







BIBLIOTHEEK UNIVERSITEIT UTRECHT



2911 202 0

3279

1450

Untersuchungen

über

C. n. 1110

den Rauschbrandpilz.

Inaugural-Dissertation,

der hohen

philosophischen Facultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

T. Ehlers,

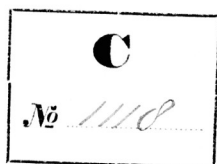
Lehrer bei Lundén.



Rostock.

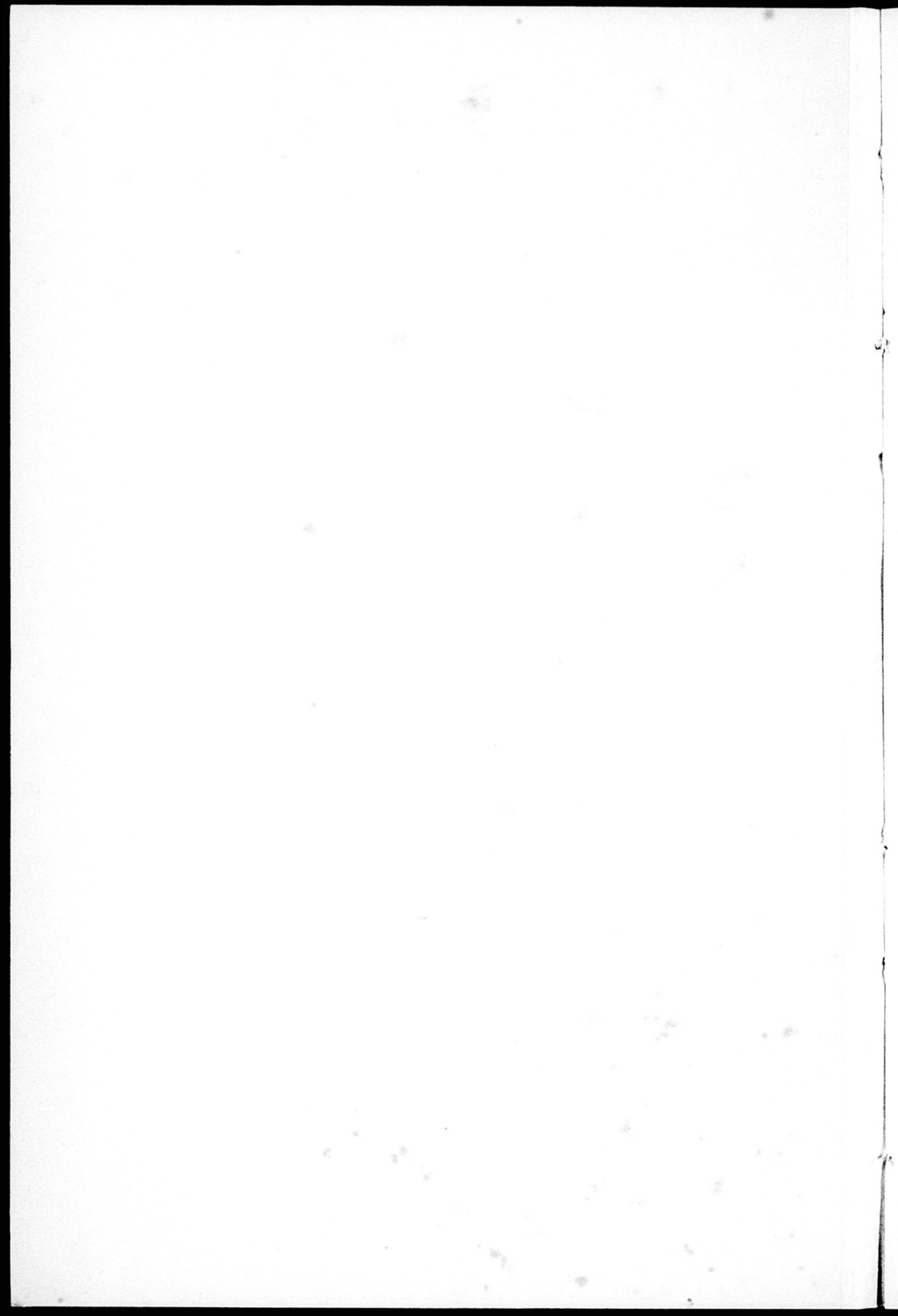
Carl Boldt'sche Hof-Buchdruckerei.

1884.



CHT

Referent: **K. Göbel.**



Einleitung.

Der Rauschbrand tritt an gewissen Orten Jahr aus Jahr ein auf, ähnlich wie der Milzbrand. Eine wie hohe Bedeutung dem Rauschbrande beigelegt werden muss, ist daraus ersichtlich, dass die Krankheit in einzelnen Gegenden, in Schleswig-Holstein, Hannover (nördl. Theil), Oldenburg, den sächsischen Herzogthümern, Franken und in den oberbayerischen Gebirgen stationair ist und hier stellenweise die Rinderheerden in ganz eminenter Weise decimirt. Auch aus Holland, Frankreich, Italien, Ungarn und der Schweiz liegen Mittheilungen von dem Vorhandensein dieser Krankheit vor. Während sie in allen diesen Ländern bei Rindern und besonders bei Jungvieh im Alter bis zu 3 Jahren, selten bei älteren Thieren beobachtet wurde, trat sie in Ungarn auch unter Pferden auf. Nach den Beobachtungen von Feser ¹⁾ betragen die Verluste, welche der Rauschbrand alljährlich unter dem Jungvieh in Oberbayern stellenweise anrichtet, 3—5 %, nach Strebel und Klopfenstein auf einzelnen Weiden der schweizerischen Alpen 20—80 %. Bugnion ²⁾ erwähnt, dass der jährliche Verlust durch die Krankheit im Canton Glarus auf 3—4000 Franken taxirt wird. Nach eigenen Beobachtungen stellt sich der Verlust an Jungvieh in ausgedehnten Gegenden Schleswig-Holstein's auf ca. 8—10 %. Im

¹⁾ Feser: Der Milzbrand auf den oberbayerischen Alpen. München 1877, pag. 85.

²⁾ Jahresbericht über die Leistungen und Fortschritte der gesammten Medicin, herausgegeben von Virchow und Hirsch, Berlin 1877, pag. 549.

Kreise Norderdithmarschen z. B. ist der Rauschbrand überall verbreitet, am häufigsten in den Niederungen, wo Marsch und Geest an einander grenzen. Hier kenne ich Weiden, auf denen fast jedes Stück Jungvieh zu Grunde geht, so dass durch den Rauschbrand die Aufzucht von Rindern sehr beeinträchtigt wird.

Die wichtigsten Erscheinungen des Rauschbrandes sind folgende: Die Thiere erkranken plötzlich, sind traurig, Appetit und Wiederkäuen sistiren. Der Gang wird steif und gebunden; vielfach wird eine Extremität, Vorder- oder Hinterfuss, geschont. Bald bemerkt man an der betreffenden Gliedmasse eine flache, derbe, heisse, nicht scharf umgrenzte, schmerzhaftc Anschwellung, die in kurzer Zeit an Umfang zunimmt. Nach und nach wird die Geschwulst kühl, teigig und unempfindlich. Beim Darüberstreichen mit der Hand lässt sich ein knisterndes, rauschendes Geräusch deutlich vernehmen. (Rauschbrand.) In der Regel sind die Extremitäten von dieser Anschwellung betroffen; sie ist aber auch am Kopfe, Halse, an den Brustseiten, auf dem Rücken und am Euter beobachtet worden. Beim Einschneiden in die Geschwulst tritt eine von Gasblasen durchsetzte, schaumige, dunkelrothe Flüssigkeit über die Schnittfläche hervor. Zu dieser localen Erkrankung treten schwere allgemeine Erscheinungen. Die innere Körperwärme steigt auf $40 - 41,5^{\circ} \text{C.}$; die Zahl der Pulse beträgt oft 150 und die der Athemzüge 35—50 in der Minute. Gewöhnlich liegen die Thiere und sind stark benommen. Der Tod erfolgt oft schon nach einer Krankheitsdauer von 12—24 Stunden, selten nach 2 Tagen.

Sehr selten fehlen die erwähnten Emphyseme in Verbindung mit Erguss einer blutrothen Flüssigkeit unter der Haut. Als Krankheitserscheinungen treten dann Magen-Darmkatarrh, heftiges Muskelzittern, beschleunigtes Athmen, frequente Herzaction, stierer Blick u. s. w. in den Vordergrund. Es ist diese Form des Rauschbrandes als „intestinale Form,“ „Rauschbrand ohne Localisation“ bezeichnet worden (Bollinger). — Folgende anatomische

Veränderungen gehören dem Rauschbrande an: Innerhalb der Geschwülste (Rauschbrandgeschwülste) ist das unter der Haut, den Fascien und zwischen den Muskeln gelegene Gewebe mit einer schaumigen, trüben und rothgefärbten Flüssigkeit durchtränkt. Die Muskelmassen, welche im Bereich der Anschwellungen liegen, sind weich, von grauer, stellenweise von schwarzrother Farbe und häufig von Gasblasen durchsetzt. Der Durchschnitt reagirt alkalisch und zeigt, wenn Gasblasen vorhanden, poröse Erscheinung. In den in der Umgebung der Geschwülste gelegenen Lymphgefässen finden sich sehr oft Gasblasen, perlschnurartig geordnet. Die nächst gelegenen Lymphdrüsen weniger, besonders die entfernteren sind vergrössert, weich und häufig blutig infiltrirt. Die Haut ist auf den angeschwollenen Theilen (Rauschbrandgeschwülste) schwarzroth bis rothbraun gefärbt. Die Haare lassen sich an solchen Stellen leicht ausziehen. Neben diesen localen Veränderungen findet man regelmässig trübe Schwellung der Leber, Nieren und des Herzfleisches. In vielen Fällen ist die Milz vergrössert, weich und tief schwarzroth gefärbt, in anderen dagegen von normalem Umfange und fast gewöhnlicher Beschaffenheit. Blutige Heerde von geringer Grösse finden sich im Bauchfell, Gekröse, Netze und Brustfell, ferner im Herzbeutel, in der Schleimhaut der Respirationswege, des Magen- und Darmcanals. Selten enthalten Bauchhöhle, Pleurasäcke und Herzbeutel verschieden grosse Mengen blutiger, vielfach schwarzroth gefärbter Flüssigkeit. In jedem Fall ist das Blut dunkler von Farbe, wie normal, selbst schwarzroth erscheinend und stets gerinnend.

Der Rauschbrand wird durch einen Spaltpilz hervorgerufen. Da bei dieser Erkrankung fast immer als erste und Haupt-Erscheinung Geschwülste unter der Haut entstehen, ebenso wie nach künstlicher subcutaner Einführung der Rauschbrandpilze, so ist die Annahme zulässig, dass das Eindringen der Parasiten von der Haut aus in der Regel erfolgt. Wahrscheinlich sind es kleine Wunden,

die den Eintritt gestatten. Da Impfungen der Rauschbrandpilze in die Haut erfolglos sind, und nur subcutane Impfungen haften, so ist anzunehmen, dass die kleinen Wunden, durch welche die natürliche Infection statt hat, bis in die Subcutis reichen. Da die Extremitäten vielfach Sitz von Verletzungen sind, so ist hierdurch eine Erklärung für das an ihnen so häufige Auftreten der Rauschbrandgeschwülste gefunden. Jungvieh bis zu 3 Jahren erkrankt vielleicht deshalb häufiger, weil deren Haut dünner und zarter ist, als diejenige älterer Thiere, und daher auch Verletzungen bei jenen leichter bis in die Subcutis dringen können, als bei diesen. Bei der intestinalen Form des Rauschbrandes (Bollinger) gelangt der Pilz wahrscheinlich mit der Nahrung in den Verdauungscanal und von dort ebenfalls durch kleine die Epitheldecke desselben durchdringende Wunden in die übrigen Theile des Thierkörpers.

Die Möglichkeit der Verschleppung und Uebertragung des Rauschbrandpilzes von Cadavertheilen auf gesunde Rinder durch Insecten ist nicht ausgeschlossen. Das zahlreiche Auftreten des Rauschbrandes in den Sommermonaten auf den Weiden spricht um so mehr für solche Annahme, als bei Stallfütterung während der kühlen Jahreszeit die Rauschbranderkrankungen viel seltener sind, und in vielen Fällen diese Art der Uebertragung beim Milzbrande ohne Zweifel nachgewiesen worden ist. Hierauf bezügliche Beobachtungen liegen bis jetzt beim Rauschbrande nicht vor.

