

Studien über die Unterarten der Proteusbacillen.

(Die gekreuzte Agglutination als ein Differenzierungs-
verfahren der Bakterienunterarten.)

Von

Prof. Dr. K. Aoki u. Dr. N. Iizuka.

(青木 薫) (飯塚直彦)

(Aus dem bakteriologischen Institut der Universität Sendai.)

Die Mikroben, welche man die Proteus-Klasse nennt, sind im allgemeinen wohl bekannt, einerseits als Krankheitserreger, andererseits als Fäulnisbakterien. Als die ersteren wurden sie entweder bei lokalen oder bei allgemeinen fieberhaften Erkrankungen gefunden. Es wurde schon früher von vielen Forschern darauf aufmerksam gemacht, dass diese Mikroben verschiedene Abarten enthalten. Zuerst hatte Hauser nach dem Verflüssigungsvermögen der Gelatine sie in drei Unterarten geteilt, nämlich *Proteus vulgaris*, *mirabilis* und *zenkeri*. Der *Proteus vulgaris* soll Gelatine stark, der *mirabilis* schwach, dagegen der *zenkeri* gar nicht verflüssigen können. Diese Einteilung wurde aber sieben Jahre später aus dem Grunde von ihm selbst aufgegeben, dass diese Eigenschaft grossen Schwankungen unterworfen sein kann. Einige Forscher hatten daraufhin dieselbe Erfahrung gemacht. Doch will man immer noch diese Einteilung von Hauser beibehalten, so dass die drei Namen zur Unterscheidung der Proteusbacillen überall noch gebraucht werden. Seitdem das Phänomen der Agglutination spezifisch erkannt wurde, haben viele Autoren diese Reaktion auch bei Proteusinfektion und bei Immunisierung der Tiere mit Proteusbacillen geprüft und übereinstimmend gefunden, dass diese Reaktion gegen Stämme, welche dabei gefunden oder zur Immunisierung verwendet wurden, ganz positiv, aber gegen andere negativ ausfällt (Launelonge, Pfaundler, Wolf, Grosberger, Lubowski u.

Steinberger, Flinzer u. a.). Durch dieses Verhalten wusste man nicht, wie man die Proteusinfektion durch die Agglutination feststellen kann, wie die Typhusinfektion. Deshalb haben viele Forscher sich bemüht, dieses Verhalten auseinanderzusetzen. So hatte z. B. Rodella 7 Stämme des *Proteus vulgaris* von verschiedener Herkunft gesammelt, nämlich teils aus Fleischvergiftungen, teils als Reinkultur aus verschiedenen bakteriologischen Instituten. Er hatte diese Stämme untersucht und fand, dass unter den Namen *Proteus vulgaris* Mikroorganismen gerechnet werden, die sich sowohl mikroskopisch als auch kulturell differenzieren lassen. Mit einem Stamm dieser Mikroorganismen wurde ein Serum hergestellt und die Agglutination damit ausgeführt. Es stellte sich heraus, dass nur ein Stamm in diesem Serum ebenso stark, wie der zur Immunisierung verwendete agglutinierte. Durch diesen Befund kam Rodella zu der Meinung, dass diese Reaktion bei der Proteusinfektion ebenso spezifisch ausfallen muss, wie bei der Typhusinfektion. Die Erscheinung aber, dass die Reaktion bei allen übrigen Proteusstämmen nicht immer positiv ausfällt, muss dadurch zustande gekommen sein, dass es ihm noch nicht gelungen war, ein Mittel zu finden, wodurch man Unterarten der Proteusbacillen feststellen kann. Da Kleinberger einen Fall von Proteusinfektion gesehen hatte, wo das Krankenserum nicht nur den dabei gefundenen Stamm, sondern auch drei andere *Vulgaris*-Stämme gleich stark agglutinierte, versuchte er diese Frage zu lösen. Er hatte nämlich 12 Stämme Proteusbacillen gesammelt, wovon 10 zu *Proteus vulgaris*, 2 zu *Proteus mirabilis* gehörten. 4 Stämme *Proteus vulgaris* hatte er selbst von Kranken und 2 Stämme aus verdorbenem Fleisch gezüchtet. Die vier übrigen *Vulgaris*-Stämme wurden als Reinkultur aus verschiedenen Gegenden bezogen. Mit acht Stämmen dieser Bakterien wurden acht Sera hergestellt. Diese Sera wurden agglutinatorisch in zwei Gruppen geteilt. In der ersten Gruppe Sera wurden eine grosse Anzahl von *Vulgaris*-Stämmen agglutinatorisch gleich stark beeinflusst. Dagegen agglutinierte in der zweiten Gruppe Sera nur derjenige Stamm, welcher zur Herstellung des betreffenden Serums verwendet wurde. Die Sera der ersten Gruppe agglutinierten nicht nur die homologen Stämme, nämlich die Stämme, womit die betreffenden Sera hergestellt worden waren, sondern auch viele andere *Vulgaris*-Stämme im gleichen Grad. Doch wurden noch zwei andere *Vulgaris*-Stämme, welche aus Faulfleisch gezüchtet waren, von diesen Sera gar nicht oder fast gar nicht agglutiniert. Die zur zweiten Kate-

gorie gehörigen Sera waren im ganzen vier, wovon zwei von zwei aus Faulfleisch isolierten Vulgaris-Stämmen und zwei andere von zwei Mirabilis-Stämmen hergestellt worden waren. Diese Sera agglutinierten nur den zur Immunisierung verwendeten Stamm sehr stark und alle anderen Stämme entweder gar nicht oder fast gar nicht, wie Normalsera. Nach diesem Befunde wollte er glauben, dass die Hauserschen Unterarten auch agglutinatorisch differenziert sind. Aber sein widersprechender Befund, dass vier Sera von *Proteus vulgaris*, welche eine grosse Anzahl Vulgaris-Stämme agglutinierten, zwei andere Vulgaris-Stämme, welche aus Faulfleisch gezüchtet waren, nicht agglutinierten, umgekehrt die mit den zwei letzteren Vulgaris-Stämmen dargestellten Sera viele andere Vulgaris-Stämme nicht agglutinierten, wollte er so erklären, dass saprophytische Vulgaris-Stämme durch Adaptation im tierischen Nährboden sich so verändert haben können, dass sie einerseits eine pathogene Eigenschaft, andererseits eine andere agglutinatorische Eigenschaft erhalten. Dabei war er der Meinung, dass *Proteus vulgaris*, besonders pathogenen Stämmen agglutinatorisch gleichartig sein werde, während *Proteus mirabilis* verschiedene Unterarten enthält, wie Colibacillen. Weber hatte 9 Stämme *Proteus vulgaris* aus faulendem Fleisch und Wasser gezüchtet. Diese Mikroben wurden nach ihrem fermentativen Vermögen in drei Gruppen geteilt. Acht oder zehn Monate später fand er, dass diese Eigenschaft sehr stark verändert war, so dass er sie dadurch nicht mehr sicher unterscheiden konnte. Ferner hatte er drei Sera mit diesen drei Stämmen hergestellt und damit gegenseitig die Agglutination ausgeführt. Es ergab sich, dass die Reaktion gegen den homologen Stamm am stärksten und gegen andere Stämme sehr schwach eintrat. Nach diesem Ergebnis meinte er, dass man unter dem Namen *Proteus vulgaris* eine Gruppe von Mikroorganismen verstehen muss, welche genau so wie Colibacillen sich verhalten. Fregonaus' Mitteilung können wir hier nicht anführen, weil seine *Proteus*-Stämme ohne Ausnahme nach Gram positiv waren. Daraufhin unternahm Loghem mit 30 Stämmen *Proteus vulgaris*, die aus Darminhalt gezüchtet worden waren, die Beziehung zwischen der Indolbildung und der Agglutination zu prüfen, und kam zum Resultat, dass man durch das Indolbildungsvermögen *Proteus vulgaris* in zwei Unterarten, nämlich in indolgene und anindolgene, differenzieren kann, welche sich agglutinatorisch auch ganz so verhalten. Wada züchtete 4 Stämme *Proteus vulgaris* aus Ohrenerkrankungen. Mit diesen vier Stämmen wurden vier Sera

