

## Ueber das Verhalten der Milzbrandbacillen in Gasen.

Von Dr. Josef Szpilman.

(Nach einer der k. k. Akademie der Wissenschaften in Krakau vorgelegten Abhandlung vom Verfasser mitgetheilt.)

(Der Redaction zugegangen am 7. Juli 1880.)

Dass die gewöhnlichen Fäulnisspaltpilze von den Athmungs- und Verdauungs-Organen aus in unsere Gewebe gelangen und dass deren Keime thatsächlich in den lebendigen gesunden Geweben sich vorfinden, haben neuerdings Nencki und Giacosa <sup>1)</sup> gezeigt. Die in den Geweben vorkommenden Keime der Spaltpilze aber entwickeln sich nie zu ausgebildeten Fäulniss bewirkenden Formen. In den gesunden Geweben findet man nie Stäbchen oder Torulaformen. Auch enthalten nie die gesunden lebendigen Gewebe die für die putride Zersetzung charakteristischen Spaltungsproducte des Eiweisses. Die Vertheilung dieser Organismen in den Geweben ist ebenfalls sehr verschieden. Die meisten finden sich im Pancreas und in der Leber, während sie im Blute entweder gänzlich fehlen oder nur spärlich darin vorkommen <sup>2)</sup>. Da nun gerade die Milzbrandbacillen hauptsächlich in den Blutgefässen sich vorfinden, so war es schon a priori sehr wahrscheinlich, dass für sie die für die Entwicklung der Fäulnisspaltpilze schädlichen Momente keine Geltung haben. Im Gegentheil jeder, der gesehen hat, dass durch die Infection eines Thieres mit nur wenigen Milzbrandsporen innerhalb 24—48 Stunden eine so massenhafte Entwicklung und Vermehrung der Bacillen erfolgt,

<sup>1)</sup> Nencki und Giacosa. — Journal für praktische Chemie, Bd. XX, S. 34.

<sup>2)</sup> Vgl. Tiegel in Virchow's Archiv 60, 453 und Nencki. Journal für praktische Chemie, Bd. XIX, S. 357.

dass sie alle Capillargefässe verstopfen, muss zugeben, dass das circulirende Blut eher günstig als schädlich für ihr Leben sei. — Die Lebensbedingungen der Milzbrandbacillen sind durchaus von denen der Fäulnisspaltpilze verschieden.

In Pflüger's Archiv für Physiologie Bd. XV, S. 245 haben die Herren Grossmann und Mayerhausen Versuche über das Leben der Fäulnissbakterien in Gasen veröffentlicht, deren Ergebniss kurz resumirt folgendes ist:

Wasserstoffgas ist für frische Bakterien selbst nach zwei — dreitägigem Verbleiben darin vollkommen indifferent. Wenn aber das die Bakterien enthaltende Infus bereits einige Zeit alt ist und die Bakterien erst dann in Wasserstoffatmosphäre gebracht werden, so tritt Verlangsamung ihrer Bewegungen ein, die sich bis zur vollständigen Ruhe mit einfacher Molekularbewegung steigert. —

Kohlensäure wirkt entschieden lähmend auf die Bacterienbewegungen, doch ist die Zeit so wie die Intensität der Einwirkung durchaus verschieden bei Bakterien verschiedenen Alters, so dass frische Organismen viel eher in den Stillstand kommen als ältere — jedoch nur bis zu einer gewissen Grenze. Ueber diese Grenze hinaus gerathen alle Bakterien gleichmässig in Ruhe.

Die mit Sauerstoff erhaltenen Resultate waren für alle Bakterien von grosser Uebereinstimmung und zwar wird der Lebensprocess der Bakterien nach jeder Richtung hin erhöht. Im Vergleich zur atmosphärischen Luft und übrigen Gasen findet im Sauerstoff eine enorm beschleunigte Bewegung und Verkleinerung resp. Theilung statt. In Folge dessen thut sich die numerische Vermehrung der Formen schon makroskopisch kund, indem der Tropfen, der vorher ziemlich klar war, nach zwei bis drei Tagen fast milchig weiss und undurchsichtig geworden ist.

Gerade entgegengesetzt der Wirkung des Sauerstoffs war die Wirkung des Ozons. Ozon tödtete die Bakterien in jedem Stadium ihrer Entwicklung in sehr kurzer Zeit und fast momentan, sobald das Gas in hinreichender Concentration auf diese Organismen einwirken konnte.

Dieses differente Verhalten der Fäulnissbakterien gegen verschiedene Gase machte es wünschenswerth auch das Verhalten der Milzbrandbakterien in Gasen einer Prüfung zu unterwerfen. Die von mir hierüber angestellten Versuche haben in mancher Hinsicht zu merkwürdigen und interessanten Ergebnissen geführt. Da sie zum grossen Theil die Formveränderungen dieser Organismen betreffen, so will ich in möglichster Kürze die Resultate der Untersuchungen der letzten Jahre über die Milzbrandbakterien vorausschicken.

