozeptor	109	Blutalkaliagar (Dieudonné)	91
Amöben	102	Blutentnahme	116, 122
Anaerobien, Kultur ders.	28	Blutkörperchen f. Hämolyse	111
„ Nährboden für	28	Blutkuchennährböden	12
Angina ulcerosa	69	Blutparasiten, s. Malaria usw.	
Anilinwasserfarblösungen	45	Blutpräparate	117
Anisölgefrierschnitte	42	Blutserum, Gewinnung für Nährböden	15
Anreicherung s. Tuberkelb., Typhusb., Choleravibr.		Blutserum, Gewinnung für Serumreaktionen	116, 122
Antiformin	63	Blutserum, Agar	17
Antigen	108	„ Agarnach Tochter- mann	70
Antikörper	108	„ Löfflersches	17
Arsennachweis	102	„ Menschliches	99
Ascitesnährböden	18 u. 99	„ als Nährboden	15
Ascolische Reaktion	58	„ Siehe auch Serum- reaktion	
Assmannsche Färbung	48	Bodenuntersuchung	130
Aufbewahren von Kulturen 25, 131		Bolus für Typhusnachweis	83
„ von Organstücken	133	Boraxmethylenblau	104
„ von Präparaten 39, 43		Botkinscher Kulturapparat	32
Aufkleben von Gewebsstücken	40		
Aussaat, fraktionierte	26		
Ausstrichpräparate	37		
Austrocknen, Resistenz von Bakt. gegen	35		

	Seite		Seite
Botryomykose	96	Dunkelfeldbeleuchtung	5
Botulismus	86	Dysenteriebazillen	87
Bouillon als Nährboden	9	Eier, als Nährboden	17
Brot als Nährboden	19	Eijkmansche Probe	128
Bubonenpest, Bazillen	92	Einbetten von Gewebsstücken zum Schneiden	41
Büchsen Nährböden	13	Eiterentnahme	117
Bulir's Kolinaachweis	129	Eiweissfreie Nährlösung (nach Uschinsky-C. Fraenkel)	19
Bunges Geisselfärbung	55	Endoscher Nährboden	82
Burris Tuscheverfahren	5, 27	Endo-Tabletten	82
Cacaobutterz. Einbetten	42	Endotoxine	37
Carbolfarblösungen	46	Erhaltung von Kulturen	25
Celloidineinbettung	41	Erhitzen, Resistenz gegen van Ermengemsche Geissel- färbung	35 56
„ Schnellmethode	43	Erysipel	96
Choleradiagnose	90	Esch, Nährböden	92, 97
Choleraerotreaktion	35, 89	Euterentzündung	96
Cholera vibrionen	89	Faecalis alcaligenes	75, 134
„ Isolierung aus Wasser	91	Fäcesuntersuchung	118
Chromatinfärbung	105	Färbung von Deckglaspräpa- raten, Allgemeines	37
Claudiussche Färbung	51	„ von Schnittpräpa- raten, Allgemeines	40
Coerner-Fischer-Geissel- färbung	55	„ nach Loeffler	47
Colonbazillus	86, 128, 134	„ nach R. Pfeiffer	47
Complementbindung	108	„ nach Kühne-Pregl	47
Congorotnährboden	82	„ nach Manson	104
Corallin-Methylenblau	61	„ nach Nicolles Tannin- methode	47
Czaplewskis Glycerinfuchsin	46	„ Nicolles Thioninmeth. nach Frosch	47 48
Dampfdesinfektion	7	„ nach Romanowsky, s. Giemsa	104, 105
Deckgläschen, Grösse	1	„ nach Giemsa	49
„ Reinigung	6	„ nach Gram	50
Deckglaskulturen	133	„ nach Gram-Günther	50
„ S. auch Hängen- der Tropfen als Kulturapparat	133	„ nach Gram-Nicolle	50
Deckglaspräparate, Herstel- lung derselben	37	„ nach Weigerts Fibrin- methode	51
Deckglaspräparate, Färb. ders. Konservierung ders.	38 38	„ nach Claudius	51
Desinfektion	6	„ mit Methylenblau-Eo- sinmischung	48
„ von Kulturen	8	„ nach Unna-Pappen- heim	68
„ der Hände	8	„ von Tuberkelbazill. Leprabaz. etc. s. diese	48
„ der Impfstelle beim Tierversuch	118	„ Isolierte von Bakt.	48
„ von Tierkadavern	125	„ Kontrast- von Bakt.	48
Desinfektionsmittel, Prüfung	36	„ von Sporen	53
Dieudonné, Blutalkaliagar	91	„ von Kapseln	52
Diphtheriebazillen	69	„ von Geisseln	53
Diphtheriediagnose	69	Farblösungen, Herstellung ein- facher	45
Diphtherieserum	72		
von Drigalski-Conradi-Nähr- boden	81		
Doppelschälchen	21, 81		
Doppelschälchen, Deckel dafür	22		
Dörrs Trockennährböden	13		
Druse	96		