bei Kaninchen hergestellt. Diese Sera agglutinierten den zur Immunisierung verwendeten Stamm sehr stark, aber die anderen Stämme sehr schwach; nämlich das Serum 1 den homologen Stamm sehr stark, die anderen entweder gar nicht oder nur in geringerem Grade, das Serum 2 den Stamm 1 ebenso stark, wie den Stamm 2, dagegen den Stamm 3 nicht; das Serum 3 den Stamm 2 ebenso stark, wie den Stamm 3 und den Stamm 1 in schwächerem Grade; das Serum 5 den Stamm 3 ebenso stark wie den Stamm 5 und andere Stämme gar nicht. Obwohl Wada sich nicht so ausdrückte, so kann man doch diesen Befund wohl so verstehen, dass pathogene Proteus-Stämme agglutinatorisch sich ganz verschieden verhalten. Horowitz hatte Gelegenheit viele Stämme *Proteus vulgaris* aus Exkreten bei einer massenhaften Proteusinfektion, welche sich hauptsächlich im Verdauungstraktus abgespielt hatte, und dazu aus Nahrungsmitteln und Flusswasser zu züchten. Diese Mikroben zeigten sich nach Gram negativ. Sie vermögen Gelatine stark zu verflüssigen. Er konnte jedoch gewisse Unterschiede unter den Stämmen feststellen in Bezug auf das Spaltungsvermögen der Maltase und Saccharose und Indolbildung. Doch schien dieser Unterschied nicht sicher zu sein. Er beabsichtigte sie deshalb agglutinatorisch zu unterscheiden. Zu diesem Zwecke stellte er zuerst ein Serum A gegen einen Stamm her. Die Agglutination wurde mit diesem Serum gegen sämtliche Stämme ausgeführt. Die Stämme, welche dabei bis zum Titer des Serums A, nämlich 1:5000, agglutinierten, wurden agglutinatorisch als einheitlich betrachtet und Gruppe A genannt. Zur ihr gehörten 11 Stämme. Ferner hatte er ein anderes Immunserum B mit einem der durch das Serum A nicht agglutinierten Stämme hergestellt. In diesem Serum wurden sämtliche Stämme agglutiniert. Die Stämme, welche im zweiten Serum, nämlich Serum B, bis zu dem Titer, nämlich 1:5000, agglutinierten, wurden Gruppe B genannt. Zu ihr gehörten acht Stämme. Ferner wurde das dritte Serum C mit einem der Stämme hergestellt, welche in den zwei vorigen Sera nicht agglutinierten. Vier in diesem Serum ebenso stark, wie der zur Immunisierung verwendete, agglutinierten Stämme wurden wieder als einheitlich betrachtet und Gruppe C genannt. Endlich hatte er noch 5 Stämme übrig, welche von den drei obigen Immunsera nicht beeinflusst wurden. Auf die gleiche Weise wurde noch ein Serum D mit einem der 5 Stämme hergestellt. Wider seine Erwartung agglutinierte es nur den zur Immunisierung verwendeten Stamm bis zu dem Titer und vier andere Stämme gar nicht. Dazu

agglutinierte dieses Serum drei Stämme aus der Gruppe B und einen Stamm aus der Gruppe C ebenso stark, wie den zur Immunisierung verwendeten Stamm. Er meinte dabei, dass die Gruppe D eine Verbindung zwischen der Gruppe B und C darstellen müsse, weil das Serum D einerseits einen Stamm aus der Gruppe C, andererseits drei Stämme aus der Gruppe B ebenso stark, wie den eigenen Stamm agglutinierte. Wegen dieses Verhaltens war er der Meinung, dass man durch die Agglutination Unterarten des *Proteus vulgaris* nicht sicher unterscheiden könne. Neuerdings publizierten Wenner und Rottger eine Mitteilung über die Klassifikation der Mikroorganismen aus der Gruppe der Proteusbacillen. Sie sammelten 84 Stämme von Proteusarten teils als Reinkultur von verschiedenen Instituten geschickt, teils selbst gezüchtet. 51 Stämme davon wurden als *Proteus vulgaris* und *mirabilis* angenommen. Mit sieben Stämmen von *Proteus vulgaris* und *mirabilis* wurden bei Kaninchen sieben Sera hergestellt. Diese Sera agglutinierten den zur Immunisierung verwendeten Stamm ganz regelmässig bis zum Titer und einige andere Stämme ganz unregelmässig, so dass die beiden Forscher nicht im Stande waren, einen Stamm unter den vielen Stämmen agglutinatorisch mit denen als identisch herauszufinden, womit die sieben Sera hergestellt worden waren. Dagegen glaubten sie, dass es ihnen gelungen sei, durch die Säurebildung und das Gasbildungsvermögen im Maltosenährboden den *Proteus vulgaris* und *mirabilis* von den anderen Proteusarten zu unterscheiden.

Nach den obigen Befunden dieser vielen Forscher wurde ausgiebig nachgewiesen, dass es viele Unterarten der Proteusbacillen gibt. Aber es war niemand gelungen, die Unterarten von Proteusbacillen deutlich festzustellen, besonders durch die Anwendung der Agglutination, deren Spezifität bei Proteusinfektion schon von vielen Forschern erfahren wurde. Der Grund dafür muss meines Erachtens darin gelegen haben, dass einerseits die Ausführung dieser Reaktion noch nicht eingehend genug gewesen war, andererseits diese Mikroben zu viele Unterarten enthalten, so dass dadurch Verwirrung entstehen konnte.

Man diagnostiziert agglutinatorisch Bakterien durch ein bekanntes Immuns Serum gewöhnlich in der Weise, dass die Bakterien in dem Serum aufgeschwemmt werden. Wenn sie dabei bis zum Titer des betreffenden Serums agglutinieren, so werden sie als mit den Bakterien identisch betrachtet, womit das Serum hergestellt wurde. Aber es kommt manchmal der Fall vor, wo Bakterienstämme einseitig sehr

stark, ja sogar manchmal bis zum Titer des betreffenden Serums agglutinieren. Falls man aber mit diesem Stamm Serum herstellt, so agglutiniert dieses Serum umgekehrt den anderen Stamm nicht, womit das zur Diagnose gebrauchte Serum hergestellt worden war. In diesem Falle muss man ohne weiteres den Schluss ziehen, dass der Stamm mit dem anderen Stamme nicht identisch sein kann, womit das zur Diagnose gebrauchte Serum hergestellt worden ist. Wenn die beiden Stämme ganz identisch wären, müssten die beiden in zwei Eigenschaften sich ganz decken, nämlich in der agglutinierenden und Agglutinin bildenden. Sie müssen gegenseitig gleich stark agglutinieren. Wir kennen aber noch einen anderen Fall, wo ein Stamm von Bakterien wegen seiner schweren Agglutinabilität bis zum Titer des betreffenden Serums nicht agglutinieren kann, obwohl er mit dem für die Herstellung des Serums verwendeten eigentlich ganz identisch ist. In diesem Falle muss der betreffende Stamm nicht nur in dem eigenen Serum, sondern auch in anderem Serum immer schwächer als der Titer agglutinieren, das heisst, der andere Stamm sowohl in dem eigenen, als auch in anderem Immuserum stärker als die betreffenden Stämme agglutinieren, falls die beiden Punkte bei den beiden Stämmen verglichen werden. Unter diesem Umstande darf man nicht immer einfach durch die einseitige Agglutination eines Serums die Identität der Bakterien feststellen. Das ist auch ein Grund, weshalb Paltauf in Kollé und Wassermanns Handbuch die gekreuzte Agglutination als die exakteste Methode empfahl, womit man die Identität der Bakterien am sichersten feststellen könne. Nach dieser Ansicht haben wir unternommen, durch die gekreuzte Agglutination Unterarten von Proteusbacillen festzustellen, welche noch nicht deutlich unterschieden worden sind.

Unsere Proteus-Stämme waren im ganzen 41, wovon 29 aus chronischen Ohrenerungen, 2 aus Hirnabzessen, 1 aus Perityphlitis, 1 aus Cystitis, 1 aus dysenterischem Stuhlgang, 1 aus Angina und 2 aus Darminhalt von Maus und noch ein Stamm aus der Nase, in unserem Institute gezüchtet waren. Dazu wurden noch zwei Stämme als Reinkultur von *B. murisepticus pleomorphismus* von anderem Institute bezogen. Der letzte Stamm war einer, welcher schon von früher in meinem Institute als *Proteus vulgaris* aufbewahrt wurde. Die einzelnen Angaben über die Stämme, welche numeriert sind, stehen in der Tabelle I.

Tabelle 1.

Herkunft der Bakterien-Stämme	Nummer der Bakterien-Stämme
1. Otitis media	No. 5, 7, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 42, 44, 48, 49, 50, 53 u. 54
2. Hirnabscess	No. 4 u 6
3. Cystitischer Harn	No. 11
4. Nase	No. 26
5. Angina	No. 43
6. Perityphlitischer Eiter	No. 46
7. Dysenterischer Kot	No. 47
8. Maudarminhalt	No. 24 u. 25
9. <i>B. murisepticus pleomorphismus</i>	No. 10 u. 45
10. Ein Stamm von Proteusarten	No. 1

Diese Mikroorganismen waren stäbchenförmig und liessen sich nicht nach Gram färben. Sie bilden starke Ausschwärmekolonien in 7 % iger Gelatine und wachsen auf Agarnährboden sich sehr ausbreitend. Wie Heim schon betont hatte, haben wir sie nach den obigen Eigenschaften als Proteusbacillen angenommen. Zuerst wurden sie nach dem Verflüssigungsvermögen der Gelatine in drei Gruppen geteilt, nämlich *Proteus vulgaris*, *mirabilis* und *zenkeri*, wie man nach der alten Angabe von Hauser zu tun pflegte. 20 Stämme wurden als *Vulgaris*, 14 Stämme als *Mirabilis* und 7 Stämme als *Zenkeri* festgestellt. Die Stämme aus jeder Gruppe wurden kulturell untersucht, besonders in Bezug auf ihre proteolytische Wirkung auf Gelatine und Milch, Säure- und Alkalibildung in Lakmusmolke und die Indolbildung in Bouillon. Es ergab sich, dass die Mikroben aus der Gruppe *Vulgaris* nicht ganz gleich sich verhielten, so dass man sie kulturell nicht als gleichartige Mikroben betrachten kann (Tab. 2 a). Das gleiche Verhalten konnten wir mit den Mikroorganismen aus der Gruppe *Mirabilis* und *Zenkeri* sicher nachweisen (Tab. 2 b u. 2 c).

