



Studien über die blaue Milch.

Der medicinischen Facultät zu Rostock

als

Habilitationsschrift



Dr. **med. F. N.**,
Assistenten ^{u.} Institut zu Rostock,
pathologisch.

Mit einer Tafel.



Breslau,
Druck von Robert Nischkowsky
1880.

pr

Studien über die blaue Milch.

Der medicinischen Facultät zu Rostock

als

Habilitationsschrift

vorgelegt

VGD

Dr. med. F. Neelsen,
Assistenten am pathologischen Institut zu Rostock.



Mit einer Tafel.



Breslau,
Druck von Robert Nischkowsky.
1880.

Die mykologischen Untersuchungen des letzten Decenniums haben, wenn auch nicht striet bewiesen, so doch in hohem Grade wahrscheinlich gemacht, dass eine Anzahl von Erscheinungen, welche man bisher als einfache Lebensvorgänge des Säugethierkörpers auffasste, Resultanten darstellen aus zwei mit einander combinirten Proceszen, der Lebensäusserung von Bacterien und der reactiven Thätigkeit der thierischen Gewebe. Nur wenige dieser Processe gehören in das Gebiet der „normalen Functionen,“ (so z. B. die Verdauung der Milch im Labmagen des Kalbes; Cohn, Beiträge I. 3. pag. 194) bei weitem die Mehrzahl documentirt sich durch ihren delectären Einfluss auf den höheren Organismus als „krankhaft“ und es fällt also vor allen Dingen dem Pathologen die Aufgabe zu, dieselben zu untersuchen und womöglich zu analysiren. Mit welchem Eifer man sich der Lösung dieser Aufgabe zugewandt hat, beweist die in wenigen Jahren zu fast unübersehbarer Mächtigkeit angewachsene Litteratur über die Pilzkrankheiten.

Wenn trotzdem über das Wesen dieser Krankheiten mit wenigen Ausnahmen noch tiefes Dunkel gebreitet ist, so liegt das wohl nicht allein in der Schwierigkeit des Gegenstandes, sondern zum nicht geringen Theil in dem Fehlen der nöthigen Vorkenntnisse. Die Beurtheilung einer Resultante setzt die Kenntniss der Componenten voraus; um die complicirten Processe der Infectionskrankheiten würdigen zu können, bedürfen wir ausser der Kenntniss von den Functionen der thierischen Gewebe auch einer Einsicht in das morphologische und biologische Verhalten jener kleinsten Organismen unter einfacheren Verhältnissen als im lebenden Thiere, und eine solche ist uns trotz der zahlreichen Untersuchungen bisher nur in sehr beschränktem Maasse zu Theil geworden. Es wird aus diesen Grün-

den wohl dem Pathologen nicht als unbefugter Uebergriff vorgeworfen werden, wenn er sich auf das zunächst nur dem Botaniker als Fachmann zustehende Gebiet der Beobachtung von Bacterien, welche nicht Krankheitserreger sind, hinauswagt, wie es der Verfasser in den nachfolgenden Studien über die blaue Milch gethan hat. — Das Thema schien insofern der Untersuchung günstige Chancen zu bieten, als einmal der Process wegen der charakteristischen Pigmentbildung leicht zu identificiren und von anderen Zersetzung zu unterscheiden ist, andererseits die Form und die Beweglichkeit der bei demselben auftretenden Organismen die mikroskopische Beobachtung und Recognoscirung eher gestattet wie bei den ruhenden Kugelformen der gewöhnlichen pigmentbildenden Bacterien. Trotz dieses Vortheils sehe ich mich zu dem Geständniss genöthigt, dass es mir nicht gelungen ist ein lückenloses Bild, weder von der Morphologie noch von der Biologie dieser Organismen zu erhalten, dass das Band zwischen der grossen Zahl der einzeln beobachteten Thatsachen vielfach nicht durch directe Beobachtung, sondern nur durch Vermuthung geknüpft ist. Da mir zunächst die Verhältnisse eine weitere Verfolgung dieser Untersuchungen nicht gestatten, muss ich die Ausfüllung dieser Lücken fremder Forschung überlassen und kann nur den Wunsch aussprechen, dass meine Arbeit zu weiteren Untersuchungen über das in vieler Hinsicht nicht uninteressante Thema den Anstoss geben möge.

Um die Uebersicht zu erleichtern, habe ich das im Folgenden zu besprechende Material in einzelne Abschnitte eingetheilt, deren Verzeichniss ich zunächst hier folgen lasse:

I. Das spontane Blauwerden der Milch.

Endemisches Auftreten. Geographische Verbreitung. Litteratur.

II. Impfung der blauen Milch.

1. Substrat der Impfung. Impfmaterial. Bedingungen der Impfträigkeit. Uebertragung des Contagiums durch die Luft.
2. Verschiedenheiten im Erfolg der Impfung. Abhängigkeit derselben von der Beschaffenheit der Milch, vom Impfmaterial, von äusseren Verhältnissen, von der Witterung.

III. Process der Bläunung.

Allgemeiner Vorgang. Natur des Farbstoffes, chemische Processe dabei. Anhang: Die supponirte Giftheit der blauen Milch.

IV. Mikroskopische Untersuchung.

1. Methode. Ältere Beobachtungen.
2. Befund in der blauen Milch. Gonidienbildung.
3. " " " Cohn'schen Lösung. Sporenbildung.
4. " " " blauen Nährlösung. Chroococcusform.
5. Zweifelhafte Form mit Kali nitricum.

V. Schluss.

I. Das spontane Blauwerden der Milch.

Epidemisches Auftreten, geographische Verbreitung, Literatur.

Das spontane Blauwerden der Milch, d. h. die Form, unter welcher der Process gewöhnlich auftritt ohne dass absichtliche Impfungen stattgefunden haben, habe ich selbst bisher nicht beobachteten können. Meine Untersuchungen beschränken sich auf die durch Impfung blau gewordene Milch und ich muss mich deshalb bezüglich der ohne Kunsthilfe eintretenden Veränderung auf die Autorität anderer Untersucher stützen. Ich wähle dazu die vortreffliche Beschreibung, welche Haubner in seiner unten erwähnten Abhandlung giebt; dieselbe bietet ein so klares und anschauliches Bild, dass ich schwerlich im Stande wäre auf Grund eigener Beobachtungen etwas besseres an die Stelle zu setzen. Haubner schreibt l. c. p. 46 ff.:

„Unter den gewöhnlichen wirthschaftlichen Verhältnissen entsteht die blaue Milch nur in der warmen Jahreszeit und dauert auch während dieser nur an; etwa vom Frühsommer bis zum Spätherbst. Im Winter habe ich sie niemals entstehen sehen, auch nicht fortbestehen, selbst wenn sie im ganzen Sommer und Herbst zugegen war. Sie verschwand stets mit dem Eintritt der kalten Jahreszeit. — So, wie gesagt, unter den „gewöhnlichen“ Verhältnissen, d. i. bei Aufbewahrung der Milch in Milchkammern, wo zuletzt die Milch nur noch langsam und ungenügend säuert und gerinnt. — Anders in kleinen Wirthschaften, bei Aufbewahrung der Milch in warmen Räumen (Wohn- und Schlafstuben). Hier kann sie den ganzen Winter andauern und Jahr ein Jahr aus bestehen. Steinhof erzählt einen solchen Fall von 12jähriger ununterbrochener Dauer in einer Bauernwirthschaft.

„Dauer und Umsichgreifen der blauen Milch in einer Wirthschaft ist sehr verschieden. Gemeinhin erscheint sie zuerst in schwachen Anfängen als vereinzelte kleine Flecke und Punkte und in einzelnen Gefässen. Dabei kann es bleiben und in wenigen Tagen Alles vorüber sein; doch das ist selten. Gemeinhin greift das Uebel um sich. Es werden immer mehr Gefässer blau und die blauen Flecke nehmen zu an Zahl und Ausdehnung. So kann im hohen Grade nahezu die ganze Milch im Gefässer blau werden; meistens bleibt es bei mehr oder weniger ausgedehnten Flecken und grösseren blauen Stellen. — Verschwindet das Blauwerden wieder, so geschieht es entweder unter allmählichem Nachlassen, oder auch ganz plötzlich. Heute kann noch alle Milch blau sein und morgen vielleicht kaum eine Spur davon.

„Während des Bestehens treibt das Blauwerden ein wahrhaft neckendes Spiel. Heute ist die Milch in allen Gefässen blau, morgen sind viele frei. In diesen Gefässen erstreckt sich das Blauwerden möglichst über die ganze Oberfläche und steigt tief hinab; in jenen sind nur einzelne oberflächliche Punkte. Heute wurde die Milch von dieser Kuh blau, von jener nicht; morgen kann es umgekehrt sein. Die Milch derselben Kuh und desselben Melkens wird hier blau, dort nicht. Der Aufbewahrungsort der Milch wird verändert, neue Gefässer angeschafft, ein Futterwechsel vorgenommen, allerlei Mittel versucht und — in dem einen Ort hilft es gründlich, im anderen vorübergehend oder gar nicht. Hier hat dieses, dort jenes Mittel geholfen. Hier bleibt alles wirkungslos, das Uebel kehrt jährlich wieder, dort geschieht nichts und es verschwindet ebenso unerwartet, als es kam.“

„Wenn man unter solchen Umständen an den Einfluss dunkler Mächte glaubt und jetzt noch seine Zuflucht nimmt zu einem Zauberspruch und sympathetischen Mitteln, dann kann das in der That kaum befremden. Man könnte zuletzt selbst daran glauben, wenn man nirgends zu allen diesen räthselhaften Erscheinungen Grund und Ursache auffinden kann.“

Man wird durch diese Schilderung von dem plötzlichen Erscheinen, der schnellen Ausbreitung auf grössere Quantitäten von Milch, der Verschiedenartigkeit in dem äusseren Ansehen, dem plötzlichen unmotivirten Verschwinden unwillkürlich an die Beschreibungen von dem Auftreten des bekanntesten aller pigmentbildenden Microorganismen, des *Micrococcus prodigiosus*, erinnert, wie sie schon mehrfach in älterer Zeit und neuerdings von Erdmann und Schröter gegeben wurden¹⁾). — Es existiren jedoch gewisse Verschiedenheiten namentlich betreffs der örtlichen Ausbreitung, welche zum Theil schon in der obigen Beschreibung angedeutet sind, zum Theil in der übrigen Litteratur über blaue Milch ihren Ausdruck finden.

Der *Micrococcus prodigiosus* entspricht in seinem Auftreten gewissen Formen der sogen. epidemischen Infectionskrankheiten, welche in ausgedehnten Wanderungen sich über die verschiedensten Theile der Erdoberfläche ausbreiten, ohne in bestimmten Gegenden sich bleibend niederzulassen. Das Blauwerden der Milch dagegen zeigt eher gewisse Analogien mit den sogenannten endemischen Infectionskrankheiten, deren Hauptvertreter bei uns die

¹⁾ Der Aufsatz von Wernich (Cohn's Beiträge, Bd. III. Heft 1.) war mir zur Zeit der Abfassung des Manuscriptes nicht bekannt, konnte deshalb auch in den folgenden Sätzen nicht berücksichtigt werden.

Malaria ist. Es erscheint an den Ort gebunden, tritt regelmässig alljährlich in demselben Dorf, demselben Gehöft auf, während die benachbarten Dörfer, ja die benachbarten Häuser desselben Dorfes oft ganz verschont bleiben oder doch nur ganz vorübergehend einzelne sporadische Fälle darbieten. — Der *Micrococcus prodigiosus* ist beobachtet worden in Indien, Kleinasiens, Afrika so gut wie in den nördlichen Ländern Europas, in Russland so gut wie in Frankreich und Spanien. Das Blauwerden der Milch verhält sich auch in dieser Beziehung anders. Ich möchte hier auf einen Umstand aufmerksam machen, welcher bisher nicht beachtet worden ist. Eine Durchsicht der Litteratur über blaue Milch mit Rücksicht auf den Wohnort der Verfasser resp. den Ort, an welchem sie ihre Beobachtungen anstellten, scheint zu dem Resultat zu führen, dass die Erscheinung nicht überall in gleicher Häufigkeit vorkommt, vielmehr hauptsächlich in dem Küstengebiet an der Ostsee resp. in der norddeutschen Tiefebene endemisch ist, sich also auf eine nach den Grundsätzen der physikalischen Geographie recht bestimmt abgrenzbare Zone beschränkt. Gleich die erste Veröffentlichung über blaue Milch, die Abhandlung von Borowsky, beruht auf Beobachtungen in einem Ort der norddeutschen Ebene, Frauendorf bei Frankfurt a. O.; Hermbstaedt gründete seine Theorie auf mehrjähriges Studium der blauen Milch an der landwirtschaftlichen Muster-Anstalt in Pankow (bei Berlin); Steinhofs analoge Beobachtungen (einmal 12 Jahre lang dauerndes Auftreten in demselben Gehöft) wurden im Amte Grabow speciell in dem Dorfe Techentin (Mecklenburg) vorgenommen; Fuchs scheint seine Studien in Berlin gemacht zu haben; Gielens Beobachtungen wurden in Mühlhausen in Westpreussen, Wagenfelds in Königsberg angestellt. Haubner hatte alljährlich während seines Aufenthaltes in Eldena (bei Greifswald) Gelegenheit, blaue Milch zu untersuchen, ebenso wie nach ihm Fürstenberg; desgleichen H. Hoffmann und Mosler in Greifswald. Hier in Rostock und Umgegend herrscht das Blauwerden der Milch gleichfalls endemisch und ist eine fast jeder Hausfrau bekannte Erscheinung. Aus anderen Gegenden existiren nur ganz vereinzelte Veröffentlichungen, so von Wiener aus Giesen, Elten aus Prag und von einigen Franzosen; Schröter und Cohn in Breslau haben die Erscheinung selbst nicht beobachtet, sondern erwähnen sie nur referirend¹⁾. —

¹⁾ Blaue Milch ist seitdem in Schlesien von mir, sowie von Dr. Friedländer und Krocker in Proskau, jedoch nur in ganz vereinzelten Fällen beobachtet worden.

F. Cohn.

Die blaue Milch ist erst verhältnissmässig kurze Zeit der wissenschaftlichen Forschung bekannt; es ist deshalb auch die Menge der über dieselbe veröffentlichten Arbeiten eine beschränkte. Um so auffälliger muss dabei die Zahl der verschiedenen über Wesen und Ursachen des Proesses aufgestellten Ansichten erscheinen, — man kann fast behaupten, dass jeder neue Beobachter des Gegenstandes eine neue Theorie zu schaffen versucht habe. Die schon oben erwähnte erste wissenschaftliche Beobachtung von Borowsky datirt aus dem Jahre 1788¹), derselbe nimmt an, dass eine schlechte Weide und dementsprechend mangelhafte Gesundheit des Vieh's die Ursache der Bläbung sei, er statuirt also eigentlich zwei Ursachen und die ihm folgenden Forscher bemühten sich, indem sie bald nur die eine, bald nur die andere verantwortlich machten, seine Ansicht zu verbessern. Zunächst wurden beide angezweifelt in der 1800 erschienenen Arbeit von Parmentier und Deyeux²), ohne dass jedoch von diesen Verfassern eine bestimmte neue Theorie über das wahre Wesen des Proesses aufgestellt worden wäre. Dagegen wollten Chabert und Fromage³) nur eine Erkrankung der Kühe als Ursache der Bläbung gelten lassen, ohne dem Futter einen bestimmten Einfluss zuzuschreiben. — Die entgegengesetzte Ansicht vertrat Hermbstädt⁴), welcher den Process nur auf die Einwirkung des Futters zurückführte und eine dabei bestehende Krankheit der Kühe leugnete. Seine Meinung ging dahin, dass gewisse Pflanzen, welche einen dem Indigo ähnlichen Farbstoff enthielten (*Hedysarum*, *Onobrychis*, *Anchusa*, *Equisetum*, *Mercurialis* u. A.), diesen Farbstoff an die Milch abgäben. Diese Annahme blieb auffallend lange in Ansehen und fand selbst in einer Zeit, als schon besser motivirte Theorien aufgestellt waren, immer noch Anhänger. Nur in Bezug auf die Natur des Farbstoffes wurde dieselbe modifizirt. So in der Arbeit von Drouard und Leclerc⁵), welche

1) Pyl's Magazin für gerichtliche Arzneikunde und med. Polizei. Bd. II.

2) Parmentier und Deyeux: Neueste Untersuchungen und Bemerkungen über die verschiedenen Arten der Milch. — Aus dem Französischen von Dr. Scheerer. Jena 1800.

3) *D'une altération du lait de vache, désignée sous le nom du lait bleu*, par Chabert et C. M. F. Fromage. Paris 1805.

4) Hermbstaedt, Ueber die blaue und rothe Milch. Leipzig 1833. Separatabdruck aus Erdmann's Journal für technische und ökonomische Chemie. Bd. XVIII.

5) Drouard et Leclerc. Recueil de médecine vétérinaire 1846. (Auszug im Magazin f. d. gesamte Thierheilkunde. XIII. p. 77.)

glauben, dass sich aus den Eisensalzen des Futters blaues phosphot-saures Eisenoxyduloxyd bilde. Dieselbe Ansicht war schon früher in einer kurzen Mittheilung von Nadt¹⁾ ausgesprochen worden. — Ein wirklich entscheidender Fortschritt in Bezug auf die Kenntniss des hier vorliegenden Prozesses wurde erst durch die Arbeit von Steinhof²⁾ gemacht. S. kommt zu folgendem Resultat: „Es liegt dem Blauwerden der Milch ein besonderes Agens, ein Ferment, oder, wenn ich mich so ausdrücken darf, ein Ansteckungsstoff zu Grunde, welcher ursprünglich durch einen besonderen Zersetzung-process in der Milch entsteht, sich in die Milchgeschirre und ihren Aufbewahrungsort festsetzt und sich ähnlich wie das flüchtige Contagium der Vieh- und Menschen-Pest, der Pocken, Masern u. s. w. verschleppen lässt, sich anderer gesunder Milch mitteilt und diese in eben den Zustand versetzt wie diejenige war, von welcher es erzeugt worden.“ —

Es muss einen geradezu wunder nehmen, dass S., welcher also eine Uebertragung analog dem Pockengift etc. annimmt, keinen Versuch zum Beweise dieser Annahme durch Impfung gemacht hat. In Folge dieses Mangels fehlte seiner Theorie die wissenschaftliche Begründung, und wirklich fruchtbringend wurde sie erst durch die bahnbrechenden Untersuchungen von Fuchs³⁾), durch welche er, gestützt auf zahlreiche Impfungen und mikroskopische Untersuchungen in Gemeinschaft mit Ehrenberg zu dem Resultat kommt, dass das Blauwerden bedingt sei durch die Entwicklung von Vibrionen, für welche er den Namen *Vibrio cyanogenus* aufstellte. — Begreiflicherweise erregte diese Arbeit grosses Aufsehen und wurde von vielen Seiten ohne weiteres angenommen, (namentlich auch in den meisten Lehrbüchern angeführt) und zur Grundlage weiterer Untersuchungen gemacht. So z. B. von Gielen⁴⁾), welcher, gestützt auf Fuchs' Anschauung Desinfectionsmittel zur Beseitigung der Erscheinung empfahl; ebenso in demselben Sinn von Elten⁵⁾ u. A. Jedoch wurden auch Stimmen gegen die Fuchs'sche

1) C. Nadt im Pharmaceutischen Centralblatt 1833.

2) Steinhof, Ueber das Blauwerden der Milch; Nene Annalen der Mecklenburgischen landwirthschaftlichen Gesellschaft. 1838. Heft 7 und 8.

3) C. J. Fuchs, Beiträge zur näheren Kenntniss der gesunden und fehlerhaften Milch der Haustiere. — Gurlt und Hertwig's Magazin für die gesammte Thierheilkunde. Bd. VII. 2. p. 133.

4) Gielen, Kur der blauen Milch der Küh. Magaz. f. ges. Thierheilk. Bd. VIII. 2. p. 234.

5) Elten, Centralblatt f. d. gesammte Landescultur in Böhmen. Prag 1864. No. 45.

Theorie laut, z. B. von Hering¹⁾ und Wiener²⁾). Die wichtigste Arbeit, welche gegen die „Vibronentheorie“ aufgestellt wurde, ist die von Haubner³⁾), auf welche ich noch häufig werde zurückkommen müssen. — Haubner hat durch fortgesetzte Impfungen unter den verschiedensten Modificationen und durch eine lange Reihe der mühsamsten und sorgfältigsten Untersuchungen ein höchst reichhaltiges Material gesammelt, welches die Grundlage zu den meisten nach ihm angestellten Untersuchungen lieferte. Er glaubt aus seinen Beobachtungen den Schluss ziehen zu müssen, dass die Vibronen nicht die Träger des Contagiums sind, dass die Ansteckung vielmehr vermittelt werde durch ein lebloses (chemisches) Ferment, welches in dem sich zersetzenden Käsestoff enthalten sei.

Nach dieser Haubner'schen Arbeit ist nichts wesentlich neues über blaue Milch veröffentlicht worden. Zu erwähnen wäre etwa nur noch die weiter unten eingehender zu besprechende Arbeit von Mosler⁴⁾), welcher mit H. Hoffmann⁵⁾) zusammen, wohl unter dem Einfluss von Hallier'schen Anschauungen, den „Pilz der blauen Milch“ mit dem der sauren Milch und dem gewöhnlichen *Penicillium glaucum* identifizirt und um die verschiedene Function dieses Pilzes bei blauer und bei nicht blauer Milch zu erklären, auf die veraltete Ansicht zurückgreift, dass Milch, um blau zu werden, eine fehlerhafte Beschaffenheit in Folge von Krankheit der Kuh haben müsse.

II. Impfung der blauen Milch.

1. Substrat der Impfung. Impfmaterial. Bedingungen der Impf-fähigkeit. Uebertragung des Contagiums durch die Luft.

Die hauptsächlichste und zugleich einfachste und nächstliegende Beobachtung über den Process des Blauwerdens der Milch ist die, dass dieser Process durch Impfung übertragbar ist, dass durch Zusatz einer geringen Quantität blauer Milch zu normaler in dieser die Bläunung sich hervorrufen lässt. Die Uebertragbarkeit durch Impfung, also die Vermehrungsfähigkeit des Contagiums ist eine unbegrenzte; durch ein einziges Tröpfchen blauer Milch kann

1) Hering, Repertorium der Thierheilkunde. Jahrgang X. p. 242.

2) Wiener, Zeitschrift für Thierheilkunde und Viehzucht. Bd. IX. Heft 3. p. 352. Gießen 1842.

3) Haubner, Wissenschaftliche und praktische Mittheilungen. — Magazin für die gesamte Thierheilkunde. Bd. XVIII. 1852.

4) Mosler, Ueber blaue Milch und durch deren Genuss herbeigeführte Krankheiten. Virchow's Archiv. Bd. 43. 1868.