	Seite		Seite
Farblösungen, Herstellung verstärkter (alkal. Methylenblau. Karbolfuchsin. Anilinfuchsin etc.)	45	Gonokokken	98
Farbstoffe zur Bakt.-Färbung	44	„ arme Sekrete	99
Favuspilze	102	Gramsche Färbung	49
Feuchte Kammern	22	„ Modifikationen	50
Fibrinfärbung nach Weigert .	51	„ Prüfung v. Bakt. auf Verhalten gegen	50
Fickers Typhusdiagnostikum	85	„ Verzeichnis der danach färbbaren und nicht färbbaren Bakt.	50
„ Hirnnährboden	59	Grösse von Bakt. Messung	40
Filtration, keimfreie	8	Grubersche Serumreaktion	80
„ von Nährböden s. diese		Grünnährböden n. Loeffler	82
Fischen von Kolonien	24	Günthers Entfärbung bei Gram	50
Fixierung von Ausstrichen	38		
Fleischbeschau, bakt.	86	Hämolyse	96, 109
Fleischextraktnährböden	12	Hämolytisches System	109
Fleischvergiftung	86	Händedesinfektion	8
Fleischwasser	9	Hängender Tropfen	1
„ Verdünntes	12	„ Konservierung desselb.	130
Fluoreszierende Baz. s. Bac. pyocyaneus	94	„ als Kulturapparat	3
Fortzüchtung von Kulturen	24	Härten von Gewebstücken	40
Fraktionierte Aussaat	26	Hefen	100
„ Sterilisation	7	Hessesche Nährböden	62
Friedländersche Pneumobaz.	97	Hesse's Wasseruntersuchung	128
Fuchsinnährboden	82	Heunährböden	102
Fucus crispus-Nährboden	103	Heydenagar-Nährböden	62
		Hitze, Resistenz von Bakt. gegen	35
Gallenkultur	80	Hühnercholera	93
Gärungsvermögen von Bakt. Untersuchung auf	32	Hundswut	114
Gasbrand	95	Hydrocelenflüssigkeit als Nährboden	17
Geflügelcholera	93	„ zur Untersuchung	118
Gehirnnährböden	59, 95		
Geisselfärbung	53	Immersion, Anwendung derselben	1
Gelatine als Nährboden	10	Immersionszedernöl	1
„ mit hohem Schmelzpunkt	11	Immunisierung von Tieren	122
„ für Wasseruntersuchung	12	s. ferner Diphtheriebaz., Typhusbaz., Choleravibrionen.	
„ Bierwürze	100	Immunserum, Gewinnung von	122
Gelatine-Platten	21	s. ferner Diphtheriebaz. Typhusbaz., Choleravibaz.	
„ Traubenzucker	28	Immunserumreaktionen, siehe Serumreaktion	
„ Vorzüge u. Nachteile	23	Impfmaterial, Dosieren dess.	121
Giemsasche Färbung	104	Impfung v. Tieren, Methoden zur	118
„ für Schnitte	105	Inaktivieren von Serum	109
Giftbildung durch Bakt., Untersuchung auf	37	Indolbildung, Untersuch. auf	34
Gipsplatten nach Müller	126	Infektion, künstliche v. Tieren	119
Gipsstäbchen	58	Influenzabazillen	72
Glyzerin als Zusatz zu Nährböden	14	Jodalkohol	62
Glyzeringelatine z. Aufkleben	41	Jodjodkaliumlösung	49
„ z. Konservieren von Präparaten	131	Johnes Kapselfärbung	52
Glyzerinkartoffeln	59		

	Seite		Seite
Kälberpneumonie	93	Maggibouillon	13
Kaiserlingsche Lösung	133	Malachitgrünnährböden	82
Kakaobutter z. Einbetten	42	Malariaparasiten	104
Kapselfärbung	52, 58	Malignes Ödem	95
Karbolfarblösungen	46	Mallein	68
Kartoffel als Nährboden	18	Mannitnährböden	88
„ -Brei	19	Mansonsche Färbung	104
Kartoffel Kochsalz-	19	Mastitiskokken	96
„ Glyzerin	59	Mäuseseptikämie :	94
Keimfreie Filtration	8	May-Grünwalds Färbung	48
Keuchhusten, Baz. bei	73	Meningokokken	97
Klatschpräparate	24	Menschenblutserum	99
Koch-Weekssche Baz.	73	Methylenblau, Reduktion	34
Körnchenfärbung	70	Micrococcus catarrhalis	98
Körpertemperatur von Ver- suchstieren	122	Mikroskop	1
Kolonien, Abimpfen von	24	Mikroskop s. auch Immersion, Beleuchtung.	
Komplementbindung	108	Mikroskop, Reinigung dess.	4
Kondenswasser	12, 16	Milch als Nährboden	19
Kongorotnährböden	82	„ -serum s. Lackmusmolke	33
Konservierungsmethoden für Kulturen	131	Milzbrandbazillen	57
„ für Präparate 39, 43, 131		Milzbrandsporenfäden	59
Kontrastfärbungen	48	Much'sche Granula	62
Kronbergers Färbung für Tb. 61		Nähragar, Nährbouillon, Nährgelatine siehe Agar, Bouillon, Gelatine etc.	
Kühnes Karbolmethylenblau- färbung	47	Nährböden, s. Agar, Bouillon, Gelatine u. s. w.	
Kultur	20	„ Abmesser	14
„ der Anaerobien	28	„ Aufbewahrung	20
Kultur Fortzüchtung	25	„ in Konservendosen	13
„ d. fraktioniert. Aussaat 26		„ Einfüllen flüssiger in Röhrchen	13
„ im hängenden Tropfen 3		„ Sterilisieren ders.	14
„ Herstellung	24	„ eiweissfreie	20, 35
„ Plattenverfahren	20	Nasenrachensekretentnahme	117
„ im Stich und Strich	24	Nasensekretentnahme	117
„ im Tierkörper	28	Negrische Körperchen	114
Kulturmaterial, Erhaltung	25	Neissersche Färbung	70
Lackmusmolke	33	Nekrosebazillus	96
Lackmusnährböden 74, 80, 88, 98		Neutralisation, s. Agar, Bouil- lon, Gelatine etc.	
Leiche, Blutentnahme	116	„ mit Phenolphthalein als Indikator	13
Leprabazillen	66	„ Berechnung der Lö- sungen für	11
Lichtentwicklung von Bakt., Untersuchung auf	35	Neutralrotagar	75
Lichtquelle für Mikroskop	4	Nicollesche Methylenblau- tanninfärbung	47
„ künstliche desgl.	4	„ Thioninfärbung	47
Lithionkarmin	51	„ Gramfärbung	50
Loefflers Geisselfärbung	55	Nitrosoindolreaktion	35
„ Typhusnährboden	82	„ von Vibrionen	91
„ Methylenblaulösung	45	Nochtsche Färbung	104
„ Färbemeth.	47, 106	Normalöse	121
Lubarschs Paraffineinbettung 42		Nutrosenährböden	71, 81, 99
Luesreaktion	108		
Luftuntersuchung	129		
Lugolsche Lösung	49		
Lyssa	114		