Wie verhalten sich die Mikroben aus den einzelnen Gruppen agglutinatorisch? Diese Frage wurde schon von vielen Forschern studiert und festgestellt, dass sie aus verschiedenen Unterarten bestehen

Tabelle

a.

Name der Bakterien	Proteus vulgaris								
	1.	7.	14.	16.	17.	19.	21.	25.	26.
Gelatine	20 St	—	—	—	—	—	—	—	—
	3 Tage	stark gelöst	leicht gelöst	wenig gelöst	stark gelöst	wenig gelöst	stark gelöst	wenig gelöst	stark gelöst
	7 Tage	„	stark gelöst	stark gelöst	ganz gelöst	stark gelöst	stark gelöst	„	stark gelöst
	14 Tage	ganz gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst
Milch	20 St	—	—	—	—	—	—	—	—
	3 Tage	—	stark gelöst	wenig gelöst	wenig gelöst	—	wenig gelöst	—	wenig gelöst
	7 Tage	—	„	stark gelöst	„	—	stark gelöst	wenig gelöst	ganz gelöst
	14 Tage	wenig gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	stark gelöst	wenig gelöst	stark gelöst	ganz gelöst	stark gelöst
Lackmus-Molke	20 St	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt
	3 Tage	rot	leicht rot	blau	blau	blau	blau	blau	rot
	7 Tage	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg
	14 Tage	—	—	—	—	—	—	—	—
Indol	7 Tage	±	—	—	±	—	±	—	±

b. Mirabilis

Mirab.	Mirab.	Mirab.	Mirab.	Mirab.	Mirab.	Mirab.	Mirab.	Mirab.	Mirab.
4.	5.	6.	11.	18.	20.	24.	28.	29.	33.
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
±	±	—	±	±	—	±	±	±	—
wenig gelöst	wenig gelöst	±	schwach gelöst	schwach gelöst	±	wenig gelöst	stark gelöst	stark gelöst	±
wenig gelöst	wenig gelöst	leicht gelöst	stark gelöst	stark gelöst	leicht gelöst	wenig gelöst	stark gelöst	stark gelöst	leicht gelöst
stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	„	—	stark gelöst	wenig gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	stark gelöst
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
wenig gelöst	±	±	—	—	stark gelöst	—	stark gelöst	—	±
stark gelöst	wenig gelöst	stark gelöst	—	wenig gelöst	stark gelöst	—	ganz gelöst	wenig gelöst	stark gelöst
stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	—	stark gelöst	stark gelöst	—	—	ganz gelöst	schwach gelöst
rot getrübt	rot getrübt	rot gelöst	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt
rot	blau	leicht rot	rot	blau	blau	rot	rot	rot	blau
blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	leicht rot	blau Hautbg	blau Hautbg	rot klar	rot klar	rot klar	blau Hautbg
+	++	—	++	—	—	+	—	—	—

2.

Vulgaris

Proteus vulgaris	Proteus vulgaris	Proteus vulgaris	Proteus vulgaris	Proteus vulgaris	Proteus vulgaris	Proteus vulgaris	Proteus vulgaris	Proteus vulgaris	Proteus vulgaris	Proteus vulgaris
27.	30.	36.	37.	38.	43.	44.	47.	50.	53.	54.
— wenig gelöst stark gelöst ganz gelöst	— wenig gelöst stark gelöst ganz gelöst	— stark gelöst ganz gelöst	— stark gelöst stark gelöst gan gelöst	— stark gelöst stark gelöst ganz gelöst	— wenig gelöst stark gelöst ganz gelöst	— wenig gelöst stark gelöst ganz gelöst	— stark gelöst stark gelöst ganz gelöst	— wenig gelöst schwach gelöst stark gelöst ganz gelöst	— stark gelöst stark gelöst ganz gelöst	— leicht gelöst stark gelöst ganz gelöst
— wenig gelöst ganz gelöst ”	— stark gelöst ganz gelöst	— wenig gelöst stark gelöst ganz gelöst	— ± wenig gelöst stark gelöst	— wenig gelöst stark gelöst stark gelöst	— stark gelöst ganz gelöst	— stark gelöst stark gelöst ganz gelöst	— ± stark gelöst	— stark gelöst ganz gelöst	— — — ±	— stark gelöst ” ganz gelöst
rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	ro getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt leicht rot leicht rot klar	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt rot rot klar	rot getrübt leicht rot blau Hautbg
—	±	+	—	—	±	++	+	++	++	++

c. Zenkeri

Mirab.	Mirab.	Mirab.	Mirab.	Zenkeri							
34.	35.	42.	22.	10.	31.	32.	45.	46.	48.	49.	
— — ± leicht gelöst stark gelöst	— — ± leicht gelöst stark gelöst	— — ± schwach gelöst leicht gelöst stark gelöst	— — ± leicht gelöst stark gelöst	— — — — —							
— — ± schwach gelöst schwach gelöst	— — ± schwach gelöst	— — stark gelöst ganz gelöst	— — ± ” stark gelöst	— — wenig gelöst stark gelöst							
rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	stark gelöst blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt rot blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt rot blau Hautbg	rot getrübt rot blau Hautbg	rot getrübt rot blau Hautbg	rot getrübt rot blau Hautbg	
—	—	—	—	+	±	±	+	—	—	—	

(Weber, Rodella, Kleinberger, Horowitz u. a.). Es war aber niemand gelungen, diese Unterarten deutlich darzustellen, wie schon oben erwähnt wurde. Deswegen haben wir unternommen, die Unterarten durch die gekreuzte Agglutination festzustellen. Zu diesem Zwecke wurden 20 Vulgaris-Immunsere mit 20 Vulgaris-Stämmen bei Kaninchen hergestellt. Die Herstellung der Immunsere, welche zur Agglutination gebraucht wurden, war folgende: Viele Kaninchen wurden mit Agarkulturen von 20 Stämmen *Proteus vulgaris*, welche bei 60°C abgetötet worden waren, gewöhnlich subkutan, mit der Dose von $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{2}$ Agar angefangen, steigend drei oder viermal, ausnahmsweise fünfmal vorbehandelt. Auf diese Weise hatten die Tiere bei der letzten Einspritzung die Dose von $\frac{1}{2}$ bis 2, ja sogar 3 Agarkulturen eingespritzt bekommen. An jedem 7. Tage nach der letzten Einspritzung wurde die Blutprobe von Ohrvenen entnommen und auf die Agglutination geprüft. Auf diese Weise hatten wir in vielen Fällen stark agglutinierende Sera erhalten, welche in der Verdünnung von 1:2000 bis 1:20000 deutlich reagierten. Die so dargestellten Sera wurden in dem Faustschen Trockenapparate sehr vorsichtig ausgiebig getrocknet und als Pulver in anderen Gefässen, welche mit Gummistöpsel versehen waren, luftdicht geschlossen aufbewahrt. Diese getrockneten Sera waren leicht löslich, so dass wir immer sehr bequem so viel wie nötig herauswiegen und brauchen konnten. Die übrigen konnten wir sehr lange ganz unverändert wirksam aufbewahren. In diesen Sera wurden die ihnen entsprechenden 20 Vulgaris-Stämme kreuzweise agglutiniert, um zu sehen, ob sämtliche Vulgaris-Stämme agglutinatorisch in den zwei Eigenschaften, nämlich in der agglutinierenden und Agglutinine bildenden übereinstimmten. Die Resultate wurden in der Weise angeordnet und betrachtet, dass die Stämme, welche in 20 Immunsere sich gleich verhielten, besonders gegenseitig ganz oder fast ganz bis zum Titer der betreffenden Sera agglutiniert waren, zusammengestellt und als eine Gruppe behandelt wurden. Auf diese Weise konnten wir agglutinatorisch sich ganz gleich verhaltende Stämme aus vielen Bakterien ganz leicht ausfindig machen. Diese Stämme müssen agglutinatorisch zu einer Unterart gehörig betrachtet werden, weil sie in den oben angegebenen zwei Eigenschaften sich ganz gleich verhalten. So stellte es sich heraus, dass 20 Stämme *Proteus vulgaris* agglutinatorisch in sieben Unterarten scharf differenziert wurden, wie aus Tabelle 3 ersichtlich ist. Diese Unterarten haben wir Vulgaris, I, II, III, IV, V, VI u. VII genannt. Vulgaris I enthält 8 Stämme,

Tabelle 3.