Durch die ausgezeichnete Arbeit Koch's <sup>1)</sup> über die Milzbrandbacillen ist es nicht allein zweifellos erwiesen, dass nur diese Bacillenart den specifischen als Milzbrand bezeichneten Krankheitsprocess veranlasst, sondern ist auch dadurch unter allen Spaltpilzen die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis die bestbekannte geworden. Koch fand zuerst, dass die Milzbrandbakterien im Blute des todten Thieres oder in geeigneten andern Nährflüssigkeiten bei der Bruttemperatur und Luftzutritt zu ausserordentlich langen unverzweigten Fäden auswachsen; dass ferner nach 10—15 Stunden der Inhalt der Fäden zuerst fein granulirt erscheint und bald sich in regelmässigen Abständen sehr kleine mattglänzende Körner abscheiden, welche sich nach einigen weiteren Stunden zu stark lichtbrechenden Sporen vergrössern. Allmählig zerfallen dann die Fäden und die Sporen werden frei. Diese Sporen entwickeln sich wieder in geeigneter Nährflüssigkeit unter den früher angegebenen Bedingungen unmittelbar zu den ursprünglich im Blute vorkommenden Bacillen. Koch sagt ferner, dass es ihm nicht gelungen sei, den Vorgang wie die Bacillen im Blute und in den Gewebssäften sich vermehren, direct zu beobachten. Da er aber öfters Bacillen mit einer beginnenden Quertheilung in ihrer Mitte — manche an dieser Stelle geknickte und noch andere unter einem Winkel lose zusammenhängend sah, so nimmt er als sicher an, dass ihre Vermehrung im circulirenden Blute durch Verlängerung und Quertheilung, nachdem sie ungefähr die doppelte Länge erreicht haben, geschieht.

<sup>1)</sup> Cohn. Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. II, S. 277.

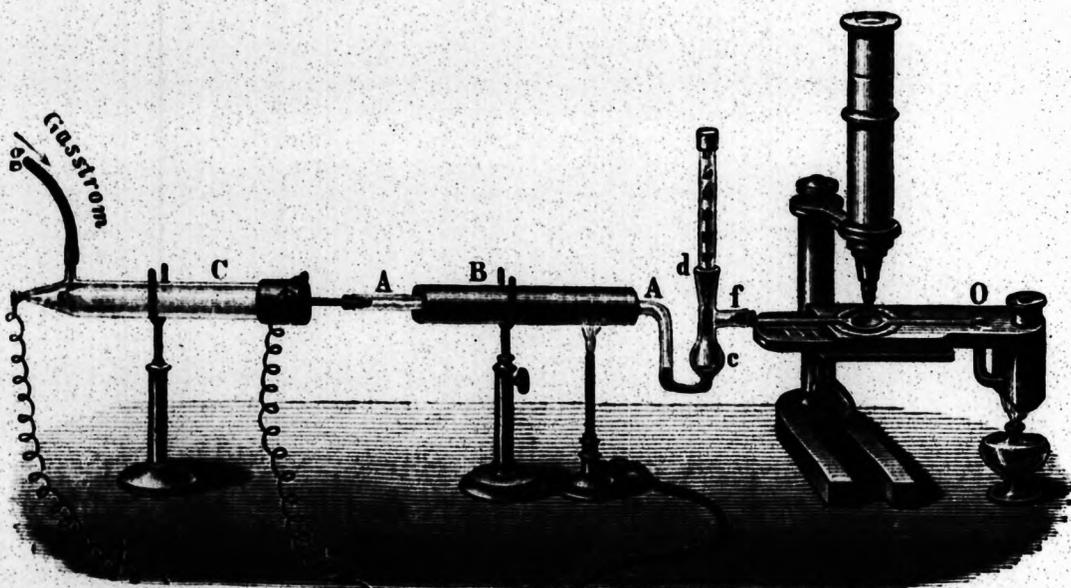
Die im vorigen Jahre erschienene Arbeit Toussaint's<sup>1)</sup> vervollständigt in mancher Hinsicht die Untersuchungen Koch's. Toussaint hat zuerst mit Evidenz nachgewiesen, dass der Tod der milzbrandkranken Thiere hauptsächlich durch Embolie der Capillargefäße bedingt wird. In der That sind in der Regel die Capillargefäße aller Organe — namentlich aber der Lungen, wie ich das stets beobachtet habe, so vollständig durch die Bacillen verstopft, dass in Folge behinderter Circulation, so wie Sauerstoffentziehung der Tod durch Asphyxie erfolgen muss. In Betreff des Entwicklungsvorganges der Sporen zu Bacillen sind die Angaben Toussaint's von denen Koch's in mehreren Punkten different. Ich habe hierüber die Angaben Toussaint's bestätigt gefunden. Toussaint gibt ferner an, dass die aus den Sporen direkt und nicht wie Koch behauptet, aus der sie umgebenden glashellen Masse ausgewachsenen Bacillen, indem sie zu wachsen beginnen, schwache aber deutliche Bewegungen zeigen, welche aufhören, sobald die Bacillen lang genug sind, um sich zu theilen. Von den Bacillen, die in der Mitte des Präparats sich befinden, wird gesagt, dass sie in Folge des nicht hinreichenden Sauerstoffzutritts nie zu Fäden auswachsen, sondern sie bleiben kurz, aus 2—5 Gliedern bestehend, welche sich leicht von einander trennen. Ich werde bei Beschreibung meiner Versuche auf diesen Theilungsvorgang noch ausführlich zu sprechen kommen, nur will ich gleich hier hervorheben, dass der von mir beobachtete Theilungsvorgang nicht dem Mangel an Luft resp. Sauerstoff zuzuschreiben war, denn in der Hälfte der Versuche entwickelten sich die Bacillen in der Mitte des Präparats zu den üppigsten und schönsten Fäden und dass die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens — wie ich das gefunden habe — anderswo liegt. Ausser diesen zwei wichtigsten Publicationen hat Pasteur in den Comptes rendus mehrere Mittheilungen über den Milzbrand veröffentlicht, auf die ich noch später zurückkommen werde.