	Seite		Seite
Objektträger, Färbung		Reaktion der Nährböden . . .	10
auf dem	40	" Einstellung (s. Nähr-	
Öse, als Mass	121	" bouillon)	9
Osmiumsäure zum Fixieren	38, 54	" der Nährböden, Ein-	
		" stellung mit Phenol-	
Pappenheimsche Färbung	61	" phthalein - Indikator	13
Paraboloidkondensator	5	" der Nährböden, Än-	
Paraffineinbettung	41	" derung ders. durch	
Paraffinschnelleinbettung	42	" Bakt.-Wachstum . . .	33
Paratyphusbaz.	71	Rekurrenzspirochäten	114
Pathogenität, Unters. auf s.		Reduktionsvermögen der Bak-	
Impfung	118	" terien, Untersuch. auf . . .	34
Penicillium brevicaulis	102	Reichert's Spiegelkondensator . . .	5
Pepplers Geisselfärbung	56	Reinkulturen, Anlage von . . .	25
Pepton	9	" Gewinnung mit Hilfe	
Peptonisierung	23	" des Tierkörpers . . .	28
Peptonwasser	15	Resistenz von Bakterien, Un-	
" konzentriertes	15	" tersuchung auf	35, 36
Peritonealhöhle, Injektion	119	Ribbert'sche Kapselfärbung	52
" Entnahme	119	Rollröhrchen	22
Perlsuchtbazillen	66	Romanowskysche Färbung	104
Pestbazillen	92	Roseolen, Untersuch.	80
Petrischalen	22	Rothbergers Neutralrotagar	74
Petroläther f. Tyb.	83	Rotzbazillen	67
Petruschkys Lackmusmolke	33	Ruhrbazillen	87, 134
Pfeiffersche Fuchsinfärbung	47		
" Serumreaktion	75, 91	Sauerstoffbedürfnis von	
Pflaumenbrühenährböden	100	" Bakt., Untersuchung auf . . .	32
Phenolphthalein als Indikator	13	Säurebildung, Untersuch. auf . . .	33
Phosphoreszenz von Kulturen,		Schimmelpilze	101
Untersuchung auf	35	Schmierröhrchen	69
Pick-Jacobsohnsche Färbung	48	Schnellhärtung	42
Pikrokarminlösung, Herstel-		Schnittpräparate, Herstellung	40
" lung derselben	51	Scholtz' Celloidineinbettung	43
Pilze	101	Schwefelwasserstoffbildung	34
Placentarblut	116	Schweinepest	93
Platiniridiuminstrumente	7	Schweinerotlauf	94
Plattenkulturverfahren	21	Schweineseuche	93
Plautsche Angina	69	Sclavosche Gläser	125
Pneumobazillen	97	Sektion von Versuchstieren	123
Pneumokokken	97	Sensibilisieren von Blutkör-	
Polkörnchen	70	" perchen	109
Polychromes Methylenblau	71	Septikämie, Blutuntersuch.	96
Preglsche Färbung	47	Serum, Inaktivierung	109
Pseudodiphtheriebazillen	71	" zu Nährböden, s. Blut-	
Pseudorubrobaz.	88	" serum.	
Pyämie, Blutuntersuch.	96	Serumreaktion, Gewinnung von	
Pyocyaneus	94	" Menschenserum dafür	115
Pyrogallussäure	30	" Gewinnung von Tier-	
		" serum dafür	122
		" für Typhusbaz. nach	
Rachenbelag, Entnahme	117	" Pfeiffer	75
Ragittnährböden	13	" für Typhusbaz. nach	
Rauschbrand	95	" Gruber	78
Reagenzgläser, Grösse	14	" für Typhusbaz. nach	
" Reinigung	14	" Widal	83
		" f. Choleravibrionen	91, 92

	Seite		Seite
Serumreaktion für Ruhr-		Typhusbazillen	73, 134
bazillen	88, 89	„ Isolierung aus Wasser	86
„ für Meningokokken	98	Typhusdiagnose	80
„ für Syphilis	108	Typhusdiagnostikum (Ficker)	85
Smegmabazillen	66	Typhusgallenröhrchen	80
Soorpilze	100	Ulcus molle-Baz.	68
Spiegelkondensoren	5	Unna - Pappenheimsche Fär-	
Spirochäten	106, 114	bung	68
Sporenbildung, Untersuch. auf	35, 53	Untersuchungsmaterial, Ent-	
Sporenfäden, Herstellung von		nahme von	115
Milzbrand-	59	Urintentnahme	118
Sporenfärbung	53	Uschinskysche Nährlösung .	19
Sputumauffangung	118	van Ermengems Geissel-	
Sputumuntersuchung auf Tu-		färbung	56
berkelbazillen, Influenza-		Verdunstungsverfahren .	128
bazillen etc. s. diese		Versuchstiere, Bezeichnung	
Staphylokokken	96	u. Aufbewahrung ders.	121
Staubuntersuchung	129	„ Blutentnahme	122
Sterilisation	6	„ Immunisierung	122
„ in der Flamme	6	„ Impfung derselben	118
„ mit trockener Hitze	7	„ Körpertemperatur	122
„ mit Dampf	7	Versuchstiere, Sektion	
Sterilisation im Autoklaven .	7	derselben	123
„ fraktionierte	8	Virulenzsteigerung	77
„ m. Alkohol u. Äther	8	Vogelblut, Gewinnung	72
„ von Nährböden, siehe		Wassermannsche Reaktion	108
diese		Wasseruntersuchung	125
Sterilisatorenbrühe	12	„ Nährböden dafür	13, 128
Stichkultur	25	Wasseruntersuchung auf	
Streptobazillen d. Ulcus molle	68	Typhusbaz.	86
Straussche Rotzdiagnose . . .	67	„ auf Cholera vibr.	91
Streptokokken	96	„ auf Colibaz.	128
Streptothrix-Aktinomyces . .	99	„ auf Keimgehalt	127
Strichkultur	25	„ nach Bulir	129
Strohnährböden	103	„ nach Eijkman	128
Sublimat-Alkohol	103	„ nach Hesse	128
Syphilisspirochäten	106	„ nach dem Ver-	
Taubenblut, Gewinnung .	72	dunstungsverfahren	128
Temperaturmessungen bei		Watte	13
Tieren	122	Weigertsche Färbung	51
Tetanusbazillen	98	Widalsche Serumreaktion . .	83
Tierimpfung	118	„ Serumgewinnung dafür .	116
Tierkörper, Reinzüchtung im	28	Wildseuche	93
Tierorgane, Konservierung .	133	Xerosebazillen	69
„ Härtung	40	Zählung von Bakterien in	
Tochtermanns Serum-Agar .	70	Platten	126
Tollwut	114	„ von Bakterien im	
Toxine	37	Impfmater. etc.	121
Trichophytiepilze	102	Zahnspirochäten	106
Trockennährböden	13	Zettnows Geisselfärbung . .	56
Tropfen, Hängender	1	Ziehlsche Lösung	46
Trypanosomen	106	Zuckerzusatz zu Nährböden .	9
Tryptophannährboden	34		
Tuberkelbazillen	59		
„ , Rassen	66		
Tuscheverfahren	5, 27		