Vulgaris

Immunsersa Bakterien	14.	17.	21.	26.	27.	30.	43.	50.	7.	44.	54.	36.	37.	38.	16.	19.	47.	1.	25.	53.	
I	No. 14	5,000	2,000	2,000	5,000±	10,000	20,000	1,000	50-	50-	50±	50-	50-	50-	50	50-	50-	50-	50-	50-	
	17	5,000	2,000	2,000±	5,000	10,000	20,000	2,000	100	50-	50±	200	100	500	50±	50-	50-	50-	50-	50±	
	21	2,000	2,000	2,000	5,000	5,000	20,000	5,000±	500	50-	50-	50±	50-	50±	50-	50-	50-	50-	50+	100	50±
	26	2,000	2,000	2,000±	5,000	10,000±	20,000	5,000±	500	50-	50-	50±	50-	50±	50-	50-	50-	50-	50-	200	50±
	27	2,000	2,000	1,000	5,000	5,000±	20,000	5,000±	1,000±	50-	50-	50±	200	50±	50-	50-	50-	50-	50-	200	50±
	30	2,000	2,000±	2,000±	5,000	10,000±	20,000	10,000	1,000	100	50-	50-	200	100	500	200	50-	50-	50-	500	50±
43	5,0,0	2,000	2,000	5,000	10,000	20,000	5,000	2,000	50-	50-	50±	500	500	200	200	50-	50-	50-	500	50±	
50	2,000	500	1,000	2,000	5,000	20,000	2,000	5,000	50-	50-	50±	500	500	200	200	50-	50-	50-	500	50±	
II	7	100	500	100	50-	50-	50	100	10,000	5,000	5,000	50-	50±	50-	50-	50-	50-	50-	1,000	50-	
	44	50	50±	50-	50-	50-	50-	50±	10,000±	5,000	5,000	50-	50-	50-	100	50-	50-	50-	200	50-	
	54	50	50-	50-	50-	50±	50±	50-	10,000	5,000	5,000	50-	50-	50-	50±	50-	50-	50-	500	50-	
III	36	200	50±	50±	50-	100	200	500	50	50-	50-	5,000	5,000	20,000	100	50-	200±	50	500	50-	
	37	500	50±	50±	50-	100	200	500	50±	50-	50-	5,000	5,000	20,000	200	50-	200±	50	500	50-	
	38	500	50±	50±	50-	100	100	200	50±	50-	50-	5,000	5,000	20,000	500	50-	200±	50	500	50-	
IV	16	500	50-	50-	50-	500	500	500	50	50-	50-	50	500	50	5,000±	1,000	5,000	50-	200	50-	
	19	100	50-	50-	50±	100	100	500	50	50-	50-	200	100	500	5,000	2,000	5,000	50-	200	50-	
	47	100	50-	50-	50±	50-	50±	50±	50-	50-	50-	200	100	500	5,000	1,000	5,000	50-	200	50-	
V	1	100	50-	50-	50±	100	50±	50	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	5,000	200	50-	
VI	25	100	50-	50-	50-	100	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	2,000	50-	
	53	1,000	50	100	50-	200	50±	50-	100	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	500±	2,000	

nämlich No. 14, 17, 21, 26, 27, 30, 43 u. 50. Sie agglutinierten nicht nur in den ihnen entsprechenden Immunsera gegenseitig im gleichen Grade bis zum Titer, sondern auch in 12 anderen Immunsera sehr schwach, aber fast im gleichen Grade. Wenn man aber diese Verhältnisse bei einzelnen Stämmen genauer betrachtet, so wird es bald klar, dass ein Stamm, nämlich No. 50, im Gegensatz zu sieben anderen Stämmen ein wenig abweichend sich zeigt. Er wurde nämlich von einigen der sieben Immunsera schwächer agglutiniert, als die sieben Stämme selbst. Auf die gleiche Weise wurden sieben Stämme von dem Serum, welches mit dem Stamm No. 50 hergestellt war, etwas weniger agglutiniert, als der homologe Stamm. Deshalb muss der Stamm No. 50 eigentlich nicht als gleichartig mit den sieben anderen Stämmen betrachtet werden. Da aber einerseits dieser Unterschied sehr gering war und andererseits der Stamm durch 12 andere Immunsera in ganz geringem Grade agglutiniert wurde, und sein Serum 12 andere Stämme ebenfalls in minimalem Grade agglutinierte, so waren wir vorläufig genötigt, auch ihn mit den sieben anderen Stämmen derselben Gruppe zuzurechnen. Die Unterart *Vulgaris* II enthält drei Stämme, nämlich No. 7, 44 u. 54. Sie agglutinierten in den ihnen entsprechenden Sera gegenseitig gleich stark bis zum Titer. Sie wurden durch die anderen Immunsera ganz schwach und fast gleich stark agglutiniert. Ferner wurden drei Stämme, nämlich No. 36, 37 u. 38, zu einer Unterart, nämlich der Unterart *Vulgaris* III, und noch drei andere Stämme, nämlich No. 16, 19 u. 49, auch wieder zu einer Unterart, nämlich *Vulgaris* IV gehörig betrachtet, weil sie je drei gegenseitig gleich stark bis zum Titer agglutiniert hatten. Die drei übrigen Stämme, nämlich No. 1, 25 u. 53, wurden jeder einzeln als zu einer verschiedenen Unterart gehörig angenommen, weil sie nur im homologen Serum bis zum Titer und in 19 anderen Immunsera in ganz minimalem Grade agglutinierten. Diese Unterarten wurden *Vulgaris* V, VI und VII genannt.

Mit 14 Stämmen von *Mirabilis* wurden ebenfalls 14 Immunsera hergestellt. In diesen Sera wurden 14 Stämme *Mirabilis* gegenseitig agglutiniert. Das Resultat wurde auf die gleiche Weise angeordnet und betrachtet. Es stellte sich dabei heraus, dass 14 *Mirabilis*-Stämme aus 5 agglutinatorisch einheitlichen Unterarten bestehen (Tab. 4). Diese Unterarten haben wir gleichfalls *Mirabilis* I, II, III, IV, V genannt. Die Unterart *Mirabilis* I enthält 5 Stämme, nämlich No. 11, 18, 28, 29 u. 42. Fünf dieser Stämme agglutinierten nicht nur

Tabelle 4.

Mirabilis

Immuns- sera	11.	18.	28.	29.	42.	6.	20.	22.	33.	34.	35.	5.	24.	4.
Bakterien I	No. 11	10,000	10,000	10,000	5,000	100	50-	50-	50-	50-	50-	50-	200	100
	18	5,000	10,000	10,000±	5,000±	50±	50-	50±	100	50-	50-	50±	200	100
	28	5,000	10,000	10,000	5,000	100	50±	200	100	50±	50-	50-	100	100
	29	5,000	10,000	10,000	5,000	100	50±	200	100	50-	50-	50±	50	500
	42	5,000	5,000	5,000	5,000	200±	50	100	100	50±	50±	50-	50-	100
II	6	50-	50-	50-	50-	5,000	5,000	10,000±	10,000	2,000	2,000	50-	100	200
	20	50-	100	200	50±	5,000	5,000	10,000±	10,000	5,000±	2,000	500-	200	200
	22	50-	50-	50-	50-	5,000	5,000	5,000	5,000	2,000	2,000	50±	50	50
	33	50±	500	200	500±	5,000	5,000	10,000	10,000	5,000±	5,000	50-	200	200
	34	50-	100	100	500±	5,000	5,000	10,000	10,000	10,000±	5,000	50-	100	200
	35	50-	200	200	200	5,000	5,000	10,000±	10,000	5,000	5,000	50-	500	200
III	5	50-	50±	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	2,000	50	200
IV	24	50-	50±	50±	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	50-	2,000	100
V	4	50-	50-	50±	50-	50-	50-	100	50-	50-	50-	50-	200	1,000

in den ihnen entsprechenden Sera gegenseitig gleich stark bis zum Titer, sondern auch in 9 anderen Immunsera fast gleich stark in geringem Grade. Deshalb wurden sie zu einer und derselben Gruppe gehörig angenommen.