Rauschbranderkrankungen beim Menschen sind, obgleich die Infection bei Gelegenheit des Abhäutens oder der Beseitigung der Cadaver ebenso gut wie beim Milzbrande erfolgen könnte, bis jetzt nicht beobachtet. Nur Feser theilt mit, dass die Bewohner der Rauschbrandgegenden (Oberbayerische Alpen) das Fleisch solcher Thiere geniessen, obschon ihnen bekannt ist, dass hiernach nicht selten heftige, akute Darmkatarrhe entstehen. Ich habe zwei an Rauschbrand gestorbene Kälber an Hunde verfüttert und keine Erkrankungen eintreten sehen.

Die vorliegenden Untersuchungen stellten sich besonders zur Aufgabe, die morphologischen Verhältnisse des Rauschbrandpilzes zu erforschen, wobei auch die Biologie nach Möglichkeit berücksichtigt wurde. Wenn sie auch die gewünschte Abrundung und Vollendung nicht erlangt haben, so hoffe ich doch, dass sie zur Klärung bis dahin offener Fragen beitragen werden.

Bei der Beschreibung der einzelnen Culturversuche habe ich die Darstellung und Zusammensetzung der einzelnen Nährmedien angegeben. Hier seien nur kurz die Methode und die beobachteten Vorsichtsmassregeln erwähnt.

Die Culturversuche wurden in gewöhnlichen, mit entfettetem Wattepfropf fest verschlossenen, durch dreistündiges Erhitzen auf 150° C. desinficirten und vorher sorgfältig gereinigten Reagensgläsern vorgenommen. Ebenso waren die zu Züchtungen des Rauschbrandpilzes benutzten Objectträger vorher gut gereinigt und in einem Glähhofen desinficirt. Auch habe ich nur solche Substrate inficirt, bei denen ich mich vorher überzeugt hatte, dass sie keine Spaltpilze enthielten, und benutzte deshalb als flüssigen Nährboden im Brütöfen Gelatinemischungen, weil bei ihnen die Pilzreinheit am leichtesten zu constatiren ist.

Bei der Inficirung, sowie auch bei Entnahme von Proben zur mikroskopischen Untersuchung wurden alle erforderlichen Vorsichtsmassregeln befolgt, namentlich die dazu benutzten Platinnadeln durch Ausglühen gereinigt. Die einzelnen Sectionen und mikroskopischen Untersuchungen wurden meistens unmittelbar, selten einige Stunden nach dem Tode der Thiere vorgenommen.

Bevor ich mich zur Beschreibung der Experimente wende, schicke ich eine solche vom Rauschbrandpilze, sowie über Vorkommen, Nachweis und Verhalten desselben im Thierkörper voraus.

Beschreibung des Rauschbrandpilzes.

Von den bis jetzt bekannten und näher untersuchten pathogenen Spaltpilzen gehören diejenigen des Rauschbrandes zweifelsohne zu denen, welche durch ihre mannigfachen Formverschiedenheiten sich auszeichnen. Die grosse Mehrzahl der stark lichtbrechenden und dadurch glashell und glänzend erscheinenden Rauschbrandpilze ist Clostridium-, eine geringe Anzahl stäbchenförmig gestaltet. Wenn ich bei Beschreibung der Rauschbrandpilze in Clostridium- und stäbchenförmig gestaltete trenne, so geschieht es nur der Deutlichkeit wegen. Zwischen diesen beiden Hauptformen existiren Zwischenformen, welche den Uebergang von einer zur anderen vermitteln. Beständig ist keine; sie sind eben Formen, deren Trennung eine künstliche ist, und die durch Zwischenformen mit einander verbunden sind. Ferner soll mit dieser Gruppierung nicht gesagt werden, dass in dem einen Thiere nur die Clostridium-, in dem anderen lediglich die stäbchenförmigen vorkommen, sondern beide Formen finden sich in allen an Rauschbrand gestorbenen Thieren. Nur sind einige Unterschiede unter den einzelnen Theilen und Organen des Thierkörpers bezüglich der Menge ihres Vorkommens. Beide Formen sind aber fast überall verbreitet; nur habe ich insofern Unterschiede feststellen können, als diese oder jene Form in gewissen Regionen des Thierkörpers praevalirt.

a) Die Clostridium-förmigen Rauschbrandpilze.

Die Enden sind bei den Clostridium-förmigen Rauschbrandpilzen nicht scharf abgeschnitten, ähnlich wie bei den Milzbrandbakterien. Diese Rauschbrandpilze machen den stäbchenförmigen gegenüber den Eindruck des „Dicken und Plumpen“, weil ihr Breitendurchmesser nicht so auffallend von dem der Länge verschieden ist, wie bei letzteren. Die Breite variirt zwischen ca. 0,001 mm und ca. 0,002 mm. Die Länge zwischen ca. 0,003 mm und ca. 0,006 mm. Diese Schwankungen sind bei den Clostridium-

artigen Formen häufig und treten auch ohne Messungen klar hervor. Bei einigen Rauschbrandpilzen ist die Clostridium-Form stark ausgeprägt, bei anderen weniger.

Die Clostridium-förmigen Rauschbrandpilze lassen sich in 3 Gruppen bringen: (Fig. 2, 3 und 4.)

1. Solche, und sie sind die Mehrheit, die ei- oder citronenförmig gestaltet sind. Ich vergleiche sie mit derjenigen Gestalt, welche die Fläche eines medianwärts in der Längenrichtung durchschnitten gedachten Eies resp. einer ebenso getheilten Citrone bietet. „Ei- resp. Citronenform.“ Erstere ist sehr häufig, letztere selten. Auch ist bei dieser die Papille an den beiden Enden sehr wenig ausgeprägt. Da beide Formen häufig in solche mit mehr oder weniger spitz auslaufenden resp. mehr oder weniger abgerundeten Enden übergehen, so habe ich in der weiteren Darstellung der Klarheit wegen für alle diese Formen meistens die gemeinsame Bezeichnung „Citronenform“ gebraucht, dagegen in Fig. 2 der Abbildung die Unterschiede hervortreten lassen. Am meisten Aehnlichkeit haben diese citronenförmigen Pilze mit den von Prazmowski¹⁾ abgebildeten Spindel- und Citronenformen des *Clostridium butyricum* (Fig. 2).

2. Solche, deren Gestalt weniger citronenförmig ist, sondern Aehnlichkeit hat mit der einer Keule. „Keulenform.“ Das eine Ende dieser Rauschbrandpilze ist nämlich dicker, als das andere. Indessen geht das dickere Ende ganz allmählich, ohne scharfe Abgrenzung und ohne irgend welche Andeutung hierzu in das dünnere über, das dickere Ende verjüngt sich gleichmässig nach dem dünneren. Bei einigen keulenförmigen Rauschbrandpilzen ist das dickere Ende mehr bauchig gestaltet, als bei anderen; der Uebergang in das dünnere Ende ist aber bei allen allmählich und gleichmässig. Die Keulenform ist nicht sehr

¹⁾ Prazmowski: Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterien-Arten. Tafel II, Fig. 2,a. Leipzig 1880.

häufig, jedoch häufiger, als die sub 3 beschriebene „Kopfform“. (Fig. 3.)

3. Solche, deren Gestalt kopfförmig erscheint. „Kopfform.“ Das eine Ende ist dicker, als das andere und geht nicht allmählich in das dünnere über, sondern zeigt dort, wo es mit diesem in der Mitte zusammengrenzt, geringe Einschnürung. Eine Trennung beider Enden ist aber nicht vorhanden, sondern das dickere Ende ist von dem dünneren durch eine seichte Einschnürung deutlich abgesetzt. Dadurch erscheint das Ganze kopfförmig gestaltet. Die Kopfform der Rauschbrandpilze hat gewisse Ähnlichkeit mit der von Prazmowski¹⁾ abgebildeten Kaulquappen- oder geschwänzten Kopfform des *Clostridium butyricum*. Das dünnere Ende ist aber bei der Kopfform des Rauschbrandpilzes kürzer, als bei der Kaulquappenform, und bedeutend kürzer, als bei der geschwänzten Kopfform des *Clostridium butyricum*. Wie bei den sub 1 und 2 genannten Gruppen, so giebt es auch in der Gestaltung der kopfförmigen Rauschbrandpilze Verschiedenheiten und Schwankungen. Bei einigen ist die Kopfform deutlich erkennbar, bei anderen weniger; einige haben dickere resp. dünnere Enden, als andere; bei einigen ist die Einschnürung deutlicher ausgeprägt, als bei anderen. Die Kopfform wird selten beobachtet. (Fig. 4.)

Es bedarf wohl kaum der Erwähnung, dass, wie zwischen den *Clostridium*- und stäbchenförmigen Rauschbrandpilzen Formen existiren, welche bald mehr dieser, bald mehr jener Abtheilung anzugehören scheinen, so auch unter den drei Gruppen der *Clostridium*-förmigen Rauschbrandpilze Formen sind, die bald mehr citronen-, keulen- oder kopfförmig erscheinen.

b) Die stäbchenförmigen Rauschbrandpilze (Fig. 1).

Im Gegensatz zu der sub a) beschriebenen macht die „Stäbchenform“ mehr den Eindruck des „Dünnen und

¹⁾ l. c. Tafel II, Fig. 2 c.

Schlanken“. Das „Bauchige“ fehlt mehr oder weniger und ist manchmal kaum oder gar nicht zu erkennen. Die Abrundung der Enden tritt dadurch nicht so stark hervor, als bei den Clostridium-förmigen Rauschbrandpilzen, da bei diesen die sanfte Biegung der bauchigen Verdickung ganz allmählich in die abgerundeten Enden übergeht. Die Länge der stäbchenförmigen Rauschbrandpilze ist sehr verschieden. Langstäbchen messen ca. 0,006 mm, Kurzstäbchen ca. 0,003 mm. Die Breite beträgt mit Einschluss der Uebergänge zu den Clostridium-förmigen Pilzen ca. 0,001 mm.

Vorkommen, Nachweis und Verhalten der Rauschbrandpilze im Thierkörper.

a) in Flüssigkeiten.

Im Blute ist der Rauschbrandpilz in bedeutend geringer Anzahl, als in derjenigen Flüssigkeit, welche sich in der Subcutis, besonders in der Umgebung der Impfstellen bildet. Hier ist der Pilz stets in überaus zahlreicher Menge nachzuweisen, aber in beiden Flüssigkeiten finden sich alle Formen, mit Ausnahme von Coccen. (Siehe Versuch XVII). An Anzahl sind im Blute mehr Stäbchen-, als Clostridium-Formen, während in der subcutanen Flüssigkeit die letzteren praevaliren. Bei Rindern finden sich im Blute mehr Rauschbrandpilze, als bei Meerschweinchen. Bemerkenswerth ist, dass besonders in der subcutanen Flüssigkeit, niemals im Blute bei an Impfrauschbrand gestorbenen Thieren, (Kalb und Meerschweinchen), dagegen wieder in derjenigen Flüssigkeit, welche sich im vorderen Mediastinum bei einem in gleicher Weise gestorbenen Kalbe angesammelt hatte, ausser Pilzen ohne Sporen, zahlreiche mit Sporen erkennbar waren. An Menge praevalirten erstere. Frei liegende Sporen habe ich nicht angetroffen. Die Spore ist eiförmig, ausserordentlich hellglänzend und vollkommen endständig.

so dass deren eine Pol mit demjenigen des Pilzes zusammenfällt. Die Spore misst ca. 0,001 mm in der Länge, ihre Breite ist unmessbar. In den stäbchenförmigen Rauschbrandpilzen habe ich keine Sporen bemerkt, sondern nur in den Clostridium-förmigen und von diesen wieder nur in solchen, die meistens das grösste Längenmass zeigten und mehr oder weniger eiförmig gestaltet waren. Die Rauschbrandpilze zeigen an Ort und Stelle selbstständige Bewegungen, die sehr wenig ausgeprägt erscheinen. Deutliche Bewegungen oder gar Schwärmbewegungen finden nicht statt, weil keine Lageveränderung der einzelnen Pilze erfolgt. Es hat den Anschein, als wenn sehr schwache Seitwärtsdrehungen der beiden Enden um die mediane Queraxe sich bemerkbar machen. Auch bei den sporentragenden Rauschbrandpilzen findet scheinbar dieselbe Bewegung statt. Ueberhaupt habe ich hierin keine Unterschiede zwischen den Clostridium- und stäbchenförmigen gefunden. Niemals gruppieren die Rauschbrandpilze sich zu längeren Ketten; man findet sie fast immer einzeln liegend, selten zu zwei bis drei mit den Enden an einander gelagert. Auch sah ich selten eine Clostridiummit einer Stäbchenform, sondern fast immer zwei Individuen der einen oder zwei der anderen Gruppe paarweise vereinigt. Von den Clostridium-förmigen Rauschbrandpilzen habe ich solche Verbindungen bei der Ei- resp. Citronenform häufig und im Vergleich zu der Stäbchenform bei weitem am häufigsten diese Lagerung überhaupt feststellen können. Sporentragende Rauschbrandpilze liegen stets frei. Die Trennung zwischen den mit den Enden an einander geketteten Pilzen ist deutlich zu erkennen. Durch Eintrocknung am Deckgläschen und Färbung mit in Wasser verdünnten alkoholischen Lösungen von Fuchsin und Methylviolett sind die einzelnen Formen in ihren Umrissen leicht zu bestimmen. Aber auch ohne Färbung lassen sich die Contouren genau fixiren. Auffallend ist, dass die eiförmigen Sporen sich ebenso gleichmässig färben, wie die sie beherbergenden Pilze. Durch Ein-

trocknen und Färben am Deckgläschen nimmt der Längen- und Breitendurchmesser der Rauschbrandpilze in geringem Grade ab.

b) in Geweben.