---

<sup>1)</sup> Toussaint. Recherches expérimentales sur la maladie charbonneuse. Paris 1879.

Nach mehrfachen Versuchen habe ich folgende Versuchsanordnung als die zweckmässigste und einfachste gefunden und sie daher für alle die Gase, mit denen ich experimentirte, beibehalten. Der beigefügte Holzschnitt (Fig. I.) veranschaulicht die Zusammenstellung der Apparate.

Fig. I.



Eine Glasröhre (A) von etwa 1 cm. Durchmesser befindet sich in einer eisernen 25 cm. langen Hülle (B). Der Zwischenraum zwischen beiden wurde mit Asbest ausgefüllt. Das Uförmig gebogene Ende der Röhre (A) ist an dem, dem Mikroskope zugekehrten Schenkel zu einer kleinen Kugel (c) ausgeblasen. — Die Oeffnung (d) wird durch ein gut eingeschliffenes Thermometer geschlossen und durch das Ansatzstück (f) wird mit (A) mittelst eines Korkes eine Recklinghausen'sche Kammer verbunden. Die Kammer liegt unter dem Tubus des Mikroskopes auf dem heizbaren Objecttische (O). Die bacillenhaltige Flüssigkeit (Blut mit etwas frischem Humor aqueus aus Rinderaugen verdünnt oder bacillenhaltiges Gewebe darin zerrieben) wurde zuerst in die Recklinghausen'sche Kammer eingesogen, sodann in die Biegung der Uförmigen Röhre (A) einige Tropfen Wasser hineingespritzt, die Kammer mit dem Ende (f) verbunden und auf dem Objecttische befestigt. Bei Versuchen mit der atmosphärischen Luft, Sauerstoff und Kohlensäure trat das gereinigte Gas in das Rohr (A) ein, zugleich wurde die eiserne Hülle (B) mit einer Gaslampe

erhitzt, damit das heisse Gas in der Biegung der Uröhre sich mit Wasserdampf sättige, wodurch der Austrocknung des Präparates in der Recklinghausen'schen Kammer vorgebeugt wird. Das in die Oeffnung (d) eingeschlifene Thermometer zeigt die Temperatur des austretenden feuchten Gases an, welche ich in meinen Versuchen nie über 40° Cels. gehen liess. — Ist die tiefste Stelle der Biegung eng, so brechen die Gasblasen in der Kugel vollkommen und in die Recklinghausen'sche Kammer wird durch das austretende Gas kein Wasser mit hineingerissen. Die mikroskopische Beobachtung geschah mit einem Zeiss'schen Mikroskop (Ocular 4, Objectiv E — Vergrößerung 660). — Um das zu untersuchende Präparat auf die Bruttemperatur zu erwärmen, benutzte ich den von Prof. Valentin<sup>1)</sup> construirten heizbaren Objecttisch<sup>2)</sup>. Da der zu untersuchende Tropfen nicht in der Kammer des heizbaren Objecttisches, sondern auf derselben in der Recklinghausen'schen Kammer sich befand und folglich mehr der Abkühlung ausgesetzt war, so habe ich zuerst empirisch ermittelt, wie hoch der Objecttisch erwärmt werden müsse, um in der Recklinghausen'schen Kammer die Bruttemperatur zu haben. Für meinen Apparat fand ich, dass damit Paraffin vom Schmelzpunkt 37° C. in der Recklinghausen'schen Kammer zum Schmelzen komme, der Objecttisch auf 50° C. erwärmt werden müsse. Zu erwähnen wäre noch, dass das aus den Waschflaschen austretende Gas einen feinen Gasregulator passirte, so dass man vollkommen nach Belieben den Gasstrom reguliren konnte.<sup>3)</sup>

### Versuche mit Sauerstoff und atmosphärischer Luft.

Es war von vornherein zu erwarten, dass Sauerstoffgas für das Leben und die Entwicklung der Milzbrandbacillen

<sup>1)</sup> Valentin. Physikalische Untersuchung d. Gewebe. Leipzig 1867:

<sup>2)</sup> Diese Objecttische sind käuflich zu haben bei der Société genevoise pour la construction d'instruments de physique (Genève, chemin Gourgas, 5).