Literatur-Abkürzungen.

- Ann. Past. — Annales de l'Institut Pasteur.
Arb. K. G. A. — Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.
Arch. f. Hyg. — Archiv für Hygiene.
B. kl. W. — Berliner klinische Wochenschrift.
C. B. — Centralblatt für Bakteriologie (I = Abteilung I,
Or. = Band Originale, Ref. = Band Referate).
D. m. W. — Deutsche medizinische Wochenschrift.
Hyg. Rdsch. — Hygienische Rundschau.
Klin. Jahrb. — Klinisches Jahrbuch.
M. Kl. — Medizinische Klinik.
M. m. W. — Münchener medizinische Wochenschrift.
V. G. M. — Veröffentlichungen aus dem Gebiete der Medizinal-
verwaltung.
V. K. G. A. — Veröffentlichungen des Kaiserl. Gesundheitsamtes.
Zschr. f. Hyg. — Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrank-
heiten.
-



Eine Ergänzung zu vorliegendem Werk bildet:

Über einfache Hilfsmittel zur Ausführung bakteriol. Untersuchungen.

Von Geh. Med.-Rat Dr. Rudolf Abel und Prof. Dr. M. Ficker.
Zweite vermehrte und verbesserte Auflage. Taschenformat karton.
und durchschossen M. 1.20.

Gibt praktische Winke, wie auch mit den einfachsten Mitteln im Laboratorium gearbeitet werden kann und zwar auch in so kleinen Verhältnissen, wie sie dem praktischen Arzte zugänglich sind.
„Centralbl. f. inn. Med.“

Bakteriologisch - chemisches Praktikum.

Die wichtigsten bakteriologischen, klinisch-chemischen u. nahrungsmittelchemischen Untersuchungsmethoden f. Apotheker, Chemiker und Mediziner von Dr. Johannes Prescher und Apoth. Viktor Rabs. *2. vollständig umgearbeitete u. erweiterte Auflage.* VI und 314 Seiten mit 61 Textabbildungen, 4 Tafeln und 2 Tabellen.

M. 5.50, gebunden M. 6.30.

Auf kurzem Rahmen ist alles behandelt, was dem Apotheker vom Arzt oder Publikum zur Untersuchung übergeben werden kann und zu dessen Ausführung sich derselbe bisher meist teure Bücher und teure Apparate kaufen musste. Das Buch ist aus der Praxis für die Praxis geschrieben.
„Südd. Apoth.-Zeitung“

. . . . Er wird der Allgemeinheit der Ärzte wohl desto willkommener sein, als gerade ein derartiges Werk ihnen für dieses Gebiet noch fehlt.
„Centralblatt für inn. Medizin“

Die bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen.

Von Ministerialrat Professor Dr. A. Dieudonné.
(Würzb. Abhandl. a. d. prakt. Medizin, Bd. VIII, Heft 3/4). M. 1.70.

Die bakteriolog. Frühdiagnose bei akuten

Infektionskrankheiten. Von Professor Dr. Hermann Lüdke. (Würzb. Abhandl. a. d. prakt. Medizin, VIII. 9. Heft.) M. —.85.

Geburtshilflich - gynäkologische Pro-

pädeutik. Eine theoretische und praktische Einführung in die Klinik und in die Untersuchungskurse. Von Professor Dr. Oskar Polano, Oberarzt der kgl. Frauenklinik in Würzburg. 1914. XII u. 150 Seiten mit 78 meist zweifarbigen Abbildungen im Text. Geb. M. 5.—.

Ein Buch, das für den Studenten von grösster Bedeutung, ausserordentlich klar geschrieben und vorzüglich illustriert ist und nach dieser Richtung manches Neue bietet.

Die Immunitätswissenschaft.

Eine kurzgefasste Übersicht über die biologische Therapie und Diagnostik für prakt. Ärzte und Studierende. Von Professor **Dr. Hans Much**, Oberarzt am Eppendorfer Krankenhaus. **2. völlig umgearbeitete Auflage.** Mit 6 Tafeln und 7 Abbildungen im Text. M. 8.—, gebunden M. 9.—.

Klare Form, Bündigkeit, Genauigkeit und eine gesunde Kritik sind die Vorzüge des Buches, nach dessen Lektüre man zu dem Ergebnis kommt: **Ich habe daraus gelernt und mich dabei gefreut.**

Korr.-Bl. d. Ärzte Reichenbergs.

Ein geradezu klassisches Werk, *Hess. ärztl. Korr.-Blatt.*

Krankheitsentstehung u. Krankheits-

verhütung und geheimnisvolle Lebensäußerungen des Körpers. Von **Dr. Hans Much**. Mit 22 zumeist farbigen Abbildungen im Text. M. 2.50, geb. M. 3.—.