In der Unterhaut liegen die Pilze in den Interstitien, aber nicht gleichmässig und überall verbreitet, sondern haufen- oder nesterweise. Eine ähnliche regellose Lagerung ist, da Capillargefässe in der Milz fehlen, auch hier vorhanden, wo die Rauschbrandpilze in den Interstitien des Parenchyms sich befinden. Jedoch ist hervorzuheben, dass die Haufen oder Nester nicht Zellenanhäufungen entsprechen, dass die Pilze vielmehr immer frei, niemals weder in Bindegewebszellen, noch in weissen Blutkörperchen angetroffen werden. Eine Eiterung wird durch dieselben niemals hervorgerufen und beruht, wo sie, wie in Versuch I, Anmerkung, vorkam, auf Verunreinigung.

Die Rauschbrandpilze liegen in den Organen in den Blutgefässen. Vielfach ist die Längsachse der Pilze der Gefässwand parallel gerichtet, häufig aber auch mehr oder weniger senkrecht gestellt. Eine regelmässige Anordnung fehlt durchgehends. Kurze Kettenverbände sieht man selten, und wenn sie vorhanden, so ist die Anordnung der einzelnen Formen ebenso, wie in der Flüssigkeit der Subcutis und im Blute. Meistens sind die Pilze ohne jeglichen Zusammenhang mit einander. Beim Rinde waren die von mir untersuchten Organe (Lunge, Leber, Nieren und Milz) mit Rauschbrandpilzen stark durchsetzt, dagegen fand ich sie bei Meerschweinchen nur sparsam in der Milz und in den Lungen, häufiger in der Leber und gar nicht in den Nieren. Auch in der Subcutis des Meerschweinchens sind die Pilze nicht so stark vertreten, wie in derjenigen des Rindes. In den Nieren des Rindes sind die Gefässe der Glomeruli besonders stark durch sie angefüllt. Auch in den übrigen Gefässen, namentlich in denen, welche die geraden Harnkanälchen umspinnen, sind die Rauschbrandpilze zahlreich vorhanden. In allen

Gefäßen der Leber, besonders in den Pfortaderästen und der Centralvene sind sie ebenfalls in zahlloser Menge nachzuweisen. Die Gefäße der Lunge sind fast ebenso stark von Pilzen angefüllt, wie die der Niere, und vereinzelt trifft man frei liegende in den Alveolen. Sporentragende habe ich in den Geweben nicht nachweisen können, sondern nur in solchen Flüssigkeiten, die während der Krankheit entstanden waren und jene mehr oder weniger durchtränkten. (Siehe Vorkommen der Rauschbrandpilze in Flüssigkeiten Seite 13.)

Während die Färbung der Pilze, wenn sie in dünner Flüssigkeitsschicht auf das Deckgläschen aufgestrichen und getrocknet sind, mit den verschiedenen gebräuchlichen Anilinfarben, namentlich Gentianaviolett und Fuchsin ziemlich leicht gelingt, sind ausreichend gefärbte Schnitte schwierig zu erhalten. Die Organismen werden, ebenso wie die Typhusbakterien, immer etwas schwächer oder höchstens in der gleichen Intensität gefärbt, wie die Gewebkerne, und lassen bei der Behandlung mit Alkohol den Farbstoff sehr schnell wieder fahren, so dass sie, wenn eine distincte Kernfärbung erreicht ist, meist schon wieder völlig entfärbt sind. Nachfolgende Behandlungen mit Essigsäure, Chlorzink, Kalilauge, auch in alkoholischer Lösung, Sublimat etc. ändern an diesem Verhalten nichts. Haematoxylin und verschiedene Carminpräparate färben die Pilze nicht, ebensowenig Orseille in der von Weigert resp. Wedel angegebenen Methode. Am zweckmässigsten bleibt für die Untersuchung von Schnitten die einfache Aufhellung mit Essigsäure event. nach vorgängiger Färbung mit Lugol'scher Lösung. Die Pilze zeigen die bemerkenswerthe Eigenthümlichkeit, dass sie in allen im Thierkörper auftretenden Formen durch Jod gefärbt werden. Im Blute, in der subcutanen Flüssigkeit und in den übrigen Geweben färbt Jod die Stäbchenformen blau, während die Clostridium-Formen dunkel- bis schwarzviolett erscheinen. Einzelne Clostridium-Formen des Rauschbrandpilzes sind durch Jod öfter nur stellenweise, andere

und zwar sporentragende bis auf die nächste Umgebung der Spore gefärbt, die durch Jod nicht verändert erscheint.

Experimente.

Da ich den Rauschbrand nur beim Rinde kannte, und obwohl die Krankheit in dem Bezirke meiner Praxis (nördlicher Theil des Kreises Norderdithmarschen) bei dieser Thiergattung sehr häufig ist, ich aber bei Pferden, Schafen und Ziegen niemals Erkrankungen an Rauschbrand beobachtet habe, so lag mir zunächst daran, festzustellen, ob der Rauschbrandpilz vom Rinde auf eine andere Thier-species, auf Meerschweinchen, und von diesen wieder auf das Rind zu übertragen sei, nachdem er durch fortgesetzte Impfungen unter Meerschweinchen sich constant erhalten haben würde.

Vor allen Dingen kam es ferner darauf an, für die Züchtung des Rauschbrandpilzes ausserhalb des Thierkörpers reines Material zu benutzen. Dies zu erlangen ist eine der grössten Schwierigkeiten, und diese zu überwinden muss mit ganz besonderer Sorgfalt und Aufmerksamkeit erstrebt werden. Dadurch erst können Reinculturen desjenigen Pilzes gewonnen und erhalten werden, mit denen ausschliesslich allein, ohne Beimischung von anderen, Experimente vorzunehmen sind. Um dies zu erreichen, machte ich zunächst Impfversuche mit rauschbrandhaltigem Material an Thieren. Durch wiederholte und fortlaufende Uebertragung des Rauschbrandpilzes von einem Thiere auf das andere erhielt ich reines Aussaatmaterial für Züchtungen des Pilzes ausserhalb des Thierkörpers.

Das zu den Impfversuchen benutzte Material war auf einer Weide im Bezirke meiner Praxis einem an Rauschbrand gestorbenen einjährigen Rinde kurz vor und unmittelbar nach dem Tode entnommen worden. Es hatte sich bei diesem Thiere an der linken Schulterfläche im Umfange eines mittelgrossen Speisetellers eine Rauschbrandgeschwulst entwickelt. Diese wurde gespalten, und

die über die Schnittfläche hervortretende, blutroth gefärbte Flüssigkeit als Impfmateriel benutzt. Das Rind ist nach ca. 33—36 stündiger Krankheit gestorben.

Die in Versuch I an Meerschweinchen A und B ausgeführten Impfungen fanden nicht unmittelbar nach Entnahme der Rauschbrandflüssigkeit aus der Geschwulst statt, sondern die entnommene Flüssigkeit wurde vorher in ein Glas gethan, welches nebst dem Korke durch mehrstündiges Kochen in Wasser desinficirt worden war. Nach Füllung des Glases bis an den fest schliessenden Kork wurde der vollständige Luftabschluss durch Siegelack bewirkt. In Versuch I, Anmerkung, benutzte ich zu Impfungen an Meerschweinchen C und D Rauschbrandblut, welches intravitam durch Aderlass an der Jugularis demselben einjährigen Rinde entnommen und in ein unter den beschriebenen Cautelen desinficirtes und verschlossenes Glas gethan worden war. Am 7. Tage nach Füllung beider Gläser wurde der Verschluss entfernt und die Impfversuche ausgeführt.¹⁾

Alle Impfungen wurden in der mittleren Rücken- gegen subcutan gemacht, nachdem vorher die Haare an der Impfstelle kurz abgeschnitten waren. Bei den Impfungen in Versuch I wurde eine vorher in Sublimatlösung desinficirte Injectionsspritze angewandt, bei allen übrigen die Haut der Thiere so weit durchschnitten, dass die Pilzmasse mittelst Messers und Pincette 3—4 cm und weiter von dem Hautschnitt entfernt in die Subcutis eingeführt werden konnte.

Mikroskopischer Befund:

1. In der Flüssigkeit der gespaltenen Rauschbrandgeschwulst des Rindes: Rothe und weisse Blutkörperchen, körniger Detritus nebst sehr vereinzelt Exemplaren eiförmiger Kugeln, die stark lichtbrechend und mit einer

¹⁾ Anm. Da ich meine Untersuchungen nur in einem Institute ausführen konnte, so war ich gezwungen, auf diese Art Material zu sammeln. Es verstrichen 7 Tage bis dahin, wo ich im Pathologischen Institut zu Rostock meine Arbeiten aufnehmen konnte.

dunklen Zone ringförmig umgeben sind. An diese schliesst sich nach aussen ein hellgelb bis gelbweiss erscheinender Hof. Mit Methylviolett lassen diese Kugeln sich gleichmässig färben. Ich halte die eiförmigen Kugeln für Sporen des Rauschbrandpilzes. Clostridium-, resp. Stäbchenformen oder Coccen habe ich nicht erkennen können, und in vielen Präparaten waren auch die beschriebenen Kugeln nicht nachzuweisen. Da sich später Fäulnisbakterien im Glase angesammelt hatten, so konnte ich keine weiteren Untersuchungen über die Sporen anstellen.

2. In dem aus der Jugularis genommenen, zu einem festen Kuchen geronnenen Blute vom Rinde: Rothe und weisse Blutkörperchen, in sehr geringer Menge kurze und meistens dünne, nicht mit einer eiförmigen, endständigen Spore versehene Pilze. Ihre Anzahl ist so unbedeutend, dass sie in mehreren Präparaten nicht nachzuweisen waren.

Versuch I.

Einem Meerschweinchen, A, wurde 0,75 ccm, einem anderen, B, 0,25 ccm der erwähnten Rauschbrandflüssigkeit injicirt. A starb 37, B 42 Stunden nach der Impfung.

Section ¹⁾: An der Impfstelle unter der Haut und zwischen den Muskeln bei A viel schaumige, blutroth gefärbte Flüssigkeit, die voller Gasblasen ist; bei B dasselbe, aber weniger Gasblasen.

Mikroskopischer Befund: Bei A Flüssigkeit in der Unterhaut voll von dicken und kurzen, mit den Seite 14 beschriebenen Bewegungserscheinungen versehenen Pilzen, von denen einige eine endständige, eiförmige, stark glänzende Spore tragen. Dünnere und mit eben so geringen Bewegungsmerkmalen ausgestattete Pilze wie vorstehende sind nicht sehr häufig. Bei allen schwankt die Länge und Breite. Bei B dasselbe, nur scheint die Anzahl der Pilze

¹⁾ Bei Angabe der Sectionsergebnisse und des mikroskopischen Befundes beschränke ich mich darauf, dasjenige hervorzuheben, was speciell dem Rauschbrande angehört, hier constant gefunden wird und sich daher stets wiederholt.

eine geringere zu sein als bei A. Im Blute finden sich bei beiden Thieren dieselben Pilze, aber ohne Sporen und in bedeutend geringer Menge, als in der Flüssigkeit der Subcutis; in einigen Präparaten des aus den durchschnittenen Halsgefässen tröpfelnden Blutes waren keine Pilze zu bemerken. Gewöhnlich liegen sie einzeln, selten zu zweien mit den Enden an einander. (Siehe: Beschreibung des Rauschbrandpilzes, sein Vorkommen, Nachweis und Verhalten im Thierkörper, Seite 10 u. f.)