<sup>3)</sup> Diese Regulatoren, welche Prof. Nencki im hiesigen Laboratorium für Elementaranalysen einführte, werden von der Firma Herrmann und Pfister in Bern für den Preis von 20 Fr. angefertigt.

nur günstig sein werde. Diese Voraussetzung haben auch meine Experimente bestätigt. In einem Strome von Sauerstoffgas bei der Bruttemperatur vermehren sich die Milzbrandbacillen entweder durch Theilung oder durch Auswachsen in die langen Fäden und Sporenbildung. Sauerstoff und Luft sind übrigens *ceteris paribus* für das Leben der Milzbrandbakterien insofern gleich, als auch im Luftstrome die Bacillen sich theilen oder in Fäden auswachsen; nur sind die Lebenserscheinungen im Sauerstoffstrome viel intensiver. Aehnlich wie dies Grossmann und Mayerhausen für das Leben der Fäulnisbakterien angeben, ist im Vergleich zur atmosphärischen Luft im Sauerstoff die beschleunigte Vermehrung und Theilung der Milzbrandbacillen eine ganz auffallende. Die Theilung und Trennung einzelner Glieder erfolgt so rasch, dass die jungen Bacillen im Augenblicke des Freiwerdens ausserordentlich kurz erscheinen. Ihre Länge betrug in einigen Versuchen 2—5 Mikromillimeter. Von wesentlichem Einfluss auf das Theilen oder Auswachsen der Milzbrandbacillen ist der Umstand, ob sie vor oder nach dem Tode des kranken Thieres in Sauerstoff resp. Luftstrom gebracht worden sind. Im Blute inficirter Thiere werden die Milzbrandbakterien erst 2—6 Stunden vor dem Tode sichtbar. Entnimmt man einem inficirten Kaninchen oder Maus, nachdem bereits die Erkrankungssymptome eingetreten sind — in Zeitintervallen von etwa einer Viertelstunde — einen Tropfen Blut, so kann man sehr schön die rapide Vermehrung derselben im circulirenden Blute sehen. War ihre Menge für die spätere mikroskopische Untersuchung hinreichend gross, so wurde das Thier getödtet, das Blut mit etwas frischen Humor aqueus verdünnt, sofort in die Recklinghausen'sche Kammer gebracht und das Gas durchgeleitet. Die dem Blute entnommenen Bacillen sind zum grossen Theil, wie dies schon frühere Beobachter gesehen haben, in ihrer Mitte quergetheilt, manche unter einem Winkel geknickt. Man sieht auch häufig Bacillen aus mehreren 2—5 höchstens 6 Gliedern bestehen.

In allen meinen Versuchen sind die vor dem Tode des Thieres entnommenen Bacillen nie zu Fäden ausgewachsen,

sondern vermehrten sich durch Quertheilung. Dass sich die Milzbrandbacillen im circulirenden Blute theilen, wird als sicher angenommen. Der Vorgang der Theilung selbst aber ist bis jetzt von Niemanden gesehen und beschrieben worden. Ich habe bei meiner Versuchsanordnung den Theilungsvorgang der Milzbrandbacillen vielfach beobachtet und will deshalb einige meiner Versuchsprotokolle nebst zugehörigen Zeichnungen mittheilen.

1. Um 2 $\frac{1}{4}$  Uhr Nachmittags wurde das Blut aus der Arteria cruralis eines milzbrandkranken Thieres entnommen. Beginn der Sauerstoffdurchleitung 2 $\frac{1}{2}$  Uhr. Durchschnittlich passiren 50 Gasblasen in einer Minute durch den Apparat. Es wird ein in der Mitte des Präparats liegender Bacillus fixirt (siehe Taf. I, Fig. 2 a). Die folgenden Zeichnungen zeigen die Veränderungen in Intervallen von einer halben Stunde — bis der Versuch um 5 Uhr unterbrochen wurde. Innerhalb also zweier Stunden sind aus dem ursprünglichen bereits quergetheilten Bacillus 5 neue isolirte — oder 12 segmentirte Glieder entstanden. Die Theilung geschieht so, dass zuerst Verlängerung, dann Segmentirung und zuletzt Knickung erfolgt. Die Losreissung des geknickten Segments kommt grösstentheils so zu Stande, dass der Winkel immer kleiner, — zuletzt spitz wird, bis durch eine kaum merkliche Verschiebung die Trennung der Glieder stattfindet. Manchmal — wie ich das öfters beobachtet habe, schieben sich die früher im Zusammenhange gewesenen Enden der Segmente über einander — ja sogar, wahrscheinlich in Folge einer intensiveren obgleich nicht sichtbaren Bewegung, kreuzen sich die getrennten Glieder vollständig, so dass sie nach der Theilung eine Art x bilden. Es trennen sich oft einzelne, in anderen Fällen schon segmentirte Glieder los.

2. Ein milzbrandkrankes Kaninchen wurde bereits in der Agonie getödtet. Beginn der Sauerstoffdurchleitung um 10 Uhr Morgens. Nach einer halben Stunde bemerkte man an den meisten Bacillen das Auswachsen in die Länge und Segmentirung. Die Trennung der Glieder und zwar der nur 0.005—7 Millim. kurzen Endsegmente erfolgte hier sehr rasch.

Interessant war es zu sehen, dass die Endglieder vor ihrer Trennung schwache, aber sehr deutlich wahrnehmbare, nach beiden Seiten hin oscillirende Bewegungen zeigten. Diese Oscillationen in der Längsachse betragen  $1-2^{\circ}$  und dauerten noch 5—6 Minuten nach der Losreissung des Segmentes an. Fig. 3 zeigt die Veränderungen der beiden fixirten Bacillen (a. b.) innerhalb eines Zeitintervalles von einer halben Stunde.