Die Unterart Mirabilis II enthält sechs Stämme, nämlich No. 6,

20, 22, 33, 34 u. 35. Diese Stämme zeigten agglutinatorisch ganz gleiches Verhältnis, wie die Stämme aus der Unterart *Mirabilis* I. Deshalb wurden sie zu einer Unterart gehörig gerechnet. Die drei übrigen Stämme, nämlich No. 5, 24 u. 4, mussten einzeln zu verschiedenen Unterarten gehörig angenommen werden, weil sie nur im eigenen Serum bis zum Titer und in den anderen Immunsera ganz schwach agglutinierten. Diese Unterarten wurden *Mirabilis* III, IV und V genannt. Auf die gleiche Weise wurde festgestellt, dass 7 Stämme *Zenkeri* aus drei Unterarten, nämlich *Zenkeri* I, II und III bestehen (Tab. 5). Die Stämme, welche dabei zu einer Gruppe gehörig

Tabelle 5.

Zenkeri

Immunsera		Bakterien						
		46.	48.	49.	31.	32.	10.	45.
I	{ 46	5,000	2,000	2,000	50	100	50-	50-
	{ 48	5,000±	5,000	2,000	50	100	50-	50-
	{ 49	5,000	5,000	5,000±	50	100	50-	50-
II	{ 31	50±	50-	50-	5,000	5,000	50-	50-
	{ 32	50±	50-	50-	5,000	5,000	50±	50-
III	{ 10	100±	50±	500	50	500	10,000	5,000
	{ 45	200	50-	500	100	500	10,000	10,000

angenommen wurden, agglutinierten in den ihnen entsprechenden Immunsera gleich stark bis zum Titer und in den anderen Immunsera ganz schwach und gleich oder fast gleich stark. Die Unterart *Zenkeri* I enthält drei Stämme, nämlich No. 46, 48 und 49; *Zenkeri* II 2 Stämme, nämlich No. 31, 32; *Zenkeri* III ebenfalls 2 Stämme, nämlich No. 10 und 45. Nach diesen Ergebnissen ist es gerechtfertigt zu schliessen, dass die nach der Hauserschen Einteilung differenzierten Unterarten, nämlich *Vulgaris*, *Mirabilis* und *Zenkeri*, sowohl kulturell, als auch agglutinatorisch nicht einheitlich sind. Wir konnten nämlich Bakterien-Stämme aus einzelnen Unterarten von Hauser durch die gekreuzte Agglutination in verschiedene Unterarten scharf differenzieren, nämlich 20 *Vulgaris*-Stämme in 7, 14 *Mirabilis*-Stämme in 5, und 7 *Zenkeri*-Stämme in 3 Unterarten. Doch wollen wir damit

nicht meinen, dass *Vulgaris*-Stämme von Natur aus 7, *Mirabilis*-Stämme aus 5, und *Zenkeri*-Stämme aus 3 Unterarten bestehen, sondern möchten nur vorläufig feststellen, dass so viele Unterarten unter unseren Stämmen nachweisbar waren.

Da es uns gelungen war, festzustellen, dass die Hauserschen Gruppen agglutinatorisch nicht einheitlich sind, sondern aus verschiedenen Unterarten bestehen, beabsichtigten wir ferner zu untersuchen, ob diese verschiedenen Unterarten von *Vulgaris*bakterien von den von *Mirabilis*- und *Zenkeri*bakterien ganz differenziert sein. So wurden 41 Stämme Proteusbakterien, nämlich 20 Stämme *Vulgaris*, 14 Stämme *Mirabilis* und 7 Stämme *Zenkeri*, in 41 ihnen entsprechenden Immunsera gegenseitig agglutiniert. Das Resultat wurde auf die gleiche Weise angeordnet und betrachtet, wie es oben beschrieben ist. Es ergab sich dabei, dass 41 Stämme Proteusbakterien in 9 agglutinatorisch scharf differenzierten Unterarten sich differenzieren liessen (Tab. 6). So entstanden die Unterarten *Proteus* I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII und IX. Die Unterart *Proteus* I enthält 16 Stämme, nämlich No. 11, 14, 17, 18, 21, 26, 27, 28, 29, 30, 42, 43, 46, 48, 49 u. 50. Wenn man dieses Resultat noch genauer betrachtet, so wird leicht ersichtlich, dass 16 Stämme wieder in zwei Unterarten geteilt werden können. Die erste Gruppe umfasst 12 Stämme, nämlich No. 11, 14, 17, 18, 21, 26, 27, 28, 29, 30, 42 u. 43, und die zweite Gruppe vier Stämme, nämlich No. 46, 48, 49 u. 50. 12 Stämme aus der ersten Gruppe agglutinierten in 12 ihnen entsprechenden Immunsera gegenseitig gleich stark bis zum Titer; 4 Stämme aus der zweiten Gruppe gleichfalls in 4 ihnen entsprechenden Immunsera gegenseitig gleich stark bis zum Titer. Alle Stämme aus den beiden Gruppen agglutinierten ferner in den ihnen entsprechenden Sera gegenseitig fast im gleichen Verhältnisse. Sie sind aber insofern unter sich verschieden, als einige Immunsera aus der ersten Gruppe, nämlich No. 11, 17, 29 u. 42 vier Stämme aus der zweiten Gruppe schwächer als die aus der ersten Gruppe agglutinierten, und umgekehrt die Stämme aus der ersten Gruppe in vier Immunsera aus der zweiten Gruppe schwächer als die vier Stämme selbst agglutinierten. Da aber einerseits diese Unterschiede sehr gering, andererseits diese Stämme von den 25 anderen Immunsera fast gleich stark, in geringerem Grade agglutinierten, wurden alle 16 Stämme vorläufig zu derselben Unterart nämlich der Unterart *Proteus* I gehörig angenommen. Wenn auch diese Stämme manchmal von den anderen Immunsera sehr stark beeinflusst werden sollten, waren sie nicht im

Stände, solche Sera herzustellen, welche die anderen entsprechenden Stämme ebenfalls sehr stark agglutinieren können. 9 Stämme, nämlich No. 6, 7, 20, 22, 33, 34, 35, 44 u. 54, welche zu der Unterart *Proteus* II gehören, agglutinierten in den ihnen entsprechenden Immunsera gleich stark bis zum Titer. Ferner wurden sie von 32 anderen Immunsera ganz schwach und fast im gleichen Grade agglutiniert. Auf die gleiche Weise agglutinierten 5 Stämme, nämlich No. 31, 32, 36, 37 u. 38 in den ihnen entsprechenden Immunsera gleich stark bis zum Titer, so dass sie zu einer und derselben Unterart, nämlich *Proteus* III, gehörig betrachtet werden müssen. Vier Stämme, nämlich No. 5, 16, 19 u. 47, müssten wieder zu einer Unterart, nämlich der Unterart *Proteus* IV, gehörig betrachtet werden, weil sie in den ihnen entsprechenden Immunsera gegenseitig gleich stark bis zum Titer agglutinierten. Auf die gleiche Weise wurden zwei andere Stämme, nämlich No. 10 u. 45, zu einer Unterart, nämlich der Unterart *Proteus* V, und zwei noch andere Stämme, nämlich No. 24 u. 25, auch zu einer Unterart, nämlich *Proteus* VII, gehörig betrachtet, weil sie je zwei gegenseitig in den ihnen entsprechenden Immunsera gleich stark bis zum Titer agglutinierten. Die drei übrigen Stämme, nämlich No. 1, 4 u. 53, müssen einzeln zu verschiedenen Unterarten gehörig betrachtet werden, weil sie nur im eigenen Serum bis zum Titer und in den anderen Sera ganz schwach agglutinierten. Diese Unterarten wurden *Proteus* VI, VIII und IX genannt.

Wenn man die Bakterienstämme der 9 *Proteus*-Unterarten mit den aus 7 *Vulgaris*-, 5 *Mirabilis*-, und 3 *Zenkeri*-Unterarten in der Tabelle 3, 4, 5 u. 6 genau vergleicht, so wird man leicht finden, dass 16 Stämme der Unterart *Proteus* I aus 8 Stämmen der Unterart *Vulgaris* I, 5 Stämmen der Unterart *Mirabilis* I und 3 Stämmen der Unterart *Zenkeri* I bestehen; 9 Stämme der Unterart *Proteus* II aus 3 Stämmen der Unterart *Vulgaris* II und 6 Stämmen der Unterart *Mirabilis* II; 5 Stämme der Unterart *Proteus* III aus 3 Stämmen der Unterart *Vulgaris* III und 2 Stämmen der Unterart *Zenkeri* II; 4 Stämme der Unterart *Proteus* IV aus 3 Stämmen der Unterart *Vulgaris* IV und einem Stamm der Unterart *Mirabilis* III; 2 Stämme der Unterart *Proteus* V aus 2 Stämmen der Unterart *Zenkeri* III; 1 Stamm der Unterart *Proteus* VI aus einem Stamm der Unterart *Vulgaris* V; 2 Stämme der Unterart *Proteus* VII aus einem Stamm der Unterart *Vulgaris* VI und einem Stamm *Mirabilis* IV; 1 Stamm der Unterart *Proteus* VIII aus einem Stamm der Unterart *Mirabilis* V und ein