5) Vergl. auch Botanische Zeitung 1865. No. 13. p. 108.

man den Process der Bläzung auf eine unbegrenzte Quantität derjenigen Stoffe, welche überhaupt diesem Process anheimfallen können, übertragen. Dieser Satz ist, insoweit überhaupt durch die inductive Methode des Experimentes ein solcher Beweis geführt werden kann, schon von Fuchs, Haubner, Erdmann u. A. bewiesen worden, und ich kann denselben in vollem Umfange bestätigen. Ich habe nur eine einzige Probe spontan blau gewordener Milch bekommen und war im Stande von derselben ausgehend mehr als 200 Impfungen zu machen, ohne eine Abnahme der Impfkraft zu bemerken. An und für sich könnte das selbstverständlich erscheinen, vorausgesetzt, dass wir überhaupt ein Recht haben die Bläzung als mykotische Infection anzusehen. — Aber, auch diese Voraussetzung zugestanden, so wäre die unbegrenzte Impfbarkeit doch nur dann ein selbstverständliches Postulat, wenn man ohne weiteres annehmen könnte, dass die inficirenden „Pilze“ den ganzen für sie möglichen Lebenscyclus in der blauen Milch durchmachten, dass kein Generationswechsel bei ihnen stattfinde, — eine Annahme, welche sich nach der Analogie mit anderen niederen Pflanzenformen keineswegs *a priori* stellen lässt und die ich auch auf Grund meiner Untersuchungen widerlegen kann. Deshalb glaube ich die Thatsache der unbegrenzten Impfbarkeit schon hier betonen zu sollen.

Jedoch muss ich, um einem naheliegenden Missverständniss vorzubeugen, gleich hier bemerken, dass der obige Satz „die Impfbarkeit ist unbegrenzt“ nur so verstanden werden darf, dass man im Stande ist, von einer minimalen Quantität blauer Milch aus nacheinander durch wiederholte Impfungen (indem man jedesmal die zuletzt als Substrat der Impfung benutzte Milch als Impfmaterial für eine neue Quantität verwendet) ungemessene Mengen anderer Körper, speciell anderer Milch zu inficiren. Dagegen ist die Menge der Milch, welche durch eine einmalige Impfung, etwa von einem Tropfen blauer Milch zum Blauwerden gebracht werden kann, beschränkt und zwar in sehr wechselndem Maasse. — Selbst bei Anwendung verhältnissmässig kleiner Gefässer gelingt es selten die ganze in ihnen enthaltene Quantität blau zu machen, meist verfällt nur ein mehr oder weniger grosser Theil diesem Process, während der Rest weiss bleibt. Auf die Details der hier obwaltenden Verhältnisse werde ich später noch ausführlicher eingehen müssen. Vorläufig sei nur soviel bemerkt, dass diese Beobachtung keineswegs als eine Widerlegung der obigen Behauptung aufzufassen ist, sondern durch den Umstand ihre Erklärung findet, dass Milch ausserhalb des Euters nicht beliebig lange Zeit unverändert bleibt, viel-

mehr Zersetzung eingehet, welche den durch die Impfung angelegten Process zu paralysiren geeignet sind.

Die Blaufärbung durch Impfung lässt sich erzielen bei Milch jeder Art. Es ist das schon von Haubner und Anderen in Bezug auf die Kuhmilch nachgewiesen worden¹⁾ und insofern von principieller Bedeutung, als es die veraltete, vor einigen Jahren von Mosler²⁾ wieder aufgenommene Hypothese, dass das Blauwerden auf einem krankhaften Zustand der Milch beruhe, widerlegt. Die Fähigkeit blau zu werden ist auch nicht auf Kuhmilch beschränkt, wohnt vielmehr wahrscheinlich jeder Milch inne, einerlei von welchem Thiere dieselbe stammt. Direct nachgewiesen ist es durch Fuchs³⁾, dessen Experimente ich z. Th. wiederholt habe und bestätigen kann, für Schafs-, Ziegen-, Stuten-, Esels- und Hundemilch. Ich kann dieser Reihe nach meinen Untersuchungen noch die Frauenmilch hinzufügen. — Ausser in der Milch lässt sich nun aber das Blauwerden noch in einer grossen Zahl anderer Körper hervorrufen, wenn auch meist nicht in so intensiver Weise und nicht mit der gleichen Sicherheit. Zunächst bei allen darauf hin geprüften Substanzen, welche pflanzliches Eiweiss enthalten. Es sind das Mandelmilch, gekochte Kartoffeln, Reisbrei, Pflanzencasein aus Bohnen dargestellt (jedoch nur als Niederschlag, nicht in Lösung), Arrowroot, die sogenannte „Kindermilch“ etc. Auffällig ist dem gegenüber die That-sache, dass es bisher noch niemandem gelungen ist auf thierischem Eiweiss (Hühnereier, Blutserum etc.) weder in gelöstem noch in geronnenem Zustand Bläuning hervorzurufen. Auch chemisch reines Casein vermochten weder Haubner⁴⁾ noch ich zur Blaufärbung zu bringen.

Die Analogie anderer „Pigmentgährungen“ der durch *Micrococcus prodigiosus*, *cyaneus* etc. bedingten Färbungen musste es, nachdem von Cohn⁵⁾ nachgewiesen worden, dass dieselben, obwohl beim spontanen Auftreten an das Vorhandensein von Eiweiss geknüpft, doch auch in gewissen eiweissfreien Flüssigkeiten sich entwickeln können, auch für die blaue Milch wahrscheinlich machen, dass man eine eiweissfreie Lösung werde darstellen können, die in derselben Weise wie Milch dieser Bläuning in Folge von Impfung ausgesetzt wäre. Und es ist mir auch, freilich erst nach zahlreichen vergeb-

¹⁾ Haubner, l. c. p. 169. ²⁾ Mosler, l. c. p. 168 u. 180.

³⁾ Fuchs, l. c. p. 193. ⁴⁾ Haubner, l. c. p. 73.

⁵⁾ Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Band I. Heft 2. p. 207. Breslau 1872.

lichen Versuchen gelungen, eine solche Lösung zu finden. Dieselbe besteht aus einer Mischung von neutralem milchsaurem Ammoniak und der Cohn'schen Nährlösung für Bacterien¹). Es wird also auch hierdurch die nahe Verwandtschaft der blauen Milch mit den übrigen durch Bacterien erzeugten Pigmenten bewiesen.

Von jedem auf diese Weise blau gewordenen Körper kann durch Impfung auf Milch wieder Bläuning erzielt werden. Dieselben erleiden also nicht nur eine analoge Zersetzung wie die Milch während des Blauwerdens, sondern sie conserviren auch während dieses Prozesses das Contagium in einem zu weiterer Impfung geeigneten Zustande. Es sind das zwei Eigenschaften, die man zunächst für identisch halten könnte, die jedoch, wie eine weitere Reihe von Experimenten ergiebt, nicht identisch sind. Es existirt nämlich eine grosse Anzahl von Stoffen, welche ohne selbst blau zu werden, den impffähigen Stoff conserviren, so dass man von ihnen aus wieder blaue Milch erzeugen kann. Schon Fuchs erwähnt solche, und Haubner sagt direct (l. c. p. 149): „Mit allen Stoffen, mit denen ich es versuchte, ist es mir gelungen blaue Milch zu erzeugen, wenn ich sie zuvor mit solcher inficirt hatte,“ und führt als derartige Stoffe speciell an: Althee-, Schwarzwurzel- und Quitten-Schleim, Salep, Stärke, Mehl, Kartoffeln, Zuckerlösung, arabischen und Tragant-Gummi, Hausenblase etc. Ich habe einige dieser Stoffe selbst wieder geprüft mit dem gleichen Resultat und bin überzeugt, dass es

¹) Da das milchsaure Ammoniak, wie alle milchsauren Salze, sich schnell zersetzt, ist es räthlich sich dasselbe erst jedesmal vor dem Gebrauch frisch darzustellen. Ich habe mich dazu der folgenden Methode bedient: $7\frac{1}{2}$ Cem cone. Milchsäure mit 15 Cem Aqua dest. vermischt, werden mit einer concentrirten Lösung von Ammonium carbonicum saturirt. (Beim Neutralisiren der Milchsäure mit Ammon. caustic. erhielt ich stets negative Resultate, wohl weil der nicht zu vermeidende geringe Ueberschuss von freiem Ammoniak die Entwicklung des Prozesses hindert.) Von der so erhaltenen Lösung von milchsaurem Ammoniak werden 30 Cem zu 100 Cem der folgenden Nährlösung gesetzt und mit derselben gekocht: Aq. dest. 100,0, Ammon. tartaric. 0,5, Kal. phosphor. 0,2 und einige Tropfen von Magnesia sulfur. und Calcar. sulfuric. in Lösung. — Die von Cohn angegebenen Mischungen seiner Nährlösung mit essigsauren Salzen erlitten keine Bläuning, ebenso die Mischungen der Cohn'schen Flüssigkeit mit milchsaurem Kali oder Natron. — Ich glaube jedoch, dass sich die von mir angegebene Nährlösung durch weiteres Fortsetzen der Versuche und Modificationen der Concentration noch wesentlich wird verbessern lassen; denn so wie ich sie angewandt habe, ergiebt sie nicht ganz sichere Erfolge, etwa auf je 4 Impfungen 3 mal Bläuning, einmal nicht. Mir gebrach es an Zeit, den Gegenstand weiter zu verfolgen, und zur Constatirung der Thatsache genügt ja auch das Vorstehende. —



mir ein Leichtes gewesen wäre, durch weitere Experimente in dieser Richtung die obige Reihe um das Doppelte und Dreifache zu vermehren. Damit wäre jedoch ohne genaue mikroskopische Untersuchung jedes einzelnen dieser Körper, welche wegen der dazu erforderlichen übermässig langen Zeit unthunlich erschien, für die Kenntniss des uns hier beschäftigenden Proesses so gut wie gar nichts gewonnen gewesen. Ich habe mich deshalb auf die Prüfung einiger weniger dieser Stoffe namentlich mit Berücksichtigung der mikroskopischen Vorgänge in denselben beschränkt. — Von den früher angewandten habe ich nur den Altheeschleim, destillirtes Wasser und Gummi- resp. Zuckerlösung benutzt, ausserdem aber mit besonderer Sorgfalt und in sehr zahlreichen Experimenten das Verhalten der gewöhnlichen Cohn'schen Nährlösung, welche ohne blau zu werden eine sehr reichliche und charakteristische Bacterien-Entwickelung liefert, untersucht, und endlich das Glycerin. Auf die Einzelheiten dieser Experimente kann ich erst bei Besprechung der mikroskopischen Befunde ausführlicher eingehen. — Hier will ich nur noch die Bemerkung hinzufügen, dass es nicht gelingt von der blauen Milch aus irgend einen anderen Farbstoff zur Entwicklung zu bringen als immer denselben blauen. Die die Bacterien enthaltenden Körper, welche nicht die charakteristische Blaufärbung annehmen, bleiben ungefärbt.

Nachdem wir in obiger Aufzählung die zur Uebertragung und Conservirung des Contagiums geeigneten Körper kennen gelernt haben, drängt sich zunächst die Frage auf: unter welchen Verhältnissen bleibt das Contagium wirksam, wie lange lässt es sich erhalten, durch welche Einflüsse wird es zerstört?

Beginnen wir mit dem ursprünglichen Träger derselben, der blauen Milch, so wäre hier zunächst zu erwähnen, dass das Contagium einer einmal inficirten Milch schon zu weiterer Infection geeignet ist, ehe die Blaufärbung begonnen hat. Die letztere pflegt erst 1, 2 oder 3 Tage nach der Infection aufzutreten, die Ansteckungsfähigkeit ist meist schon nach $\frac{1}{2}$ Tag vorhanden. In Bezug auf diesen Umstand stimmen meine Untersuchungsresultate mit denen der früheren Beobachter vollkommen überein. In anderer Beziehung bin ich zu abweichenden Ergebnissen gekommen. Nach Haubner sollten zwar alle blau gewordenen Theile der Milch Träger des Contagiums sein, jedoch nur für eine bestimmte Zeit, und ihre Ansteckungsfähigkeit sollte erlöschen während die blaue Färbung noch andauert. Ich habe mich von der Richtigkeit dieses Satzes nicht überzeugen können, war vielmehr stets im Stande, so lange noch eine Spur von blauer Farbe vorhanden war, den Process durch Impfung zu übertragen. Aller-

dings erreicht er, wenn in sehr späten Stadien abgeimpft wurde, bei der neugeimpften Milch meist nur eine geringe Ausdehnung, weil in diesen späten Stadien stets Oidium und oft auch der Bacillus der Buttersäuregärung mit überimpft wird und die pigmentbildenden Bacterien überwuchert. —

Das in der blauen Milch enthaltene Contagium erweist sich nach den Versuchen von Fuchs und Haubner verhältnismässig widerstandsfähig gegen die Mineralsäuren, gegen viele Alkalien und Salze, ja auch gegen einige Desinfectionsmittel, namentlich Chlor. — Ich kann diesen Angaben nach eigenen Beobachtungen nichts Neues hinzufügen. — Die Impffähigkeit bleibt ferner erhalten innerhalb ziemlich beträchtlicher Temperaturdifferenzen. Während die Impfungen am sichersten gelingen von blauer Milch, welche in einer Temperatur von ca. 15° C. sich befindet, derselben Temperatur, unter welcher auch der Process am besten sich entwickelt, wird doch auch durch bedeutende Erniedrigung der Temperatur die Impfkraft nicht vernichtet. Fuchs¹⁾ und Haubner²⁾ haben blaue Milch gefrieren lassen, und der letztere hat sie selbst 14 Tage lang in gefrorenem Zustande erhalten ohne nach dem Aufthauen eine Verminderung der Impfkraft zu bemerken. (Auffällig erscheint bei diesen Versuchen namentlich die Widerstandsfähigkeit gegen lange dauernde Kälte. — Die Fähigkeit kurz dauernde Abkühlungen selbst viel bedeutenderer Art, bis —110° C. zu ertragen, scheint ja nach den Versuchen von Frisch³⁾ vielen, wenn nicht allen Bacterien zuzukommen.) Weniger resistent zeigte sich das Contagium (in der blauen Milch) gegen Temperaturerhöhung. Kochen, ja schon eine Erhitzung auf 70—75° C. vernichtet die Impffähigkeit. — Getrocknete blaue Milch, vorausgesetzt dass sie durch Verdunstung, nicht durch Eindampfen getrocknet ist, bewahrt ihre Impfkraft und zwar verhältnismässig lange Zeit. Fuchs hat von einem, auf einem Glasplättchen eingetrockneten Tropfen blauer Milch nach 3 Wochen erfolgreich geimpft, Haubner nach 6—8 Wochen. Ich selbst habe über Schwefelsäure getrocknete blaue Milch seit ca. 3 Monaten aufgehoben und bisher keine Abnahme der Impfkraft bemerkt.

Wenn demnach schon in der blauen Milch selbst das Contagium eine bedeutende Lebenstenacität zeigt, so gilt das in noch höherem

1) l. c. p. 195. 2) l. c. p. 158.

3) Frisch, Ueber den Einfluss niederer Temperaturen auf die Lebensfähigkeit der Bacterien. Sitzungsber. d. K. K. Akad. d. Wissensch. in Wien. Bd. 75 u. Bd. 80. (Mitgetheilt in d. medicinischen Jahrbüchern 1879. III. u. IV.)

Maasse von dem in anderen Stoffen conservirten, soweit in dieser Richtung Untersuchungen angestellt wurden. Haubner hat getrockneten Altheeschleim noch nach 5 Jahren impfkräftig gefunden und empfiehlt deshalb diese Substanz besonders zur Conservirung des Impfmaterials. Ich bin überzeugt, dass man mit der gewöhnlichen Cohn'schen Nährösung ein gleiches Resultat erlangen könnte, jedoch erstrecken sich meine Beobachtungen nicht über so lange Zeiträume. Das gleiche gilt vom Glycerin. — Schon eine Verdünnung der blauen Milch mit grösseren Mengen destillirten Wassers ermöglicht, während die Blaufärbung schnell verschwindet, ein Conserviren der Impfkraft auf mehrere Monate. — Auch die Resistenz gegen erhöhte Temperatur zeigt sich in bemerkenswerther Weise verstärkt. Man kann Altheeschleim bei einer Temperatur von 100° C. trocknen, ohne dass er seine Impfkraft einbüsst. Ebenso kann man getrockneten Altheeschleim in Wasser $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde kochen und findet ihn nachher ebenso geeignet zur Uebertragung wie vorher. Auch die Bacterien in Cohn'scher Nährösung vertragen wenigstens ein kurz dauerndes Kochen sehr gut. — Die mikroskopische Untersuchung giebt für diese Verschiedenheiten in der Lebensfähigkeit unserer Organismen genügende Erklärung. In der blauen Milch finden wir nur durch Theilung sich fortpflanzende Generationen. In den anderen Substanzen handelt es sich um Sporen. —

Ich habe bisher immer nur von der Uebertragung durch Impfung gesprochen, und es kann wohl auch keinem Zweifel unterliegen, dass diese Art der Fortpflanzung, also die directe Vermischung des zu inficirenden Körpers mit einer gewissen Menge der infectiösen Substanz die gewöhnlich vorkommende ist, nicht nur wo dieselbe absichtlich eingeleitet wird, sondern auch in den Fällen, wo das Blauwerden ohne und gegen den Willen des Milchbesitzers eintritt. — Damit ist aber nicht gesagt, dass sie auch die einzige mögliche Form der Uebertragung sei. Es scheint vielmehr in seltenen Fällen auch eine Uebertragung durch die Luft vorzukommen. Steinhof hielt diese Art der Infection sogar für die gewöhnliche; Fuchs glaubte sie, nach der Entdeckung der „Vibronen“ vollkommen läugnen zu können, und Hering, welcher in dieser Hinsicht erfolgreiche Experimente anstellte¹⁾), stützt hauptsächlich darauf seinen Widerspruch gegen die „Fuchs'sche Vibronentheorie“ und glaubt, man müsse als Contagium ein flüchtiges Ferment annehmen. Haubner hat gleichfalls Versuche angestellt und es ist ihm einmal gelungen

¹⁾ Hering, l. c. p. 242.

nach Zusammenstellung von 2 Gefässen mit gesunder und mit blauer Milch unter einer Glasglocke eine Inficirung der gesunden Milch zu beobachten. — Mir ist bei wiederholten Versuchen das Experiment nie gelungen. — Trotzdem kann an der Thatsache einer bisweilen vorkommenden Uebertragung durch die Luft wohl nicht gezweifelt werden; und dieselbe erscheint ja auch keineswegs als im Widerspruch stehend mit der Annahme eines organischen Contagiums, sondern sehr wohl erklärlich. Da die Bacterien resp. deren Sporen in trockenem Zustande impfkraftig bleiben, so ist es selbstverständlich, dass in Räumen, in welchen lange Zeit blaue Milch in grösserer Quantität aufbewahrt wurde, sich derartige getrocknete Bacterienmassen den Staubtheilchen der Luft beimischen und mit denselben auf die Oberfläche unbedeckt stehender Milch fallend, diese inficiren können (nicht müssen¹). Es lassen sich deshalb gegen die Richtigkeit der Beobachtungen von Steinhof und Haubner, dass Milch, welche in solchen Räumen steht, unter Umständen auch ohne vorgängige Impfung blau wird, begründete Zweifel nicht erheben. Anders steht es in Bezug auf die mit frischer blauer Milch angestellten Experimente von Hering und Haubner; hier könnte man immer noch zweifelhaft sein, ob nicht in den wenigen erfolgreichen Fällen doch eine unbeabsichtigte Impfung vorgelegen habe, und ich möchte das wegen meiner eigenen erfolglosen Versuche annehmen.

2. Verschiedenheiten im Effect der Impfung.

Abhängigkeit derselben von der Beschaffenheit der Milch, vom Impfmaterial, von äusseren Verhältnissen, von der Witterung.

Betrachten wir als Zweites die Verschiedenheiten im Effect der Infection und die sie bedingenden Verhältnisse! Um nicht durch übermässige Anhäufung von Material den Leser zu ermüden und die Klarheit der Darstellung zu schädigen, will ich hier nur die relativ einfachen Verhältnisse berücksichtigen, wie sie bei Impfung auf Milch beobachtet werden. — Man findet hier 1. eine verschie-

¹) Experimente von Cohn (Beitr. z. Biol. d. Pfl. I. 3. p. 150) haben es sehr wahrscheinlich gemacht, dass eine selbst an Bacterienkeimen reiche Luft nur unter besonders günstigen Bedingungen auf eine Flüssigkeit inficirend wirken kann, dann nämlich, wenn diese Keime schon mit Wasser durchtränkt und gequollen sind, während sie sonst „als unendlich leichte und vermutlich von einer Gallerthülle umgebene Körperchen im Wasser nur mit besonderer Schwierigkeit zurückgehalten, meist aber — — — wieder fortgerissen werden ohne benetzt zu sein, ähnlich wie dies etwa mit den Sporen von *Lycopodium* der Fall ist.“ — Vergleiche auch die Experimente v. Dowdeswell. (Quarterly Journal of microscop. science. Bd. XVIII. 1872. p. 82.)

dene Ausdehnung der Bläuing. Es ist schon oben bemerkt worden, dass es nur in seltenen Fällen gelingt, alle in einem Gefäss enthaltene Milch gleichförmig blau zu machen, dass vielmehr meistens nur ein Theil der Milch blau wird. In den geringsten Graden bemerkt man auf dem Sahnehäutchen einzelne erbsen- bis linsengrosse blaue Fleckchen und findet unterhalb desselben die geronnene Milch höchstens wie mit einem bläulichen Anflug bedeckt. Ist der Process besser ausgebildet, so wird auch die Oberfläche des geronnenen Milchkuchens blau, entweder fleckweise oder in ihrer ganzen Ausdehnung. Dabei kann die Sahne gleichfalls vollständig blau werden, oder sie bleibt zum grössten Theile weiss. — Das zwischen Sahne und Caseinkuchen sich ansammelnde Serum bleibt oft farblos, oder färbt sich nur sehr schwach; in anderen Fällen nimmt es auch die blaue Farbe an und bisweilen so stark, dass es dunkler blau ist als die Milch selbst. — Die Blaufärbung des geronnenen Käsestoffs beschränkt sich meist auf die Oberfläche und dringt nur etwa 3—5 mm in die Tiefe; in anderen Fällen kann er aber auch in seiner ganzen Masse, selbst in einer mehr als 2 cm dicken Schicht blau werden. Er nimmt dabei eine weichere, schmierigere Consistenz an und zerfliesst oft fast vollständig. Aehnlich wie die Ausdehnung der Bläuing wechselt auch die Farbe; jedoch scheint die Intensität und Art der Farbe nicht immer der Intensität des Processes zu entsprechen, vielmehr auf andere Verhältnisse begründet zu sein, die mir nicht bekannt sind. Die Farbe kann schwanken zwischen einem ganz blassen Hellblau und dem dunkelsten Indigoblau, der Farbenton schwankt zwischen Blauviolett, Himmelblau und Grünblau, geht sogar hin und wieder, namentlich an den eintrocknenden Rändern in ein schönes Meergrün über.