Eine allgemein verständliche Einführung in die Geheimnisse der Immunitätswissenschaft und die Entstehung und Bekämpfung der Infektionskrankheiten. Dr. Much zeigt uns in klaren, schwungvollen Worten wie der Mensch selbstherrlich in das Leben der Natur eingreift und die schlimmen Anschläge auf seine Gesundheit zu heilsamen Schutzmaßnahmen umformt und dass ihm zu diesem Ende seine gesundheitlichen Feinde selbst die wesentlichsten Dienste leisten müssen.

Kompendium der Röntgendiagnostik

für Studierende und praktische Ärzte. Von **Dr. Edgar Ruediger**, Kiel. 6 Bogen mit 12 Abbildungen im Text und 2 Tafeln mit Röntgenbildern. M. 3.—, geb. M. 3.60.

Berliner klin. Wochenschrift. . . . will aufklären, was überhaupt von dem Röntgenverfahren zu erwarten ist und dem Arzte Anweisungen geben, welche es ermöglichen, radiologische Befunde selbst zu deuten. Diesen Aufgaben wird das knapp, präzise und klar geschriebene Büchlein in ausgezeichnete Weise gerecht.

Beiträge zur Klinik der Infektions-

krankheiten und zur Immunitäts-

forschung (mit Ausschluss der Tuberkulose) herausgegeben von **Professor Dr. L. Brauer**. Redaktion: **Professor Dr. H. Schottmüller, Professor Dr. H. Much**, sämtliche am Allgemeinen Krankenhaus Hamburg-Eppendorf, **Professor Dr. H. Lüdke** in Würzburg.

Bringt wertvolle Originalarbeiten auf dem Gebiet der Infektionskrankheiten und bietet in den „Ergebnissen“ einen guten Überblick über die massgebenden Arbeiten der beiden Spezialgebiete.

— Die Beiträge erscheinen zwanglos in Heften, die in Bänden von ca. 30 Bogen vereinigt werden. 4 Bände liegen abgeschlossen vor, Band V im Erscheinen. **Abonnementspreis pro Band M. 20.—.** Probehefte und Inhaltsverzeichnisse sendet der Verlag kostenlos, das 1. Heft steht zur Ansicht zur Verfügung. Einzelhefte sind zu erhöhten Preisen käuflich.

Curt Habitzsch Verlag, Würzburg.

Diätvorschriften für Gesunde und

Kranke jeder Art von **Dr. J. Borntraeger**,
Regierungs- und Medizinalrat.
Sechste verbesserte und erweiterte Auflage 1916. Perforierter Block in Brieftaschenformat. Komplet M. 2.50.

Für den vielbeschäftigten Arzt, dem die Abgabe einer gedruckten Anweisung ausführliche Auseinandersetzungen erspart. Wir können dieses sehr bequeme Hilfsmittel angelegentlichst empfehlen.

„Ärztl. Korresp.-Bl. Niedersachsens.“

Einzelblocks zur Ergänzung zu mässigen Preisen.

Nahrungsmitteltabelle zur Aufstellung und Berechnung von Diätverordnungen für Krankenhaus und Praxis. Von **Dr. Hermann Schall** und **Dr. Aug. Heisler**. 4. bedeutend vermehrte Aufl. Geb. M. 2.80.

Die Tabelle hat schnell Beifall gefunden und mit Recht, sie ist wirklich sehr gut und geschickt zusammengestellt.

„Schmidt's Jahrbücher“.

Berechnete ärztl. Kostverordnungen

nebst vollständigem **Kochbuch für Zuckerkrank** von **Dr. H. Schall**. Geb. M. 5.50.

Ein Buch für die Praxis, das den Ärzten bei der Verordnung der Kost für Zuckerkrank nach Feststellung der individuellen Toleranz jede Berechnung erspart. Bietet dem Arzte eine wesentliche Erleichterung, dem Patienten und der Küche gibt es die genauesten Anweisungen zu Ausführung der ärztl. Verordnungen.

Ärztl. Mitteilungen, Strassburg.

Diätetisches Kochbuch. Von **Dr. Otto Dornblüth** und **Frau Hedwig Dornblüth**, Wiesbaden.

 Dritte, völlig umgearbeitete Auflage. Gebunden M. 6.—.

Ärztliche Wissenschaft und Küchentechnik haben bei der Abfassung zusammengearbeitet. Die Kochvorschriften sind sämtlich im Sanatorium des Verfassers erprobt.

Nahrungsmittelchemisches Taschenbuch.

Kurze Anleitung zur Untersuchung und Begutachtung von Nahrungs-, Genussmitteln und Gebrauchsgegenständen. Von **Dr. H. Serger**, staatlich geprüfter Nahrungsmittelchemiker. Gebunden und durchschossen M. 2.50.

Das handliche, wirklich für die Tasche bestimmte Buch des wohlbekannten Braunschweiger Nahrungsmittelchemikers ist ein ausgezeichnetes Hilfsbuch für Chemiker, Ärzte und Apotheker.

Taschenbuch der Therapie mit besonderer Berücksichtigung der

Therapie an den Berliner, Wiener u. a. deutschen Kliniken. Herausgegeben von **Dr. M. T. Schnirer**, Herausgeber der klinisch-therapeut. Wochenschrift. 13. Ausgabe 1917, über 450 Seiten.

Geb. M. 3.—.

Der in knappe Form zusammengedrückte reiche Inhalt macht das Werk zu einem förmlichen Nachschlagebüchlein, in dem man sozusagen über alles Auskunft erhält, was der Arzt im täglichen Leben braucht. Die neuen Errungenschaften sind sorgfältig berücksichtigt.

„Württ. ärztl. Korrespondenzblatt“.

Die tierischen Parasiten des Menschen,

die von ihnen hervorgerufenen Erkrankungen und ihre Heilung. Bearbeitet von Prof. Dr. Max Braun in Königsberg und Prof. Dr. Otto Seifert, Würzburg. **I. Teil: Naturgeschichte der tierischen Parasiten des Menschen.**

Von Prof. Dr. M. Braun. Fünfte vermehrte u. verbesserte Auflage, X und 559 Seiten mit 467 Abbildungen im Text. 1915.