Je rascher die Trennung der Glieder im Sauerstoffstrome erfolgt, um so kleiner sind sie auch und um so länger behalten sie nach der Trennung ihre oscillirenden Bewegungen.

3. Um 4 Uhr Nachmittags wird ein milzbrandkrankes Kaninchen getödtet und das Blut im Sauerstoffstrome untersucht. Um 5 Uhr sah ich eine kolossale Vermehrung und Theilung in kleine Segmente, — die fast das Aussehen von Torulaformen hatten (siehe Fig. 4). Die losgerissenen Stäbchen sehen fast quadratisch aus und haben die Länge von 2—3 Mikromillimeter. Nach der Lostrennung zeigen sie fast eine halbe Stunde lang schwache andauernde oscillirende Bewegungen, — sie verändern auch ihren Ort im Gesichtsfelde, ohne jedoch völlig aus demselben zu verschwinden. Um 6 Uhr wird der Versuch unterbrochen, das Präparat aus der Recklinghausenschen Kammer auf ein Deckglas gebracht und in einer Paraffinzelle im Brütöfen durch die Nacht stehen gelassen. Am folgenden Tage zeigt die mikroskopische Untersuchung, dass die so kurzen Stäbchen zu langen Fäden ausgewachsen sind.

Aehnliche Verhältnisse d. h. Quertheilung, Knickung und Losreissen wurden auch — falls die Milzbrandbacillen noch vor dem Tode des Thieres zur Untersuchung kamen — im Luftstrome beobachtet, jedoch mit dem Unterschiede, dass in der Luft der Zerfall in so kleine Segmente wie im Sauerstoff, nie erfolgt.

4. Um  $10\frac{1}{2}$  Uhr Morgens wird ein milzbrandkrankes Kaninchen während der Agonie getödtet. Beginn der Luftdurchleitung um 11 Uhr. Gleich in der ersten Stunde sah ich die Bacillen sich um das Doppelte verlängern und theilen. In kurzer Zeit wurden im Gesichtsfelde ganz isolirt stehende Gruppen von Bacillen sichtbar — entsprechend dem Umstande,

dass aus einem oder zweien neben einander liegenden Bacillen sich eine grössere Zahl derselben gebildet hat. Fig. 5 veranschaulicht die Veränderungen, welche ein um 11 Uhr fixirter, geknickter Bacillus innerhalb 4 Stunden durchgemacht hat. In diesem Versuche habe ich die Grössenverhältnisse und daraus die Intensität der Vermehrung bestimmt – und dabei folgende Zahlen erhalten:

Länge des ursprünglichen geknickten

Bacillus bei Beginn des Versuchs (11 Uhr) = 0·02926 Millim.

	1 = 0·01064	
	2 = 0·00798	
	3 = 0·01330	
Länge der 8 daraus entstandenen Bacillen nach 4 Stunden.	4 = 0·01596	
	5 = 0·01330	
	6 = 0·01064	
	7 = 0·01596	
	8 = 0·00532	
	<hr/>	
	Summa	0·09310

Innerhalb also vier Stunden sind aus dem ursprünglichen geknickten Bacillus von 0·02926 mm. Länge 8 neue von der Gesamtlänge 0·09310 mm. geworden, welche einer Verlängerung um das Dreifache oder genau um das 3·18 oder in einer Stunde um das 0·8fache entspricht.

In einem zweiten Versuche mit Luft, wo die ebenfalls vor dem Tode des Thieres entnommenen Bacillen sich theilten, betrug die Länge eines bei Beginn des Versuchs fixirten und aus drei Gliedern bestehenden Bacillus 0·01862 mm. — Nach drei und einer halben Stunde sind 12 neue entstanden, von der Gesamtlänge 0·05586 — also genau eine dreifache oder in einer Stunde eine 0·9fache Längenzunahme.

Wie schon oben erwähnt, erfolgte die Theilung der Bacillen nur dann, wenn das Blut noch vor dem Tode des Thieres zur Untersuchung kam. Nach dem Tode des Thieres aus dem Cadaver entnommene Bacillen theilten sich in der Recklinghausen'schen Kammer sei es im Sauerstoff, sei es im Luftstrome nicht, sondern wuchsen zu Fäden aus, in denen