Weitere Verschiedenheiten liegen 2. in der Dauer der Incubationszeit (zwischen Impfung und dem Eintritt der Bläuing) und in der Dauer der Bläuing. Durchschnittlich verstreichen etwa 60 Stunden bis die Bläuing in der geimpften Milch deutlich wird; jedoch kann unter Umständen der Process auch viel früher eintreten; ich habe mehrfach schon nach 20 Stunden deutliche Blaufärbung gesehen und Haubner giebt das gleiche an. Andererseits kann der Eintritt sich bedeutend verzögern; eine Verzögerung bis zum 3. resp. auch bis zum 4. Tag ist recht häufig, und unter Umständen verstreichen bedeutend längere Zeiträume; so habe ich verschiedentlich erst am 6. und 8. Tag die Bläuing eintreten sehen und Haubner sogar erst nach 10 und 12 Tagen. — Die Dauer der Bläuing schwankt zwischen 3—4 und 14 Tagen. Gemeinlich

ist nach 5—6 Tagen der Process auf seinem Höhepunkt angelangt. Es bilden sich dann auf der blauen Milch weisse Flecken (Oidiumwucherungen), und je mehr diese sich ausbreiten, blasst die Farbe ab, geht in ein Graublau, in reines Grau über und nach 2 oder 3 Tagen ist alles von Pilzen überwuchert. — In den Fällen, wo die Pilze später auftreten, hält sich oft die blaue Farbe dementsprechend länger, jedoch verschwindet sie bisweilen ebenso schnell und unter dem gleichen Farbenwechsel, noch ehe Pilzwucherungen sich ausgebildet haben.

Diese in dem Vorhergehenden aufgezählten Verschiedenheiten sind abhängig zunächst von der Beschaffenheit der als Substrat der Impfung benutzten Milch. Jede Kuhmilch ist geeignet blau zu werden, jedoch ist die Disposition dazu eine verschiedene und zwar aus folgenden Gründen: Jede Milch geht nach ihrer Entleerung aus dem Euter einen Zersetzungspocess ein, welcher im Lauf einiger Stunden oder Tage zur Säurebildung und Gerinnung führt. Die Schnelligkeit, mit welcher dieser Process abläuft, ist bei verschiedenen Milchsorten eine verschiedene und mit ihr hängt aufs engste die Fähigkeit blau zu werden zusammen. Die Milch ist nämlich nur zu der Zeit vor der vollständigen Gerinnung zur Aufnahme und Fortentwicklung des Contagiums geeignet. Impfungen, welche nach vollständiger Gerinnung vorgenommen werden, bewirken keine Bläbung, und auch bei Impfungen, die vor dem Eintritt der Gerinnung stattfinden, tritt nur dann eine vollständige Entwicklung der blauen Farbe ein, wenn nach der Impfung den Bacterien noch genügend Zeit übrig bleibt, sich in der Milch zu verbreiten (und die zur Pigmentbildung geeignete Generation zu entwickeln), ehe die vollständige Gerinnung ihrer Wirksamkeit ein Ziel setzt. — Nach diesen Erörterungen lassen sich die Verhältnisse, welche die Disposition der Milch zum Blauwerden erhöhen und erniedrigen, leicht construiren, und die experimentelle Untersuchung bestätigt die so theoretisch gewonnenen Sätze. Es ist nämlich die Disposition zum Blauwerden bei einer Milch um so grösser, je langsamer sie gerinnt. Eine solche wird einmal zur Aufnahme des Contagiums am längsten geeignet bleiben, andererseits aber auch bei frühzeitiger Impfung dem Contagium am meisten Zeit zur Ausbreitung und Vermehrung lassen, also eine möglichst weite Ausdehnung des Processes erlauben. Jede Milch wird deshalb am geeignetsten sein zur Impfung, wenn sie frisch gemolken ist, und wird um so ungeeigneter werden, je länger sie schon nach dem Melken gestanden hat. Es wird ferner von verschiedenen Milchsorten diejenige am geeignetsten sein, welche bei

der Entleerung am stärksten alkalisch reagirt. Das ist unter normalen Verhältnissen der Fall bei der Milch altmelkender Kühe, ferner (nach Haubner) bei gewissen Futtersorten, und ausserdem tritt die alkalische Reaction der Milch in erhöhtem Grade auf bei den meisten Krankheiten des Euters, durch welche der Milch Eiter, Blut etc. beigemischt werden. Natürlich wird eine in gleicher Weise vermehrte Disposition auch vorhanden sein, wenn man durch künstliche Mittel, (abgesehen natürlich von desinficirend wirkenden) das Säuren der Milch verzögert; es ist hier namentlich als das einfachste und zweckmässigste das Mittel zu erwähnen, welches die Hausfrauen empirisch zur Erreichung dieses Zweckes anwenden, das einmalige Aufkochen der Milch; derartig aufgekochte Milch zeigt sich, auch wenn man sie nicht frisch, sondern erst einige Stunden nach dem Melken in die Hände bekommt, in hohem Grade empfänglich und ich habe deshalb bei meinen Impfversuchen mit Ausnahme der ersten, ausschliesslich aufgekochte Milch verwandt. — — Umgekehrt wird die Disposition zum Blauwerden vermindert oder zerstört durch alles was eine vorzeitige Gerinnung der Milch bedingt, sowie durch alle Manipulationen, welche das Casein modifizieren, wie Zusatz von Mineralsäuren, Alkohol etc. Namentlich muss ich hier auch das lange Kochen erwähnen, welches ja gleichfalls eine Coagulation (und chemische Veränderung?) des Casein bedingt. Eine $\frac{1}{2}$ Stunde oder länger gekochte Milch bleibt in der Regel gegen jede Impfung immun. —

Der zweite Factor, welcher für die Ausbreitung und Schnelligkeit des Proesses wichtig ist, ist die Beschaffenheit des Impfmaterials. — Dass mit der zunehmenden Menge des Impfmaterials die Ausbreitung und Intensität des Proesses proportional zunimmt, ist so selbstverständlich, dass ich hier nicht näher darauf einzugehen brauche. Das Nachfolgende bezieht sich natürlich nur auf die Fälle, in denen gleiche, und zwar möglichst geringe Mengen angewandt werden. Zunächst (und auch das ist eigentlich selbstverständlich) führt die Impfung um so schneller und sicherer zum Resultat und der Proess wird um so ausgedehnter, je gleichmässiger und feiner das Impfmaterial vertheilt ist. Es wirkt deshalb flüssige, oder mit Wasser angerührte blaue Milch schneller und ausgedehnter als ein Klümpchen der geronnenen Masse; ebenso getrocknete blaue Milch oder getrockneter Altheeschleim besser in Pulverform als in Stückchen. —

Was die einzelnen Formen des Impfmaterials anlangt, so sind die Differenzen nicht so bedeutend, wie man erwarten könnte. Frische

blaue Milch wirkt immer am schnellsten. Nur die blaue Nährlösung steht ihr in der Hinsicht gleich. Die übrigen Stoffe, Pasteur'sche resp. Cohn'sche Flüssigkeit, Altheeschleim etc., sowie getrocknete blaue Milch wirken etwas langsamer (Unterschiede meist von 12 Stunden, auch weniger), diese untereinander jedoch ziemlich gleich. — Was den Verlauf des Prozesses anbelangt, so scheint derselbe nach Impfung mit frischer Milch am schnellsten abzulaufen, resp. am leichtesten durch äussere Einflüsse und Oidiumvegetationen gestört zu werden, während die mit anderen Stoffen geimpfte Milch in den meisten Fällen ihre Farbe länger behält. Jedoch ist dieses Verhalten nicht constant, ich habe hin und wieder auch das Umgekehrte bemerkt.

Es wäre hier der Ort noch eine kurze Bemerkung einzuschalten über den Einfluss fortgesetzter Impfungen auf die Impfkr. Bekanntlich ist zuerst von Coze und Feltz¹⁾ die Behauptung aufgestellt worden, dass bestimmte pathogene Fermente, und zwar die der „septischen“ Krankheiten durch fortgesetzte Impfung immer infektiöser würden. Diese Behauptung wurde von einer grossen Anzahl von Beobachtern auf Grund analoger Experimente, wie sie Coze und Feltz angestellt hatten, bestätigt, so von Ulpian, Reynaud, Davaine²⁾, Sanderson³⁾ u. A., allerdings immer nur bezüglich der Sepsis und es gilt wohl jetzt noch bei der Majorität der Pathologen die Zunahme der Virulenz als feststehendes Gesetz. — Koch⁴⁾, welcher bei seinen zahlreichen Uebertragungen der verschiedensten Pilzkrankheiten auf Thiere nie ein ähnliches Verhalten beobachtet konnte, widerspricht dieser Anschauung, wie mir scheint mit gutem Grunde, und glaubt, dass sie durch unrichtig ausgeführte Experimente entstanden sei. Insoweit es sich hier um durch Bacterien angeregte Prozesse des Thierkörpers handelt, kann natürlich meinen Beobachtungen an der blauen Milch gar keine Bedeutung beigelegt werden, denn es wäre absurd die Bläbung der Milch und die Infectionskrankheit im Thierkörper bloss aus dem Grunde, weil bei beiden Bacterien wirksam sind, als analog und ihrem Wesen nach gleichartig hinstellen zu wollen. Man hat jedoch das „Davaine'sche Gesetz“ zu verallgemeinern versucht, und daraus weitgehende Schlüsse über Anpassung und Vererbung bei den niedersten Organismen ziehen

¹⁾ Diese und die folgenden Arbeiten finden sich auszugsweise referirt in Virchow und Hirsch's Jahresbericht für 1866.

²⁾ Davaine, Sitzung d. Pariser Acad. de méd. 17. Sept. 1872.

³⁾ Sanderson, Medizin. Jahrbücher 1876. p. 417.

⁴⁾ Koch, Untersuchungen über die Aetiology d. Wundinfectionskrankheiten. Leipzig 1878.

wollen, und aus diesem Grunde halte ich die Bemerkung nicht für überflüssig, dass bei der blauen Milch sich eine Zunahme der Infektionskraft bei fortgesetzter Impfung nicht constatiren lässt. Ich habe ausser anderen kürzeren, eine fortlaufende Reihe von 12 Impfungen von Milch auf Milch angestellt, eine Zahl, bei welcher doch wohl eine solche Zunahme der Virulenz, wenn sie überhaupt existirte, hätte bemerkbar werden müssen.

Als dritter Factor endlich ist der Einfluss äusserer Verhältnisse auf den Process des Blauwerdens zu berücksichtigen. Wir haben es hier im Grunde nicht mit einem einzelnen Factor, sondern mit einer Summe verschiedener wirksamer Kräfte zu thun, nämlich dem Einfluss des Lichtes, des Sauerstoffs in der Luft, der Temperatur etc. —

Das Licht, welches ja auf die höheren Pflanzen von so entscheidendem Einfluss ist, und dessen auch viele der niedrigeren chlorophyllosen pflanzlichen Organismen nicht entrathen können, scheint auf die Bacterienvegetation in der blauen Milch gar keinen Einfluss auszuüben. Die Milch bläut sich ebenso gut und ebenso ausgedehnt im Dunkeln wie im Licht. Der Process der Bläuung in der Nährlösung mit *Ammon. lacticum* wird durch das Licht insofern gestört, als der Farbstoff sehr schnell abblasst; auf die Entwicklung der Organismen hat die Beleuchtung aber auch hier keinen bemerkbaren Einfluss, weder zu Gunsten, noch auch, wie man nach den Untersuchungen von Downes und Blunt¹⁾ betreffs anderer Bacterienformen vermuthen könnte, zu Ungunsten derselben.

Dagegen ist der Sauerstoff der Luft für die Entwicklung des Processes unentbehrlich. Bedeckt man Milch gleich nach der Impfung mit Oel, so tritt gar keine Bläuung ein und damit auch keine Weiterentwicklung der Bacterien. Schliesst man dagegen eine Milch, welche schon eben anfängt blau zu werden durch Oel von der Luft ab, so schreitet der Process noch etwas fort, die Bläuung dehnt sich noch etwas aus, um dann, zum Stillstand gekommen, schnell abzublassen. Dieses zweite Experiment scheint mir den Beweis zu liefern, dass die Bacterien der blauen Milch nicht direct freien, sondern in der Flüssigkeit absorbierten Sauerstoff benutzen.

Die Temperatur übt keinen so auffälligen Einfluss aus, wie bei

¹⁾ Downes und Blunt, Proceedings of the royal society vol. XXVI. No. 184. behaupten, dass das Licht die Entwicklung der Spaltpilze beeinträchtigt resp. völlig hindert.

den meisten anderen durch Spaltpilze angeregten Prozessen, und zwar aus dem Grunde, weil die der Bläunng hinderlichen und sie theilweise compensirenden Prozesse der Säuerung und Gerinnung ungefähr in gleichem Maasse wie diese selbst durch die Temperaturschwankungen gefördert oder gehemmt werden, so dass im Grunde immer ein nahezu gleiches Resultat erfolgt. Schon Haubner hat in dieser Hinsicht richtige Beobachtungen angegeben, und da ich denselben nichts hinzuzufügen habe, führe ich hier seine eigenen Worte an (p. 177): „Eine hohe Temperatur beschleunigte zwar das Blauwerden, so dass es schon mit 20—24 Stunden eintrat; aber es beschränkte seine Ausdehnung in Folge der frühzeitigen Gerinnung. — Bei einer Temperatur von ca. 10—15° C. erfolgte das Blauwerden erst innerhalb 2—4 Tagen, aber es trat in möglichster Ausdehnung hervor. — Bei allen niedrigeren Temperaturgraden, bei denen Säuerung und Gerinnung sich durch viele (6—8) Tage verzögert, verzögert sich auch das Blauwerden und tritt nur unvollständig hervor.“

Gegenüber diesem relativ unbedeutenden Einfluss der Temperatur erscheint die grosse Bedeutung der Witterung für den Prozess des Blauwerdens und ihre unverkennbare Einwirkung auf denselben höchst wunderbar. — Alle Beobachter der blauen Milch stimmen darin überein, dass die Intensität des Prozesses oft ganz plötzlich mit der Witterung wechsle, dass das Blauwerden bei einem Umschlag des Wetters plötzlich verschwinde oder wieder auftrete und Wiener sah sich durch diese Beobachtungen veranlasst, in der Witterung eine der Hauptursachen der blauen Milch anzunehmen. Haubner sagt über dieses Thema p. 175: „Eine feuchtwarme schwüle Witterung begünstigt das Blauwerden, ebenso warmer Regen. Dagegen wird es durch kühles Wetter gehemmt oder gänzlich unterdrückt. — Einen grellen Wechsel im Blauwerden beobachtet man im Sommer bei abwechselnder Trockenheit und Regen und im Herbst beim Eintritt kalter Tage. Damit stimmen die Angaben von Wiener, dass Süd- und Südwest-Winde und feuchte neblige Jahrgänge das Blauwerden begünstigen.“ H. fügt diesen Angaben die Bemerkung hinzu: „dass diese Beobachtungen nicht befriedigen können, selbst wenn sie alles erschöpfen. Man erkennt nämlich nicht die Art ihres Einflusses; indem überall verschiedene Momente (Beschaffenheit der Luft, Feuchtigkeit, electrisches Verhältniss etc.) mit einander verbunden sind.“ — Auch ich habe mich vergeblich bemüht, einen befriedigenden Aufschluss über diese Verhältnisse und namentlich eine genügende Erklärung derselben zu erlangen; die Angaben, welche ich in die-

ser Beziehung machen kann, können nur den Werth einer auf Wahrscheinlichkeit gegründeten Vermuthung haben¹).

Dass die wechselnde Temperatur der Luft, welche ja, wie oben bemerkt, überhaupt keinen sehr grossen Einfluss ausübt, bei der Frage nach der Einwirkung der Witterung fast bedeutungslos ist, scheint mir schon daraus hervorzugehen, dass sich alle Beobachtungen auf Räumlichkeiten beziehen, in welchen eine nahezu gleichmässige nur in längeren Zeiträumen wechselnde Temperatur herrscht, nämlich auf die Kellerräume, in welchen man die Milch zur Rahm- und Buttergewinnung aufzubewahren pflegt. In meinem Fall waren die Verhältnisse insofern ähnliche, als ich alle meine Experimente in dem gleichmässig durch Reguliröfen auf ca. 16—18° Cels. erwärmten Experimentirsaal des pathol. Institutes, dessen Temperatur auch Nachts nur unbedeutend sinkt, angestellt habe.

Auch die Schwankungen des Barometerdruckes glaube ich für irrelevant erklären zu können, da sie auch in den extremsten Fällen nie die Höhe erreichen, bei welcher ein Einfluss auf die niederen Organismen constatirt worden ist²).

Dagegen scheint mir der Feuchtigkeitsgehalt der Luft von Bedeutung für den Ablauf und die Intensität des Processes zu sein; wobei ich jedoch gleich bemerken muss, dass mir jede Erklärung dafür, wie die Feuchtigkeit der Luft auf die in der Milch suspendirten Bacterien einwirken kann, mangelt. (Verdunstungs-Electricität?) Setzt man von 2 Proben mit dem gleichen Material geimpfter

1) Zum grossen Theil dieser Misserfolg darin begründet sein, dass mir nicht das zu diesen Untersuchungen geeignete Beobachtungs-Material zu Gebote stand. Ein solches würde nur zu erlangen gewesen sein durch eine Monate lang fortgeführte Reihe täglicher Impfungen auf abgewogene Quantitäten von Milch mit abgewogenen Mengen gleichartigen Impfmaterials und unter möglichst gleichen äusseren Verhältnissen, und zur Durchführung einer solchen gebrach es mir an Zeit. Ich glaube jedoch, dass eine derartige Untersuchung bei dem theoretischen Interesse, welches sich an die Frage vom Einfluss der Witterung knüpft, sich wohl der Mühe lohnen würde. Die nachfolgenden Bemerkungen beziehen sich auf Beobachtungen von blauer Milch, welche zunächst zu anderen Zwecken geimpft war.

2) Dass sehr bedeutende Veränderungen des Athmosphärendrucks nicht ohne Einfluss sind, ist zweifellos. Haubner sah bei starker Luftverdünnung das Blauwerden behindert, ohne dass jedoch die Fähigkeit blau zu werden vollständig zerstört worden wäre. — Beziiglich der Luftverdichtung sind mit der blauen Milch direct keine Versuche angestellt worden, jedoch ist der deletäre Einfluss starker Luftverdichtung auf alle niederen Organismen durch Bert (la pression barométrique. Paris 1878) und durch Cossar Ewarts (Quart. Journ. of micr. sc. Bd. 18. p. 161) erwiesen worden.

Milch die eine unter einer mit Wasser abgesperrte Glasglocke, die andere unter einer mit Oel abgesperrte, in welcher durch conc. Schwefelsäure die Luft völlig trocken gehalten wird, so bemerkt man bei der zweiten Probe einen etwas verzögerten Eintritt und eine geringere Ausbreitung, sowie ein schnelleres Ablassen der blauen Farbe; um mich weiter über diese Verhältnisse zu orientiren, habe ich die während der Monate October, November und December v. J. von mir beobachteten Impfresultate mit den meteorologischen Beobachtungen über die Luftfeuchtigkeit¹⁾ während der betreffenden Zeit verglichen. Es scheint hier allerdings ein Zusammenhang zu existiren in der Weise, dass der Erfolg der Impfung ein besserer ist bei grösserer Luftfeuchtigkeit, jedoch ist das Bild aus den oben in der Anmerkung angegebenen Gründen kein klares, und ich muss bis zur Beschaffung eines besseren Beobachtungsmaterials darauf verzichten, weiter auf dies Thema einzugehen.

III. Process der Bläbung.

Allgemeiner Vorgang. Natur des Farbstoffes. Chemische Processe bei der Bildung desselben.

Die Blaufärbung der Milch ist ein Symptom einer eigenthümlichen Zersetzung. Dieselbe ist in ihrem Eintritt und Verlauf abhängig von der Milchsäure-Bildung einerseits und dem Zustand des Casein andererseits. — Sie tritt erst ein, nachdem ein gewisser Säuerungsgrad erreicht ist, verhindert aber das Fortschreiten der Säuerung, d. h. die Milch bleibt, so lange sie blau ist, schwach saner²⁾. Sie setzt ferner das Vorhandensein von unverändertem Casein voraus, eines Casein, welches zwar in Folge der Säuerung aus seiner Lösung ausgefällt, aber noch nicht in den Zustand des „coagulirten Eiweiss“ übergegangen ist; das aus der Lösung gefallte Casein wird während der Bläbung wieder verflüssigt. — Das Fett der Milch wird nicht verändert, ist überhaupt zum Gelingen des Processes nicht erforderlich³⁾. Die Bläbung setzt die Gegenwart sauerstoffhaltiger Luft voraus, (in der Milch absorbiert), und verläuft unter Bildung von Kohlensäure, welche, wenn der Process stürmisch verläuft, in so grosser Menge abgeschieden wird, dass

¹⁾ Für die Ueberlassung der betr. meteorologischen Daten bin ich Herrn Dr. Wiese, Director der Navigationsschule in Rostock, zu grossem Dank verpflichtet.

²⁾ Cf. Haubner, l. c. p. 53. ³⁾ Desgl. l. c. p. 70.

sie das Sahnehäutchen in Blasen abhebt¹⁾). — Hand in Hand mit dieser Zersetzung und proportional mit derselben geht die Entwicklung der weiter unten zu beschreibenden Bacterien. —

Bei der Frage nach dem Wesen, d. h. dem chemischen Ablauf dieses Prozesses wird man naturgemäß zunächst das Endresultat, den gebildeten Farbstoff, ins Auge fassen. Die älteren Ansichten über denselben will ich nur beiläufig erwähnen, da sie alle auf Vermuthung, nicht auf Untersuchung beruhen. Hermstädt und seine Anhänger glaubten, dass es sich um Indigo, welcher aus dem Futter stamme, handle; Nadt und später Drouard und Leclerc hielten den Farbstoff für phosphorsaures Eisenoxydul-oxyd; Steinhof, welcher in dem ganzen Prozess eine Art von Fäulniss, ein „Verderben“ der Milch sah, glaubte, dass sich hier Berlinerblau bilde, durch einen ähnlichen Prozess, wie er zur Darstellung des Blutlaugensalzes aus dem Blut künstlich hervorgerufen werde. Fuchs lässt die Frage unentschieden, und auch Haubner, obwohl er ziemlich genaue Untersuchungen angestellt hat, ist zweifelhaft, ob hier ein organischer Farbstoff im Spiele sei, oder doch nur phosphorsaurer Eisenoxyd-oxydul.

Die erste Arbeit mit einem bestimmten Resultat stammt von Erdmann²⁾). Derselbe untersuchte ausser dem Farbstoff des *Micrococcus prodigiosus* auch die blaue Milch und kam zu dem Schluss, dass beide Anilinfarben seien, welche sich aus dem Eiweiss der zur Cultur benutzten Nährstoffe bildeten. Die Erdmann'sche Angabe, obwohl sie sich auf eine eigentlich mangelhafte Beweisführung stützt, fand grossen Beifall und es wurde von verschiedenen Seiten der Versuch gemacht, dieselbe zu bestätigen, und zwar zunächst betreffs des rothen Farbstoffs. — Diese Bestätigung gelang aber nur unvollkommen. Schon Schröter³⁾), der im Jahre 1871 eine grössere Reihe von durch Bacterien erzeugten Farbstoffen prüfte, kam zu dem Resultat, dass dieselben zwar alle eine grosse Aehnlichkeit mit den entsprechenden Anilinfarben darbieten, dass aber kein einziger von ihnen mit einer der künstlich erzeugten Anilinfarben identisch ist. Speciell wies er dies für die rothe Farbe des *Micrococcus prodi-*

1) Ob noch andere Gase sich bilden, vermag ich nicht zu sagen. Die Kohlensäurebildung ist leicht durch Ueberleiten von kohlensäurefreier Luft über blauwerdende Milch und nachheriges Waschen der Luft in Barytwasser nachzuweisen. — Schwefelwasserstoff bildet sich nicht. (Probe mit Bleipapier.)