M. 13.—, geb. M. 14.50.

Eine Parasitologie, mit der auch der Mediziner etwas anfangen kann. Es berührt uns angenehm, dass auch die tierärztliche Literatur weitgehende Berücksichtigung gefunden hat, z. B. in fleischbeschaulicher Hinsicht.

„Schweizer Archiv für Tierheilkunde.“

Ärztliche Buchführung nach Dr. med. G. Hirschfeld, bestehend aus: 12 ev.

6 Monatsheften, Taschenformat mit Register à 60 Pf. (je nach Umfang der Praxis für 1 bis 2 Monate reichend). Haupt- oder Jahressbuch zu denselben, 4° Format, mit Register, dauerhaft gebunden

M. 3.—.

Temperatur- (Fieber-) Kurven. Nach dem Muster des

Eppendorfer Krankenhauses in Hamburg.

Lungenschema ohne Fieberkurven.	Schema mit Fieberkurven.	Fieberkurven allein.
1—99 à 25 Pfg.	1—99 à 30 Pfg.	1—99 à 20 Pfg.
100—499 à 20 Pfg.	100—499 à 25 Pfg.	100—499 à 15 Pfg.
500—999 à 15 Pfg.	500—999 à 20 Pfg.	500—999 à 12 Pfg.
über 1000 à 12 Pfg.	über 1000 à 15 Pfg.	über 1000 à 10 Pfg.

Die Erkennung und Verhütung des Fleckfiebers und Rückfall-Fiebers

von Generaloberarzt Prof. Dr. L. Brauer, nebst Vorschriften zur **Bekämpfung der Läuseplage bei der Truppe** von K. u. K. Regimentsarzt Dr. Julius Moldovan, 2. ergänzte Auflage. Mit 4 farbigen, 2 schwarzen und 1 Kurventafel sowie 12 Abbildungen im Text. M. 1.50.

Bietet auch den Ärzten in der Heimat eine vorzügliche Anleitung, das wissenschaftliche Rüstzeug zu einer erfolgreichen Bekämpfung der Kriegsseuchen zu vervollkommen . . .

Curt Habitzsch Verlag, Würzburg.

San.-Rat Dr. Jessner's Dermatologische

Vorträge für Praktiker.

Bisher erschienen 24
Hefte im Preise von

60 Pfg. bis M. 2.50.

Lehrbuch der Tracheo-Bronchoskopie.

(Technik und Klinik.) Von Sanitätsrat **Dr. M. Mann**, Dresden, Dirig. Arzt der Abteilung für Ohren-, Nasen- und Halskranke am Stadtkrankenhaus Dresden-Friedrichstadt. 1914. Lex. 8°, 14 Bg. mit 50 Abbildungen und 5 schwarzen Tafeln im Text, 10 farbigen Tafeln im Anhang. M. 10.50, gebunden M. 12.50.

Eine vollständige Sammlung dessen, was auf den verschiedensten Gebieten der Tracheo-Bronchoskopie bisher geleistet wurde, die uns in allen Fragen durch seine übersichtliche Form sehr rasch und kritisch orientiert.
Berliner klin. Wochenschr.

Atemkuren.

Mit 574 Rezepten. Von Dr. med. **Henry Hughes**. 2. stark vermehrte Auflage 1915.
M. 3.—.

Die Vorschriften für die Kranken sind in Rezeptform gekleidet. Das Buch ist lesenswert und die darin niedergelegten Ratschläge sind nachahmenswert und zum Teil originell.

Zeitschrift für ärztl. Fortbildung.

Die Untersuchung der Luftwege.

Ein Vortrag zur

Einführung in die moderne Rhino-Laryngologie für Ärzte und Studierende. Von Professor **Dr. P. H. Gerber**, Königsberg i. Pr.

Mit 49 zum Teil farbigen Textabbildungen und 12 Abbildungen auf 4 Tafeln.
M. 2.—.

Eine ausgezeichnete Anleitung zur Untersuchung der Nase, des Nasenrachenraumes, des Rachens, des Kehlkopfes, der Trachea und der Bronchien. Der klar geschriebene, leicht verständliche Text und die grosse Anzahl gut ausgeführter, instruktiver Abbildungen ermöglichen es sowohl dem Arzte wie dem Studierenden, sich rasch Geschicklichkeit im Untersuchen der Luftwege anzueignen.

Bayr. ärztl. Korr.-Blatt.

Anleitung und Indikationen für Bestrah-

lungen mit der Quarzlampe, „künstliche Höhen-

sonne“. Von San.-Rat Dr. **Hugo Bach**, Bad Elster. Mit 5 Textfig. u. 1 farb. Tafel. Zweite verbesserte Auflage. M. 1.70.

Lehrbuch der Histologie und der mikroskopisch. Anatomie mit besonderer Berücksichtigung des menschlichen Körpers, einschliesslich der mikroskopischen Technik. Von Professor Dr. L. Szymonowicz. **3. vollständig umgearbeitete und stark vermehrte Auflage 1915.** XII und 556 Seiten mit 378 Abbildungen im Text und auf 82 meist farbigen Tafeln. M. 15.—, geb. M. 17.50.

Berliner Klin. Wochenschrift. . . . Die Darstellung hält mit Glück die Mitte ein zwischen der Knappheit eines reinen Studentenlehrbuches und der Ausführlichkeit eines Handbuches — ist also recht geeignet, auch dem Arzte als dauerndes Hilfsmittel, zumal bei pathologisch-anatomischen Studien zu dienen.

Lehrbuch der Haut- und Geschlechtsleiden einschliesslich der Syphilide und einer kurzen Kosmetik. Für Studierende und Ärzte. Von San.-Rat Dr. S. Jessner in Königsberg i. Pr.

Vierte umgearbeitete und sehr erweiterte Auflage. I. Bd. bei Einzelbezug geb. M. 12.—, II. Bd. bei Einzelbezug geb. M. 9.—. Bei Abnahme des kompletten Werkes (2 Bände mit 53 zumeist farbigen Tafeln) Vorzugspreis M. 16.—.