nach 10—15 Stunden, wie das Koch beschrieben hat, die Sporenbildung erfolgte. Es ist dies wenigstens das Resultat aus zehn wohl gelungenen Versuchsreihen. In einem Falle habe ich nur eine Stunde im Luftstrome, in einem anderen sogar nur eine halbe Stunde im Sauerstoffstrome nach dem Tode die Untersuchung vorgenommen, aber auch jetzt erfolgte keine Theilung, sondern Auswachsung in die Fäden, obgleich bei Beginn des Versuches die Bacillen grösstentheils querge- theilt und geknickt waren. Im Anfange des Wachsthum- werden die Bacillen etwas dicker, quellen auf und nachher wächst jedes Segment für sich und zeigt sogar im Verlauf des Wachsthum- neue Segmentirung aber es wird kein Los- reissen der Segmente bemerkbar. Tritt die Sporenbildung ein, so sieht man — wie dies schon Toussaint <sup>1)</sup> abgebildet hat — dass die Sporen in den Reihen zu je zweien auf beiden Seiten der Querstriche auftreten. Manchmal sind die Quer- striche nicht sichtbar, aber auch dann kommen gewöhnlich je zwei der Sporen, welche die ganze Breite des Fadens aus- füllen, in regelmässigen Abständen zum Vorschein. Einzelne in gleichen Intervallen liegende Sporen sind verhältnissmässig viel seltener zu sehen. Was die Behauptung Toussaint's <sup>2)</sup> anbelangt, dass die Bacillen im Dunkeln gehalten längere Zeit zur Sporenbildung brauchen, muss ich als entschieden unrichtig bezeichnen. Ich habe bei mehr als hundert Präpa- raten, wo ich die dem Blute entnommenen Bacillen, in den Paraffinzellen — nach dem Vorgange Koch's — im Brütöfen cultivirte, nach 10—15 Stunden trotz der im Brütöfen herr- schenden Dunkelheit die üppigste Sporenbildung — genau wie am Licht eintreten sehen.

Da das Verhalten der Milzbrandbacillen vom todten Thiere im Sauerstoff oder Luftstrome ganz gleich war und das gleiche Ergebniss d. h. Auswachsen in die Fäden hatte, so will ich hier nur einen Versuch mittheilen, wobei gleich- zeitig auch die Längenzunahme gemessen wurde.

<sup>1)</sup> Toussaint, l. c., Taf. I. Fig. 12.

<sup>2)</sup> Toussaint, l. c., pag. 54.

5. Bacillen von einem in der Nacht gestorbenen Kaninchen wurden um 11 Uhr auf die bekannte Weise in die Recklinghausen'sche Kammer gebracht und Sauerstoff durchgeleitet. Um 2 Uhr wird die Verlängerung der Glieder deutlich bemerkbar. Es werden im Gesichtsfelde zwei Bacillen (I. II.) fixirt, wovon einer aus zwei Gliedern (a. b.) besteht. Die beobachteten Längenzunahmen waren folgende:

um Uhr	I.		II.
	a.	b.	
2	0·01330	0·01596	0·02926
2½	0·01892	0·02128	0·03724
3	0·02394	0·02926	0·05320
3½	0·02926	0·03458	0·06517
4	0·03325	0·03990	0·07448

Innerhalb von zwei Stunden war also die Längenzunahme eine 2·5 — oder innerhalb einer Stunde eine 1·25fache. —

Um 2½ werden zwei andere Bacillen (III. IV.) fixirt, wovon wiederum einer aus zwei Gliedern (a. b.) besteht.

um Uhr	III.		IV.
	a.	b.	
2½	0·02660	0·01596	0·04558
3	0·03192	0·02025	0·05320
3½	0·04558	0·02394	0·06650
4	0·04788	0·02660	0·07182

Die stündliche Zunahme aus diesen drei Bestimmungen würde also eine 1·12fache sein. Um 4 Uhr wurde der Versuch unterbrochen und das Präparat über Nacht im Brütöfen gelassen. Am folgenden Tage um 10 Uhr Morgens waren die Fäden bedeutend länger ausgewachsen und mit zahlreichen Sporen erfüllt. (Fig. 6 a. zeigt die im Sauerstoffstrome zu Fäden ausgewachsenen Bacillen — nach 5stündiger Einwirkung dieses Gases — Fig. 6 b. ist dasselbe Präparat nach 16stündigem Verweilen im Brütöfen).

Wenn wir die früher bei dem Theilungsvorgange bekommenen Resultate mit denen beim Auswachsen in die Fäden zusammenstellen, so geht daraus zur Evidenz hervor,

dass das Wachstum im letzten Falle ein viel intensiveres ist als im ersten, wo die stündige Längenzunahmen nur eine 0·85fache war. Trotzdem haben diese Bestimmungen und Vergleiche nur einen relativen Werth. Sind die Fäden nehmlich bereits in lange Fäden ausgewachsen, so nimmt auch die Intensität ihres stündlichen Wachstums zu. Bei den Versuchen mit Ozon, die weiter unten beschrieben werden, habe ich die Wachstumzunahme der bereits ziemlich langen Fäden in dem Zeitraume von 40 Minuten und in Intervallen von 10 Minuten gemessen und für drei verschiedene Fälle folgende Zahlen erhalten:

I.		II.		III.							
Uhr	Min.	Uhr	Min.	Uhr	Min.						
5	40	—	0·04542	6	25	—	0·06915	6	55	—	0·06915
5	50	—	0·05586	6	35	—	0·09576	7	5	—	0·09044
6	—	—	0·06650	6	45	—	0·10640	7	15	—	0·10640
6	10	—	0·08512	6	55	—	0·11704				

Die stündliche Längenzunahme würde für I. eine 2·79 — für II. eine 2·33 — für III. eine 2·70fache sein oder im Durchschnitt eine 2·61fache.