Stamm der Unterart *Proteus IX* aus einem Stamm der Unterart *Vulgaris VII*. Wenn man dieses Ergebnis nochmals genau betrachtet, so wird es bald klar, dass viele Unterarten der drei Hauserschen Abteilungen agglutinatorisch sich gleichartig verhalten, nämlich die Stämme aus der Unterart *Vulgaris I*, *Mirabilis I* und *Zenkeri I* agglutinatorisch gemeinsam zu einer und derselben Unterart, nämlich der Unterart *Proteus I* gehören; die Stämme aus der Unterart *Vulgaris II* und aus der Unterart *Mirabilis II* zu einer und derselben Unterart, nämlich der Unterart *Proteus II*; die Stämme aus *Vulgaris III* und aus *Zenkeri II* zu einer und derselben Unterart, nämlich der Unterart *Proteus III*; die Stämme aus *Vulgaris IV* und aus *Mirabilis III* zu einer und derselben Unterart, nämlich der Unterart *Proteus IV*; die Stämme aus *Vulgaris VI* und *Mirabilis IV* zu einer und derselben Unterart, nämlich *Proteus VII* gehörig sind. Die vier übrigen Unterarten, nämlich die Unterart *Vulgaris V* und *VII*, *Mirabilis V* und *Zenkeri III*, zeigten sich aber gegenseitig verschieden. Diese letztere agglutinatorische Differentierung wird aber nicht ohne weiteres beweisen, dass die drei Hauserschen Unterarten agglutinatorisch noch existieren können, vielmehr muss man es so verstehen, dass diese Übereinstimmung zufällig dadurch zum Vorschein gekommen ist, dass wir mit zu wenigen *Proteus*-Stämmen gearbeitet haben. Nach diesen Befunden kann man wohl schliessen, dass die drei Hauserschen Unterarten, welche unter sich auch verschiedene Unterarten enthalten, agglutinatorisch von einander sich nicht differenzieren lassen, sondern Stämme von *Vulgaris* mit solchen von *Mirabilis* oder von *Zenkeri* agglutinatorisch ganz identisch sein können.

Wenn man die Mikroorganismen aus diesen *Proteus*-Unterarten kulturell, nämlich was ihre fermentative Wirkung, Indolbildung und Säure- und Alkalibildung anbelangt, in der Tabelle 7 vergleichend betrachtet, so wird leicht ersichtlich, wie verschieden die agglutinatorisch einheitlich betrachteten Mikroben sich verhalten, so dass man recht hat, zu zweifeln, ob die agglutinatorische Einteilung brauchbar sei. So hat man keine Aussicht mehr, Unterarten von *Proteus*bakterien sowohl kulturell als auch agglutinatorisch ganz übereinstimmend festzustellen, um welches Problem schon viele Forscher umsonst sich bemüht haben. Loghems Beobachtung auch, dass die Indolbildung der Agglutination bei *Proteus vulgaris* parallel gehen sollte, wurde von unseren Untersuchungen nicht nachgewiesen, wie Horowitz auch beobachtete (Tab. 7). Durch die fermentativen Eigenschaften allein diese Unterarten zu

Table

		Typhus I								
Stämme d. Bakterien	Nährboden	Tp. I	Ty. I	Ty. I	Ty. I	Ty. I	Ty. I	Ty. I	Ty. I	Ty. I
		11.	14.	17.	18.	21.	26.	27.	28.	29.
Gelatine	20 St	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3 Tage	±	wenig gelöst	wenig gelöst	wenig gelöst	wenig gelöst	wenig gelöst	wenig gelöst	±	±
	7 Tage	wenig gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst
	14 Tage	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst
	21 Tage	gelöst	gelöst	gelöst	gelöst	gelöst	gelöst	gelöst	gelöst	gelöst
Milch	20 St	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3 Tage	—	wenig gelöst	—	—	—	wenig gelöst	wenig gelöst	±	—
	7 Tage	—	ganz gelöst	—	—	wenig gelöst	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	wenig gelöst
	14 Tage	—	"	schwach gelöst	schwach gelöst	stark gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	stark gelöst	stark gelöst
	21 Tage	—	"	stark gelöst	stark gelöst	gelöst	gelöst	gelöst	gelöst	ganz gelöst
Lackmus-Molke	20 St	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt
	3 Tage	rot	blau	blau	blau	blau	blau	blau	blau	blau
	5 Tage	rot	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg
Indol in Bouillon	7 Tage	++	—	—	—	—	—	—	—	—

Typhus II (Fortsetzung)					Typhus III				
Ty. II	Ty. II	Ty. II	Ty. II	Ty. II	Ty. III	Ty. III	Ty. III	Ty. III	Ty. III
33.	34.	35.	44.	54.	31.	32.	36.	37.	38.
—	—	—	leicht gelöst	leicht gelöst	—	—	stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst
±	±	±	stark gelöst	stark gelöst	—	—	ganz gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst
leicht gelöst	leicht gelöst	leicht gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	—	—	ganz gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst
—	—	—	stark gelöst	stark gelöst	—	—	—	—	—
—	±	±	stark gelöst	stark gelöst	±	—	schwach gelöst	±	schwach gelöst
stark gelöst	schwach gelöst	schwach gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	wenig gelöst	wenig gelöst	stark gelöst	wenig gelöst	stark gelöst
stark gelöst	stark gelöst	stark gelöst	gelöst	gelöst	stark gelöst	stark gelöst	ganz gelöst	stark gelöst	ganz gelöst
rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt	rot getrübt
blau	blau	blau	leicht rot	leicht rot	blau	blau	blau	blau	blau
blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	rot rot klar	rot blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg	blau Hautbg
—	—	—	++	++	±	±	—	±	±

7

							Typhus II			
Ty. I	Ty. I	Ty. I	Ty. I	Ty. I	Ty. I	Ty. I	Ty. II	Ty. II	Ty. II	Ty. II
30.	42.	43.	46.	48.	49.	50.	6.	7.	20.	22.
— wenig gelöst stark gelöst stark gelöst	— ± schwach gelöst stark gelöst	— wenig gelöst schwach gelöst stark gelöst	— — — —	— — — —	— — — —	— wenig gelöst wenig gelöst wenig gelöst	— — ± leicht gelöst	leicht gelöst stark gelöst ganz gelöst	— — ± leicht gelöst	— — ± leicht gelöst
— — wenig gelöst stark gelöst	— — wenig gelöst stark gelöst	— — wenig gelöst stark gelöst	— — wenig gelöst stark gelöst ganz gelöst	— — wenig gelöst stark gelöst ganz gelöst	— — wenig gelöst stark gelöst ganz gelöst	— wenig gelöst stark gelöst stark gelöst ganz gelöst	— — ± stark gelöst stark gelöst	— stark gelöst stark gelöst ganz gelöst	— — stark gelöst ganz gelöst	— — ± schwach gelöst stark gelöst
rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt leicht rot blau Hautbg	rot getrübt leicht rot	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg
±	—	±	—	—	—	++	—	—	—	—

Typhus IV				Typhus V		Ty. VI	Typhus VII		Ty. VIII	Ty. IX
Ty. IV	Ty. IV	Ty. IV	Ty. IV	Ty. V	Ty. V	Ty. VI	Ty. VII	Ty. VII	Ty. VIII	Ty. IX
5.	16.	19.	47.	10.	45.	1.	24.	25.	4.	53.
wenig gelöst wenig gelöst schwach gelöst	stark gelöst ganz gelöst schwach gelöst	stark gelöst ganz gelöst schwach gelöst	stark gelöst stark gelöst ganz gelöst	— — —	— — —	stark gelöst stark gelöst ganz gelöst	stark gelöst wenig gelöst wenig gelöst	stark gelöst stark gelöst stark gelöst	wenig gelöst wenig gelöst wenig gelöst	stark gelöst stark gelöst ganz gelöst
— — ± wenig gelöst stark gelöst	— wenig gelöst schwach gelöst stark gelöst ganz gelöst	— wenig gelöst schwach gelöst stark gelöst ganz gelöst	— — ± stark gelöst ganz gelöst	— — ± wenig gelöst stark gelöst	— — ± wenig gelöst stark gelöst	— — — wenig gelöst stark gelöst	— — — — — —	— — — wenig gelöst stark gelöst ganz gelöst	— — — wenig gelöst stark gelöst ganz gelöst	— — — — ±
rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt blau blau Hautbg	rot getrübt rot blau Hautbg	rot getrübt rot rot klar	rot getrübt rot rot klar	rot getrübt rot blau Hautbg	rot getrübt rot rot klar
++	+	±	+	+	+	±	+	—	+	++

bestimmen, scheint aber auch sehr unsicher zu sein, denn viele Forscher haben schon bemerkt, dass diese kulturelle Eigenschaft sich nicht konstant verhält (Hauser, Levy, Weber, Heim u. a.). Wir hatten selbst auch erfahren, dass die proteolytische Wirkung, die fermentative Wirkung auf Zuckerarten und die Indolbildung in Bouillon innerhalb zwei Jahren sich so verändern liessen, dass die Stämme, welche vorher als *Vulgaris*-Art angenommen waren, bei der späteren Untersuchung als *Zenkeri*-Art betrachtet werden mussten oder umgekehrt. Obwohl es Wenner und Rottger gelungen sein soll, die *Proteus*-Arten durch die Maltosespaltung zu differenzieren, so konnten sie dadurch nicht die *Proteus* in ihre Unterarten, nämlich *Vulgaris*, *Mirabilis* und *Zenkeri*, zerlegen, vielmehr nur eine Differenzierung zwischen *Proteus*bakterien und ihnen nahe verwandten Mikroorganismen, nämlich *B. Zophii* und *B. fluorescens* feststellen. Nach der Untersuchung von Horowitz stellte sich aber heraus, dass die Säure- und Gasbildung in Maltose bei verschiedenen Stämmen von *Proteus vulgaris* ebenso verschieden sich verhalten, wie in Saccharose. Eine gleiche Erscheinung konnten wir auch bei 20 *Vulgaris*-Stämmen nachweisen. Nur 4 Stämme darunter vermochten die beiden Kohlenhydraten zu spalten, sodass Gas und Säure gebildet wurden.