2) Dr. O. Erdmann, Bildung von Anilinfarben aus Proteinkörpern. Journ. f. prakt. Chemie. Bd. 99. II. 7 und 8. p. 385. — 1866.

3) J. Schröter, Ueber d. Bact. geb. Pigmente. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. I. 2. p. 109.

giosus nach, welchen Erdmann für identisch mit Fuchsin erklärt hatte. In ausführlicher Weise wurde dieselbe Frage später von Helm¹⁾ untersucht mit dem gleichen Resultat, dass das von dem *Micrococcus* gelieferte Roth mit keiner rothen Anilinfarbe übereinstimme.

Bezüglich des blauen Farbstoffes in der Milch kann ich dasselbe behaupten. Erdmann bezeichnet denselben als Triphenyl-rosanilin, und es ist nicht zu leugnen, dass einzelne der Reactionen bei beiden Körpern fast gleich sind; jedoch bietet das Blau der Milch daneben Eigenthümlichkeiten, die keinem der uns bekannten blauen Anilinfarbstoffe zukommen. —

Der Farbstoff der blauen Milch ist nicht an die Bacterien gebunden, (wahrscheinlich sind dieselben überhaupt nicht gefärbt), sondern in dem Serum der Milch gelöst. Er ist leicht löslich in säurehaltigem Wasser, fast gar nicht löslich in Alkohol, unlöslich in Aether, Chloroform etc. Dagegen löst er sich ziemlich leicht in Glycerin. Derselbe ist in hohem Grade unbeständig und es ist mir deshalb ebensowenig wie den früheren Untersuchern gelungen, ihn zu isoliren. In der wässrigen Lösung zersetzt er sich schon während des Filtriren und auch in Glycerin verblasst er dem Licht ausgesetzt in wenigen Stunden, im Dunkeln in 1—2 Tagen. Zusatz von Essigsäure, Salzsäure, Phosphorsäure, verdünnter Schwefel- oder Salpetersäure verändern die blaue Farbe nicht. Ammoniak giebt ihr einen etwas violetten Ton, während kohlensaures und kaustisches Kali und Natron dieselbe sofort in ein schönes Rosenroth verwandeln, aber den Farbstoff nicht ausfällen. (Aus dem gewöhnlichen Anilinblau wird der Farbstoff durch Kalilauge in rothen Flocken ausgefällt.) Setzt man der so gerötheten Lösung Säure zu, so wird die blaue Farbe wieder hergestellt. Lässt man dagegen die mit Kal. caust. versetzte Lösung längere Zeit (12—24 Stunden) stehen, so verwandelt sich das Rosaroth in ein Ziegelroth mit undeutlicher Fluorescenz. Dieser ziegelrothe Farbstoff wird durch Säuren nicht blau, vielmehr zunächst gelbroth und nach einiger Zeit entfärbt. In der alkalischen Lösung hält er sich längere Zeit unverändert, wird aber durch Kochen zerstört. Die Farbe geht hierbei in Gelb oder Gelb-braun über. Beim langsamem Verdunsten scheidet er sich zwischen den Kalikristallen als gelbrothes amorphes Pulver ab, welches in Alkohol und Aether unlöslich ist, in alkalischem Wasser sich schwer löst. Da diese chemischen Eigenschaften zwar die Unterschiede von den gewöhnlichen Anilinfarben demonstrieren, aber zur genaueren Kennt-

¹⁾ Otto Helm, Reichardt's Archiv d. Pharmacie 1875. p. 19—24.

niss des Farbstoffs wenig beitragen, habe ich die Untersuchung des spectroskopischen Verhaltens zum Zweck einer genaueren Charakterisirung des hier vorliegenden Körpers angewandt.

16	17	18	D	19	20	E	21	22	F	23	24	25	26
<i>Blauer Farbstoff aus der Milch.</i>													
<i>Triphenylrosanilin verdünnt.</i>													
<i>Triphenylrosanilin concentrirt.</i>													
<i>Rosarother Farbstoff aus d. Milch mit Kali caustic.</i>													
<i>Rosanilin.</i>													
<i>Purpurin.</i>													
<i>Ziegelrother Farbstoff aus d. Milch, nach laengerem Behandeln mit Kali caust.</i>													
<i>Eosin verdünnt.</i>				D		E		F					

Spectra der aus der blauen Milch dargestellten Farbstoffe und verschiedener Anilinfarben.

Bekanntlich ist das Spectroskop in neuerer Zeit häufig und mit gutem Erfolg zur Bestimmung und Identificirung von organischen Farbstoffen, deren chemische Natur noch nicht genügend aufgeklärt ist, benutzt worden. So zur Bestimmung der Farbstoffe niederer Seethiere, welche bei der Challenger-Expedition gefunden waren von Moseley¹), ferner für Bacterienfarbstoffe von Schröter²), Lankester³), E. Klein⁴)

¹⁾ Moseley, On the colouring matters of various animals. Quart. Journ. of mier. sc. Bd. XVII. p. 1. 1877. ²⁾ l. c.

³⁾ Lankester, On a peach-coloured Bacterium. Quart. Journ. of mier. sc. Bd. XIII. p. 408. 1873. ⁴⁾ E. Klein, Note on a pink-coloured Spirillum. Quart. Journ. of mier. sc. Bd. XV. 1875.

u. A., und ich durfte also hoffen auch für den Farbstoff der blauen Milch ein charakteristisches Spectrum zu erhalten. Diese Hoffnung hat sich auch erfüllt, wenigstens für den durch längere Behandlung mit Kali caust. gewonnenen Körper. Vergl. den Holzschnitt auf S. 28.

Den ursprünglichen blauen Farbstoff sowie den bei der Behandlung mit caustischen Alkalien zuerst entstehenden rosaröthen konnte ich wegen ihrer Zersetzung nur in sehr verdünnten Lösungen untersuchen, welche nur schwache Absorptionsstreifen im Spectrum geben. Jedoch habe ich trotzdem mich überzeugen können, dass der blaue Farbstoff sich spectroskopisch sehr ähnlich verhält, wie eine gleich stark verdünnte Lösung von Triphenyl-Rosanilin. Beide geben einen Streifen im Gelb, die Anilinfarbe sehr verwischt, der Farbstoff der blauen Milch ziemlich scharf. — Das concentrirte Anilinblau, dessen Spectrum zum Vergleich daneben gezeichnet ist, giebt eine ausgedehnte Verdunkelung sämtlicher Farben zwischen C. und F. — Dagegen zeigt der durch Kalilauge gewonnene rosaröthe Farbstoff durch sein spectroskopisches Verhalten klar, dass er mit dem Rosanilin nicht identisch ist. Das letztere giebt ein scharfes Absorptionsband im Grün, der erstere eine Verdunkelung, welche dicht hinter D. ziemlich scharf beginnt, und sich ohne deutliche Grenze bis in die Nähe von F. erstreckt. Der ziegelrothe durch längeres Behandeln mit Alkali erhaltene Farbstoff zeigt in seinem chemischen Verhalten eine gewisse Aehnlichkeit mit Purpurin, dem er auch in der Farbe gleicht. Dagegen weichen die Spectra bedeutend von einander ab. — Bemerkenswerth erscheint mir die grosse Aehnlichkeit des Spectrums von diesem Körper mit dem einer verdünnten Eosinlösung, welches auf eine nahe Verwandtschaft dieser beiden Stoffe hinzudeuten scheint. Wirklich identisch sind sie nicht, denn das Eosin ist in Alkohol sehr leicht löslich, unser Farbstoff gar nicht; im Uebrigen zeigen sie allerdings fast die gleichen Reactionen. — Das Resultat der obigen Untersuchungen würde also sein, dass wir es mit einem Farbstoff zu thun haben, welcher zwar mit keiner der im Handel vorkommenden blauen Anilinfarben identisch ist, jedoch denselben chemisch nahe verwandt zu sein scheint.

Wie haben wir uns nun aber die Entstehung dieses Farbstoffes zu denken? — welche Stadien durchläuft die chemische Umsetzung bis zu diesem Endresultat? — welche Bestandtheile der Milch liefern das Material dazu? — Leider ist eine bestimmte, auf strikte Beweise gegründete Beantwortung dieser Fragen zur Zeit nicht möglich. — Haubner zieht aus seinen Beobachtungen den Schluss, dass das Casin den blauen Farbstoff liefere, ohne sich jedoch auf

eine Erörterung der chemischen Vorgänge hierbei einzulassen. — Erdmann schliesst sich der Haubner'schen Ansicht an. — Darüber, auf welche Weise und durch welche Veränderungen des Caséins aus demselben Triphenyl-Rosanilin gebildet werde, spricht er sich in sehr allgemein gehaltenen Sätzen aus wie folgt:

„Vergleicht man die procentische Zusammensetzung der Protein-stoffe mit der der Anilinfarbstoffe:

Protein-stoffe.		Anilinfarbstoffe.	
		Rosanilin.	Triphenyl-Rosanilin.
C.	52,7—54,5 pCt.	75,3	83,4
H.	6,9—7,3	6,6	6,0
N.	15,4—16,5	13,1	7,7
O.	20,8—23,5	5,0	2,9
S.	0,8—0,16	—	—

„so braucht man sich nur der schon bekannten Producte der Fäul-niss, der Kohlen-, Essig-, Milch-Säure, des Ammoniaks, Trimethylams zu erinnern, um durch Austritt derselben aus dem Atomen-complex der Protein-stoffe die Bildung des Farbstoffes erklärlich zu finden, ja durch eine Formel repräsentiren zu können.“ —

Ich halte diese Ansicht über die Entstehung des Farbstoffes für unrichtig. Abgesehen davon, dass das Schicksal des Schwefels aus den Eiweisskörpern dabei gar nicht berücksichtigt worden, ist nicht einzusehen, warum das thierische Eiweiss und das reine Caséin nicht denselben Zersetzungsprocess sollten erleiden können, wie das in der Milch befindliche. Hauptsächlich aber stützen sich meine Zweifel auf meine oben erwähnten Experimente mit eiweissfreier Nährösung. Dieselben scheinen mich zu dem Schluss zu berechtigen, dass hier analoge Vorgänge eintreten, wie die von Zöller¹⁾ bezüglich des Stoffwechsels von Schimmelpilzen in essigsauren Salzen beschriebenen; und da der aus der blauen Nährösung sich bildende Farbstoff in seinem chemischen und spectroskopischen Verhalten sich als völlig identisch mit dem der blauen Milch erweist, so glaube ich auch in der Milch selbst den gleichen Processe annehmen zu dürfen. — Zöller fasst die Ergebnisse seiner Versuche in folgende Sätze zusammen: 1. Die chlorophyllose Zelle (Pilzspore) hat die Fähigkeit, aus organischen Säuren (Essigsäure) im Verein mit den Aschenbestandtheilen und mit Ammoniak die höheren

¹⁾ Zöller, Ueber Ernährung und Stoffbildung der Pilze. Sitzg. d. Kaiserl. Acad. d. Wissensch. in Wien. 9. Juli 1874; vergl. auch Cohn, diese Beiträge Bd. I. H. 2 p. 209.

Pflanzenstoffe: Eiweissstoffe, Fett, Kohlenhydrate zu bilden. 2. Bei dieser Bildung verschwindet die Säure vollständig; ihr Kohlenstoff findet sich zum Theil in organischer Form in der Pflanze, zum Theil als Kohlensäure in der rückständigen Nährflüssigkeit — — —¹⁾ Ganz ähnlich verläuft der Process auch in der blau werdenden Nährlösung, welche aus milchsaurem Ammoniak und Cohn'scher Flüssigkeit besteht. Auch hier wird die organische Säure mehr und mehr aufgezehrt und an ihre Stelle tritt unter Bildung von kohlensaurem Alkali (welches durch Baryt nachweisbar ist), theils belebte organische Materie in den wuchernden Bacterien, theils der blaue Farbstoff. Deshalb glaube ich, dass auch in der Milch das eigentliche Material zur Bildung des Farbstoffes die Milchsäure (also indirect der Milchzucker) ist, und dass der zugleich durch die Bacterienwucherung zersetzte Käsestoff nur insofern bei der Farbenbildung betheiligt ist, als er bei seiner Zersetzung das nötige Ammoniak liefert. Die auch hier als Abfallsproduct gebildete Kohlensäure wird in der Milch nicht, oder nur zum Theil an Alkali gebunden, sondern entweicht, wie schon oben bemerkt, in die Luft. — Dass der von mir angenommene Vorgang keineswegs complicirter, sondern eher einfacher ist, als die Bildung des Farbstoffes aus Eiweiss nach Erdmann's Ansicht, wird bei einer Vergleichung der chemischen Constitution des milchsauren Ammoniaks und des Anilins, sowie seiner Derivate ohne weiteres klar. Die Aufstellung einer theoretischen Formel für die hier eintretenden Umsetzungen muss natürlich unterbleiben, so lange uns die chemische Zusammensetzung des resultirenden Stoffes unbekannt ist. —

Es sei mir gestattet hier noch eine kurze Bemerkung anzureihen über die supponirte Giftigkeit der blauen Milch. Ich würde dieses Thema trotz seines grossen praktischen Interesses als ausserhalb des Rahmens dieser Abhandlung liegend nicht berührt haben, wenn nicht die letzte grössere Veröffentlichung über blaue Milch und zugleich die einzige aus medicinischer Feder, die von Mosler, sich

¹⁾ Der hauptsächlichste und wichtigste Unterschied der hier vertretenen Anschauung von der Erdmann'schen liegt darin, dass E. einen analytischen Process annimmt, während nach meiner Meinung ein synthetischer Vorgang vorliegt. — Nachdem Pasteur zuerst die Fähigkeit niederer Pflanzen, Eiweisskörper aus niedrigeren Verbindungen synthetisch darzustellen, nachgewiesen hatte, (vergl. ausser seinen anderen Arbeiten „die Alkohol-Gährung, deutsch von Victor Griessmayer, Augsburg 1871“) sind analoge Beobachtungen in grosser Zahl von verschiedenen Forschern gemacht worden. Ich habe hier nur die Zöller'sche Arbeit erwähnt, weil sie im Detail den Verhältnissen bei der blauen Milch am meisten entspricht.

hauptsächlich mit der Erörterung dieser Frage befasste und dabei zu Schlussfolgerungen käme, denen ich widersprechen muss.

Die Ansicht, dass die blaue Milch giftig wirke, wurde wohl zuerst von Steinhof aufgestellt, welcher sagt: „weniger verdorben erregt sie bei Menschen und Schweinen Unruhe oder Beängstigung, Schwindel, Zuckungen und heftiges Erbrechen; und, wenn mehr verdorben den Schweinen gegeben, sogar den Tod unmittelbar oder nach längerem Siechthum.“ — Die Steinhof'schen Angaben scheinen bei den praktischen Landwirthen und bei der Majorität der Thierärzte nicht viel Glauben gefunden zu haben. — Ich habe in der mir zugänglichen späteren Litteratur keine einzige Bemerkung gefunden, welche die Giftigkeit der blauen Milch bestätigte, wohl aber wird in verschiedenen Lehrbüchern der Thierarzneikunde direct ausgesprochen, dass giftige Wirkungen von blauer Milch, so lange sie nicht weiter zersetzt sei, nicht zu befürchten seien¹⁾. — Haubner (l. c. p. 141) wirft Steinhof sogar vor, dass er die Giftigkeits-theorie sich nur als Beweis für seine Ansicht, dass der Farbstoff Berlinerblau sei, construirt habe; er sagt: „Man sieht, es ist eine blosse Vermuthung, die Steinhof hier aussert und diese ist wenig begründet. Eine Schädlichkeit der blauen Milch hat bis jetzt noch niemand beobachtet, und wenn es der Fall wäre, dann ist wieder das Berlinerblau nicht giftig.“

Mosler, welcher eine von ihm beobachtete fieberhafte Gastritis mehrerer Glieder einer Familie auf den Genuss von blauer (dicker) Milch zurückzuführen sucht, scheint von diesem allgemeinen Widerspruch gegen Steinhof's Lehren nichts gewusst zu haben, er erwähnt denselben nirgends, sondern führt nur St. an, der vor ihm ähnliche Erscheinungen „beobachtet“ habe. — Darüber, was eigentlich das giftig wirksame Agens in der blauen Milch sei, scheint Mosler mit sich selbst nicht einig geworden zu sein. Auf S. 170 sagt er: „Gewiss ist die giftige Wirkung der blauen Milch um so mehr anzunehmen, seitdem Erdmann den Farbstoff derselben für Anilin erkannt hat“ und fährt, unter Berufung auf Schuchardt und Sonnenkalb, fort: „— — — dass das Anilin zu den starken Giften zu rechnen ist und zwar zu der Klasse derjenigen Gifte gehört, welche ihre Wirkung in den Centralorganen des Nervensystems, nämlich im Rückenmark aussern.“ — Ferner auf S. 171: „Wenn auch die Menge von Anilin, welche in unseren oben mitge-

¹⁾ Vergl. Wagenfeld, Allgem. Vieharzneibuch. Königsberg 1836 und A. Schmidt, Aufzucht, Wartung etc. d. Pferde, des Rindviehs etc. Berlin 1853.

theilten Fällen mit der blauen Milch importirt war, wohl nur eine geringe gewesen ist, so ist nach diesen Angaben doch anzunehmen, dass das Anilin bei der Erzeugung der Gastritis eine Rolle gespielt hat.“ — Auf derselben Seite im nächsten Absatz fährt er fort: „Wir dürfen um so mehr annehmen, dass die oben erwähnte Krankheit durch die blaue Milch herbeigeführt wurde, da schon mehrfach beobachtet worden ist, dass durch Importation von Pilzen in den tractus intestinalis krankhafte Symptome erzeugt worden sind.“ (Folgen Citate über Krankheiten nach dem Genuss von *Oidium lactis*, Hefe, Schimmel.) — Endlich p. 174 ff. führt er aus, dass er durch Fütterung mit blauer Milch bei Kaninchen Diarrhöe und Enteritis erzeugt habe, und dass er später dieselben Erscheinungen mit „den Pilzen der sauren Milch“ und mit Hefe erhalten habe. — Was ist denn nun eigentlich die Ursache der Vergiftung? Das Anilin, oder die „Pilze,“ oder beide, oder keines von beiden? —

Mir will es scheinen, als ob Steinhof und Mosler insofern einen Beobachtungsfehler begangen haben, als sie nicht zwischen einem pilzfreier und oidiumhaltiger blauer Milch unterschieden haben. — Dass die letztere gerade so gut wie die nicht blaue mit Oidium durchsetzte Milch schädlich wirken kann, wird niemand bestreiten; der schädliche Einfluss des Oidium auf den thierischen Organismus ist genugsam bekannt. — Anders verhält es sich mit der frischen blauen Milch, welche zwar Bacterien und den blauen Farbstoff, aber noch keine Schimmelpilze enthält. — Hier hat man zunächst schon gar keinen theoretischen Grund eine schädliche Wirkung zu erwarten. Dass Bacterien als solche vom Darmkanal aus nicht schädlich wirken müssen, dass dieselben vielmehr mit wenigen Ausnahmen (*Bacillus anthracis*) keine Symptome machen, zeigen uns ausser mannigfachen directen Experimenten mit fauligen Substanzen etc. eine nicht geringe Zahl unserer Nahrungsmittel, wie manche Käsesorten, Sauerkraut, gewöhnliche dicke Milch, Gänsesauer etc., welche ohne Nachtheil genossen werden können, obwohl sie zahlreiche Bacterien enthalten.

Aber der Farbstoff! Das Anilin! — Selbstverständlich muss es zugegeben werden, dass das Anilin und die Anilinsalze starke Gifte darstellen. Das gilt aber nicht in demselben Maasse von den substituirten Anilinen und ihren Salzen, die wir als Anilinfarben kennen. Von diesen wissen wir, dass sie, sobald sie nicht mit Arsenik verunreinigt sind, ohne Gefahr selbst in grösseren Dosen dem Körper einverleibt werden können, sowohl vom Magen aus, wie bei directer Einspritzung ins Blut¹). Bei der Verdünnung, in welcher der Farb-

¹⁾ Vergl. Chrzonszczewsky, Virch. Arch. XXXV. p. 157 u. A.

stoff in der blauen Milch sich findet, könnten wir wohl überhaupt eine Einwirkung auf den Organismus nicht erwarten. Ich kann übrigens als Beweis meiner Behauptung auch Experimente an Kaninchen anführen. Freilich sind es nur zwei, aber da Mosler auch nicht mehr angestellt hat, könnten sie vielleicht seinen beiden die Waage halten. Ich habe zweimal mehrere Tage lang Kaninchen ausschliesslich mit blauer Milch und trockenem Brod gefüttert und beobachtet, dass sie das Futter gern frassen und gut dabei gediehen. Eins dieser Thiere, welches einige Tage nach der Fütterung seicht wurde, zeigte nicht die geringste Veränderung im Darmkanal.

Nehme ich zu diesen theoretischen und experimentellen Gründen noch das gemeinsame Urtheil der thierärztlichen Schriftsteller, so glaube ich zu der Behauptung berechtigt zu sein, dass die blaue Milch, so lange sie keine Oidiumwucherung enthält, nicht giftig ist, sondern von Thieren und wahrscheinlich auch vom Menschen ohne Schaden genossen werden kann.