Anmerkung: Meerschweinchen C wurde 1,75 cbcm, einem anderen, D, 0,50 cbcm Rauschbrandblut subcutan injicirt, welches intra vitam durch Aderlass aus der Jugularis des Rindes, wie bereits angeführt, entnommen und aufgehoben worden war.

C starb 70 Stunden nach der Impfung.

Section: Geringe eitrige Infiltration der Subcutis, bis auf die Bauchfläche reichend, keine Gasblasen. Im Blute keine Pilze, in der Flüssigkeit der Subcutis nur sich leicht bewegende, dicke und kurze ohne Sporen.

D starb 124 Stunden nach der Injection.

Section: An der Impfstelle eitrige Infiltration der Haut und des umgebenden Bindegewebes, blutige Durchtränkung der Bauchmuskeln, in geringem Grade schaumig. Im Blute und in der Flüssigkeit der Unterhaut kurze und dicke Pilze ohne Sporen, daneben zahlreiche sehr dünne und sehr lange, sich stark bewegende. Letztere gehörten nicht dem Rauschbrande an.

Es ist nach dem Sections- und mikroskopischen Befunde anzunehmen, dass diese Thiere nicht an reinem Rauschbrand gestorben sind.

Versuch II.

Von dem subcutanen Gewebe in der Umgebung der Impfstelle des Meerschweinchens A (Versuch I) wurde ein Stückchen in der Grösse einer Linse einem anderen, E, unter die Rückenhaut gebracht. Das Thier starb 30 Stunden nach der Impfung.

Section: Das implantirte Stückchen liegt als gelbweisse, bröckliche Masse frei. In der Unterhaut, nach dem Schwanze zu, blutige, gering schaumige Flüssigkeit; dieselbe, aber stärker schaumig, unter der Haut der

Bauchdecken und der Brust. Bindegewebe zwischen den Brustmuskeln stark mit Gasblasen durchsetzt. Das aus einzelnen Venen fließende Blut stark schaumig. Mesenterium stellenweise dicht von Gasblasen durchsetzt.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt dieselben Pilze wie in Versuch I bei Meerschweinchen A und B.

Versuch III.

Ein erbsengrosses Stückchen von dem subcutanen Gewebe in der Umgebung der Impfstelle des Meerschweinchens E wurde einem anderen, F, unter die Haut des Rückens gebracht. Das Thier starb 48 Stunden nach der Impfung.

Section: In der Umgebung der Impfstelle schwach schaumige Flüssigkeit. Bauchmuskeln und die anliegende Unterhaut mit einer blutigen, schwach schaumigen Flüssigkeit durchtränkt.

Mikroskopischer Befund: Dieselben Pilze wie bei Meerschweinchen A und B in Versuch I.

Versuch IV.

Ein eben so grosses Stück der Unterhaut wie im vorigen Versuche wurde in der Umgebung der Impfstelle des Meerschweinchens F entnommen und einem anderen, G, unter die Rückenhaut geschoben. Das Thier starb 24 Stunden nach der Impfung.

Section: Nach der Bauchseite zu starke Anhäufung einer blutigen, mit Gasblasen durchsetzten Flüssigkeit.

Mikroskopischer Befund: Dieselben Pilze wie in Versuch I bei Meerschweinchen A und B.

Versuch V.

Einem 8 Tage alten, gesunden Kalbe wurde an drei verschiedenen Stellen rauchbrandhaltiges Material, von

dem Meerschweinchen G entnommen, unter die Haut des Rückens gebracht:

1. ein Stückchen Muskulatur von der Grösse einer Linse,
2. ein mit subcutaner Flüssigkeit durchtränkter, vorher in heisser Luft desinficirter Wattepfropf von gleicher Grösse,
3. ein eben so grosses Stückchen Unterhaut.

Die per anum gemessene Temperatur stieg innerhalb 50 Stunden, wo der Tod erfolgte, von ursprünglich 37,8° C. auf 41,8° C. In der Umgebung der drei Impfstellen, auf dem Rücken entlang, an der linken Fläche des Halses und der Brust, sowie auf der Kruppe hatten sich die charakteristischen Rauschbrandgeschwülste entwickelt. Beim Ueberstreichen mit der Hand war ein knisterndes, rauschendes Geräusch deutlich zu vernehmen, ein Beweis, dass Gase und Flüssigkeit in der Subcutis sich gebildet hatten.

Section: Subcutis mit schaumiger Flüssigkeit dort angefüllt, wo die Rauschbrandgeschwülste sich entwickelt haben. Schaumig-blutige Flüssigkeit im Herzbeutel. Milz nicht vergrössert, aber Gewebe derselben schaumig. Aus den Lebergeässen fliesst stark schaumiges Blut, das Lebergewebe selbst braunroth. Kapsel der einen Niere durch Gasblasen aufgetrieben. Keine Flüssigkeit in der Bauchhöhle.

Mikroskopischer Befund: In der subcutanen Flüssigkeit und in derjenigen, welche sich im vorderen Mediastinum angesammelt hatte, zahlreiche selten dünne und kurze, meistens dicke und kurze Pilze, viele ohne, einzelne mit hellglänzender, endständiger, eiförmiger Spore. Im Blute in geringer Anzahl neben dicken und kurzen Pilzen hauptsächlich dünnere, alle ohne Sporen. (Siehe: Beschreibung des Rauschbrandpilzes, sein Vorkommen, Nachweis und Verhalten im Thierkörper, Seite 10 u. f.)

Der in Versuch I (mit Ausnahme der Anmerkung) bis Versuch V kurz erwähnte Befund, nämlich:

1. die regelmässige Ansammlung von Gasen in der blutroth gefärbten Flüssigkeit, welche sich in vielen Geweben, namentlich in dem Bindegewebe der Unterhaut und zwischen den Muskeln bildete; ferner die Ansammlung von Gasen im Blute und in einzelnen Organen (Milz des Kalbes); desgleichen die Bildung der knisternden Geschwülste unter der Haut des Kalbes;
2. das constante Auftreten derselben Pilze, wie sie in Versuch I bis V kurz beschrieben (ohne die Anmerkung zu Versuch I),

beweist, dass der Rauschbrandpilz vom Rinde auf Meerschweinchen übertragbar, sich durch fortlaufende Impfung unter Meerschweinchen erhalten kann und auch von dieser Thierspecies wieder auf das durch natürliche Infection ursprünglich und, so weit meine Beobachtungen reichen, ihn ganz allein beherbergende Rind mit Erfolg zu impfen ist.

Nachdem diese Uebertragung des Rauschbrandpilzes sich erwiesen hatte, war ich sicher, ihn ganz allein ohne Verunreinigung für Züchtungen ausserhalb des Thierkörpers verwenden zu können.

Versuch VI.

Von der subcutanen Flüssigkeit des Kalbes, welche sich in den Rauschbrandgeschwülsten gebildet hatte, impfte ich in zahlreichen Fällen sterilisirtes Blutserum.¹⁾ Diese Impfungen sind stets gelungen. (Siehe: Befund in Blutserumculturen, Seite 30.)

¹⁾ Bereitung: Nachdem das Serum von Rinderblut rein gewonnen war, füllte ich es in Reagensgläschen, die mit Wattepfropf verschlossen. 5 Tage lang, täglich 1½ Stunden auf 56—58° C. im Wasserbade erwärmt wurden. Zur Gerinnung genügte ein mehrstündiges Erwärmen auf 65—67° C.

Versuch VII.

Impfungen des Rauschbrandpilzes von an Impfrauschbrand gestorbenen Thieren (Meerschweinchen E in Versuch II, G in Versuch IV, J in Versuch XIV und K in Versuch XV) in Pepton (Fleischwasserpeptongelatine, Löffler) auf Objectträgern wurden zu vier verschiedenen Malen mit stets negativem Erfolge vorgenommen.¹⁾ Zweimal benutzte ich je 6 und zweimal je 9 Objectträger. Obgleich mit der Impfnadel rauschbrandhaltiges Material (Subcutisflüssigkeit) in jeden langen und dicken Pepton-tropfen hineingetragen worden war, so erfolgte doch keine Vegetation. Auch konnte ich Pepton in Reagensgläsern nicht inficiren.

Versuch VIII.

Uebertragungen des Rauschbrandpilzes von an Impfrauschbrand gestorbenen Thieren (Meerschweinchen) in Pflanzeninfus auf Objectträgern und in Reagensgläsern hatten denselben negativen Erfolg wie auf Pepton im vorigen Versuche.²⁾

¹⁾ Das Pepton war bereitet, indem frisches, fein zerkleinertes Rindfleisch in destillirtes Wasser zu gleichen Theilen gethan, und nach Ausziehen des Fleisches durch das Wasser die Flüssigkeit ausgepresst, gekocht und filtrirt wurde. Dem Filtrat wurde 1 Procent Pepton und 0,6 g reines Kochsalz hinzugesetzt. Nach Neutralisirung erfolgte die Desinfection in strömendem Dampfe. Hierauf wurde eine Vermischung mit einer gleichen Menge 7procentiger Gelatinelösung und ein starkes Aufkochen vorgenommen.

²⁾ Das Pflanzeninfus war bereitet, indem 50,0 g Waizenkörner mit 50,0 g kochendem Wasser übergossen wurden und $\frac{1}{2}$ Stunde lang macerirten. Hierauf wurden die Waizenkörner in einer Reibschale zerquetscht und mit 50,0 g kochendem Wasser verrieben. Nachdem die Flüssigkeit aus den Waizenkörnern durch Quetschen mit der Hand entfernt worden, wurde sie filtrirt, gekocht und in strömendem Dampfe desinficirt. Diese Flüssigkeit wurde hierauf mit der gleichen Menge 8procentiger Gelatinelösung vermischt und stark aufgekocht.

Versuch IX.

Von Blutserumculturen, die Lang-, Kurzstäbchen und Coccen, einzeln und in Ketten enthielten (siehe: Befund in Blutserumculturen, Seite 30), impfte ich mit Erfolg Pepton auf Objectträgern und in Reagensgläsern (siehe: Befund in Peptonculturen, Seite 33 u. f.).

Versuch X.

Culturen des Rauschbrandpilzes in Pepton auf Objectträgern (siehe: Befund in Pepton auf Objectträgern, Seite 35) erhielt ich bis zur 6. Generation, die von der 3. in Pflanzeninfus (in Reagensgläsern) abgeimpft worden war. (Siehe: Befund in Pflanzeninfus, Seite 37.) Die erste und zweite Generation waren in Blutserum bei Brütowärme ($36-38^{\circ}\text{C.}$), die übrigen bei Zimmertemperatur (20°C.) gezüchtet worden.

Versuch XI.

Von Blutserumculturen impfte ich mit Erfolg Pflanzeninfus auf Objectträgern und in Reagensgläsern. (Siehe: Befund in Pflanzeninfus, Seite 37.)

Versuch XII.

Mit der 2. Generation einer in der 1. durch subcutane Flüssigkeit vom Kalbe (Versuch V und VI) inficirten Blutserumcultur wurde, nachdem sich am vierten Tage nach Abimpfung von der 1. auf die 2. Generation lediglich Coccen, in der Regel einzeln, selten in Ketten gebildet hatten, ein Meerschweinchen, H, subcutan geimpft. Beide Blutserumculturen hatten sich bei Brütowärme entwickelt. Die Impfung wurde, wie Seite 18 beschrieben, ausgeführt. Die eingeführte Pilzmasse wurde durch Blutserum in Form eines spitzen, unregelmässig kegelförmigen Zapfens zusammengehalten. Die Basis betrug ca. 1 und die Höhe des Zapfens ca. 2 cm. Das Thier starb ca. 48 Stunden nach der Impfung.

Section: Keine Flüssigkeit in der Bauchhöhle, im Pleurasack und im Herzbeutel. An den inneren Organen

keine für Rauschbrand speciell zu erwähnende Veränderungen. Unterhaut voll von blutrother Flüssigkeit. Gasblasen konnten nirgends so deutlich nachgewiesen werden wie in Versuch I—V.