In Gegenwart oben auseinandergesetzter Tatsachen mag es gerechtfertigt sein zu schliessen, dass man bei jetzigen Kenntnissen kein Mittel besitzt, durch die Agglutination oder irgend andere Immunreaktionen Unterarten von *Proteus*bakterien exakt festzustellen. Den Einwand aber, wie dürfen die kulturell so verschieden sich verhaltenden *Proteus*-Stämme durch die Agglutination allein als zu einer und derselben Art gehörig betrachtet werden, könnte man durch einen logischen Grund einfach ablehnen, wie es unten genau auseinander gesetzt ist. Wenn man solche Bakterien-Gruppen nämlich, welche mikroskopisch und kulturell ganz oder fast ganz gleich sich verhalten, durch die Agglutinationsreaktion allein, die gerade bei den betreffenden Mikroben ganz spezifisch eintritt, in verschiedene Unterarten teilen dürfte, wie man gewöhnlich zu tun pflegt, wie z. B. bei den Mikroorganismen aus den Gruppen des *Paratyphus B*- und *Gärtner-Bacillen*, muss die Folgerung auch zugelassen werden, dass die kulturell nicht ganz gleich sich verhaltenden Mikroben auch als die zu einer und derselben Art gehörigen angenommen werden können, falls sie bei der Agglutinationsreaktion sich einheitlich verhalten.

Nun fragt sich, ob die agglutinatorische Eigenschaft der Bakterien

zu leicht und zu regellos veränderlich sei, als dass man diese Eigenschaft als ein zuverlässiges Mittel anwenden könne. Um dies zu erfahren, hatten wir 41 Stämme dieser Bakterien, welche bei Zimmertemperatur auf Schrägagar fortgezüchtet waren, in denselben Sera dreimal innerhalb zwei Jahren agglutinatorisch geprüft. Es ergab sich immer, dass die Stämme, welche bei der ersten Prüfung zu einer Unterart gehörig festgestellt worden waren, auch bei der zweiten und dritten Untersuchung immer gleichartig sich verhielten. Dagegen veränderten sich die kulturellen Eigenschaften derselben, nämlich das Peptonisierungs-, Säure- und Alkalibildungs- und Indolbildungsvermögen in der Zeit so, dass die einmal als *Vulgaris*-Unterart angenommenen Mikroben bei der zweiten oder dritten Prüfung als Unterart *Zenkeri* betrachtet werden mussten, wie oben auseinandergesetzt ist. In der Tat waren wir im Stande, nur durch die gekreuzte Agglutination Proteusbacillen in 9 Unterarten scharf zu differenzieren. Doch wollen wir damit nicht meinen, dass Proteusbakterien überhaupt aus 9 Unterarten bestehen, sondern möchten vorläufig lieber dabei bleiben, zu sagen, dass bei unserem Falle 9 Unterarten nachgewiesen wurden. Durch dieses Verfahren kann man nicht nur die Unterarten der Proteusbakterien sehr genau feststellen, sondern durch seine Anwendung kann die Widalsche Reaktion bei der Proteusinfektion auch erst ebenso so sicher ausgeführt werden, wie bei der Typhusinfektion. Ferner zeigte dieses Einteilungsverfahren um so grössere Bedeutung, als man nur dadurch immunisatorisch vollkommenen Impfstoff herstellen kann.

Aber bis jetzt wollte kein Forscher sich erlauben, durch die Agglutination allein Unterarten von Proteusbakterien festzustellen, vielmehr beabsichtigten sie die Unterarten kulturell und agglutinatorisch übereinstimmend zu bestimmen, was meines Erachtens bei Proteusbakterien nicht nur aussichtslos, sondern auch durchaus unnötig sein muss. Deswegen war es niemand gelungen, ganz exakt die Unterarten von Proteusbakterien zu differenzieren. Wenn es auch einigen Forschern bis zu einem gewissen Grade gelungen ist, die Unterarten agglutinatorisch festzustellen, so waren sie doch nicht im Stande, durch dieses Verfahren eine endgültige Differenzierung zu machen. So konnte Klienberger 14 Stämme des *Proteus vulgaris* agglutinatorisch in drei Unterarten differenzieren. Aber er wollte diese Erscheinung nicht als eine sichere Tatsache annehmen, weil die kulturelle Eigenschaft ihm als Klassifizierungsmerkmal der Bakterien wertvoller als die Agglutination erschienen war. Deswegen hatte er drei agglutinatorisch scharf

sich differenzierende *Vulgaris*-Stämme in einer und derselben Unterart untergebracht und meinte, dass sowohl morphologisch, als auch kulturell einander ähnliche Mikroben je nach dem Medium, wo sie entweder ein saprophytisches oder parasitisches Dasein führen müssen, durch Adaptation zu ihrer Umgebung agglutinatorisch verschieden sich differenzieren können. Er hatte dabei immer geglaubt, dass die *Vulgaris*-Stämme, welche bei Krankheitsprozessen gefunden werden, sowohl kulturell als auch agglutinatorisch sich ganz gleich verhalten. Wir konnten diese Erscheinung nicht nachweisen, sondern es wurde festgestellt, dass sogenannte *Vulgaris*-Stämme, die bei pathogenen Prozessen gefunden worden waren, agglutinatorisch ebenso verschieden sich verhalten, wie *Mirabilis* und *Zenkeri* (Tab. 3, 4 u. 5). In der Tat wurden die bei Otitis media gefundenen *Proteus*-Stämme in 5 Unterarten geteilt. Neuerdings hat Horowitz auch unternommen, Unterarten von *Proteus vulgaris* bei vielen Stämmen agglutinatorisch festzustellen. Nach seiner Angabe konnte er durch die Anwendung dreier agglutinatorisch stark wirkender Sera, nämlich A, B u. C drei scharf differenzierte Unterarten, nämlich A, B u. C, herausfinden. Als er aber mit einem vierten stark wirkenden Serum arbeitete, welches mit einem der in den drei obigen Sera, nämlich A, B u. C nicht agglutinierbaren *Proteus*-Stämme, nämlich D, hergestellt worden war, wurde klar, dass dieses nur den homologen Stamm bis zum Titer, dagegen die anderen übrigen Stämme von der Gruppe D gar nicht agglutinierte. Dazu agglutinierte dieses Serum zu seinem Erstaunen einige Stämme aus zwei anderen Gruppen, nämlich B und C ebenso stark wie den homologen Stamm. Um dieses Verhalten noch klarer zu machen, wurde noch ein Immuns Serum, nämlich E, mit einem der Stämme aus der Gruppe B hergestellt, welcher im Immuns Serum D stark agglutinierte. In diesem Serum wurden alle anderen Stämme agglutiniert. Es stellte sich heraus, dass diejenigen Stämme, welche im Serum D ebenso stark, wie der homologe Stamm, agglutinierten, in diesem neu hergestellten im gleichen Grade agglutinierten. Nach diesem Befunde meinte er, dass dieser Stamm aus der Gruppe D einen Vereiner der Gruppe B und C darstelle. Infolgedessen bezweifelte er die Spezifität der Agglutination und äuserte sich dahin, dass das agglutinatorisch gleiche Verhalten kein Beweis sei, dass die Mikroben zu einer und derselben Unterart gehören, und umgekehrt agglutinatorisch nicht gleiches Verhalten nicht beweise, dass die betreffenden Bakterien verschieden sind. Deshalb darf man durch die Agglutination allein die Identität der Bakterien nicht feststellen.