IV. Mikroskopische Untersuchung.

1. Methode der Untersuchung.

Ehe ich an die Beschreibung der bei der mikroskopischen Untersuchung gewonnenen Resultate gehe, muss ich einige Worte über die bei derselben angewandte Methode einschalten. Die Untersuchung von Bacterien gehört anerkannter Maassen zu den schwierigsten Aufgaben, die dem Mikroskopiker gestellt werden können. Die Schwierigkeit liegt nicht bloss in der Kleinheit der Untersuchungsobjekte. Allerdings handelt es sich hier um Gebilde, zu deren Darstellung nur unsere stärksten Systeme eben ausreichen und es wird demnach bei der Untersuchung derselben die Aufmerksamkeit und das Accommodationsvermögen des Beobachters auf eine harte Probe gestellt; jedoch es giebt auch auf anderen Gebieten Fragen, bei denen es sich um die Analyse ähnlich kleiner Formen handelt, wie z. B. die Krystall-, Glas- und Lufteinschlüsse der Gesteine, und diese sind trotz der Kleinheit der Objecte gelöst worden. Auch das nur wenig von den Nährflüssigkeiten unterschiedene Lichtbrechungsvermögen der Bacterien, die geringen und nur bei besonders günstiger Beleuchtung erkennbaren Dichtigkeits-Unterschiede im Protoplasma der einzelnen Individuen sind nicht mehr für die mikroskopische Erkenntniss in so hohem Grade hinderlich, seitdem wir gelernt haben diese Gebilde durch Färbung stärker hervorzuheben. Die Schwierigkeit liegt überhaupt weniger in dem Sehen als in der Deutung des Sehenen, und zwar aus dem Grunde, weil hier die sonst in der Mor-

phologie gebräuchlichen Methoden gar nicht, oder doch nur theilweise anwendbar sind. — Die Bestimmung und Identificirung einer Bacterienart nach blossen Merkmalen der äusseren Form, wie sie das einzelne Individuum darbietet, erscheint (mit Ausnahme vielleicht der Spirillen und Spirochaeten) absolut unmöglich, ebenso wie eine Bestimmung nach der Lagerung der Individuen einzeln oder in Colonien, denn wir finden in dieser Beziehung einerseits eine Monotonie, andererseits eine Unbeständigkeit, welche jeden Versuch einer Orientirung vergeblich erscheinen lässt. Finden wir doch schon bei viel höher stehenden Pflanzen einzelne Entwicklungszustände, welche die Formen anderer Gattungen so vollkommen nachahmen, dass man nur durch Beobachtung ihrer weiteren Entwicklung entscheiden kann, welcher Sorte sie angehören. Ich erinnere hier nur an die Hefeformen des *Mucor racemosus* und deren Aehnlichkeit mit *Saccharomyces*¹). — Wir sind auch zur Bestimmung der Bacterien vor allen Dingen auf das Studium ihrer Entwicklungsgeschichte angewiesen. Hier sind jedoch die Schwierigkeiten erst recht bedeutend. Die sicherste und die einzige über jeden Widerspruch erhabene Methode der Untersuchung wäre natürlich die Beobachtung eines ganzen Entwicklungscyclus an einem und demselben Individuum, von der Spore ausgehend bis wieder zur Bildung neuer Sporen, in der Weise wie sie von Du Bary und Brefeld zur Bestimmung der Schimmelpilze ausgeführt wurde. Eine solche Beobachtung dürfte jedoch bei Bacterien in den meisten Fällen unmöglich sein²). Einmal wird bei der Kleinheit der Gebilde die Isolirung des einzelnen Individuums und die Uebertragung desselben in eine geeignete Nährösung unter Vermeidung fremder Keime sehr schwierig sein, zweitens ist mir nicht ersichtlich, wie man es anfangen sollte bei den bewegten Formen ein einzelnes Individuum Tage lang zu beobachten, ohne es bei dem beschränkten Gesichtsfeld, welches unsere starken Immersionssysteme bieten, aus den Augen zu verlieren. Endlich aber wäre selbst nach glücklicher Ueberwindung aller dieser Schwierigkeiten noch nicht viel gewonnen; man würde zwar ein Bild des Entwicklungscyclus haben, wie es in einem bestimmten, sich gleich bleibenden Medium abläuft, aber dadurch keine Kenntniß erlangen

¹) Vergl. die hierauf bezüglichen Arbeiten von Brefeld, Rees u. A.

²) Brefeld, Untersuchungen über Spaltpilze. I. Bacillus. (Sitzungsber. der Gesellsch. naturforschender Freunde in Berlin v. 19. II. 1873) giebt an, dass er für Bacillus eine solche Methode gefunden habe. Die Arbeit, auf welche er betreffs der Details verweist, ist jedoch meines Wissens noch nicht erschienen.

von den Modificationen dieses Cyclus, respective den anderen Formen des Wachstums und der Fortpflanzung, wie sie in Medien von anderer und wechselnder Zusammensetzung vorkommen. Dass derartige Modificationen bei jeder Bacterienart eintreten können, dürfte kaum zweifelhaft sein.

In der grossen Mehrzahl der Fälle ist die einzige bis jetzt ausführbare Methode die Untersuchung von Massen-Culturen. Durch diese an und für sich, ohne die Anwendung besonderer Cautelen und Controlmassregeln, wird jedoch ein sicheres Resultat nie erreicht werden können. — Denn so wenig man auch bei sorgfältigster Be- wirthschaftung es verhindern kann, dass auf dem Weizenacker neben dem Weizen auch Unkraut gedeiht, so wenig wird man im Stande sein es sicher zu verhindern, dass neben den zur Untersuchung ausgesäten Bacterien auch andere Formen, sei es gleich mit der Aussaat, sei es bei den zur Untersuchung nöthigen Manipulationen, wie Oeffnen der Gefässe etc. mit eindringen und das Bild verwirren. — Von den verschiedensten Forschern und in der mannigfältigsten Weise sind Versuche angestellt worden, um diese Fehlerquellen zu verringern. Es ist hier nicht der Ort diese Versuche zu besprechen, ich will nur die ihnen zu Grunde liegenden Principien kurz erwähnen. Man war zunächst bestrebt das von der Aussaat unabhängige Eindringen von Keimen aus der Luft zu verhindern. Als Mittel hierzu dienten der vollständige Verschluss der zur Zucht benutzten Gefässe (durch Zuschmelzen etc.), ferner der Verschluss durch einfache (Watte, Thonplatten, gebogene Glasrohre) oder complicirtere¹⁾ Luftfilter; endlich die natürlich nur in gewissen Fällen anwendbaren Züchtungen im lebenden Thierkörper²⁾. Alle diese Versuche wenden sich gegen den minder gefährlichen Feind der „Reincultur;“ denn es ist durch zahlreiche Experimente erwiesen, dass ein einmal von einer bestimmten Bacterienart überwucherter Nährboden für die Ansiedelung neuer, fremder Formen nur geringe Chancen bietet. Die bei weitem gefährlichere Fehlerquelle liegt in der Vermengung der zur Aussaat benutzten Keime mit fremden, welche also gleich mit diesen in die Nährlösung gebracht werden; und diese Fehlerquelle ist zu-

¹⁾ Vergl. Klebs, Beiträge z. Kenntniß der pathogenen Schistomyceten. Arch. für experim. Pathologie. IV. p. 123. 1875 und Lister, Bacteria and the germ theory. — Quart. Journ. of micr. sc. Bd. XIII. p. 380. 1873.

²⁾ Vergl. Koch, l. c. p. 75. — Ferner die Arbeiten über Corneal-Impfungen von Nassiloff, Virch. Arch. 50. 1870. Eberth, zur Kenntniß der bacteritischen Mycosen. Frisch, Experimentelle Studien über die Verbreitung der Fäulnissorganismen. Erlangen 1874.

gleich viel schwieriger zu überwinden. In manchen Fällen, wenn nämlich die zu untersuchenden Keime eine bedeutende Lebenstensitität besitzen, gelingt es die Verunreinigungen durch chemische oder physikalische Mittel zu zerstören, welche das Untersuchungsmaterial selbst nicht angreifen¹⁾). Natürlich ist aber diese Methode keineswegs zu allgemeiner Anwendung geeignet. — Am empfehlenswerthesten und wohl auch am meisten angewandt ist das von Klebs²⁾ aufgestellte Princip der „fractionirten Cultur“ d. h. wiederholter Aussaaten (von A auf B, von B auf C, u. s. w.) in der Erwartung, dass in jeder höhern Nummer die Verunreinigungen in entsprechender Potenz verdünnt werden, so dass sie schliesslich bedeutungslos sind. — Selbst bei Anwendung aller dieser Cautelen wird jedoch die Massencultur zur morphologischen Feststellung der gezüchteten Art nur einen bedingten Werth haben, namentlich wenn sie in einem anderen Medium stattfindet als das ist, welchem die gezüchteten Keime entnommen wurden, so lange es nicht gelingt, aus ihr wieder die Formen, von welchen die Züchtung ausging, zu gewinnen und also die Kreislinie bis zurück zu ihrem Ausgangspunkt zu verfolgen. Es werden demnach bei jeder Massencultur Controlversuche in dieser Richtung nöthig sein, um die Identität der durch Züchtung erhaltenen Formen mit der ursprünglichen zu erweisen. —

Ich habe mich bemüht, bei meinen Untersuchungen den oben ausgesprochenen Anforderungen möglichst zu genügen. Zur Aufnahme der Nährflüssigkeiten benutzte ich theils gewöhnliche Reagenzgläschchen, welche vorher durch Auskochen mit Säure und Waschen mit Alkohol vollständig gereinigt wurden. Die Flüssigkeit (frisch bereitete Cohn'sche Nährlösung) wurde in dem Gläschen gekocht und gleich nach dem Kochen die Mündung desselben mit einem Ppropf von entfetteter Verbandwatte geschlossen, welcher nur auf Augenblieke bei der Impfung und bei Entnahme von Proben zur Untersuchung gelüftet wurde. Für einen anderen Theil der Nährflüssigkeiten, nämlich für Milch, die blauwerdende Nährlösung (Cohn'sche Lösung und Ammon. lacticum) etc. benutzte ich flache Glascylinder mit abgeschliffenem Rande von 8 cm Durchmesser und 6 cm Höhe. In dieselben, nachdem sie ebenso wie die Reagenzgläschchen gereinigt waren, wurden je 50 Cem der betreffenden Flüssigkeit, nachdem dieselbe vorher bis zum Kochen erhitzt war, heiss

1) Vergl. die Arbeiten von Eidam und Cohn in Cohn's Beitr. z. Biologie der Pflanzen. Bd. 1 u. 2.

2) Klebs, Archiv f. experimentelle Pathologie u. Pharmakologie Bd. II. ff.

eingegossen und dann das Gefäss durch eine auf den geschliffenen Rand passende Glasplatte geschlossen. Die so abgesperrte Luftmenge (ca. 300 - 320 Ccm) ist, wie ich mich mehrfach überzeugt habe, genügend gross, um den vollständigen Ablauf des Proesses zu gestatten, ohne dass durch Oeffnen des Verschlusses neue Luft zugeführt zu werden brauchte. Jedoch wurden die meisten dieser Gefässer auch mehrfach zur Entnahme von Proben geöffnet. Die Anwendung besonderer Cautelen bei dem hierdurch bedingten kurzdauernden Zutritt von Luft halte ich auf Grund der auf p. 36 und p. 17 Anmerkg. angeführten Thatsachen für überflüssig. Um eine möglichst reine Aussaat zu erhalten, wandte ich ein Verfahren an, welches im Princip mit der Klebs'schen fractionirten Züchtung übereinstimmt. Von der mir zuerst zugegangenen Probe blauer Milch wurden zunächst 5 auf einander folgende Impfungen gemacht und erst die so gewonnene sehr schön blaue, voraussichtlich von fremden Bacterien ziemlich freie Flüssigkeit bildete den Ausgangspunkt sämmtlicher weiterer zur mikroskopischen Untersuchung benutzter Impfungen. Bei diesen war ich bemüht, durch möglichst zahlreiche Modificationen bezüglich der Zusammensetzung und der Aufeinanderfolge der benutzten Nährösungen das Impfmateriel fortgesetzt weiter zu reinigen. Zu dem gleichen Zweck wurden die sporenhaltigen Materialien meist vor der Benutzung zu neuen Impfungen gekocht. Zugeleich bestrebe ich mich durch immer wiederholte Controlimpfungen auf Milch von den untersuchten Nährösungen aus, die Identität der in ihnen befindlichen Bacterien mit denen der blauen Milch festzustellen. Das hierbei stets erhaltene positive Resultat, sowie die constante Wiederkehr derselben Formen in der gleichen Nährösung, einerlei welche andere Lösung das Impfmateriel vorher passirt hatte, berechtigen mich zu der Hoffnung, dass es mir gelungen sei, Täuschungen durch fremde Bacterien bei meinen Untersuchungen zu vermeiden.

Das nachfolgende Verzeichniss der vorgenommenen Impfungen dürfte geeignet sein, das oben Gesagte zu illustrieren. Es wurden Impfungen vorgenommen mit dem gleichen mikroskopischen Befund und (in der Milch und blauen Nährlösung) mit nachfolgendem Auftreten des charakteristischen Farbstoffs:

1. Auf Milch.

Von frischer blauer Milch.....	28,
- getrockneter blauer Milch.....	5,
- Cohn'scher Lösung.....	20,
- getrocknetem Altheeschleim.....	5,
(von diesen 4 nach vorhergehendem Kochen).	

Von Glycerin	11,
mit Wasser verdünnter blauer Milch	4,
blauer Nährlösung	7,
Gummi- und Zuckerlösung je.....	2.

2. Auf Cohn'sche Lösung.

frischer blauer Milch	17,
getrockneter blauer Milch.....	4,
getrocknetem Altheeschleim	4,
(davon 3 gekocht).	
Glycerin.....	3,
blauer Nährlösung	6.

3. Auf Altheeschleim.

frischer blauer Milch	4,
Cohn'scher Lösung	1.

4. Auf blauwerdende Nährlösung (Cohn'sche Lösung und Ammon. lacticum).

Von frischer Milch	16,
Cohn'scher Lösung.....	4,
Altheeschleim und getrockneter blauer Milch je ..	2.

5. Impfungen aus blauer Milch.

Auf Zuckerlösung	3,
Gummilösung	2,
sowie Vermischungen von blauer Milch mit Glycerin.	4.

Die Aufeinanderfolge dieser verschiedenen untersuchten Lösungen wurde mannigfach variiert, so z. B.: Blaue Milch — Cohn'sche Nährlösung — Altheeschleim — Blaue Milch; oder Blaue Milch — Altheeschleim — Cohn'sche Nährlösung — Blaue Nährlösung — Blaue Milch; oder Blaue Milch — Glycerin — Cohn'sche Lösung — Blaue Milch; oder Blaue Milch — Blaue Nährlösung — Cohn'sche Lösung — Blaue Milch und so weiter; — immer war der mikroskopische Befund in den gleichen Medien der gleiche, immer trat am Schluss der Reihe wieder die ursprüngliche Form und mit ihr der blaue Farbstoff auf.

Aus jeder Nährlösung wurden, so lange die Beobachtung derselben dauerte, durchschnittlich alle 12 Stunden Proben zur mikroskopischen Untersuchung entnommen und stets ein Theil des Materials frisch angesehen, ein Theil zur Herstellung gefärbter Dauerpräparate nach Koch's¹⁾ Methode verwandt. Zur Beobachtung benutzte ich

¹⁾ Koch, Verfahren zur Untersuchung, zum Conserviren und Photographiren der Bacterien. — Cohn's Beiträge z. Biol. d. Pflanzen. Bd. II. H. 3. p. 399.

ein Zeiss'sches Instrument mit Abbé'schem Beleuchtungsapparat, und zwar für die meisten Untersuchungen das System E mit Ocul. 4. Für die Erkennung feinerer Verhältnisse namentlich im ungefärbten Zustande, sowie für's Zeichnen entsprechend stärkere Vergrösserungen. Die Zeichnungen wurden sämmtlich nach gefärbten Präparaten mit Syst. L. Oc. 4. (Vergr. ca. $\frac{1900}{1}$) angefertigt, sind jedoch auf der Tafel in kleinerem Maassstabe etwa der Vergrösserung Syst. E. Oc. 4 ($\frac{660}{1}$) entsprechend ausgeführt.

Die mikroskopischen Resultate früherer Beobachter lassen sich in wenige Worte zusammenfassen. Fuchs, der Entdecker der „Vibrionen“ in der blauen Milch, bespricht zunächst den Befund in der gewöhnlichen sauren Milch. Nach ihm sollten hier constant 2 Formen vorkommen, „eine sehr kleine Monade und ein grösseres polygastrisches Infusor“ und diese sollten auch in der blauen Milch sich finden, aber für die Blaufärbung nicht verantwortlich sein. Aus der Beschreibung und den beigegebenen Abbildungen geht nur soviel hervor, dass F. mit durchaus ungenügenden Vergrösserungen gearbeitet hat, was er gesehen hat, ist nicht zu erkennen. Den Organismus, welchen er als eigentliche Ursache der Bläbung auffasst, beschreibt er folgendermassen: „Es sind gegliederte Thierchen, in der Regel mit 2 oder 3, oft aber auch mit mehr und nur selten mit 7 Gliedern.“ Die beigegebene Abbildung zeigt je 2, 3 und mehr in Torulaketten aneinanderliegende kugelige Gebilde, welche man heutzutage als Micrococci bezeichnen würde. — Vielleicht hat Fuchs dasselbe gesehen, was ich als „Gonidien“ bezeichne. Haubner, der die Organismen als *Monas gliscens* bezeichnet und als eine Uebergangsform zwischen den Ehrenberg'schen Gattungen *Monas* und *Bacterium* auffasst, giebt eine Beschreibung, die dem gewöhnlichen Bild ziemlich gut entspricht: „Es sind 2gliedrige Thierchen, die beiden Glieder in der Mitte durch einen seichten Einschnitt bezeichnet und an den Enden verschmälert¹). Bisweilen wurden auch eingliedrige oder richtiger doppelte Thierchen beobachtet, die durch ein deutliches Verbindungsstück miteinander vereint waren.“ — Die Bewegung war eine tummelnde, d. i. ein fortwährendes Durcheinandergleiten“ etc. In Bezug auf andere Nährösungen giebt er nur an, dass er das „Infusor“ im Altheeschleim stets grösser gefunden habe (um die Hälfte und mehr) als in der Milch.

¹) H. bezeichnet dieselben wegen ihrer Aehnlichkeit mit dem bekannten Gebäck kurz als „Semmel-Monaden.“

2. Befund in der blauen Milch. Gonidienbildung.

Untersucht man eine geimpfte Milch kurz ehe das Blauwerden eintritt, resp. wenn eben erst ein bläulicher Schein sich bemerkbar macht, aber noch keine Gerinnung stattgefunden hat und die Reaction noch schwach sauer ist, so findet man constant in sehr grosser Anzahl lebhaft bewegte Bacterien. Dieselben bieten in ihrer Form nichts Charakteristisches, sie unterscheiden sich nicht von den in der gewöhnlichen sauren Milch in geringer Zahl, in der gelben Milch massenhaft auftretenden. Ihre Grösse wechselt bedeutend, sowohl in derselben Milch als namentlich in verschiedenen Milchsorten. Durchgängig erreichen sie eine Länge, die etwa dem halben Durchmesser eines rothen Blutkörperchens vom Menschen entspricht, jedoch kommen auch grössere vor und andererseits habe ich Formen gefunden, die nur die Hälfte dieser Grösse erreichen. Länge der einzelnen Stäbchen 0,0025—35; Doppelstäbchen 0,0055—60. Ihre Form ist die eines kurzen Stäbchens mit stumpf abgerundeten Enden (vergl. Tafel Figur 1); jedoch sind sie keineswegs immer ganz gerade, vielmehr nicht selten in verschiedener Weise schwach gekrümmmt. — In so frühen Stadien erscheinen sie meist einfach, oder nur zu zwei aneinander gereiht. Ihre Bewegung ist eine sehr lebhafte und wechselnde, bald hin- und herschiessend, wobei abwechselnd das eine und das andere Ende vorangeht, bald kreiselnd oder auf einem Ende sich drehend, bald um die Längsachse rotirend, wie man an den etwas gekrümmten deutlich erkennen kann. Die ganze Art der Bewegung macht den Eindruck als würde sie durch Geisseln bewirkt und ich habe auch mehrfach geglaubt bei temporär ruhenden Stäbchen einen Strudel in der Flüssigkeit zu bemerken, wie er nur durch eine Geissel erzeugt werden könnte; jedoch ist es mir nicht gelungen, eine Geissel mit Sicherheit zu bemerken, weder an den lebenden noch an den getrockneten und nach Koch's Angabe gefärbten Organismen. Ich muss also die Frage, ob hier eigene Bewegungsorgane existiren, vorläufig offen lassen.

Wenn die Säuerung der Milch ausgebildet ist und dem entsprechend die Bläbung eine grössere Intensität erreicht, sieht man an den Bacterien Theilungsvorgänge eintreten. Zuerst Zweittheilung eines jeden Stäbchens, so dass man an den blauen Stellen fast nur noch solche zweigetheilte zu Gesicht bekommt (Haubner's Semmelmonaden). Jedoch bleibt es nicht bei der einfachen Zweittheilung; die so getheilten Bacterien theilen sich wieder, oft noch ehe sie sich getrennt, so dass Reihen von 4 aneinanderhaftenden Stäbchen ent-

stehen. — Die Theilung findet in der ersten Zeit erst dann statt, wenn das Stäbchen bedeutend, fast um das Doppelte seiner ursprünglichen Länge gewachsen ist, so dass die entstehenden Theilstücke dem früheren Mutterorganismus an Grösse nur wenig nachstehen. Je weiter der Process fortschreitet, um so früher theilen sich diese neugebildeten Stäbchen wieder, um so kleiner werden demnach die resultirenden Theilstückchen. — Die Theilung erfolgt in der bei Bacterien gewöhnlich beobachteten Weise, durch einfache Abschnürung. Das Stäbchen verdünnt sich an einer Stelle ringförmig, ohne dass jedoch das Protoplasma an dieser Stelle eine geringere Dichtigkeit zeigte, wie in den übrigen Theilen des Körpers, und bricht endlich hier durch, worauf die Theilstückchen noch eine zeitlang aneinander liegen bleiben (durch die äussere Protoplasmashicht, als Membran, zusammengehalten?), um sich später zu trennen. — Mit dem Eintritt der Theilung wird die Bewegung träger (Verlust der supponirten Geisseln?), und zwar immer mehr mit jeder weiteren Theilung. Damit hängt es wohl zusammen, dass die Producte der Theilung in den ersten Generationen sich noch leicht von einander lösen, je kleiner sie aber werden, um so fester aneinander haften und längere Ketten bilden. — Als Endresultat dieser fortgesetzten Theilung entstehen zuletzt wenig oder gar nicht bewegliche torulaähnliche Ketten. Das einzelne Glied einer solchen Reihe ist nicht rund, sondern immer noch länglich und zwar meist nicht einfach stäbchenförmig, sondern mit einer geringen Einschnürung in der Mitte versehen, „bisquitförmig¹⁾.“ (Längster Durchmesser 0,0014—12.) Vergl. Fig. 3.

Mit der Bildung dieser Torulaketten ist der Entwicklungseyclus der Pflanze in Milch abgeschlossen; das einzelne Glied einer solchen Kette repräsentirt ein Gonidium, welches, wie es scheint, in derselben Milch (da sie durch die vorhergehenden Processe zersetzt ist) nicht wieder auskeimen kann, welches dagegen, in ein neues Medium, z. B. in frische Milch versetzt, zum Ausgangspunkt einer neuen Entwickelungsreihe wird. — Es geschieht das in der Weise, dass das in frische Milch übertragene Gonidium sich zu einem Stäbchen verlängert und zugleich beweglich wird. Noch ehe es eine bedeutendere Länge erreicht hat, theilt sich dieses Stäbchen in zwei, welche dann schnell die Grösse der ursprünglichen Stäbchen erreichen und, sobald genügend Milchsäure gebildet ist, unter Pro-

1) Cohn hat ähnliche Formen bei den Sporen von *Crenothrix* beobachtet. Beitr. z. Biol. d. Pfl. I. 1. Vergl. auch die Arbeiten von Klebs (z. B. über *Monas pulmonalis* „Bimonaden“, in d. Arch. f. exp. Pathologie) u. A.

duction von blauem Farbstoff durch fortgesetzte weitere Theilung wieder neue Gonidien¹⁾ liefern.