Mikroskopischer Befund: Dieselben Pilze wie in Versuch I (ohne Anmerkung) bei Meerschweinchen A und B. (Siehe: Beschreibung des Rauschbrandpilzes, sein Vorkommen, Nachweis und Verhalten im Thierkörper, Seite 10 u. f.)

Versuch XIII.

a) Impfungen in Blutserum von der subcutanen Flüssigkeit des Meerschweinchens im vorigen Versuche ergaben bei Zimmertemperatur und Brütowärme dieselben erfolgreichen Resultate wie die gleichen Impfungen vom Kalbe. (Siehe: Befund in Blutserumculturen, Seite 30, und Versuch VI, Seite 23.)

b) Impfungen von den so im Blutserum gewonnenen Culturen hafteten ebenfalls in Pepton auf Objectträgern. (Siehe: Befund in Peptonculturen auf Objectträgern, Seite 35.)

Versuch XIV.

Einem Meerschweinchen, J, wurde ein eben so grosses Stückchen Pilzmasse wie in Versuch XII unter die Haut des Rückens gebracht. Die Pilzmasse bestand aus lauter Coccen und war vom Kalbe in der 1. und 2. Generation in Blutserum bei Brütowärme gezüchtet, von der 2. Generation in Pflanzeninfus geimpft und hierin bei Zimmertemperatur 8 Tage lang gehalten worden. Das Meerschweinchen starb 48 Stunden nach der Impfung.

Section: Derselbe Befund wie in Versuch XII.

Mikroskopische Untersuchung: Dieselben Pilze wie in Versuch I (ohne Anmerkung) bei Meerschweinchen A und B.

Versuch XV.

Einem Meerschweinchen, K, wurden zwei Dritttheile von der Pilzmasse eines in Pepton üppig gewachsenen

Impfstriches von grauweissem Aussehen unter die Rückenhaut geschoben. Die Pilzmasse bestand aus Coccen und war, wie in Versuch X angegeben, gezüchtet worden. Das Meerschweinchen starb ca. 48 Stunden nach der Impfung.

Section und mikroskopischer Befund wie beim Meerschweinchen H in Versuch XII.

Versuch XVI.

Folgende Impfungen wurden ausgeführt:

- a) in Pepton bei Brütowenwärme
 - 1. von Blutserum - Culturen,
 - 2. von Pepton - Culturen.

Der Befund war in allen Fällen wie Seite 33 u. f. angegeben ist.

- b) in Blutserum bei Brütowenwärme
von Pepton - Culturen.

Auch hier zeigte sich der Seite 30 u. f. angegebene Befund.

Versuch XVII.

a) Die bei dem an Impfrauschbrand gestorbenen Kalbe (Versuch V) im vorderen Mediastinum gebildete Flüssigkeit wurde in vorher desinficirten und mit Wattepfropf verschlossenen Reagensgläsern, wie Seite 9 angegeben, in den Brütowen gestellt und alle 24 Stunden, 7 Tage hindurch, untersucht. Es fanden sich bei der ersten Untersuchung, unmittelbar nach dem Tode des Kalbes, die in Versuch V angegebenen Pilze. Clostridium-förmige Rauschbrandpilze beobachtete ich bei allen späteren Untersuchungen nicht mehr, sondern zahllose lange und kurze stäbchenförmige, einzeln und in Ketten, jedoch so, dass bald mehr, bald weniger Ketten sich fanden. Auch sah ich zahllose, meistens isolirt liegende, selten mit Kurzstäbchen kettenförmig verbundene Coccen, aber keine Sporen.

b) Subcutane Flüssigkeit vom Kalbe (Versuch V) wurde in gleicher Weise, wie unter a) angegeben, bei Zimmertemperatur 7 Tage lang untersucht. Der Befund

war vor dem Versuche wie in Versuch V und gestaltete sich bei allen späteren Untersuchungen, wie unter a) dieses Versuches erwähnt ist.

Versuch XVIII.

Einem Meerschweinchen, L, wurde ein ungefähr eben so grosses Stückchen Pilzmasse wie in Versuch XII unter die Rückenhaut geschoben. Die Pilzmasse bestand aus Coccen, Lang- und Kurzstäbchen, von denen erstere meistens einzeln, die beiden letzteren hauptsächlich in Kettenform lagen. Die Cultur stammte vom Kalbe und war in der ersten Generation in Blutserum, in der zweiten in Pepton, in der dritten wieder in Blutserum und zwar in allen Generationen bei Brütowärme gezüchtet worden. Das Thier starb ca 48 Stunden nach der Impfung.

Section: Derselbe Befund wie in Versuch XII.

Mikroskopische Untersuchung: Dieselben Pilze wie in Versuch I (ohne Anmerkung) bei Meerschweinchen A und B.

Versuch XIX.

Ein Meerschweinchen, M., wurde ebenso geimpft wie dasjenige im vorigen Versuche. Auch die Grösse der eingefügten Pilzmasse war dieselbe; sie bestand aus Coccen, die in der Regel einzeln, selten in Ketten lagen. Die Cultur war bis zur dritten Generation ebenso gewonnen worden wie im vorigen Versuche. Die vierte wurde in Blutserum bei Brütowärme erhalten und diente als Impfmateriel. Das Thier starb 45 Stunden nach der Impfung.

Section: Derselbe Befund wie in Versuch XII.

Mikroskopische Untersuchung: Dieselben Pilze wie in Versuch I (ohne Anmerkung) bei Meerschweinchen A und B, aber sehr vereinzelt Clostridium-, besonders Stäbchenformen.

Versuch XX.

Einem 8 Tage alten, gesunden Kalbe wurde an zwei verschiedenen Stellen rauschbrandhaltiges Material von

dem Meerschweinchen M im vorigen Versuche unter die Haut gebracht:

1. ein erbsengrosses Stück Subcutis,
2. ein linsengrosser, mit subcutaner Flüssigkeit durchtränkter, vorher in heisser Luft desinficirter Wattepfropf.

Das Thier starb 24 Stunden nach der Impfung. Oberflächliche Rauschbrandgeschwülste hatten sich in der Subcutis, wie bei dem Kalbe in Versuch V, nicht entwickelt. An keiner Körperregion war beim Ueberstreichen mit der Hand ein knisterndes, rauschendes Geräusch zu vernehmen.

Section: An der Impfstelle, in der Mitte der linken Schulterfläche liegt der Wattepfropf, von Blut durchtränkt, aber sonst unverändert in der mit schaumiger Flüssigkeit mässig stark infiltrirten Subcutis. Muskeln an dieser Stelle stärker geröthet, sonst nicht verändert. Die Muskeln des Armbeines blutig-oedematös, ohne Gasblasen. Beim Einschneiden in die Haut der Impfstelle an der linken Keule hört man deutliches Knistern, in sehr starkem Grade in den Muskeln der Keule. Hier ist die Muskulatur bis auf das Oberschenkelbein blutig-oedematös und von zahlreichen kleinen Gasblasen durchsetzt, welche beim Einschneiden ein lautes, knisterndes Geräusch entwickeln. Subcutis am Bauche ohne Veränderung, auf der rechten Seite der Keule beim Einschneiden knisternd und mit blutiger, schaumiger Flüssigkeit bis in die Muskulatur durchtränkt. In der Bauchhöhle wenig Flüssigkeit. Milz nicht vergrössert, an deren einen Seite das Gewebe mit Gasblasen durchsetzt, dunkelroth und weich. Pleurasäcke und Herzbeutel enthalten keine Flüssigkeit. In allen Herzhöhlen flüssiges, mit Gasblasen vermischtes Blut von schwarzrother Farbe; Herz nicht verändert. Beide Lungen blutarm, ohne Veränderungen. Leber nicht vergrössert, Schnittfläche gleichmässig braunroth, Gewebe von normaler Consistenz, aus den Gefässen quellen reichliche Gasblasen. Nieren, Magen und Darm ohne Veränderungen.

Versuch XXI.

Einem Meerschweinchen, N, wurde ein erbsengrosses Stückchen vorher in Wasser aufgekochter Muskulatur, an dem sich Fetzen der von blutrother Flüssigkeit durchtränkten Unterhaut befanden (von dem im vorigen Versuche gestorbenen Kalbe), unter die Rückenhaut geschoben. In dem Muskelstücke waren zahllose Rauschbrandpilze ohne, und in dem Theile der Unterhaut solche mit Sporen. Das Versuchsthier starb 38 Stunden nach der Impfung.

Section: Derselbe Befund wie in Versuch I bei Meerschweinchen A und B.

Mikroskopische Untersuchung: Dieselben Pilze wie in Versuch I bei Meerschweinchen A und B.

Befund in Blutserumculturen.

Das Wachsen des Rauschbrandpilzes ist in sterilisirtem Blutserum ein langsames und hierin bei Brütofenwärme (36—38° C.) und Zimmertemperatur (20° C.) kein Unterschied zu bemerken. Auffallend ist, dass in den ersten 8 Tagen nach der Impfung die Culturen am schnellsten wachsen und weiterhin kaum bemerkbare Fortschritte machen. Anfangs sind die Vegetationen durchscheinend, sie setzen dem einfallenden Lichte in dem hellen und klaren, allerdings gering gerötheten Blutserum nur soviel Widerstand entgegen, dass jede einzelne Cultur als ein dünnes und zartes Gewebe, ähnlich wie ein Schleier- oder Spinnwebgewebe, erscheint. Erst nach 4—5 Tagen verliert sich das Durchscheinende; die Culturen werden compacter, aber niemals vollkommen weiss oder grauweiss von Aussehen. Es findet demnach eine durch üppige Vermehrung bedingte Farbenerscheinung, weiss oder grauweiss, nicht statt. Selbst nach monatelanger Beobachtung habe ich dies bei keiner Cultur nachweisen können. 24 Stunden nach der Impfung bemerkt man vielfach nur sehr geringe oder kaum etwas Vermehrung. Erst nach 48 Stunden erkennt man die Cultur in der Regel in Form eines unregelmässigen, kegelförmigen Zapfens, dem Impf-

stiche in die Tiefe folgend. Letzteres ist nebst dem zarten und durchscheinenden Gefüge bei allen Culturen gefunden worden. Daher war es leicht, Verunreinigungen in einer Cultur schon makroskopisch zu erkennen. Sobald die Durchsichtigkeit nicht überall gleichmässig nachzuweisen, oder eine Abweichung des Wachsens im Verlaufe des Impfstiches sich zeigte, konnte ich mit Sicherheit auf Verunreinigung schliessen. Um so mehr aber war dies der Fall, wenn auf der Oberfläche des Blutserum sich Vegetationen bildeten, da hier die Rauschbrandpilze wenig oder in kaum bemerkbarer Ausdehnung um den Impfstich herum gedeihen. Eine Verflüssigung des Blutserum bewirken sie ebenfalls nicht. In drei Culturen vermuthete ich, da diese bereits nach einigen Tagen sich zeigte, Verunreinigungen durch Pilze, die nicht dem Rauschbrande angehören. Meine Vermuthung wurde bestätigt; ich fand neben den später zu beschreibenden Entwicklungsformen des Rauschbrandpilzes dünnere und längere Fäden als diese.

Die von einem an Impfrauschbrand gestorbenen Kalbe und mehreren ebenso getödteten Meerschweinchen geimpften Blutserumculturen, welche alle 24 Stunden untersucht und sowohl im Brütöfen ($36-38^{\circ}\text{C.}$), als auch bei Zimmertemperatur (20°C.) gehalten wurden, liessen folgende Entwicklungsstufen des Rauschbrandpilzes erkennen:

In einzelnen Culturen bemerkte ich vereinzelte Pilze, die citronenförmig waren. Sehr selten sah ich neben diesen solche, die keulenförmig erschienen. In Ketten habe ich beide Formen niemals beobachtet. Indessen ist hervorzuheben, dass nur bei der ersten Untersuchung, 24 Stunden nach der Impfung, diese Pilze nachzuweisen waren, später nicht mehr. Auch habe ich diese Rauschbrandpilze durch Uebertragung von mehreren Substraten auf andere nicht weiter züchten können. Durch Vorstehendes ist daher die Annahme begründet, dass die citronen- und keulenförmigen Rauschbrandpilze durch die Impfung von den an Rauschbrand gestorbenen Thieren

(Kalb und Meerschweinchen) in Blutserum übertragen worden sind. In allen Blutserumculturen waren viele isoliert liegende Stäbchen nachzuweisen, die an den Enden leicht gebogen, nicht scharf abgestutzt und dabei vollkommen gerade gestreckt erschienen. (Stäbchenform des Rauschbrandpilzes.) Diese Stäbchen sind von gleicher Dicke, aber ungleicher Länge. Erstere beträgt ca. 0,001 mm, letztere ca. 0,003 mm—0,006 mm.