Weshalb waren die beiden Forscher in der Tat dazu gekommen, die obigen Schlüsse ziehen zu müssen? Weil sie erstens unterlassen hatten, die gekreuzte Agglutination ganz vollständig auszuführen und zweitens die kulturellen Eigenschaften ihnen immer noch wertvoll erschienen waren. Ferner Klienbergers Erklärung, dass Bakterien durch Adaptation in verschiedenen Medien, je nachdem sie parasitisch oder saprophytisch wachsen müssen, agglutinatorisch auch verändert werden, ist bis jetzt noch nicht sicher nachgewiesen. Deshalb wäre es richtiger, statt dieser umständlichen Erklärung, ganz einfach zu sagen, dass es unter *Vulgaris*-Stämmen agglutinatorisch viele Unterarten gibt, wie er selbst gefunden hatte. Die Frage, wie man die Herkunft der Arten und Unterarten feststellen kann, ist eine sehr interessante, aber schwere biologische Aufgabe, welche besonders studiert und verhandelt werden muss. Der Horowitzsche Gedanke, dass die Positivität und die Negativität der Agglutinationsreaktion kein Beweis dafür sei, dass die Mikroben gegenseitig identisch sind, könnte wohl bei besonderen Fällen zugelassen werden, wo es sich entweder um sehr leicht agglutinierbare Bakterien-Stämme handelt, welche in von ihnen ganz unabhängigen Sera sehr deutlich Agglutination zeigen können, oder um einen schwer agglutinablen Stamm. In diesen Fällen müssen mit einzelnen Stämmen Sera hergestellt werden und damit die gekreuzte Agglutination ausgeführt werden. Die Stämme, welche dabei gegenseitig in ganz gleichem Verhältnis reagieren, müssen als gleichartige Stämme betrachtet werden. Wenn man aber dabei solche Bakterien-Stämme findet, welche nur einseitig agglutinieren, nämlich in einem Serum so stark, wie der homologe Stamm, aber nicht im Stande sind, ein Serum herzustellen, welches den Stamm ebenso stark, wie den eigenen agglutinieren kann, womit jenes Serum hergestellt worden ist, so darf man nicht schliessen, dass der erste Stamm mit dem zweiten identisch sei. Wenn Bakterien dagegen sowohl in homologem, als auch in heterologem Serum immer weniger als andere gleichartige Stämme reagierten, muss man das so verstehen, dass es sich um einen schwer agglutinablen Stamm handelt. Ob Horowitz das gemeint hatte, können wir nicht wissen. Nach unserer Ansicht muss Rodella es ganz richtig gemeint haben. Er äusserte sich nämlich, dass die Agglutination bei Proteusbacillen so spezifisch wie bei Typhusbacillen ausfalle. Aber die Erscheinung, dass diese Reaktion bei der Proteusinfektion in vielen Fällen nur gegen die dabei gefundenen Stämme positiv eintritt, hätte einen Beweis dazu geliefert, dass es bei Proteusbacillen sehr viele

Unterarten gibt. Aber man weiss kein Mittel, wodurch diese Unterarten ganz exakt festgestellt werden können. Es ist eine schon bekannte Tatsache, dass das Serum von mit Proteusbacillen infizierten Kranken oder von mit denselben vorbehandelten Tieren nur mit den dabei gefundenen oder den für die Immunisierung verwendeten Proteus-Stämmen immer ganz deutlich, aber mit anderen Stämmen gewöhnlich nicht oder nur ausnahmsweise agglutiniert. Diese Tatsache allein müsste schon bewiesen haben, dass die Agglutination bei diesen Mikroben ganz spezifisch eintreten kann. Aber, dass die Reaktion bei allen Stämmen nicht positiv eintreten kann, muss dadurch zustande kommen, dass Proteusbacillen sehr viele Unterarten enthalten. Deshalb hätten viele Stämme erst in einem und demselben Serum gleich stark reagiert, falls sie zu einer und derselben Unterart agglutinatorisch gehören. Es ist jedoch sehr schwer, unter so vielen Unterarten immer agglutinatorisch sich gleich verhaltende Stämme zufällig zu bekommen. Wenn man aber die gekreuzte Agglutination mit vielen Stämmen ausgiebig ausgeführt hätte, wäre es schon längst gelungen, agglutinatorisch sich gleich verhaltende Stämme herauszufinden und infolgedessen die Widalsche Reaktion bei der Proteusinfektion ebenso exakt wie bei der Typhusinfektion auszuführen. So ist es uns gelungen, agglutinatorisch sich immer gleich verhaltende Stämme bei Proteusbacillen herauszufinden, nämlich durch gekreuzte Agglutination die Proteusbacillen in 9 Unterarten deutlich zu teilen.

Zusammenfassung.

1. Die Stämme der drei Proteusunterarten, welche zuerst von Hauser aufgestellt worden sind, nämlich *Vulgaris*, *Mirabilis* und *Zenkeri*, sind kulturell nicht einheitlich.
2. Durch gekreuzte Agglutination konnten wir 20 Stämme von *Vulgaris* in 7 agglutinatorisch einheitliche Unterarten, 14 von *Mirabilis* in 5, und 7 von *Zenkeri* in 3, deutlich differenzieren.
3. Diese agglutinatorisch einheitlichen Unterarten aus den einzelnen Abteilungen von Hauser zeigten sich in vielen Fällen gegenseitig gleichartig, so dass die Hausersche Einteilung nicht mehr brauchbar ist.
4. Auf diese Weise konnten wir 41 Stämme von Proteusbakterien in 9 Unterarten deutlich teilen.
5. Die Stämme der einzelnen Unterarten zeigten sich aber kul-

turell nicht einheitlich, so dass man nicht sicher sagen kann, ob diese agglutinatorische Einteilung brauchbar ist.

6. Aber die Unterarten von Proteusbakterien kulturell und agglutinatorisch ganz übereinstimmend zu bestimmen, scheint bei unserer jetzigen Kenntnis nicht möglich.

7. Kulturell allein sie festzustellen, ist auch aussichtslos, weil diese Eigenschaft leicht veränderlich ist.

8. Infolgedessen besitzen wir kein anderes Mittel, als die gekreuzte Agglutination, um Unterarten von Proteusbakterien festzustellen.

9. Die agglutinatorische Eigenschaft ist nicht so regellos veränderlich.

10. Ferner zeigen sich die Stämme der so eingeteilten Unterarten agglutinatorisch so gleichartig, dass man erst durch Anwendung dieser Stämme die Proteusinfektion ebenso sicher, wie die Typhusinfektion nachweisen kann.

Literatur :

(1) Hauser, Über Fäulnisbakterien und deren Beziehung zur Septicämie, Leipzig 1885.

(2) Hauser, Über das Vorkommen von *Proteus vulgaris* bei einer jauchig-phlegmonen Eiterung nebst einigen Bemerkungen zur Biologie des *Proteus*. Münch. med. Wochenschrift, 1892. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 12, 1892 (Referat).

(3) Launelange, Sur les infections provoquées des bacillus du groupe proteus et sur les propriétés agglutinatives du serum dans les infections. Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences, 1896.

(4) Pfandler, Eine neue Form der Serumreaktion auf Coli- und Proteusbacillen. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 27, 1898.

(5) Wolf, Beiträge zur Lehre der Agglutination mit besonderer Bezugnahme auf die Differenzierung der Coli- und Proteusgruppe und auf die Mischinfektion. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 25, 1899.

(6) Rodella, Experimenteller Beitrag zur Serumreaktion bei *Proteus vulgaris*. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 27, 1900.

(7) Weber, Über die Gruppe des *Bacillus proteus vulgaris*. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 33, 1903.

(8) Klienberger, Klinische und kritische Beiträge zur Differentierung pathogener Proteusarten und Beiträge zur Wertung der Proteusagglutination. Zeitschrift für Hygiene, Bd. 58, 1908.

(9) Fregonau, Weisen die in verschiedenen Substraten gefundenen Proteusbakterien biologische Unterschiede auf und welche? Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 43, 1909 (Ref.).

(10) Flinzer, *Proteus vulgaris*, Erreger eines subperichondrialen Rippenabszesses. Deutsche Zeitschrift für klinische Chirurgie, Bd. 108, 1911.

- (11) van Loghem, Beiträge zur Differentierung der Proteusgruppe (*B. proteus anindogenes*). Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 66, 1912.
- (12) Heim, Zur Proteus-Diagnose. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 70, 1913.
- (13) Wada, Über *Bacillus proteus* bei chronischen Mittelohreiterungen und deren Komplikation. Mitteilungen der medizinischen Fakultät der Kaiserlichen Universität zu Tokyo, Bd. 16, 1916.
- (14) Horowitz, Contribution à l'étude du genre *proteus vulgaris*. Annales de l'Institut Pasteur, Tome 30, 1916.
- (15) Wenner und Rettger, A systematic study of the proteus group of bacteria. Journal of bacteriology, Vol. IV, 1919.
- (16) Paltauf, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann, 2. Aufl. Bd. II. 1913. S. 547.
-