Die Reihe der Generationen von dem einfachen schwärmenden Stäbchen an bis zu den Gonidien wird in der blauen Milch unter gewöhnlichen Verhältnissen in etwa 4—5 Tagen durchlaufen. Nach dieser Zeit ist der grösste Theil der Bacterien in einzelne oder zu Ketten verbundene Gonidien zerfallen; es hat damit die Bläbung ihren Höhepunkt erreicht und die Milch blasst in den folgenden Tagen ab, da der unbeständige Farbstoff durch das Licht, die Luft und eventuell auch durch die Entwicklung anderer Organismen in der Milch zerstört wird. Bis zu dieser Zeit ist man auch bei unreiner Aussaat resp. wenn Verunreinigungen beim Oeffnen der Gefässer aus der Luft eingedrungen sind, im Stande reine Zucht zu halten; sobald jedoch die Gonidienbildung eintritt und damit die Weiterentwicklung der chromogenen Bacterien ihr Ende erreicht, bemächtigen sich die fremden Organismen des noch überschüssigen Nahrungsstoffes. — Namentlich ist es das *Oidium lactis* (dessen Sporen auch bei reiner Aussaat leicht durch die Luft übertragen werden können), welches fast constant auftritt, aber immer erst nach Ablauf des Lebensprozesses der pigmentbildenden Bacterien. Ueberträgt man absichtlich Sporen desselben in eine noch von schwärmenden Bacterien erfüllte Milch, so sieht man an ihnen in der Regel keine Keimung eintreten, so lange die Bacterienentwicklung dauert; ist dieselbe abgeschlossen, so keimen die Sporen sehr rasch und bilden oft schon in 1 Tage ein reichliches Mycel. — Umgekehrt kommen pigmentbildende Bacterien in einer Milch, die wucherndes Oidium enthält, nicht, oder nur unvollständig zur Entwicklung. — Andere Bacterienformen treten, falls die Aussaat rein war, auch nach Ablauf der Bläbung selten auf; theils wohl aus dem Grunde, weil sie überhaupt durch die Luft schwerer übertragbar sind, theils wegen der sauren Reaction der Flüssigkeit, welche für die Entwicklung der meisten Bacterien hinderlich ist²⁾. — Ich habe nur hin und wieder

1) Ich habe die Bezeichnung Gonidien gewählt, weil diese Gebilde den unten zu beschreibenden Sporen nicht gleichwertig sind, vielmehr ihrer Funktion nach eine ähnliche Bedeutung zu haben scheinen, wie die einzelnen Glieder der Gonidienreihen bei den Wassermycelien mancher Schimmelpilze. (Mucor.)

2) Brefeld, Untersuchungen über Spaltpilze. I. Bacillus. — Sitzg. d. Gesellsch. naturf. Freunde in Berlin 19. II. 1878. Derselbe, Landwirthschaftliche Jahrbücher IV. Jahrg. 2. Heft.

Naegeli, Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infectiouskrankheiten. München 1877. — pag. 49.

Entwickelung von *Bacillus subtilis* (Buttersäuregärung) und ausserdem das Auftreten eines sehr kleinen *Micrococcus*, welchen schon Haubner¹⁾ erwähnt, beobachtet. Der Letztere tritt meist in Form kurzer Ketten, seltener in kleinen Zoogloehaufen auf. — Dass diese Gebilde zu den chromogenen Bacterien in keiner genetischen Beziehung stehen, kann keinem Zweifel unterliegen; ich habe sie hier nur der Vollständigkeit halber erwähnt. —

Versetzt man die pigmentbildenden Bacterien unter ungünstige Ernährungsverhältnisse, so bemerkt man ein ganz analoges Verhalten wie das seit längerer Zeit bekannte und beschriebene der Schimmel-pilze²⁾, die Stäbchen wachsen nicht weiter, die Gonidienbildung tritt verfrüht ein³⁾. Ein Theil der Stäbchen (vielleicht die, welche noch gar keine Theilung eingegangen sind) zerfällt unter solchen Umständen körnig, die Mehrzahl wird bewegungslos und theilt sich je nach der Länge in 2 oder 4 Gonidien (cf. Tafel Fig. 4.). Dieser Process tritt ein, einmal wenn man blaue Milch mit Oel bedeckt, also den Bacterien die Luft entzieht. In den ersten Stunden schreitet, wie schon oben gesagt wurde, die Bläbung noch fort, sobald aber die in der Milch absorbierte Luft verzehrt ist, steht sie still und man findet dann neben einzelnen zerfallenen Stäbchen nur noch Gonidien, meist einzeln oder nur zu wenigen aneinanderhängend, aber keine langen Ketten bildend. — Dass es sich hier um Gonidien und nicht etwa um einfache Zerfallsproducte handelt, wird durch die Impfung auf frische Milch bewiesen, in welcher man unter eintrütender Bläbung dieselbe Generationsreihe sich wieder entwickeln sieht, wie in der Milch, welche durch gewöhnliche blaue Milch geimpft wurde.

Analoge Verhältnisse finden sich zweitens, wenn man die Bacterien von der Milch auf gewisse andere Stoffe überträgt. Ich muss hier etwas ausführlicher auf die im ersten Abschnitt nur kurz angedeuteten Experimente zurückkommen. Schon Haubner scheidet die Körper, welche, ohne selbst blau zu werden, das Contagium der blauen Milch conserviren, in 2 Gruppen, Körper, in denen die Bacterien weiter wuchern und Körper, in denen eine solche Vermehrung nicht stattfindet. Als der erstenen Gruppe angehörig nennt er Altheeschleim etc., zu der zweiten zählt er Gummilösung und Zuckerlösung. Er

¹⁾ Haubner, l. c. pag. 163.

²⁾ Brefeld, Untersuchungen über die Schimmelpilze. Leipzig 1872.

³⁾ Ein ähnlicher Vorgang, verfrühte Sporenbildung, wurde neuerdings auch bei *Bacillus anthracis* beobachtet. — Cossar Ewarts, On the life history of *Bacillus anthracis*. Quart. Journ. of micr. science Bd. XVIII. 1878 pag. 161.

giebt an, dass in diesen die Bacterien zwar mikroskopisch noch nachweisbar seien, aber „abgestorben,“ und stützt hauptsächlich auf die erfolgreichen Impfungen mit diesen Flüssigkeiten seine Annahme, dass diese Organismen die Träger des Contagiums nicht sein könnten, dass dasselbe vielmehr ein in Wasser und den angegebenen Flüssigkeiten lösliches chemisches Ferment darstelle. — Bekanntlich sind ähnliche Anschauungen mehrfach auch in Bezug auf pathogene Bacterien geäussert worden; ich erinnere hier nur an die Arbeiten von Panum¹) und Bergmann²), welche das wirksame Agens in einem zwar durch die Bacterien gebildeten, aber von diesem isolirbaren Ferment darzustellen suchten. — Ich musste zunächst annehmen, dass hier ähnliche Verhältnisse vorlägen, und versuchte, nachdem ich mich von der Richtigkeit der Haubner'schen Angaben über die Impfkraft der Gummi- und Zuckerlösung überzeugt hatte, das vermeintliche Ferment in einer haltbareren und zweifellos zur Ernährung niederer Organismen untauglichen Lösung darzustellen. Hierzu wählte ich, angeregt durch die Untersuchungen Hiller's³), das Glycerin. — Zunächst schien das Resultat den Erwartungen entsprechend. — Wenn man blaue Milch mit Glycerin vermischt und filtrirt, so erhält man eine zunächst schön blaue, nach einigen Tagen gelblich werdende Lösung, welche zu anderer Milch hinzugefügt, sich vollkommen impfkraftig erweist und in der normalen Weise, nach vorhergegangenem Incubationsstadium die Bläuning hervorruft. — Jedoch mussten schon a priori zwei Thatsachen in der Ansicht, dass es sich um ein gelöstes Ferment handle, wankend machen; einmal der Umstand, dass die Bläuning (auch in schon saurer Milch) nicht sofort eintrat, sondern erst nach Ablauf der gewöhnlichen Incubationszeit, andererseits, dass das Filtrat auch nach wiederholtem Filtriren sich nicht ganz klar erhalten liess und je mehr es filtrirt wurde, um so weniger wirksam erschien.

Endlich überzeugte mich die mikroskopische Untersuchung, sowohl bei Zucker- und Gummilösung, wie beim Glycerin, dass es sich in allen drei Flüssigkeiten nicht um ein gelöstes Ferment handelt, sondern dass sich in allen suspendirte Gonidien der Bacterien der blauen Milch vorfinden, und zwar auch in den Fällen, wo man frische, noch gar keine oder nur spär-

1) Panum's Aufsatz in Virchow's Archiv. Bd. LX.

2) Bergmann, Ueber das schwefelsaure Sepsin. — Centralblatt f. d. medic. Wissenschaften 1868. No. 32. pag. 497.

3) Hiller, Ueber extractförmiges, putrides und septicämisches Gift. — Centralblatt für Chirurgie 1876. No. 10-15.

liche Gonidienketten enthaltende Milch benutzt hatte. — Es tritt hier derselbe Proceess ein wie bei der mit Oel bedeckten Milch, wie man sich mit einiger Aufmerksamkeit leicht überzeugen kann. — Ueberträgt man lebhaft schwärmende Bacterien aus der blauen Milch in Zucker-, Gummilösung oder Glycerin, so sieht man nach kurzer Zeit dieselben bewegungslos (Haubner hielt dies für ein Zeichen des Absterbens) und meist schon nach 12 Stunden findet man sie alle in die oben beschriebenen Gonidien zerfallen. — Auch in der getrockneten blauen Milch sind die Gonidien die Erzenger neuer Generationen. Weicht man etwas trockene Milch unter dem Deckgläschen mit Wasser auf, so sieht man in dem allmählich zerfliessenden Brei keines der früheren Stäbchen mehr erhalten, wohl aber in grosser Zahl die Gonidien. —

Fassen wir die bisher beschriebenen Beobachtungen kurz zusammen, so kommen wir zu dem Resultat, dass die Bacterien in der blauen Milch (analog der funktionirenden Hefe) nur in Sprossgenerationen durch einfache fortgesetzte Theilung sich vermehren und als Endproducte dieser Theilung Gonidien bilden.

Diese Gonidien zeigen eine grössere Lebenstenacität als die schwärmenden Stäbchen, aber keineswegs die „Unverwüstlichkeit“ wirklicher Sporen. Sie werden durch Kochen vernichtet, behalten ihre Entwicklungsfähigkeit im trockenen Zustande und in Glycerin etc. zwar einige (2—3) Monate, lassen sich jedoch nicht auf längere Zeit conserviren.

Die bisher beschriebenen Formen cyanogener Bacterien in der Milch zeigen alle eine ungemein dünne Gallerthüllle, welche nur, wenn 2 Stäbchen oder Gonidien aneinander liegen, als weisse Linie zwischen ihnen sichtbar wird. — In einzelnen Fällen wird jedoch in den oben beschriebenen Entwicklungscyclus eine Generation eingeschaltet, welche sich durch dicke Hüllen auszeichnet (Tafel Fig. 2). Dieselbe tritt auf vor der Bildung schwärmender Stäbchen. Die ausgesäten Gonidien werden in diesen Fällen nicht wie gewöhnlich beweglich, sondern bleiben zunächst ruhend, bekommen dabei (6—8 Stunden nach der Impfung) einen breiten homogenen Gallerthof. Die Schleimhüllen der einzelnen fliessen nicht zusammen, sie bilden also keine Zoogloea¹). Im Innern der Hülle wächst das Gonidium zum Doppelstäbchen

¹) Nur einmal beobachtete ich eigenthümliche Schläuche, welche nach der unregelmässigen Lagerung der in ihnen enthaltenen Stäbchen nicht durch vermehrtes Wachsthum eines Individuums, sondern durch Zusammenfliessen mehrerer entstanden zu sein schienen.

aus, welches sich an der ursprünglichen Einschnürungsstelle theilt. Dann schwindet allmählich die Hülle; sie zerreisst nicht, wie bei Billroth's „*Ascococcus*¹“), sondern scheint sich in der Flüssigkeit aufzulösen. Das so frei gewordene Stäbchen beginnt zu schwärmen (20—24 Stunden nach der Impfung) und es kommt damit die weitere Entwicklung in ihr gewöhnliches Geleise. — Dass dieser Process wirklich so vor sich geht, dass die „*Gliobacterien*“ wirklich als Glied in die Entwickelungsreihe hineingehören und in die gewöhnliche schwärmende Form übergehen, davon habe ich mich mehrfach durch Beobachtung in Koch's feuchter Kammer²) überzeugt. Leichter und in weniger mühevoller Weise kann man sich diese Ueberzeugung verschaffen durch das von Billroth (welcher ähnliche Formen beobachtete) empfohlene Mittel des Wasserzusatzes (l. c. pag. 9). Dabei verschwindet der Gallerthof sehr schnell und die Stäbchen beginnen schon nach 20—30 Minuten Bewegungen zu machen.

Unter welchen Umständen diese „*Gliobacterien-Generation*“ eingeschaltet wird, kann ich nicht genau sagen. Constant ist sie nicht; man findet sie hin und wieder und zwar, wie ich gleich hier bemerken will, nicht nur bei der Entwicklung der cyanogenen Bacterien aus den Gonidien, sondern auch bei den fast ebenso verlaufenden, aus den weiter unten zu beschreibenden Sporen. Auf den Process der Bläbung hat das Auftreten dieser Generation insofern einen störenden Einfluss, als der Farbstoff, entsprechend der späteren Ausbildung der schwärmenden Formen, auch erst spät gebildet wird. Im Uebrigen glaube ich dieser Erscheinung keine weitere Bedeutung beilegen zu dürfen, da die Dicke der Gallerthülle bekanntlich bei allen Bacterienformen und oft unter dem Einfluss ganz unbedeutender Änderungen in den Nährsubstanzen bedeutend schwankt —, und bemerke nur noch, dass die mit starker Umhüllung versehenen Formen an und für sich für das Bacterium der blauen Milch ebensowenig charakteristisch sind, wie die Form der schwärmenden Stäbchen. Billroth³) sah ähnliche Gebilde in Fleischwasser mit Zucker, und Lister⁴) hat fast ganz gleiche in gewöhnlicher saurer Milch gesehen und abgebildet.

¹) Billroth, Untersuchungen über die Vegetationsformen von *Coccobacteria septica*. Berlin 1874. pag. 12.

²) Koch's Entwickelungsgeschichte v. *Bacillus Anthracis*. Cohn's Beiträge z. Biol. d. Pfl. II. 2. pag. 285.

³) Billroth, l. c. Fig. 22.

⁴) Lister, Bacteria and the germ theoretic. Quarterly journ. of the microsc. science. Bd. XIII. Taf. 19.

3. Befund in der Cohn'schen Lösung. Sporenbildung.

Einen von dem bisher beschriebenen völlig abweichenden Entwicklungsprocess durchlaufen die Bacterien in denjenigen Stoffen, welche Haubner als erste Gruppe der Infectionsträger hinstellt, den Stoffen, welche selbst nicht blau werden, wohl aber das *Contagium conserviren* und es sich vermehren lassen. Am besten der Beobachtung zugänglich und am genauesten von mir studirt sind die Vorgänge in Cohn'scher Nährösung, jedoch habe ich mich überzeugt, dass sie in Altheeschleim und den anderen von mir flüchtiger untersuchten Vehikeln im Wesentlichen gleich verlaufen. — Es tritt hier ein Process ein, welchen ich im Gegensatz gegen die in der Milch stattfindende Gonidienbildung als Sporenbildung bezeichnen möchte; derselbe gestaltet sich in derselben Weise, sowohl wenn man Gonidien, als wenn man schwärmende Stäbchen in die Nährösung überträgt. In beiden Fällen findet man nach ca. 12 Stunden die Oberfläche der Flüssigkeit bedeckt mit einer dicken weissen Schicht, welche ausschliesslich aus sehr lebhaft bewegten langen Stäbchen (etwa $1\frac{1}{2}$ bis 2 mal solang wie die in der blauen Milch) besteht. Diese Stäbchen sind theils vereinzelt, theils zu zwei aneinander hängend, also wohl in Theilung begriffen. Schon nach 24 Stunden (oft auch früher, bisweilen erst nach 36 Stunden) bemerkt man an denselben eine eigenthümliche Veränderung. Das eine, in seltenen Fällen auch beide Enden, erscheinen, frisch betrachtet, etwas angeschwollen und weniger stark lichtbrechend wie das übrige Stäbchen. Am gefärbten Präparat erkennt man mit aller Schärfe an diesem Ende eine blasige Vorbuchtung der (an dem Organismus sonst nicht sichtbaren) Membran. (Vergl. Tafel Fig. 5.) Diese Veränderung tritt bei fast allen Stäbchen ungefähr zur gleichen Zeit ein; die Beweglichkeit ist dabei nicht verringert. — An welchem der beiden Enden diese Blase auftritt, scheint indifferent zu sein, soweit man aus den Bildern von zwei aneinanderhängenden schliessen kann (s. Tafel Fig. 5 u. 6). Nach weiteren 6—12 Stunden bildet sich an der Spitze der Blase ein Protoplasmaklumpchen wie eine Verdickung der Membran (Fig. 6), welches allmählich wachsend endlich zu einem ovalen Körperchen wird, das von dem ursprünglichen Stäbchen durch einen hellen Raum getrennt ist, aber durch die Membran noch mit ihm zusammenhängt (Fig. 6). Dieses Gebilde stellt die Spore dar. Durch Einreissen oder Einschmelzen der Membran wird die Spore endlich von dem immer noch lebhaft bewegten Stäbchen getrennt und bleibt dann bewegungslos liegen. Die Länge der sporetragenden Stäbchen beträgt durchgängig 0,0040; der grösste Durch-

messer der ausgebildeten Spore 0,0010. — Die Lebensdauer des Stäbchens ist, soweit ich mich habe überzeugen können, mit der Sporenbildung nicht abgeschlossen, dasselbe schwärmt weiter und scheint nach Ablauf einiger Zeit in derselben Weise wieder eine Spore bilden zu können. — Die so gebildete Spore ist wenig stärker lichtbrechend als das übrige Stäbchen und zeigt nicht die stark glänzende ölahnliche Hülle, wie sie den Dauersporen der Bacillen wohl ohne Ausnahme zukommt¹⁾. Wenn 3—4 Tage nach der Impfung verflossen sind, sieht man in der Cohn'schen Lösung neben zahlreichen bewegten Stäbchen in verschiedenen Stadien der Sporenbildung massenhafte abgelöste Sporen in dicht gedrängten Haufen (jedoch nicht wie Zoogloea durch eine gemeinsame Gallerthülle zusammengehalten) zusammenliegen. — Hat man eine genügende Menge von Nährlösung angewandt und setzt die Beobachtung weiter fort, so bemerkt man (nach etwa 5—6 Tagen) die Bildung einer zweiten Generation, dadurch dass die Sporen von der ersten Generation keimen. Jedoch wiederholt diese zweite Generation nicht genau die Formen der ersten. Die Spore vergrössert sich zunächst in einer Richtung, ohne dass dabei Differenzen in der Dichtigkeit ihres Protoplasma auftreten, sie nimmt dadurch die Form eines kurzen gedrungenen Stäbchens, oder da meist ein Ende schmäler ist wie das andere, die Form einer kurzen Keule an. Zugleich wird sie beweglich und schwärmt ebenso lebhaft umher wie die Stäbchen der ersten Generation, deren Länge sie jedoch kaum zur Hälfte erreicht. (Vergl. Tafel Fig. 7.) (Durchschnittl. Länge 0,0020—25.) — Ein weiteres Längenwachsthum tritt auch in der Folge nicht ein, sondern es entwickelt sich jetzt sofort an dem dickeren Ende die blasige Vorbuchtung der Membran, und die Bildung einer neuen Spore, welche jetzt dem Mutterorganismus an Grösse nur sehr wenig nachsteht, erfolgt in derselben Weise wie in der ersten Generation. — Alle noch weiter folgenden Generationen gleichen, soweit meine Beobachtungen reichen, in ihrer Form und Grösse der zweiten. —

Diese Art der Sporenbildung scheint mir für das Bacterium der blauen Milch charakteristisch zu sein. Dieselbe weicht von den sonst beobachteten Formen der Sporenbildung sowohl bei Bacillus wie bei Bacterien²⁾ wesentlich ab. Bei diesen entsteht die Spore durch eine Verdichtung des Protoplasma in der Mitte oder an einem Ende, vielleicht auch durch seitliche Sprossung³⁾. — Bei unsrern Bacterien sehen wir als Einleitung der Sporenbildung

¹⁾ Vergl. die Beschreibungen von Cohn, Koch, Billroth, Cossar Ewarts, Brefeld u. A. ²⁾ Vergl. d. photographischen Abbildungen von Koch. Cohn's Beitr. Bd. 2. Taf. XV. ³⁾ Ebds. Taf. XV. Fig. 4.

eine Vortreibung der Membran, an welcher das Protoplasma nicht theilnimmt, welche vielmehr zunächst nur mit Flüssigkeit erfüllt zu sein scheint. In dieser Blase bildet sich die Spore ohne Zusammenhang mit dem übrigen Protoplasma in einer Weise, die den Eindruck macht als entstände sie durch eine circumscripte Verdickung der vorgetriebenen Membran¹). — Meines Wissens ist eine ähnliche Form der Sporenbildung bisher bei keiner anderen Bacterien-Art beschrieben worden²); Controlimpfungen mit verschiedenen anderen bacterienhaltigen Flüssigkeiten auf die Cohn'sche Lösung ergaben immer nur die Bildung der gewöhnlichen stark glänzenden Dauersporen namentlich an dem einen Ende der Organismen (Billroth's Helobacterien), nie ähnliche Bilder wie bei den Bacterien der blauen Milch. — Dagegen traten diese Formen constant auf sobald Bacterien aus der blauen Milch auf Cohn'sche Lösung übertragen wurden, einerlei in welcher Form und aus welchem Nährboden. (Vergl. d. Verzeichniss d. Impfungen pag. 38.) Einen weiteren Beweis für die Identität der Organismen liefert der stets positive Erfolg der Pigmentbildung bei Impfung aus der Cohn'schen Lösung auf Milch (resp. auf blau werdende Nährlösung). Die Umwandlung der Sporen, welche in ihrer Grösse mit den Gonidien ziemlich genau übereinstimmen, jedoch nie die Einschnürung in der Mitte (die Bisquitform) darbieten, in die schwärmende und pigmentbildende Generation, erfolgt ganz in derselben Weise wie ich es oben bezüglich der Gonidien beschrieben habe. Die Spore verlängert sich zu einem Stäbchen (ob hier auch sofort eine Zweittheilung eintritt wie bei den Gonidien, vermag ich nicht zu sagen), dieses beginnt zu schwärmen und theilt sich dann unter Bildung von blauem Farbstoff successive ganz wie nach der Impfung mit frischer blauer Milch. — Ich will hier noch kurz eine Thatsache erwähnen, welche, wie mir scheint, einiges theoretische Interesse bietet. Die sporenhaltige Cohn'sche Lösung enthält, wie schon oben bemerkt wurde, neben den ausgebildeten Sporen immer noch zahlreiche schwärmende Stäbchen in verschiedenen Stadien der Sporenbildung. Diese werden also bei der Impfung auf Milch mit übertragen, vermögen sich aber hier nicht

¹⁾ Die sporenbildenden Formen der zweiten Generation bieten in ihrem Aeußeren in den ersten Stadien der Sporenbildung gewisse Aehnlichkeiten mit der Beschreibung, welche Brefeld (Untersuchungen über d. Spaltpilze l. c.) von den auskeimenden Dauersporen von *Bacillus* giebt. — Dass es sich hier nicht um eine Verwechselung handelt, beweisen die weiteren Stadien. F. 7.