Häufig waren diese Stäbchen zu kurzen Ketten vereinigt, die aus 3—6 Gliedern bestanden. Die einzelnen Glieder waren mehrfach von ungleicher Länge, so dass Lang- neben Kurzstäbchen eine und dieselbe Kette bildeten. Die Langstäbchen in einer Kette waren so lang wie längere einzeln liegende, die Kurzstäbchen wie diejenigen der kürzeren isoliert auftretenden. Sehr vereinzelt (2 Fälle) fanden sich kürzere Fäden von der oben erwähnten Dicke mit in geringem Grade undeutlicher Gliederung. Durch Färbung mit Methylviolett konnte ich die Gliederung in Lang-, Kurzstäbchen und Coccen nachweisen. In der Regel war aber die Trennung der Glieder von einander in jeder Kette deutlich und ohne jegliche Färbung zu erkennen. Die Langstäbchen traten späterhin immer mehr an Anzahl zurück, so dass neben Kurzstäbchen und Coccen in Kettenform und ohne jegliche Verbindung zu einander, weniger die Kurzstäbchen, am meisten Coccen nachzuweisen waren. Endlich fehlten die Ketten, aus Kurzstäbchen bestehend, gänzlich, und waren nur Coccen vorhanden, die in der Regel einzeln, selten in kurzen Ketten zu 3—5 an einander gelagert waren. Diplococcen habe ich in keiner Blutserumcultur beobachtet, sondern nur Coccen, und in den meisten nur solche, die in gar keiner Verbindung, namentlich nicht in Kettenform waren. Sporenbildung habe ich im Blutserum nicht gesehen. Diese Entwicklungsreihe des Rauschbrandpilzes vollzieht sich in 7—8 Tagen.

Die Glieder der Ketten liegen entweder in einer vollkommen geraden Linie, oder einzelne sind nach dieser

oder jener Richtung gebogen. In sehr schwach bewegter Flüssigkeit wechseln die Formen der Ketten durch Verschiebung der Glieder. Dabei findet ein Zerreißen durch Ablösen derselben von einander nicht statt.

Bei meinen späteren Untersuchungen, die alle 24 Stunden erfolgten, fand ich in allen Culturen stets Lang-, Kurzstäbchen und Coccen. Die Verbindung und Lagerung zu einander war in der früher beschriebenen Weise. Ausschliesslich Coccen habe ich niemals nachweisen können, sie bildeten aber in jedem Falle die Mehrheit.

In durch Coccen einer Cultur¹⁾ inficirtem Blutserum konnte ich eine weitere Vermehrung durch Lang-, Kurzstäbchen und Coccen feststellen, die einzeln oder in Ketten lagen, jedoch so, dass häufig nur Lang- oder nur Kurzstäbchen, selten Lang- und Kurzstäbchen eine Kette bildeten. Die Coccen fanden sich entweder isolirt oder in Ketten für sich. Schliesslich fehlten die Lang- und Kurzstäbchen gänzlich, und waren 4 Tage nach der Impfung nur Coccen vorhanden, die meistens einzeln, selten in Ketten von 3—5 Gliedern an einander lagen.

Wässrige Jodlösung ergab schwach braunrothe, geringer Zusatz von verdünnter Schwefelsäure stark braunrothe Färbung der einzelnen Pilzformen.

Befund in Peptoneulturen.

a) Bei Zimmertemperatur (20 °C.)

1. in Reagensgläsern.

Die Vegetation erscheint makroskopisch ähnlich der in Blutserum. Dort wie hier erfolgen das Wachsen und die Vermehrung des Rauschbapilzes langsam und in

¹⁾ Die Coccen wurden Blutserum entnommen, welches vom Kalbe inficirt worden war (Versuch VI). Am 7. Tage nach Einstellen der Cultur in den Brütöfen liessen sich durch wiederholte Entnahme von Proben nur Coccen nachweisen. Daher ist zu vermuthen, dass in das zu inficirende Blutserum auch lediglich Coccen übertragen wurden. (Siehe Versuch XII.)

der Regel in Gestalt eines unregelmässigen, kegelförmigen Zapfens. Selten habe ich auf der Oberfläche des Pepton Vegetation bemerkt. Die Durchsichtigkeit der Culturen verschwindet bereits 3—4 Tage nach der Impfung. Das Aussehen ist dann grauweiss. Es lassen sich genau dieselben Entwicklungsformen und -Stadien des Rauschbrandpilzes erkennen wie in Blutserumculturen. Hier wie dort vergehen ca. 7—8 Tage, bis ausschliesslich Coccen, entweder in kurzen Ketten oder einzeln, nachzuweisen sind. Die Trennung der Glieder habe ich stets ohne Färbungsmethoden deutlich ausgeprägt gefunden. Durch Färbung mit Fuchsin oder Methylviolett konnte ich gleichfalls Lang-, Kurzstäbchen und Coccen nachweisen, wenn auch nicht letztere mit ersteren zu einer Kette vereinigt. Mehrere Male waren Lang- und Kurzstäbchen in einer und derselben Kette, wenn auch am häufigsten nur Lang- resp. Kurzstäbchen oder Coccen je einzelne Ketten bildeten. Sehr häufig waren Langstäbchen nur zu zweien mit einem Ende verbunden, die Trennung aber deutlich erkennbar. Diplococcen sind nicht nachgewiesen. Sporenbildung habe ich weder in Lang- und Kurzstäbchen, noch in Coccen beobachtet. Coccen für sich allein habe ich nur nach Verlauf von ca. 7—8 Tagen gesehen, später nicht mehr. Es waren ausserdem Lang- und Kurzstäbchen isolirt oder in Ketten zu beobachten, aber vorherrschend waren Coccen.

Uebertragungen von Coccen¹⁾ in Pepton ergaben neben diesen Lang- und Kurzstäbchen, in derselben Weise wie bei dem Befunde in den Blutserumculturen angegeben ist. Auch den Ausgang in Coccenbildung allein habe ich bei diesen Culturen in Pepton bemerkt. Verflüssigung des Pepton findet durch den Rauschbrandpilz nicht statt.

¹⁾ Die Coccen wurden Pepton entnommen, welches durch Blutserumcultur inficirt worden war. Der Nachweis, dass lediglich Coccen übertragen wurden, wurde ebenso, also vermuthungsweise erbracht, wie Seite 33, Anm., bei der ähnlichen Inficirung von Blutserum angegeben ist.

2. auf Objectträgern.

Auch hier sind Wachsthum und Vermehrung langsam. 24—48 Stunden nach der Impfung erscheint der Impfstich weissgrau. Im Verlaufe desselben treten kleine kreisrunde Kugeln auf, die neben, über und unter einander liegen. Viele sind von gleicher, andere wieder von ungleicher Grösse. Jede frei liegende Kugel ist in ihren Umrissen deutlich zu erkennen und anfangs weissgrau, später gelblich von Aussehen. Nur dort, wo mehrere über, unter und neben einander liegen, treten die Contouren undeutlich oder gar nicht hervor. Es ist aber nicht zu entscheiden, ob hier ein Zusammenfliessen der einzelnen Kugeln zu grösseren Haufen stattfindet oder nicht. Verdeckt werden die Umrisse dieser haufenweise sich bildenden Kugeln möglicherweise durch ihr gelbröthliches Aussehen, da die isolirt oder in geringer Anzahl über einander liegenden blassgelb erscheinen und deren Umrisse mehr oder weniger klar hervortreten. Ich habe nicht entscheiden können, in welchem Abschnitte einer Kugel die Coccenbildung einsetzt, ob im Centrum, an der Peripherie, oder ob überhaupt hierin ein bestimmter Modus sich bemerkbar macht.

Abweichungen von denjenigen Entwicklungsformen des Rauschbrandpilzes, wie sie in Pepton in Reagensgläsern sich bilden, habe ich nur insofern feststellen können, als die Bildung von Coccen bedeutend schneller erfolgt. Bereits nach 3—4 Tagen fanden sich in allen Culturen nur Coccen, niemals in Ketten, sondern stets einzeln liegend. Diplococcen habe ich nicht beobachtet.

b) In Pepton bei Brütöfenwärme (36—38° C.).

Erst nach 2—3 Tagen zeigt sich in Gestalt von kleinen Flocken und Strichen geringe Trübung in der Flüssigkeit. In der Umgebung der Flocken und Striche ist das Pepton hell und klar. Die leiseste Berührung bringt die Flocken und Striche in Bewegung, und geringes Schütteln zerstört sie gänzlich, so dass die einzelnen Bestandtheile

sich in der Flüssigkeit vertheilen und sie allgemein in sehr geringe Trübung versetzen. Nach ca. 12—14 Tagen hatte sich bei fast allen Culturen die Durchsichtigkeit verloren, und nach 16—20 Tagen konnte ich regelmässig geringen Bodensatz beobachten. Durch die fortschreitende Trübung wird das Aussehen der Culturen blassgelb bis gelbweiss. Auf der Oberfläche der Peptonlösung habe ich keine Pilzvegetationen gesehen.

Der Befund ist von dem im festen Medium (Blutserum) wesentlich abweichend. Während ich dort 24 Stunden nach der Impfung die von an Impfrauschbrand gestorbenen Thieren (Kalb und Meerschweinchen) herührenden citronen- und keulenförmigen Rauschbrandpilze beobachten konnte, habe ich hier, in flüssigem Pepton, diese genannten und ausserdem vollkommen gerade Lang- und Kurzstäbchen (Stäbchenform des Rauschbrandpilzes) nebst Coccen gefunden. Die Citronen- und Keulenformen lagen fast immer vereinzelt, sehr selten zu zweien mit den abgerundeten Enden an einander, waren aber längere Zeit nach der Inficirung in geringer Anzahl vorhanden, in einigen Culturen bis zu 14 Tagen. Die geraden, an den Enden ebenfalls sanft abgerundeten Lang- und Kurzstäbchen bildeten vielfach Ketten von 3—6 Gliedern; mitunter lagen sie zu zweien, kettenförmig verbunden, oder einzeln. Coccen habe ich niemals in Kettenverbindung mit den übrigen Formen, sondern entweder isolirt oder in kurzen Ketten für sich angetroffen. Die Coccen häufen sich zu kugelförmiger Zoogloea von verschiedener Grösse. Sporenbildung findet nicht statt.

Der sich bei jeder Cultur bald etwas schneller, bald etwas langsamer bildende Bodensatz bestand anfangs aus Lang-, Kurzstäbchen und Coccen, die isolirt lagen. Die Citronen- und Keulenform habe ich hier nicht feststellen können. Späterhin, als sich die Flüssigkeit oberhalb des Bodensatzes vollkommen geklärt hatte, waren in letzterem nur Coccen, welche sich sehr vereinzelt auch in der Flüssigkeit selbst nachweisen liessen.

Gegen Jod verhalten sich die Peptonculturen ebenso wie die des Blutserum.

Befund in Pflanzeninfus.

(Waizeninfus.)

a) Bei Zimmertemperatur (20° C.) in Reagensgläsern.

Die Form der Culturen entspricht besonders denen des festen Pepton. Der am meisten hervortretende Unterschied ist, dass anfangs, bis zu 3 Tagen nach der Impfung, das Wachsthum und die Vermehrung der Rauschbrandpilze schneller erfolgen als in festem Pepton; späterhin ist wenig Trieb zur Weiterentwicklung bemerkbar. Das Durchscheinende der Culturen verliert sich in 3—4 Tagen, das Aussehen ist dann grau bis grauweiss. Auf der Oberfläche des geimpften Pflanzeninfus habe ich selten Vegetationen des Rauschbrandpilzes beobachtet; stets folgt er dem Impfstich in die Tiefe. Verflüssigung des Pflanzeninfus wird durch die Cultur nicht herbeigeführt. Wie im Blutserum, so durchläuft der Pilz auch hier alle dort erwähnten Entwicklungsstufen bis zur Coccenform, Clostridium-Formen bildet er aber nicht. Bemerkenswerth ist, dass selten Lang-, viel häufiger Kurzstäbchen und fast regelmässig einzeln, ausnahmsweise in Kettenform sich finden. Am meisten sieht man Coccen, selten in kurzen Ketten und gewöhnlich isolirt. Sporenbildung habe ich in keiner Cultur beobachtet.

b) In flüssigem bei Brütotemperatur (36—38° C.).