### Versuche mit Kohlensäure.

Das Verhalten der Milzbrandbakterien im Kohlensäurestromen ist im Ganzen ziemlich ähnlich dem der Fäulnisbakterien. Pasteur und Joubert<sup>1)</sup> geben an, dass die Milzbrandbacillen durch Verweilen in Kohlensäure getödtet werden. Dieser allgemeine Ausspruch bedarf in sofern einer Restriction, als ich gefunden habe, dass das 5—8stündige Durchleiten der Kohlensäure bei der Bruttemperatur die Milzbrandbacillen nicht tödtet resp. ihre Infectionsfähigkeit nicht zerstört. Erst nach 24stündigem Verweilen in einer in Glasröhren eingeschlossenen Kohlensäureatmosphäre gehen sie zu Grunde. —

Grossmann und Mayerhausen<sup>2)</sup> sahen, dass beim Durchleiten eines schwachen Kohlensäurestromes anfangs eine Erhöhung der Beweglichkeit der Fäulnisbakterien eintritt, die

<sup>1)</sup> Pasteur und Joubert. Etude sur la maladie charbonneuse. Compt. rend. Tome 84 pag. 900 1877.

<sup>2)</sup> Loc. cit.

jedoch nur kurze Zeit andauert und dann allmählig in Stillstand übergeht. Nach meinen Untersuchungen zeigen auch die Milzbrandbacillen im Kohlensäurestrome einen kurz andauernden Erregungszustand, der jedoch bald in den der absoluten Ruhe übergeht.

1. Von einem in der Nacht an Milzbrand gestorbenen Kaninchen wird um 10<sup>3</sup>/<sub>4</sub> Uhr Morgens ein Tropfen Blut mit Humor aqueus verdünnt und in der Recklinghausen'schen Kammer bei der Bruttemperatur und im Kohlensäurestrome beobachtet. Man sieht, dass die gegliederten Bacillen sich theilen — jedoch ohne vorausgehende Verlängerung der Glieder. Die losgetrennten Glieder zeigen schwache oscillirende Bewegung, Nach einer halben Stunde tritt bleibende Ruhe ein. Der Versuch wird 8 Stunden lang fortgesetzt, — ohne dass irgend welche Aenderung der Bacillen eintritt. Um 7 Uhr Abends wird das Durchleiten der Kohlensäure unterbrochen und mit dem Tropfen aus der Recklinghausen'schen Kammer eine Maus geimpft. Die Maus war nach 22 Stunden in Folge des Milzbrandes todt.

2. Blut von einem vor <sup>3</sup>/<sub>4</sub> Stunden an Milzbrand verwendeten Kaninchen. Beginn der Kohlensäuredurchleitung um 9<sup>3</sup>/<sub>4</sub> Uhr Morgens. Eine Stunde lang dauert die Theilung der gegliederten Bacillen. Kein Wachsen. Hiërauf absolute Ruhe. Nach 8 Stunden wird die Beobachtung unterbrochen und mit dem Blute eine Maus geimpft. Sie starb nach 28 Stunden an Milzbrand.

3. Das gleiche Ergebniss wurde noch in einem dritten Falle erhalten.

4. Ein milzbrandkrankes Kaninchen wird während der Agonie getödtet und sofort durch das Blut Kohlensäure durchgeleitet. Beginn des Versuches um 12 Uhr. Bis 6<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Uhr absolut keine Veränderung an den Bacillen bemerkbar. Hiërauf wird der Versuch unterbrochen und mit dem Tropfen eine Maus geimpft, die nach 30 Stunden an Milzbrand starb.

5. Ein in Agonie befindliches Kaninchen wird getödtet und das Blut sofort in die Recklinghausen'sche Kammer gebracht. Beginn der Kohlensäuredurchleitung um 12 Uhr. Die

Bacillen zeigen wieder keine Veränderung — weder Quertheilung — noch Losreissen noch Auswachsen in die Fäden. Um 5 Uhr Abends, also nach 6 Stunden wird der Versuch unterbrochen, mit dem ziemlich grossen Tropfen aus der Recklinghausen'schen Kammer zunächst eine Maus geimpft, welche nach 34 Stunden an Milzbrand zu Grunde gieng. Ein anderer Theil des Tropfens wird in eine Paraffinzelle gebracht und in den Brütofen gestellt. Am folgenden Tage d. i. nach 18 Stunden ergiebt die Untersuchung, dass die Bacillen im Präparat zu langen Fäden mit Sporen ausgewachsen sind.