²⁾ Vielleicht hat Billroth ähnliche Formen gesehen, aber nur in ungefärbtem Zustande, in welchem die Verhältnisse sehr schwer zu erkennen sind. Vergl. seine Abbildung l. c. Taf. IV. Fig. 39.

weiter zu entwickeln, werden vielmehr nach kurzer Zeit bewegungslos und gehen durch körnigen Zerfall zu Grunde. Ebenso verhalten sich die schon in Cohn'scher Lösung ausgekeimten Sporen¹⁾). Nur die fertigen, aber noch nicht gekeimten Sporen sind im Stande bei der Uebertragung aus Cohn'scher Lösung in Milch, die pigmentbildende Generation zu erzeugen. — Diese Thatsache wirft ein eigenthümliches Licht auf die berühmte und von vielen Seiten als fast unbegrenzt angesehene Anpassungsfähigkeit der Bacterien. Sie liefert den Beweis, dass wenigstens für den gegebenen Fall dem in dem einen Medium erwachsenen Individuum die Fähigkeit sein Leben in dem anderen Medium fortzusetzen, also sich den veränderten Verhältnissen zu adaptiren, abgeht. — Nur die Spore, der noch nicht für eine bestimmte Lebensaction differenzierte Keim, vermag je nach den äusseren Verhältnissen in verschiedene Entwickelungs- und Thätigkeitsformen überzugehen. — Hat aber einmal die Entwicklung in der für ein bestimmtes Medium geeigneten Weise begonnen, so ist ein Einlenken auf andere Bahnen, bei eintretenden Veränderungen in den äusseren Verhältnissen, nicht mehr möglich. —

Dass sich die beschriebenen sporetragenden Formen ausser in Cohn'scher Lösung auch in Altheeschleim und den analogen Körpern (Quittenschl. etc.) bilden, habe ich schon oben bemerkt. — Ich möchte hier noch hinzufügen, dass man dieselben Formen auch in der mit Wasser stark verdünnten blauen Milch auftreten sieht. Die geringe Säuremenge in dieser Flüssigkeit wird schnell aufgezehrt, damit hört die weitere Bildung der Sprossvegetationen auf, und indem die Flüssigkeit allmählich alkalisch wird, entwickeln sich aus den Gonidien dieselben sporetragenden Stäbchen wie in Cohn'scher Lösung. — Dadurch wird die zunächst auffällige Beobachtung Haubners erklärt, dass die gewöhnliche blaue Milch durch Kochen impfungsfähig werde, dagegen mit viel Wasser verdünnte blaue Milch ihre Impfkraft durch Kochen nicht verliere. —

Bevor ich diesen Abschnitt schliesse, muss ich noch gewisse eigenthümliche Formen erwähnen, welche mir nicht constant, aber doch recht häufig unter den sporetragenden Stäbchen zu Gesicht gekommen sind. Vergl. Fig. 8. Es sind das meist zu zweien aneinander liegende kurze Stäbchen, bei denen nicht am Ende, sondern

¹⁾ In gefärbten Präparaten von blauer Milch, welche mit Cohn'scher Lösung geimpft wurde, sieht man in der ersten Zeit nach der Impfung diese abgestorbenen Formen noch deutlich erkennbar, aber durch ihre schwache Färbung von den intensiv gefärbten lebenden scharf unterschieden.

an einer beliebigen Stelle im Verlauf das Protoplasma heller erscheint, also ein vacuolähnlicher Raum bemerkbar ist. Derselbe liegt nicht, wie die Vacuolen in Pilzfäden in der Mitte, sondern an der Seite, hat auch keine runde Form, erscheint vielmehr meist unregelmässig 3eckig. — Man könnte zunächst bei den gefärbten Präparaten annehmen, dass es sich um einen Präparationsfehler, etwa um unvollständig zerbrochene Stäbchen handle; jedoch ist das nicht der Fall, man bemerkt die Veränderung bei guter Beleuchtung schon am ungefärbten Präparat bei den lebenden, bewegten Organismen. — Bezuglich der Deutung dieser Bilder bin ich in einiger Verlegenheit; ich möchte sie für irgendwie in der Entwicklung gestörte Formen halten. Meine bisherigen Versuche, die Veranlassung dieser Störung zu erkennen und die Entwicklung der Veränderung zu beobachten, waren jedoch vergeblich. —

4. Befund in der blauen Nährösung. Chroococcusform.

Nachdem ich bei meinen mikroskopischen Untersuchungen bis zu den bisher geschilderten Resultaten gelangt war, glaube ich den Lebenszyklus des in der blauen Milch vorkommenden Bacterium vollständig zu kennen. Mit der Entwicklung der pigmentbildenden Sprossverbände einerseits, der sporentragenden Stäbchen andererseits, schien die Zahl der für unsern Organismus möglichen Lebensphasen abgeschlossen, und es schien diese Annahme um so mehr berechtigt, als die beobachteten Entwicklungszustände sich denen, welche bei der am besten bekannten Bacteriengattung, Bacillus, vorkommen, recht wohl parallelisiren liessen. Ich wurde jedoch eines Besseren belehrt durch die mikroskopischen Befunde in der blau werdenden Nährösung, der Mischung aus Cohn'scher Flüssigkeit und milchsaurem Ammoniak. Als mich viele vergebliche Versuche endlich zu der Herstellung dieser Nährösung geführt hatten, machte ich mich mit grossen Erwartungen an die mikroskopische Untersuchung derselben, in der Voraussicht, hier dieselben functionirenden Sprossgenerativen wiederzufinden, wie in der blauen Milch und in der Hoffnung hier, unbehelligt durch die störenden körperlichen Bestandtheile der Milch, ihre Entwicklung genauer studiren zu können. — Ich war offen gestanden zunächst bestürzt, als ich ein von dem Erwarteten ganz abweichendes Bild fand. — Die blaue Flüssigkeit zeigte auf ihrer Oberfläche ein weisses schleimiges Häutchen, dessen mikroskopische Untersuchung jedoch weder Stäbchen, noch Gonidienketten, sondern nur zahllose glänzende runde Körperchen, sehr kleinen Hefezellen ähnelnd, zeigt. Diese Kügelchen, von etwas wechseln-

der Grösse, ca. 0,0012 im Durchmesser haltend, besitzen ein ziemlich starkes Brechungsvermögen und dem entsprechend lebhafteren Glanz wie gewöhnliche Bacterien. Frisch betrachtet zeigen sie oft im Centrum eine hellere Stelle wie eine Vacuole oder einen Kern, jedoch lässt die Färbung mit Methylviolett einen Unterschied in der Imbibitionsfähigkeit des Protoplasma an dieser Stelle nicht erkennen; sie färben sich ganz gleichmässig und sehr intensiv. Vergl. Fig. 9. Theils erscheinen sie bewegungslos, theils in lebhaft tanzender und kreiselnder Bewegung (nicht Molecularbewegung). Sowohl die bewegten, wie die ruhenden Körperchen besitzen eine dünne Gallerthülle und finden sich selten einzeln, oft zu zweien aneinandergelagert oder zu 8, 10 und mehr in Colonien vereinigt. — Der nahe liegende Gedanke, dass es sich hier um einen anderen Organismus, welcher mit dem Bacterium der blauen Milch nur die Fähigkeit der Pigmentbildung gemein habe, handle, wird widerlegt, einmal durch das constante Auftreten dieser Form nach Impfungen aus den verschiedensten Substanzen, welche entwickelungsfähige Generationen des Bacterium der blauen Milch enthalten (vergl. p. 38), ferner durch die constant eintretende Bildung der gewöhnlichen Sprossgenerationen und Gonidienketten, wenn man aus blauer Nährlösung auf Milch impft, und drittens durch die Bildung der oben beschriebenen sporetragenden Generation bei Impfung der blauen Nährlösung auf Cohn'sche Flüssigkeit. — Die Entwicklung der hefeähnlichen Zellen aus den Gonidien scheint mir nach meinen Beobachtungen sich so zu gestalten. Etwa 6 Stunden nach Impfung von Gonidien auf blaue Nährlösung, sieht man dieselben in der Weise angeschwollen, dass sie anstatt der früheren Bisquitform die von 2 aneinanderliegenden, durch tiefen Einschnitt getrennten Kugeln darstellen. Zugleich sind sie beweglich geworden. Im weiteren Verlauf theilen sie sich an der Einschnürungsstelle und bilden dadurch je zwei der Hefe ähnliche Zellen. — So lange die Bildung des blauen Farbstoffs andauert, vermehren sich diese Zellen durch Zweitteilung (nicht durch Sprossung, wie die Hefe); das Kugelchen vergrössert sich in einer Richtung, wird dadurch zu einem ovalen Gebilde, bekommt sehr bald in der Mitte eine Einschnürung und theilt sich endlich an dieser Stelle in zwei gleich grosse Kugeln, welche nicht kleiner sind als der Mutterorganismus.

Die einzelnen Theilstücke können sich von einander trennen, scheinen aber meist zusammen zu bleiben und durch weitere Theilung einen flachen (nicht kugeligen) Haufen von 8—10, durch wenig Galler getrennter Zellen zu bilden. — Hört die Bildung des blauen

Farbstoffs auf, was in der von mir benutzten Nährösung unter Eintritt alkalischer Reaction meist schon am zweiten oder dritten Tage geschah, so geht eine weitere eigenthümliche Veränderung mit den hefeähnlichen Kugelchen vor sich. Dieselben werden unbeweglich, rücken durch Bildung dickerer Gallerthüllen weiter auseinander, vergrössern sich um das Doppelte bis Dreifache und nehmen dabei höchst unregelmässige polygonale Formen an. Sie gewinnen dadurch ein Ansehen, welches, wenn man von der fehlenden Färbung absicht, täuschend einer Colonie von *Chroococcus*¹⁾ ähnelt (vergl. Tafel Fig. 10). Weiter als bis zur Bildung dieser *Chroococcus*-ähnlichen Colonien habe ich die Entwicklung in der blauen Nährösung nicht verfolgen können. — Während der nächsten 6—8 Tage scheinen weitere Veränderungen bedeutender Art nicht einzutreten. Zu bemerken wäre hier nur, dass eine Anzahl der Organismen, namentlich die am Rande eines Zellenhaufen liegenden Individuen, während dieser Zeit ihre polyedrische Gestalt verlieren und eine mehr längliche Gestalt, ja in manchen Fällen direct die Form eines kurzen Fadens von sehr wechselndem Kaliber annehmen. Ob diese Formen Uebergänge zu der weiter unten zu besprechenden darstellen, wage ich nicht zu entscheiden. Auf längere Zeit ist es mir trotz aller Vorsicht nie gelungen, die Entwicklung fremder Organismen in der benutzten Nährösung (*Oidium*, *Penicillium*, verschiedene andere Bacterien, namentlich *Spirillum tenue*) zu verhindern.

Bei der Uebertragung der Hefeähnlichen Zellen, sowie der weiter ausgebildeten *Chroococcus*-ähnlichen Formen auf Milch oder auf Cohn'sche Lösung treten, wie schon gesagt, wieder die beschriebenen Gonidien- oder Sporenbildenden Generationen auf. Die Hefeähnlichen Zellen werden durch einfaches Längenwachsthum zu Stäbchen. Die grösseren unregelmässigen Zellen der Algenähnlichen Form scheinen zunächst je nach ihrer Grösse in eine unbestimmte Anzahl kleinerer runder Zellen zu zerfallen, von denen dann erst die Entwicklung der Stäbchen ausgeht.

5. Zweifelhafte Form in *Kali nitricum*. *Leptothrix*.

Ehe ich die Beschreibung der mikroskopischen Untersuchung schliesse, muss ich kurz noch einer Form Erwähnung thun, deren genetischer Zusammenhang mit dem Bacterium der blauen Milch mir sehr wahrscheinlich ist, obwohl ich nicht im Stande war, aus dersel-

¹⁾ Vergl. Rabenhorst, Flora Europaea Algarum. Bd. II. Leipzig 1865. Fig. 2. auf pag. 3 — *Chroococcus virescens*.

ben wieder das ursprüngliche pigmentbildende Bacterium zu erhalten. Die Beobachtungen, welche ich über diese Form habe anstellen können, sind allerdings nur unvollständige; zu einer vollständigen Untersuchung fehlte mir die Zeit und der Beruf, da eine solche mich weiter auf das Gebiet rein botanischer Forschung verlockt hätte als dem Pathologen zusteht. — Ich würde mir unter diesen Verhältnissen nicht gestattet haben das lückenhafte Material anders als in einer beiläufigen Bemerkung zur Sprache zu bringen, wenn nicht von anderer Seite auffallend übereinstimmende Beobachtungen veröffentlicht wären. Billroth erwähnt, dass er bei Zusatz von Kali nitricum zu bacterienhaltigen Flüssigkeiten nicht constant, aber in einzelnen Fällen, eigenthümlich „gequollene“ Bacterienformen von sehr wechselnder Gestalt erhalten habe (l. c. pag. 23 und Taf. IV Fig. 40.). Ich habe ganz analoge Formen constant erhalten, wenn ich Co h n'sche Flüssigkeit, in welcher sich die sporentragende Generation unseres Bacterium befand (ehe die Sporenbildung bedeutende Ausdehnung erreichte, also etwa 12—24 Stunden nach der Impfung) mit etwa $\frac{1}{3}$ ihres Volumens vorher gekochter concentrirter Lösung von Kali nitricum versetze. — Es bilden sich dann durch eine Verlängerung des einzelnen Stäbchens (oder durch Copulation zweier?) längere Fäden, welche eine gewisse Aehnlichkeit mit *Leptothrix* haben, sich aber von der gewöhnlichen *Leptothrix* dadurch unterscheiden, dass sie ein sehr wechselndes Kaliber darbieten, unregelmässige knotige Anschwellungen besitzen. — Solche Fäden findet man am zweiten bis dritten Tage sehr reichlich. Jedoch wandeln sich nie alle schwärmenden Stäbchen in diese Form um, eine grosse Zahl bleibt unverändert, scheint aber keine Sporen mehr zu bilden. — Die Fäden sind an ihren Enden zugespitzt und hier oft deutlich gegliedert. Ausserdem aber zeigen dieselben ausser den erwähnten unregelmässigen Verdickungen in ihrem Verlauf meist ein, bisweilen mehrere kugelige Aufreibungen, die wohl als Gonidien zu deuten sind. Man bemerkt in vielen dieser Gebilde ein oder mehrere bis 4 kugelige Körperchen (Dauersporen?), und findet nach Ablauf von 4 bis 5 Tagen zahlreiche solcher Körperchen frei in der Flüssigkeit, namentlich am Rande des Gefässes. — Impft man Flüssigkeit, in welcher diese kugeligen Körper mit schwärmenden Stäbchen untermischt sind, auf Milch, so tritt Bläbung ein; impft man nur diese Körperchen (die man am Rande des Gefässes oft ganz frei von allen Beimengungen erhält), so erfolgt keine Bläbung. Die Körperchen vermehren sich in der Milch durch Sprossung wie Hefe, bis sie durch andere Bacterienformen überwuchert werden.

Dass diese Gebilde trotzdem mit dem Bacterium der blauen Milch zusammenhängen, glaube ich deshalb, weil ich sie ausnahmslos nach der oben angegebenen Methode erhielt, dagegen nie bei Zusatz von Kali nitricum zu anderer nicht, oder mit beliebigen anderen Bacterien geimpfter Cohn'scher Lösung. — Die Entwicklung tritt nur ein bei Zusatz zu Cohn'scher Lösung, welche schon schwärmende Stäbchen enthält. Impft man Gonidien auf die Mischung von Kali nitricum und Cohn'scher Lösung, so entwickeln sie sich nicht. — Kali nitricum zu blauer Milch zugefügt, giebt keine ähnliche Formen, sondern inhibirt den Prozess der Bläbung und führt ebenso wie Glycerin zu vorzeitiger Gonidienbildung. Soweit erstrecken sich meine Beobachtungen. —

Augenscheinlich ganz analoge Formen hat Cienkowsky¹⁾ in faulenden Vegetabilien, ohne Zusatz von Kali nitricum auftreten sehen, und steht nicht an, sie mit den beobachteten Bacterien in genetischen Zusammenhang zu bringen. Er erklärt die Fäden für *Leptothrix* (eine der 3 Mutterpflanzen, von denen nach seiner Ansicht alle Bacterien entstehen) und scheint die Aufreibungen als Gonidien anzusehen. Genauere Untersuchungen über das weitere Schicksal derselben hat er nicht angestellt. — Sowohl Billroth wie Cienkowsky haben die Formen nur zufällig erhalten; bei dem oben angegebenen Verfahren treten sie constant auf; meine Beobachtung dürfte danach wenigstens insofern einigen Werth haben, als sie eine Methode zur sicheren Gewinnung dieser theoretisch so interessanten Gebilde kennen lehrt. —

Schluss.

Aus der vorstehend beschriebenen Reihe von Untersuchungsresultaten über Lebensfunctionen und Entwicklungsformen einer einzelnen Bacterienart würde, selbst wenn die Beobachtung eine vollständige und lückenlose wäre, ein Urtheil über die Bacterienfrage im Allgemeinen nicht abgeleitet werden können. Dieselbe wird sich vielmehr in Bezug auf die allgemeinen Fragen nach der Natur und Wirksamkeit der Bacterien nur in der Weise verwerten lassen, dass man sie mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen vergleicht, die Uebereinstimmungen und Abweichungen constatirt. — Die grosse Zahl der Untersucher über Bacterien hat sich in mehrere bedeutend von einander in der Deutung der gewonnenen Resultate abweichende Gruppen

¹⁾ Cienkowsky, Zur Morphologie der Bacterien. Memoires d. Acad. d. sciences à St. Petersburg. VII. Serie. Bd. 25. 1877. Fig. 51—53.

getheilt. Diese Gruppen könnte man in eine Art fortlaufender Reihe ordnen, in welcher die Endglieder mit diametral entgegengesetzten Anschauungen durch eine Anzahl mehr vermittelnder Ansichten verbunden erscheinen. Auf der einen Seite dieser Reihe würde Cohn und die mit ihm übereinstimmenden Forscher¹⁾ stehen, welche die Existenz einer sehr grossen Zahl von einander getrennter Bacterien-Gattungen und -Species annehmen, deren Formen nicht in einander übergehen können, vielmehr jede für sich eine besondere Stellung im botanischen System beanspruchen können. — Den entgegengesetzten Standpunkt vertritt Naegeli (l. c. p. 20), welcher zu dem Resultat kommt: „ich habe seit 10 Jahren wohl Tausende von verschiedenen Spalthebeformen untersucht und ich könnte nicht behaupten, dass auch nur zur Trennung in 2 specifische Formen Nöthigung vorhanden sei.“ — Der Naegeli'schen Anschauung sehr nahe steht die von Lankester, welcher die verschiedenen roth gefärbten Organismen in fauligen Substanzen alle als Morphen einer einzigen Bacterienart auffasst und daraus den Schluss zieht, die Bacterien seien „a Protean species,“ welche regellos je nach dem Wechsel der äusseren Umstände die verschiedensten Formen annehmen könnte, ohne dass sich in diesen eine fortlaufende Entwickelungsreihe erkennen lasse (l. c. p. 412. *The forms of a Protean species are a series of adaptations; the forms exhibited in the development of a species from its egg are a series of hereditary recapitulations* — — —). Er glaubt dementsprechend, dass eine morphologische Eintheilung der Bacterien undurchführbar sei und nur als künstliches System einen bedingten Werth habe, während man bei dem natürlichen System sich auf gewisse charakteristische Merkmale, vornehmlich functioneller Natur, stützen müsse. — Ihm schliesst sich Warming²⁾ nach seinen Untersuchungen rother Bacterien etc. aus der Nordsee an. — Der Cohn'schen Auffassung schon näher steht eine Anzahl weiterer Forscher, welche zwar auch die verschiedenen Bacterienformen für Zustände eines einzigen Organismus halten, dieselben jedoch nicht wie Lankester und Warming regellos je nach den äusseren Verhältnissen sich bilden lassen, sondern die Glieder einer regelmässig fortlaufenden Entwickelungsreihe in ihnen sehen. — Der Führer und Begründer dieser „Schule“ ist Billroth, welcher zuerst sämmtliche Fäulnissorganismen als Vegetationsformen

1) Cohn, Schröter, Koch, Eidam u. A. (auch Brefeld?).

2) Warming Om nogle ved Danmark's Kyster levende Bacterier. Videnskabelige Meddelelser fra den naturhistoriske Forening i. Kjöbenhavn. 1875. p. 307—420.

einer Oscillarinee, der *Coccobacteria septica* auffasste. Namentlich aus medicinischen Kreisen haben sich zahlreiche Beobachter dieser Anschauung angeschlossen. — Analog ist auch die Ansicht Listers, welcher die Bacterienformen nicht von einer Algenart, sondern von einem Pilz (*Dematiu fuscisporum*) ausgehen lässt. — Endlich wären hier als von den Cohn'schen Auffassungen im Princip nur wenig abweichend diejenigen Untersucher zu nennen, welche nicht alle Bacterien auf einen Organismus reduciren wollen, jedoch nur eine beschränkte Zahl von Organismen als Ausgangspunkte der mannigfach verschiedenen Formen gelten lassen. Namentlich Cienkowsky vertritt diesen Standpunkt; auch van Tieghem¹⁾ scheint sich einer ähnlichen Auffassung zuzuneigen. — Klebs könnte, obwohl er vorläufig nur 2 Gruppen von Bacterien anerkennt, die Microsporinen und die Monadinen, und also das Cohn'sche System als zu detaillirt verwirft, doch noch in gewisser Weise den mit Cohn übereinstimmenden Forschern angereiht werden, da er innerhalb seiner beiden Gruppen eine grössere Zahl scharf von einander getrennter Species annimmt. —

Welcher dieser verschiedenen Anschauungen würden die Resultate der vorstehenden Untersuchung sich anpassen lassen. — Wir haben gesehen, dass der Organismus aus der blauen Milch in 3 resp. 4 verschiedenen Formen auftritt, theils als Bacterium mit Bildung von Gonidienketten durch Theilung, theils als Bacillusähnliches Stäbchen mit complicirterer Sporenbildung, ausserdem in Form einer dem *Chroococcus* sehr ähnlichen Alge, deren ruhende Zellen aus einer schwärmenden Generation sich bilden, und endlich vielleicht noch in einer *Leptothrix*ähnlichen Form mit Bildung von Gonidien und Dauersporen. — Diese Thatsachen liefern zunächst den Beweis, dass die von Cohn aufgestellten Species und Gattungen insofern zu eng begrenzt sind, als ein Organismus in seinem Lebenscyclus verschiedene der als getrennt hingestellten Formen vereinigen kann. Damit ist natürlich nicht gesagt, dass etwas Aehnliches bei allen in den Cohn'schen Species eingeordneten Formen der Fall sein müsse. Der Uebergang der Hefeform von *Mucor racemosus* in Pilzrasen ist ja auch noch kein Beweis dafür, dass *Saccharomyces* eine ähnliche Umwandlung müsse durchmachen können. Ferner liegt aber in der von mir beobachteten Multiplicität der Form keineswegs, wie es zunächst scheinen könnte, eine Stütze für Billroth'sche oder Lister'sche An-

¹⁾ Ph. van Tieghem. Sur le Bacillus Amplobacter. Bullet. de la soc. bot. de France. Bd. 24. 1877.

schauungen. — Erstens ist von mir nie ein Uebergang aus einer Form in die andere beobachtet worden, so lange der Organismus auf dem gleichen Nährboden gezüchtet wurde; die Form blieb hier stets die gleiche, während doch nach Billroth allmählich höhere, d. h. andere Formen hätten auftreten müssen; zweitens beruht die Veränderung der Form auch bei der Uebertragung in ein anderes Medium nicht auf einer einfachen Umwandlung. — Jede einzelne Form repräsentirt vielmehr einen in sich abgeschlossenen Entwickelungscyclus, der von dem Keim ausgeht und wieder zu ihm zurückführt. Die einzelne Form selbst geht unter keinen Verhältnissen in die andere über, nur der Keim, das noch nicht differenzierte Gebilde vermag sich je nach den Verhältnissen in der einen oder anderen Richtung zu entwickeln.