Lehrbuch der spezifischen Diagnostik und Therapie der Tuberkulose für Studierende und Ärzte. Von Chefarzt Dr. B. Bandelier und Prof. Dr. O. Roepke. Achte gänzlich umgearbeitete Auflage. 1915. gr. 8°. XIII und 409 S. mit 2 farbigen lith. Tafeln, 25 Temperatur-Kurven auf 7 lith. Tafeln und 6 Abbildungen im Text.

Geb. M. 10.—.

Enthält in glänzender, lichtvoller Darstellung alles, was über das weite Gebiet zu sagen ist. Das Buch ist das Resultat jahrelanger Arbeit und kritischer Forschung der Tuberkulinwirkung.

Die Klinik der Tuberkulose. Ein Handbuch der gesamten Tuberkulose für Ärzte und Studierende. Von Chefarzt Dr. B. Bandelier und Professor Dr. O. Roepke. 3. vermehrte und verbesserte Auflage. gr. 8°. 52 Bogen mit 97 Abbildungen im Text und 58 Tafeln. In Halbfranz gebunden M. 26.50.

Wer sich über irgend eine Frage des neuzeitlichen Standes der Wissenschaft der Tuberkulose raschest aufklären will, findet in dem prachtvoll ausgestatteten Buche die beste Gelegenheit dazu. Der Fleiss der Verfasser ist wahrhaft bewundernswert. *Württ. Korrespondenzblatt.*

Curt Kabitzsch Verlag, Würzburg.

**Kurze und praktische Anleitung zur
Diagnose aller Formen des Kopf-
schmerzes.**

Von Oberstabsarzt Dr. Lobedank, Hagenau.
8°. 5 Bogen. 1913. M. 2.—.

*Das Schriftchen verdient gerade in den Kreisen der Praktiker
weiteste Verbreitung, da es bei Kopfschmerzen keine der diagnostischen
Möglichkeiten übersehen und das Grundleiden schnell finden lässt.*
Zeitschrift für Bahn- und Bahnkassenärzte.

**Taschenbuch pharmazeut. Speciali-
täten.**

(Original- und Krankenkassenpackungen) zusammen-
gestellt im Auftrage der ärztlichen Lokalkommission
Oldenburg. Von Dr. med. Hügel, prakt. Arzt. Taschenformat.
VIII und 199 S. Kartoniert M. 2.80.

Jedem Arzte ein praktischer Ratgeber!

„Schles. Ärzte-Korrespondenz.“

Die Arzneimittel der heutigen Medizin.

Mit therapeutischen Notizen zusammengestellt für
praktische Ärzte und Studierende der Medizin. Elfte
Auflage. Bearbeitet von Dr. Otto Dornblüth. Solid gebunden.
M. 7.60 (Taschenformat).

Gibt dem Praktiker bezüglich Arzneimittel und deren Verordnungs-
weise, über Bäder und Brunnen, Ernährungsvorschriften und sonstige
therapeutische Massnahmen, wenn schnelle Orientierung nötig ist, gute
Auskunft. *Med. Klinik.*

**Die Nebenwirkungen moderner Arz-
neimittel.**

Von Professor Dr. Otto Seifert. 1915. gr. °
IX u. 280 Seiten.

M. 9.—, geb. M. 10.—.

**Ergebnisse der Kriegsinvalidentfürsorge
im
Kgl. orthopäd. Reserve-Lazarett Nürnberg.**

Herausgegeben von

Stabsarzt d. R. Dr. Adolf Silberstein-Berlin, leitender Arzt des kgl.
orthopädischen Reserve-Lazarett Nürnberg, Fr. Maier-Bode, Landes-
ökonomierat, Rektor der kgl. Kreislandwirtschaftsschule Nürnberg,
Walter Möhring, städt. Zeicheninspektor zu Nürnberg, Reidt, kgl.
Professor, Direktor der kgl. Korbflechtlehranstalt Lichtenfels, Paul
Bernhard, stellvertretender Lazarettinspektor Nürnberg.

Mit 112 Abbildungen im Text und auf 10 Tafeln.
M. 6.—.

Verlag von Leopold Voss in Leipzig.

Die Chemie im täglichen Leben von Prof. Dr.

Lassar-Cohn in Königsberg i. Pr. 8. verbesserte Auflage. VIII, 360 Seiten mit 23 Abbildungen. 1916. M. 4.80.

Naturwissenschaftliche Wochenschrift: Das Buch gehört anerkanntermassen zu dem Besten, was an populärer, chemischer Literatur existiert. Darum ist es sehr erfreulich, dass es durch fortdauernde Vervollständigung stets dem neuesten Stande der rasch fortschreitenden chemischen Technik angepasst wird. Alle statistischen Angaben sind bis auf die letzte Zeit vervollständigt.

Praxis der Harnanalyse für Mediziner, Apotheker und Chemiker. Anleitung zur chemischen

Untersuchung des Harns sowie zur künstlichen Darstellung der für das Selbststudium und zu Unterrichtszwecken nötigen pathologischen Harns. Nebst einem Anhang: **Analyse des Mageninhalts** von Prof. Dr. Lassar-Cohn in Königsberg i. Pr. Fünfte Auflage. 79 Seiten. 1917. M. 1.80.

Der Verfasser hat darin den Versuch unternommen, die Analyse des Harns und des Mageninhalts ganz nach Art der chemischen Untersuchung irgendeines beliebigen Materials zu behandeln. Es ist nur das in den Kreis der Betrachtung gezogen, was, wie die Erfahrung gelehrt hat, für die praktischen Zwecke der Analyse des Harns und des Mageninhalts ausreicht.