Der Vorgang des Wachsens in flüssigem Pflanzeninfus gestaltet sich ähnlich dem in flüssigem Pepton. Anfangs bilden sich kleine Flocken, welche beim Schütteln in der Flüssigkeit geringe Trübung verursachen. Nach Verlauf von ca. 3 Wochen erscheinen die Culturen schmutzig gelb, die Durchsichtigkeit fehlt. Die Vermehrung ist in flüssigem Pflanzeninfus langsamer als in flüssigem Pepton. Während sich in letzterem stets ein Bodensatz bildet, habe ich in flüssigem Pflanzeninfus 3 Wochen nach der Impfung keinen

beobachtet. Auf der Oberfläche des Pflanzeninfus vegetirt der Rauschbrandpilz nicht. Mit Ausnahme der Clostridium-artigen Formen des Rauschbrandpilzes treten die in flüssiger Peptonlösung beobachteten Stäbchenformen auch hier auf. Vorherrschend sind Coccen, einzeln oder in kurzen Ketten. Kurzstäbchen sind selten und liegen fast nur einzeln, ausnahmsweise zu zweien verbunden. Diplococcen sah ich häufig, Langstäbchen nur einige Male, Sporenbildung niemals. Zoogloea wurde nicht beobachtet. Selbstständige Bewegungen kommen in flüssigem Pflanzeninfus, ebenso wie in Pepton, bei keiner Entwicklungsform vor.

Es scheint das Pflanzeninfus bei Brütowärme für die Entwicklung des Rauschbrandpilzes wenig geeignet zu sein. Selbst die bei Zimmertemperatur im Pflanzeninfus gezüchteten Culturen, die üppig gewachsen waren, entwickelten sich im Brütowen nur äusserst langsam und machten kaum bemerkbare Fortschritte.

Gegen Jod verhalten sich die Pflanzeninfusculturen ebenso wie die des Blutserum und Pepton.

Epikrise.

Der Rauschbrandpilz bildet zwei getrennte Entwicklungscyclen, welche entweder in der Sporen- oder in der Coccen-Gonidienbildung ihren Abschluss finden. Der erste Entwicklungscyclen wird im Thierkörper durchlaufen. Als Ausgangspunkt desselben können, wie die Versuche zeigen, sowohl Sporen (Versuch I), als auch Coccen dienen. Aus beiden entwickeln sich Stäbchen, und durch gleich- resp. ungleichmässiges Anschwellen der einzelnen Stäbchen bilden sich die von mir als Ei- resp. Citronen-, Keulen- und Kopf- formen bezeichneten Gestalten. Es ist dieses Stadium in der Entwicklung dann gegeben, wo die Stäbchen zur Sporenbildung vorschreiten. Wenn auch diese Aufeinander-

folge der einzelnen Formen, da die Entwicklung im Thierkörper vor sich geht, nicht direct beobachtet werden konnte, so lässt sie sich doch aus der Lage der einzelnen Formen im Cadaver construiren. Denn in unmittelbarer Nähe der Impfstellen fanden sich nur Stäbchen- und erst weiter entfernt Clostridium-förmige Pilze, die je näher der Impfstelle keine, erst weiter von dieser entfernt Sporen in sich erkennen liessen. Auch im Blute, wohin die Pilze erst nach stattgehabter Vermehrung an und von der Impfstelle aus gelangen, waren am häufigsten Stäbchen-, weniger Clostridiumformen nachzuweisen. Demnach ist man wohl berechtigt zu folgern, da erstere an Zahl praevalirten, dass letztere aus den ersteren sich entwickelt haben. Ebenso ergibt sich diese Folgerung für die an der Impfstelle und in der nächsten resp. entfernteren Umgebung sich findenden Pilzformen, von denen die Clostridium- aus den Stäbchenformen sich gebildet haben. In den Culturmedien wird der zweite Entwicklungscyclus durchlaufen. Hier ging die Entwicklung des Rauschbrandpilzes in die Stäbchenformen und Coccen aus. Welchen Antheil die Clostridium-Formen sowie die Sporen in den Eiformen gehabt haben, kann ich nicht bestimmen; ich konnte ihre Entwicklung für sich allein nicht verfolgen, weil in keinem Culturmedium der Ausgang in Clostridium-Formen resp. Sporen eintrat. Aber als Ausgang ergab sich in fast allen Cultursubstraten derjenige in Coccen, Stäbchen fanden sich nur, so lange die Nahrung nicht verbraucht war.

Bemerkenswerthe morphologische That-sachen ergeben sich durch Vergleich derjenigen Formen des Rauschbrandpilzes, wie sie im Thierkörper sich finden, mit denen, wie sie ausserhalb desselben, in Culturen, beobachtet werden. Selbst unter letzteren sind constante Unterschiede bezüglich des Auftretens der einzelnen Formen gegeben, jedoch so, dass morphologische Abweichungen und Verschiedenheiten innerhalb einer Form nicht vor-

kommen, sondern auch hierin eine ganz bestimmte Constanz obwaltet. Während im Thierkörper die Clostridium- und stäbchenförmigen Rauschbrandpilze, erstere öfter mit, letztere stets ohne Sporen, und niemals Coccen sich finden, treten in Blutserumculturen nur die Stäbchenformen mit Coccenbildung auf. Dieser Befund ist ebenfalls im Pflanzeninfus gegeben. Häufig hatten sich im flüssigen Diplococcen entwickelt. Wenn auch in flüssigem und festem Pepton sich dieselben Formen des Rauschbrandpilzes, mit Ausnahme von Diplococcen, nachweisen liessen, so waren im ersteren Substrat gleichfalls wie im Thierkörper die Clostridium-förmigen Pilze, aber ohne Sporen, vorhanden. Als Ausgang aller Formen trat, nachdem das Ernährungsmaterial im flüssigen Pepton erschöpft war, keine Sporenbildung ein, sondern es fanden sich nur allein Coccen.

Der Rauschbrandpilz ist kein Bacterium, sondern ein Clostridium. Von Prazmowski¹⁾ wurde die Gattung Clostridium aufgestellt. Zopf²⁾ hat beide Arten derselben, *Cl. butyricum* und *Polymyxa*, in sein System als Gattung 2 zu den Bacteriaceen gestellt; Gattung 1 bildet Bacterium. Das morphologische Characteristicum für die Gattung Clostridium besteht nach Zopf³⁾ darin, dass die Stäbchenformen in dem Stadium, wo sie zur Sporenbildung vorschreiten, ihre cylindrische Gestalt aufgeben und Spindel-, Ellipsoid- oder Kaulquappenform annehmen. Diesen von Zopf angeführten Formenwechsel zeigt der Rauschbrandpilz in ausgesprochener Weise. Die oben beschriebenen Versuche haben gezeigt, dass die Stäbchenformen des *Cl. butyricum* mit denen des Rauschbrandpilzes vollkommen, dass von den übrigen Gestalten des *Cl. butyricum* die meisten mit denen des Rauschbrandpilzes übereinstimmen, und dass die übrigen eine gewisse gegen-

¹⁾ l. c. pag. 23.

²⁾ Die Spaltpilze, Breslau 1883.

³⁾ l. c. pag. 69.

seitige Aehnlichkeit bieten. Die meisten Ei- resp. Citronenformen des Rauschbrandpilzes gleichen den Spindel- resp. Citronenformen des *Cl. butyricum*; die übrigen Ei- resp. Citronenformen nähern sich auffallend den verlängerten Spindel- und Ellipsoidformen des *Cl. butyricum*. Wenn ich auch die Keulenform des Rauschbrandpilzes nicht gerade congruent einer von Prazmowski benannten Gestalt des *Cl. butyricum* halten kann, so finden sich doch unter seinen Abbildungen der verlängerten Spindel- und Ellipsoidformen Gestalten, die eine sehr grosse Aehnlichkeit mit einigen Keulenformen des Rauschbrandpilzes zeigen. Die meisten Kopfformen des Rauschbrandpilzes sind bis auf den bei ihnen kürzeren Schwanz mit denen des *Cl. butyricum* der Gestalt nach identisch; einzelne Kopfformen des Rauschbrandpilzes dagegen zeigen mehr Aehnlichkeit mit den Kaulquappenformen des *Cl. butyricum*. Ein Vergleich der einzelnen Formen des *Cl. butyricum* mit denen des *Cl. Polymyxa*, also zweier Arten einer und derselben Gattung (Prazmowski: l. c. Tafel II.) ergibt bei einzelnen Formen vollkommene Congruenz, bei anderen mehr oder weniger Aehnlichkeit. Genau so ist das Resultat bei Vergleich der Formen des Rauschbrandpilzes mit denen des *Cl. butyricum*.

Durch die Feststellung dieser Formen ist der von Zopf für die Bestimmung des Rauschbrandpilzes als *Clostridium* geforderten Charakteristik Genüge geleistet. Um die Bestimmung nach Prazmowski's Vorgang vollkommen durchführen zu können, hätte es noch des Nachweises der Sporenkeimung bedurft. Nach Prazmowski¹⁾ tritt der Keimschlauch von *Clostridium* senkrecht zur Längsachse aus der Spore, während Bacteriensporen den jungen Faden in der Richtung der Längsachse austreiben. Auch ist die Sporenhaut bei *Clostridium* während der Keimung gleichmässig verdickt. Eine Beobachtung solcher keimender Sporen war mir leider nicht möglich, da das einzige mir

¹⁾ l. c. pag. 53.

zu Gebote stehende Sporenmaterial (Subcutisflüssigkeit) in zur Beobachtung geeigneten Medien ausserhalb des Thierkörpers nicht keimte. Dagegen liefern die Ergebnisse meiner Untersuchungen insofern für die Gattung *Clostridium* einen wesentlich neuen Beitrag, als es mir gelungen ist, die bisher nicht sicher beobachtete, aber schon von Zopf¹⁾ theoretisch postulierte, in der Coccenform endigende Entwicklungsreihe in allen Einzelheiten genau zu verfolgen. Dadurch ist der Rauschbrandpilz unter die bis hernoch recht geringe Zahl von Bacteriaceen eingereiht, bei welchen sämtliche nach unseren jetzigen Kenntnissen zu erwartende Entwicklungsformen beobachtet worden sind.

Als Zeichen der nahen Verwandtschaft des Rauschbrandpilzes mit dem bis jetzt am eingehendsten untersuchten Repräsentanten der Gattung *Clostridium*, des *Cl. butyricum*, ist auch noch das chemische Verhalten gegenüber Jod anzuführen. Wenngleich eine Jodfärbung auch bei anderen Spaltpilzen beobachtet worden ist, so sind doch die Formen des *Clostridium butyricum* diejenigen, bei welchen sie am constantesten und charakteristischsten auftritt. In dieser Beziehung verhält sich der Rauschbrandpilz innerhalb des Thierkörpers fast vollkommen analog, dagegen ausserhalb, in den Culturmedien, wesentlich anders. (Siehe hierüber die Angaben S. 16, 33, 37 und 38.) Namentlich färben sich in den thierischen Geweben und Flüssigkeiten die Stäbchenformen blau, während die *Clostridium*-Formen dunkel- bis schwarzviolett, genau so wie bei *Cl. butyricum*. Aber niemals nimmt die Gewebsflüssigkeit Färbung durch Jod an, während die Pilze alsdann ungefärbt erscheinen, ähnlich wie dies bei *Cl. butyricum* von Prazmowski²⁾ beobachtet ist.

Aus den Verbindungen des Thierkörpers würde der Rauschbrandpilz, wie man nach der Ansicht von Praz-

¹⁾ l. c. pag. 70 und 71.

²⁾ l. c. pag. 35.

mowski¹⁾ schliessen kann, in sein Plasma Stärke aufnehmen können, welches die Jodreaction herbeiführt. Zopf²⁾ vermuthet, dass der durch Jod sich bläuende Stoff eine stärkeähnliche Substanz darstellt. Auch bei dem Rauschbrandpilze ist das Substrat, der Thierkörper, völlig stärkefrei. Bezüglich dieses Pilzes schliesse ich mich daher der Ansicht von Zopf an, nach der jener aus gewissen Kohlehydraten des Thierkörpers sich selbst einen stärkeartigen Stoff bereitet. — Es könnte naheliegend erscheinen, hier an das beim Thiere zwar nicht beobachtete, dagegen beim Menschen häufig (vielleicht unter parasitären Einflüssen) entstehende Amyloid zu denken. Jedoch spricht gegen eine solche Annahme der Umstand, dass das von den Pilzen durchwucherte Bindegewebe niemals eine Spur der amyloiden Degeneration erkennen lässt, und ausserdem das Fehlen der Reaction auf Methylviolett.