Viel eher würde für unseren Fall der Ausspruch Lankesters zutreffend erscheinen, von dem Proteus ähnlichen Organismus, dessen einzelne Erscheinungsformen eine Serie von Adaptationen vorstellen. Die Verhältnisse liegen in unserem Fall jedoch anders als Lankester sie sich bei seinem peach-colonred Bacterium denkt, da bei unserem Organismus die „Serie von Adaptationen“ nicht etwa die regelmässige Wiederholung ererbter mütterlicher Eigenschaften ausschliesst, oder an die Stelle derselben tritt; die Adaptation äussert sich nicht in der beliebigen Annahme einer bestimmten einzelnen Form, sondern in dem Eintritt des Keimes in einen bestimmten Formencyclus, welchen die einzelnen Individuen und deren Nachkommen, so lange die äusseren Verhältnisse gleich bleiben, mit derselben Regelmässigkeit wiederholen müssen, wie wenn überhaupt nur diese eine Entwickelungsweise möglich wäre. — Wir werden demnach nicht ohne weiteres daran verzweifeln, unsern „Proteus“ in dem System unterzubringen; wir sind vielmehr im Stande jeden einzelnen Entwickelungscyclus, in den er eintritt, anderen, ähnlichen im System anzureihen und so vorläufig der didactischen resp. mnemotechnischen Forderung der Uebersichtlichkeit zu genügen, — vorbehaltlich der späteren Vereinigung der so getrennten Formen in einem durch neue Erfahrungen weiter ausgebauten und verbesserten ähnlichen System. — — Freilich wird ein solches, welches das Band zwischen den einzelnen Lebenscyclen zur Anschauung bringt, erst eine genügende und vollständige Charakteristik der betreffenden Arten geben können, denn es werden unter den verschiedenen Erscheinungsformen wohl bei jedem zu den Schizophyten gehörigen Organismus einige sein, welche an und

für sich gar nichts morphologisch-charakteristisches darbieten, wie z. B. in unserem Fall die Bacteriengeneration in der blauen Milch. — Ich habe schon bei Beschreibung derselben darauf aufmerksam gemacht, dass diese Generation in keinem einzigen Stadium ihrer Entwicklung morphologisch unterschieden ist von anderen in der Milch wuchernden Bacterienformen, und ich halte diese Thatsache keineswegs für besonders wunderbar oder der Deutung unzugänglich. Bei den, soweit wir wissen, ganz homogenen, organisationslosen Körpern der Bacterien bildet die Form und die mit ihr wechselnde Beschaffenheit der Körper-Oberfläche das hauptsächlich (wenn nicht allein) Variable, das Einzige, wodurch sie ihren Stoffwechsel nach den äusseren Umständen reguliren können, da wir nach den Reactionen annehmen dürfen, dass die chemische Beschaffenheit des Körpers bei allen Generationen desselben Organismus nahezu die gleiche ist. Es wird auch bei verschiedenen Organismen eine grosse Aehnlichkeit der chemischen Beschaffenheit angenommen werden dürfen, und unter dieser Voraussetzung erscheint es selbstverständlich, dass die Generationen solcher verschiedenen Organismen den gleichen äusseren Bedingungen durch Annahme gleicher Formen sich adaptiren. Es scheint mir, dass hierdurch die auffallende Aehnlichkeit verschiedener Bacterienformen (im weitesten Sinn), so lange sie in denselben Medien verweilen, ihre ungezwungene Erklärung findet.

Zum Schluss noch einige Bemerkungen betreffs der biologischen Verhältnisse unseres Organismus. Es ist von verschiedenen Seiten die Ansicht ausgesprochen worden, dass dieselbe Function durch ähnliche Formen verschiedener Organismen ausgeübt werden könne, dass also eine und dieselbe Gährung durch Bacteriengenerationen sehr verschiedener Abstammung bedingt sein könne, und umgekehrt, dass derselbe Organismus in seinen verschiedenen Generationen sehr verschiedene Gährungsprocesse einleiten könne. Gegen eine solche Anschauung ist aus theoretischen Gründen nichts einzubwenden, es lässt sich vielmehr manches dafür anführen, wenngleich ein sicherer Beweis für dieselbe bisher nicht erbracht ist. Aus den Beobachtungen über das Bacterium der blauen Milch könnte man den Schluss ziehen, dass hier noch ein anderer, bisher nicht für wahrscheinlich angeschener Fall eintrate, dass nämlich zwei verschiedene Generationen desselben Organismus die gleichen Funktionen ausübten. Wäre dieser Fall wirklich möglich, so würde dadurch natürlich eine fast unüberwindliche Schwierigkeit für die morphologische Identificirung des

betreffenden Organismus gegeben sein. Ich glaube jedoch behaupten zu können, dass die Ableitung eines solchen Schlusses aus den Beobachtungen in unserem Fall nicht berechtigt ist. Es wird allerdings sowohl von der Algenähnlichen Generation wie von der Bacterien-Generation aus der Milchsäure resp. aus Ammon. lacticum blaues Pigment gebildet; trotzdem ist die Function der beiden Formen nicht die gleiche, vielmehr bei der Bacterienform bei weitem complicirter wie bei der ersteren. — Es ist wohl jetzt allgemein anerkannt, dass die Säuerung der Milch auf der Fermentwirkung von Mikroorganismen beruht, und zwar wahrscheinlich Organismen sehr verschiedener Abstammung. (Vergl. Hoppe-Seyler Physiologische Chemie I. p. 120.) In der blauen Milch sind, wie die Impfungen auf andere Medien beweisen, keine anderen Organismen enthalten als die pigmentbildenden; man wird also, da hier vor und mit der Pigmentbildung Säurebildung eintritt, annehmen müssen, dass diese Organismen selbst das dazu nöthige Ferment liefern¹). In der Milch würden also die Bacterien nicht nur den Farbstoff zu produciren haben, sondern die hierzu nöthigen Ingredienzien der Milchsäure und des Ammoniak sich aus dem Milchzucker resp. dem Caséin zu präpariren haben. In der Nährösung werden dem Organismus diese Ingredienzien fertig geboten, er übt hier nur die einfachere Function der Umwandlung derselben in Farbstoff und belebte Materie²). Die Pflanze wird, falls unsere Untersuchungen richtig sind, diese differenten Functionen gar nicht in einer gleichen Generationsform ausführen können, und die Beobachtung bestätigt diese theoretische Folgerung. — In der Milch wächst das Gonidium resp. die Spore zu der complicirteren Form des schwärmenden Stäbchens aus, in der blauen Nährösung quillt es nur zum einfachen Kügelchen auf. — In beiden Fällen, wo die charakteristische Function getübt wird, haben wir es mit einfachen Generationsformen unseres Organismus zu thun, welche nur durch Abschnürung sich vermehren. Wo wir die durch complicirtere Vermehrungerscheinungen charakterisirten und deshalb für

¹⁾ Ein Beweis für diese Annahme scheint mir auch in der Erfolglosigkeit der Impfung von blauer Milch auf saure Milch gegeben zu sein. In der sauren Milch haben eben schon andere Bacterienformen unserm Organismus einen Theil seiner Functionen vorweggenommen, und den Nährboden so überwuchert, dass er nicht gegen sie aufkommen kann.

²⁾ Zugesetzter Milchzucker bleibt in der blauen Nährösung unverändert. Es findet hier also, auch wenn Material vorhanden ist, keine Milchsäurebildung statt, weil die vorhandene Generationsform zur Ausübung dieser Function neben der Pigmentbildung nicht befähigt ist.

die morphologische Bestimmung wichtigeren Formen auftreten sehen, da fehlt die charakteristische Fermentwirkung. Diese Thatsache ist aus dem Grunde bemerkenswerth, weil sich in ihr ein wahrrscheinlich für die ganze Klasse der *Bacteriaceen* gültiges Gesetz ausspricht, welches namentlich in Bezug auf die pathogenen Formen durch manche Beobachtungen schon bestätigt worden ist, und sich etwa so formuliren liesse, dass diejenigen Entwicklungszustände, oder richtiger Generationsreihen, welche uns durch eigenthümliche fermentative Wirkungen auffällig werden, morphologisch am wenigsten charakteristisch sind, — dass die ihnen entsprechenden morphologisch charakteristischen Generationsreihen sich nicht in demselben Medium und unter denselben Verhältnissen entwickeln wie die fermentativ wirksamen, sondern nur in anderen Medien und ohne Fermentwirkung. Wir werden demnach die morphologisch charakteristischen Formen der pathogenen Bacterien nicht im Thierkörper, und am wenigsten im erkrankten Thierkörper suchen dürfen, sondern nur in Züchtungen des dem kranken Thierkörper entnommenen Materials in anderen Medien. —

Rostock, Februar 1880.

Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1. Schwärmende Bacterien aus der blauen Milch. Vergl. p. 41.
- Fig. 2. Ruhende Bacterien mit starker Gallerthülle aus blauer Milch. Vergl. p. 46.
- Fig. 3. Schwärmende Bacterien späterer Generation, Gonidienketten und freie Gonidien aus blauer Milch. Vergl. p. 42.
- Fig. 4. Vorzeitige Gonidienbildung bei mangelnder Nahrung. Vergl. p. 44.
- Fig. 5. u. 6. Sporetragende Stäbchen aus Cohn'scher Nährlösung. Fig. 5. erstes, Fig. 6. zweites Stadium und freie Sporen. Vergl. p. 48.
- Fig. 7. Auskeimende Sporen und zweite sporetragende Generation aus Cohn'scher Lösung. Vergl. p. 49.
- Fig. 8. Gestörte Formen aus Cohn'scher Lösung. Vergl. p. 51.
- Fig. 9. Schwärmende kugelförmige Zellen aus blauer Nährlösung. Vergl. p. 53.
- Fig. 10. *Chroococcus*form aus blauer Nährlösung. Vergl. p. 54.
- Fig. 11. Formen in Cohn'scher Lösung und Kali nitricum (*Leptothrix* mit Gonidien?). Vergl. p. 55.

Sämtliche Figuren sind von Herrn Professor Albert Thierfelder, welchem ich für seine liebenswürdige Unterstützung zu grossem Dank verpflichtet bin, nach gefärbten Präparaten gezeichnet. Die Vergrösserung ist ca. $\frac{660}{1}$.

1470



14701

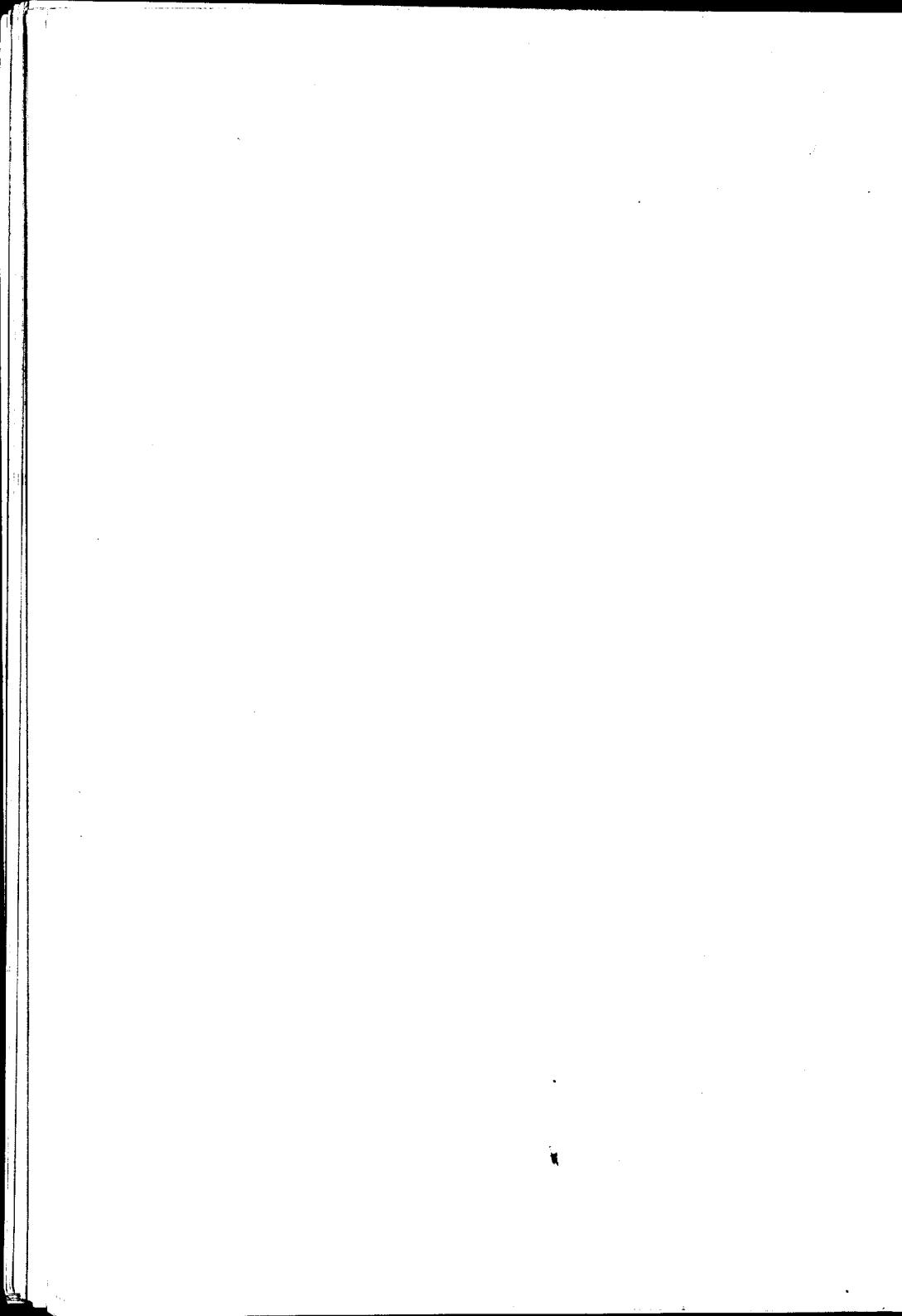


Fig. 1.

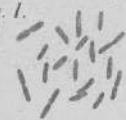


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 9.



Fig. 10.



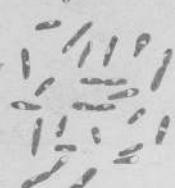
Fig. 7.



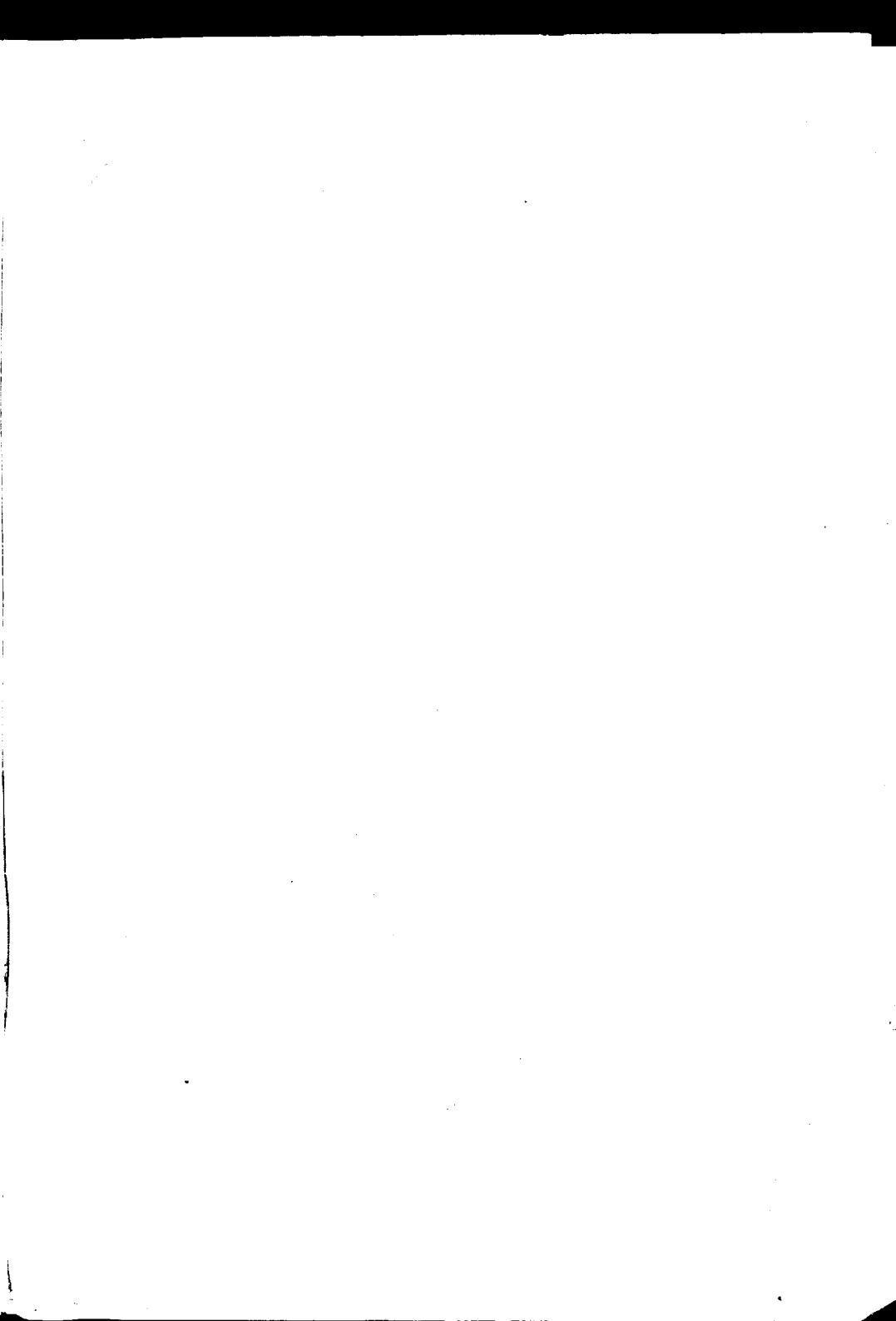
Fig. 11.

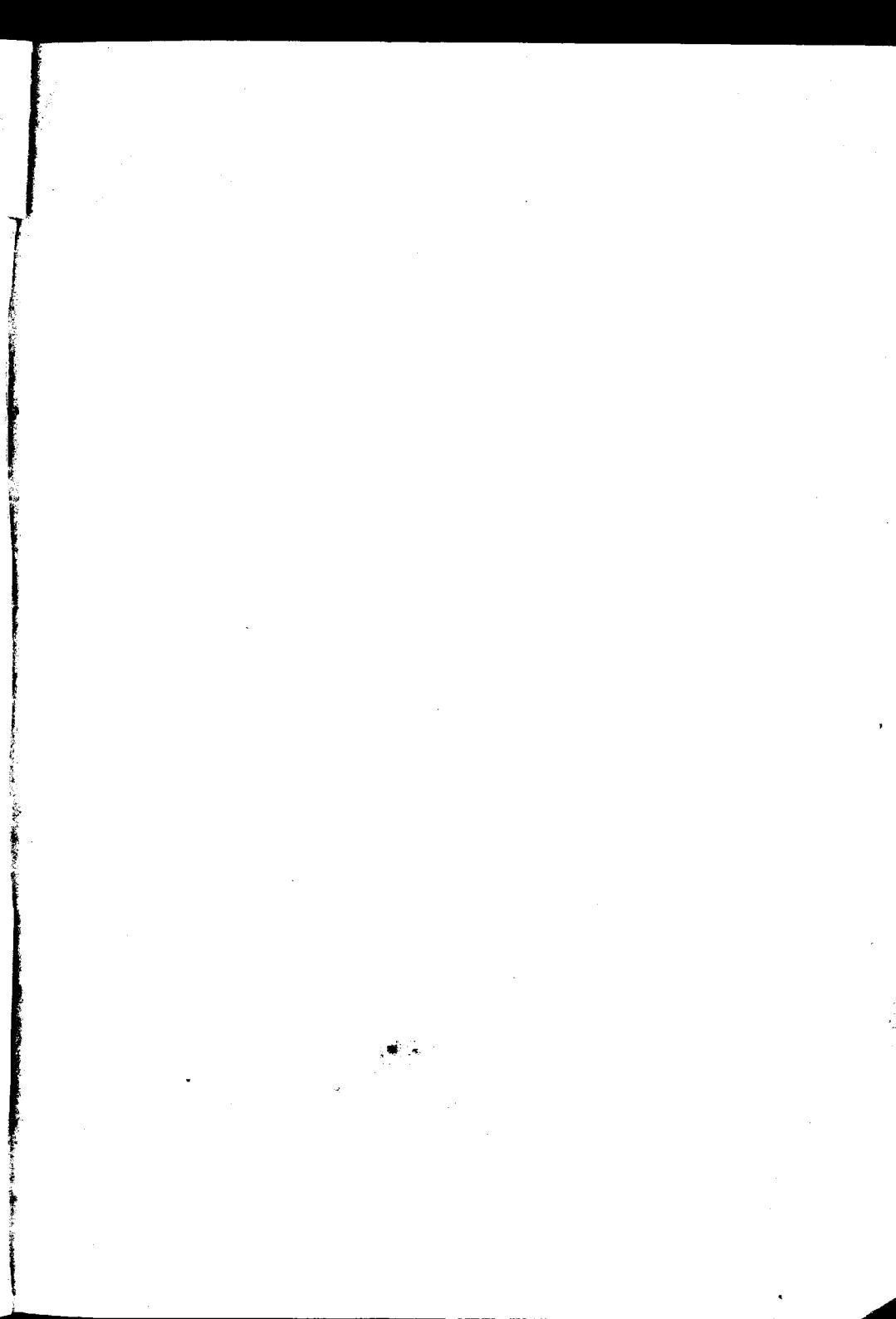


Fig. 8.











6642