Die psychischen Schädigungen durch Kopfschuss im Kriege 1914/16 mit besonderer

Berücksichtigung der pathopsychologischen, pädagogischen, gewerblichen und sozialen Beziehungen. Von Dr. phil. et med. **Walther Poppelreuter**, zurzeit leitender Arzt der Nervenstation für Kopfschüsse, Festungslazarett I, und der Provinzialberatungsstelle für kopfschussverletzte Kriegsbeschädigte, Cöln. Band I: **Die Störungen der niederen und höheren Sehleistungen durch Verletzungen des Okzipitalhirns.** VIII, 473 Seiten mit 94 Abbildungen im Text und 9 Tafeln. 1917.

M. 12.—, gebunden M. 13.80.

Der Verfasser beabsichtigt, in einzelnen Monographien die Untersuchungsergebnisse an dem reichen Hirnverletztenmaterial von zuletzt über 500 Fällen, das ihm in seinem Lazarett zur Verfügung stand, zu veröffentlichen. Der vorliegende erste Band handelt über die Sehstörungen.

Die mediko-mechanische Behandlung, ihr Anwendungsgebiet und ihre An-

wendungsformen. Ein Leitfaden für Ärzte, Studierende, Versicherungen und ärztliches Personal von Sanitätsrat Dr. **Kurt Müller**, Spezialarzt für Chirurgie und Heilgymnastik in Wiesbaden. VI, 149 Seiten mit 42 Abbildungen im Text und auf 10 Tafeln. 1917.

M. 5.—, geb. M. 6.—.

Ein Buch aus der Praxis für die Praxis! Ein Buch, welches die Erfahrungen einer langjährigen Praxis wiedergibt und besonders jetzt von vielen willkommen geheissen werden wird.

Verlag von Johann Ambrosius Barth
..... in Leipzig.

Immunität, Schutzimpfung und Serum- therapie. Zusammenfassende Übersicht

über die Immunitätslehre von Prof. Dr. A. Dieu-
donné. 8. umgearbeitete
Auflage. gr. 8°. VII, 248 Seiten. 1913. M. 6.80, geb. M. 7.80.

Hygienische Rundschau: Seinen Zweck, einen den Fragen der Immunität ferner stehenden Leser schnell mit allem Wichtigem und Wissenswerten über dieselben bekannt zu machen, erfüllt das Werk in vollkommener Weise.

Diagnostisch - therapeutisches Vade-

mecum für Studierende und Ärzte von Dr. Hein-
rich Schmidt, Dr. L. Friedheim, Dr. A. Lam-
hofer, Dr. J. Donat in Leipzig. 15. Auflage. VIII, 463 Seiten. 1917.
Geb. M. 7.—, geb. und mit Schreibpapier durchschossen M. 8.—.

Schmidt's Jahrbücher: Man kann nicht gut mehr des Tatsächlichen, Wissenswerten auf einen so knappen Raum zusammenfassen. Die Antworten, die der Unsichere erhält, sind überall klar und richtig.

Das Werkchen erschien 1895 zum ersten Male. Die rasch aufeinander folgenden Auflagen dürften am besten für die praktische Brauchbarkeit sprechen.

Handbuch der Tropenkrankheiten. Unter

Mit-
wirkung von zahlreichen Fachgelehrten herausgegeben von Prof. Dr. **Carl Mense**, Kassel. Zweite Auflage — In fünf Bänden.

Bisher erschienen: Band I: XVI, 295 Seiten mit 200 Abbildungen im Text, 10 schwarzen und 2 farbigen Tafeln. 1913. M. 16.20, geb. M. 18.—. — Band II: XVI, 747 Seiten mit 126 Abbildungen im Text, 14 schwarzen und 6 farbigen Tafeln. 1914. M. 40.—, geb. M. 42.—. — Band III: XVI, 679 Seiten mit 118 Abbildungen im Text und 9 farbigen Tafeln. 1914. M. 35.—, geb. M. 37.—. — Band IV, 1. Hälfte: VIII, 300 Seiten mit 78 Abbildungen im Text, 4 schwarzen und 1 farbigen Tafel. 1916. M. 15.—. — Band IV, 2. Hälfte und Band V werden sobald als möglich folgen.

Taschenbuch der mikroskopischen Technik der Protistenuntersuchung.

Von Prof. Dr. **S. von Prowazek**, 2. umgearbeitete Auflage.
87 Seiten. 1909.

Gebunden und mit Schreibpapier durchschossen M. 2.50.

Bakteriologischer Grundriss und Atlas der Geschlechtskrankheiten von Dr. B.

Lipschütz.
VIII, 118 Seiten mit 33 Tafeln nebst 33 Blatt Tafelerklärungen.
1913. Kart. M. 20.—.

Aus grossen Meistern der Naturwissenschaften:

- Nr. 1: **Die Reise eines deutschen Professors ins Eldorado** von Prof. Dr. Ludwig Boltzmann.
- Nr. 2: **Über Erscheinungen an fliegenden Projektilen. – Vom räumlichen Sehen** von Prof. Dr. Ernst Mach. Mit 11 Abbildungen.
- Nr. 3: **Die Endlichkeit des Weltalls. – Die Fortschritte auf dem Wege zur Erklärung der Elektrizität** von Carl Snyder.
- Nr. 4: **Das Pathologische in Goethes Lebenslauf** von Dr. P. J. Möbius.
- Nr. 5: **Zwei Vorträge aus der „Chemie im täglichen Leben“** von Prof. Dr. Lassar-Cohn. Mit 6 Abbildungen.
- Nr. 6/7: **Ansichten über die Entstehung der Lebewesen** von Prof. Dr. Walther May.
- Nr. 8: **Haeckels Monismus u. seine Freunde** von Prof. Dr. Johannes Reinke.

Umfang jeder Nummer etwa 32 Seiten. Preis jeder Nummer 45 Pfg.

20—99 Nummern, auch gemischt, je 40 Pfg.
100 und mehr „ „ „ „ 35 Pfg.

Die vorstehende Sammlung hat sich zur Aufgabe gemacht, von den populären Schriften und Vorträgen unserer grossen Meister der Naturwissenschaften billige Einzeldrucke zu veranstalten, die gewissermassen als Kostproben für den Schützengraben gelten und zur weiteren Lektüre der grösseren Werke, denen sie entnommen sind, anregen sollen.