Die ausserhalb des Thierkörpers gewonnenen Culturen entwickeln sich, in den Thierkörper gebracht, zu den hier beobachteten Formen des Rauschbrandpilzes. Namentlich ist mir gelungen, Thiere durch Coccen (Versuch XII, XIV, XV und XIX) zu inficiren. In Versuch XVIII waren Coccen, Kurz- und Langstäbchen, die übertragen wurden. An dieser Stelle muss ich der neueren Untersuchungen und Experimente bei dem Milzbrande gedenken. Im Blute am Impfmilzbrande gestorbener Thiere fand Archangelski³⁾, wenn schon Temperaturerhöhung bestand, die Thiere also bereits krank waren, statt der Milzbrandbakterien kleine, runde, glänzende, stark lichtbrechende, unbewegliche Körperchen, ungefähr von der Grösse gewöhnlicher Micrococcen, aus welchen sich in sterilisirter Hühnerbouillon Milzbrandbakterien entwickelten. Impfungen der zweiten Generation, die aus Stäbchen und Fäden

¹⁾ l. c. pag. 36.

²⁾ l. c. pag. 14.

³⁾ Centralblatt f. d. medicinischen Wissenschaften Nr. 15, 1882.

bestand, erzeugten bei Mäusen tödtlichen Impfmilzbrand. Archangelski sieht die erwähnten Gebilde als Keime der Bakterien oder „Sporen“ an, die sich anfangs im Thierkörper durch Theilung vermehren und aus denen späterhin sich die Bakterien bilden. In Bouillon entwickelten sich bei Luftabschluss stets nur „Sporen“, aus den „Sporen“ bei Luftzutritt „Stäbchenbakterien und Fäden“. Bei Luftabschluss gezüchtete „Sporen“ der dritten Generation ergaben auf Kartoffeln bei Luftzutritt Bakterien, die auf Mäuse geimpft tödtlichen Milzbrand erzeugten. Archangelski schliesst, dass die bei Luftabschluss gezüchteten Sporen sich durch Theilung vermehren und als die anaërobie, die Stäbchen und Fäden als die aërobie Form des Milzbrandpilzes zu betrachten seien. Die Bildung der Stäbchen aus den Sporen des thierischen Organismus hätte erst statt, wenn dieser durch die Sporen hinlänglich alterirt sei, und in der Concurrenz um den zum Auswachsen der Stäbchen nöthigen Sauerstoff der Vortheil auf Seiten der Pilze bleibe. Der Tod könne übrigens auch schon eintreten, bevor die Sporen sich in Bakterien umwandeln, namentlich bei höchst akutem Verlauf der Krankheit, und es sei daher auch erklärlich, dass in manchen Fällen bei der Section keine Stäbchen gefunden würden. Roloff¹⁾ hat die von Archangelski beschriebenen Kügelchen zu Impfversuchen benutzt und bewiesen, dass sie im Blute eines vorher an Impfmilzbrand erkrankten Thieres suspendirt, auf ein anderes übertragen tödtlichen Impfmilzbrand hervorrufen. Roloff nennt die Sporen Archangelski's „glänzende Körperchen“. Da sie sich im Thierkörper bilden, so sind sie ein endogenes Contagium des Milzbrandes. Es ist aber nur möglich zu schliessen, dass die „glänzenden Körperchen“ Coccen sind, weil ausser Stäbchen und Sporen andere Entwicklungsformen nach Analogie der übrigen Spaltpilze jedenfalls auch nicht für den Milz-

¹⁾ Archiv für wissenschaftliche und practische Thierheilkunde (Berlin 1883) 9. Bd. 6. Heft, pag. 459.

brandpilz existiren. Für diese Annahme sprechen auch die oben erwähnten Culturversuche Archangelski's. Die bei den Rauschbrandpilzculturen gewonnenen Coccen sind im Gegensatz zu den „glänzenden Körperchen“ des Milzbrandes ein ectogenes Contagium, welches an sich in derselben Weise wie das endogene des Milzbrandes wirkt. Obwohl Archangelski nachgewiesen hat, dass die „glänzenden Körperchen“, die ich als Coccen betrachte, in Culturen ausserhalb des Thierkörpers bei Luftabschluss nur wieder „Sporen“ bilden, d. h. „glänzende Körperchen“ oder Coccen (ob durch directe Theilung? Wahrscheinlich nach vorherigem Auswachsen zu kurzen Stäbchen), so ist bis jetzt nicht nachgewiesen, dass diese bei Luftabschluss ausserhalb des Thierkörpers cultivirten Coccen bei Thieren Milzbrand hervorrufen können. Von den ausserhalb des Thierkörpers gezüchteten Coccen des Rauschbrandpilzes ist ohne Zweifel bewiesen, dass sie bei Thieren Rauschbrand zu erzeugen im Stande sind, sich hier zu Rauschbrandpilzen entwickeln.

Die Sporenbildung dürfte nach Zopf ¹⁾ in dem schliesslich eintretenden Mangel an Ernährungsmaterial zu suchen sein. Ich fand bei dem Clostridium des Rauschbrandes die Sporenbildung nur im Thierkörper, nicht ausserhalb desselben in den Culturmedien, selbst dann nicht, wenn die Nährflüssigkeit erschöpft war. Es fanden sich nur allein Coccen. Ebenso erlangte ich in zwei Experimenten, bei denen die Culturen Tage lang unausgesetzt unter Kohlensäure gehalten wurden, keine Sporenbildung, sondern nur Coccen. Demnach ist die physiologische Ursache beim Rauschbrandpilz für die Sporenbildung nicht zu suchen in dem Mangel an Ernährungsmaterial oder in dem Ausschluss des Sauerstoffs. Beide Momente führen bei dem Rauschbrandpilze nicht zur Sporenbildung. Vielleicht ist das Gas, welches sich bei der Zersetzung der Gewebe durch den Rauschbrandpilz bildet, die Ursache,

¹⁾ l. c. pag. 19.

da in den Cultursubstraten keine Zersetzung mit Gasbildung stattfindet.

Bei den von mir ausgeführten Uebertragungen des Rauschbrandpilzes von einem Thier auf ein anderes (Versuch I—V) war stets Gasbildung nachzuweisen, dagegen fehlte sie oder war undeutlich zu erkennen bei Impfungen der Culturen auf Meerschweinchen, war aber nach Uebertragung des Rauschbrandpilzes von einem so geimpften Meerschweinchen auf ein Kalb (Versuch XIX und XX) wieder zu beobachten. Es scheint hiernach der Pilz nur in den Säften des Rindes zur vollen Entfaltung einer Gährthätigkeit kommen zu können. Bei Meerschweinchen hält sich die Gasentwicklung in sehr engen Grenzen oder fehlt ganz. Nach Bouley soll das gebildete Gas Kohlensäure sein¹⁾. Von anderer Seite, Förster, ist behauptet, dass es Sumpf- oder Grubengas ($C. H_4$) sei. Die von mir zur Feststellung des Gases angestellten Experimente führten zu keinem sicheren Resultate. Es ist farb-, geruchlos und brennt mit nicht leuchtender, bläulicher Flamme. Kohlensäure in irgendwie beträchtlicher Menge scheint nicht vorhanden zu sein, denn das Gas lieferte in Chlorbaryum kaum eine Trübung.

Bei der Unkenntniss über die Natur des gebildeten Gases ist es schwer, die Frage strict zu beantworten, wie die Anwesenheit der Pilze auf den Organismus wirkt, und speciell weshalb und durch welche Veränderungen sie den Tod herbeiführen. Zur Beantwortung dieser Frage würde zunächst die Vertheilung der Organismen im Thierkörper zu berücksichtigen sein. Die Pilze finden sich beim Rinde allerdings im Blute, aber hier viel sparsamer als wie z. B. Milzbrandbakterien in dem Blute milzbrandiger Thiere. Schon dieser Umstand würde den Versuch, das rapide Wachsthum der Pilze im Blute und dadurch bedingte Sauerstoffarmuth als Todesursache anzusehen, gewagt

¹⁾ II. Jahresbericht über die Leistungen auf dem Gebiete der Veterinär-Medicin, pag. 21. (Herausgeber: Schütz und Ellenberger, Berlin 1883.)

erscheinen lassen. Durchaus hinfällig wird aber eine solche Erklärung durch den Befund beim Meerschweinchen, deren Blut und innere Organe nur spärliche Pilze erkennen lassen. Hauptsitz der Pilzvegetation ist die Unterhaut und das intermusculäre Bindegewebe. Hier finden sich daher auch fast ausschliesslich die für das blosse Auge erkennbaren pathologischen Veränderungen. Allerdings lassen diese die locale Wirkung der Pilze als eine relativ geringe erkennen. Eine directe Zerstörung des Gewebes, etwa brandigen Zerfall, Verkäsung oder ein Absterben wie bei der Diphtherie, ja nicht einmal eine Eiterung wird durch die Pilze bedingt. Obwohl das vorhandene blutige Oedem beim Meerschweinchen fast die ganze Subcutis, beim Kalbe sehr ausgedehnte Strecken betrifft, so wird es doch als Ursache des so schnell eintretenden Todes nicht angesehen werden können, weil eben so ausgedehnte Exudate unter anderen Verhältnissen lange Zeit ertragen werden. Es bleibt nur die Erklärung übrig, dass ein lösliches Gift durch die Pilzwucherungen gebildet wird, welches aus der Unterhaut in den Kreislauf diffundirt, auch dann, wenn die Pilze selbst nicht oder in sehr geringer Zahl in das Blut gelangen, und dass dieser Stoff auf das Central-Nervensystem eine lähmende Wirkung ausübt. Ob in dem gebildeten Gase das Gift zu suchen ist, muss dahin gestellt bleiben. Dass eine giftige Substanz schon frühzeitig nach der Impfung in den Kreislauf gelangt, beweist auch das schon etwa 4 Stunden nach der Infection eintretende Fieber.

Auffallend ist, dass Impfungen von an Impfrauschbrand gestorbenen Thieren in Pepton und Pflanzeninfus nicht haften, sondern diese Substrate nur allein durch Blutserumculturen zu inficiren sind. (Versuch VII und VIII.) Von Pepton (Pflanzeninfus ist nicht versucht) lässt sich der Rauschbrandpilz dagegen in Blutserum mit Erfolg übertragen. Ebenso gelingt dies von Pepton und Pflanzeninfus auf Thiere. Die

Nichtübertragung des Rauschbrandpilzes von Thier auf Pepton und Pflanzeninfus würde einer Acclimatisation gleich kommen, wie sie von Buchner für die pathogenen Spaltpilze, speciell für den Milzbrandpilz angenommen wird. Dass diese Art der Acclimatisation dem Rauschbrandpilz, so weit ermittelt ist, abgeht, beweist der Umstand, dass er sich von Pepton auf Blutserum, sowie von ersterem Substrat und von Pflanzeninfus auf das Thier mit Erfolg impfen lässt, auch bei dieser letzteren Uebertragung keinerlei Einbusse in seiner pathogenen Wirksamkeit erleidet. Eine Mitigation ist bei dem Rauschbrandpilze selbst nach der Gewöhnung an ein ihm ursprünglich nicht zusagendes Nährmedium nicht beobachtet worden.

Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1. Stäbchenformen des Rauschbrandpilzes.
- „ 2. Citronen- bzw. Eiformen, erstere ohne, letztere mit Sporen, einige mit Stäbchenformen verbunden.
 - „ 3. Keulenformen.
 - „ 4. Kopfformen.
 - „ 5. Lang- und Kurzstäbchen, vereinzelt und in Kettenform. Coccen in Ketten und isolirt. (Befund in Culturen.)
 - „ 6. a) Scheinfaden, b) nach Behandlung mit Methylviolet, c) Coccen; d) Diplococcen.

Herrn Prof. Dr. Thierfelder sage ich für die Benutzung der Apparate und Räumlichkeiten im Pathologischen Institut meinen besten Dank.

Den 11. December 1883.

Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

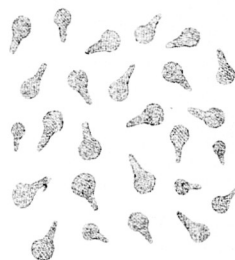


Fig. 5.



Fig. 6.