Diese Versuche mit Kohlensäure sind in doppelter Hinsicht bemerkenswerth — denn (1.) findet hier bei Beginn des Versuches bei Bacillen, die schon nach dem Tode dem milzbrandkranken Kaninchen entnommen sind Losreissen der Glieder statt — eine Erscheinung, die ich im Sauerstoffstrome und Luftstrome nie gesehen habe und (2.) tritt im Kohlensäurestrome nie eine Verlängerung (Wachsthum) der Bacillen ein. Aus allen Versuchen mit Kohlensäure ergiebt sich ferner, dass wenn auch nach diesem Reizungszustand absolute Ruhe folgt — die Bacillen doch ihre Vitalität nicht verlieren, wie dies die erfolgreichen Impfungen beweisen. Möglich, dass die Bacillen nur so lange auf das ihnen schädliche Element «Kohlensäure» reagiren, als noch der Tropfen für sie verwendbaren Sauerstoff in der Recklinghausen'schen Kammer enthält. Ist auch dieser verbraucht, so stellt sich der Zustand absoluter Ruhe ein. Als ich — wie schon oben erwähnt — einige Cbctm. milzbrandbacillenhaltigen Blutes in ein gebogenes und an drei Stellen kuglig ausgeblasenes Glasrohr brachte, sodann eine Stunde lang durch das Blut Kohlensäure durchleitete und hierauf im Kohlensäurestrome das Rohr an beiden Enden zugeschmolzen habe, — konnte ich mich überzeugen, dass längeres Verweilen in reiner Kohlensäureatmosphäre die Bacillen tödtet. Ich habe das zugeschmolzene Glasrohr in dem Brütofen 24 Stunden stehen gelassen und nach dieser Zeit dann das Blut mikroskopisch untersucht. Die Bacillen haben ihre scharfen Contouren verloren — sie scheinen aus kurzen rundlichen, körnigen, lose zusammen-

hängenden Stücken zu bestehen (siehe Fig. 9 b.) genau wie das Koch als charakteristisch für die abgestorbenen Bacillen beschreibt. Ein mit diesem Blute geimpftes Kaninchen wurde nicht mit Milzbrand inficirt.

Die im Vorstehenden beschriebenen Versuche beweisen hinreichend, dass die Milzbrandbacillen durchaus Aërobien sind und ohne Sauerstoff resp. Luft sich auf keine Weise vermehren können. Ganz ähnlich verhalten sie sich im Blute kranker Thiere, indem sie demselben den für ihre Entwicklung und Vermehrung nothwendigen Sauerstoff entziehen. Ausserdem verursachen sie im Gefässsysteme mechanische Störungen. In Folge der durch sie bewirkten Embolien der Lungencapillaren entsteht eine Stauung im ganzen venösen System — von der rechten Herzkammer aus bis zu den kleinsten venösen Zweigen. Die durch die Gewebe ausgeschiedene Kohlensäure häuft sich im Blute immer mehr an und erzeugt zunächst Asphyxie, welcher der Tod folgt. Dafür sprechen sowohl der Verlauf der Krankheit als auch die Ergebnisse der Section.

#### Versuche mit Ozon.

Das Verhalten der Milzbrandbakterien gegen ozonisirten Sauerstoff oder Luft ist durchaus verschieden von dem der gewöhnlichen Fäulnissbakterien. Während die letzteren durch ozonisirten Sauerstoff in relativ kurzer Zeit getödtet werden, entwickeln und vermehren sich im Ozon die Milzbrandbakterien ganz als ob sie sich in atmosphärischer Luft oder Sauerstoff befänden. Ich muss hier hervorheben, dass weil meine Versuchseinrichtung eine andere war, ich die Versuche der Herren Grossmann und Mayerhausen mit Sauerstoff und Ozon in meinem Apparate einer wiederholten Prüfung unterworfen habe. Bezüglich Sauerstoffs kann ich ihre Angaben in jeder Hinsicht bestätigen. Mit Ozon sind unsere Beobachtungen insofern different, als ich in mehr als zehn Versuchen das Nachlassen der Bewegungen wohl in den ersten 15 Minuten, aber den völligen Stillstand der Fäulnissbakterien im ganzen Tropfen der Recklinghausen'schen Kammer erst nach 20—30 Minuten eintreten sah.

Um Ozon zu erzeugen, benutzte ich dieselben Apparate, wie sie von den Herren Nencki und Giacosa bei ihren Versuchen über die Oxydation des Benzols zu Phenol angewendet wurden. Mit dem Apparate A (s. Fig. I) wurde mittelst eines gut schliessenden Korkes ein Geissler'scher Ozonisorator (C) verbunden. Der durch (g) eintretende Sauerstoff passirte den Ozonisorator — sodann das Rohr A, das natürlich in diesem Falle nicht erhitzt wurde und trat in die Recklinghausensche Kammer ein. Die dunkle elektrische Entladung geschah mittelst eines ausgezeichneten Ruhmkorff'schen Apparates, in welchem der Strom durch 6 Bunsen'sche Elemente erzeugt wurde. Der aus der Kammer austretende Sauerstoff hatte einen starken Ozongeruch, der namentlich bei stundenlanger, mikroskopischer Untersuchung des Präparates sich in lästiger Weise kund gab. Die deletäre Wirkung des Ozons auf die Fäulnissbakterien war am schönsten — wie dies schon Grossmann und Mayerhausen angeben — dann zu sehen, wenn bei Beginn der Versuche eine  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2}$  Stunde lang der Sauerstoff durch die Recklinghausen'sche Kammer durchgeleitet wurde, worauf immer eine beschleunigte Bewegung und Theilung der Fäulnissbakterien eintrat. Wurde plötzlich der Inductionsapparat in Gang gesetzt, während der Sauerstoff weiter fortging, so sah man sofort Verlangsamung der Bewegung und nach 20 bis 30 Minuten einen absoluten Stillstand bei der Durchmusterung des ganzen mikroskopischen Präparates. Total verschieden war das Verhalten der Milzbrandbakterien — wie dies aus folgenden Versuchsprotokollen hervorgeht.

1. Von einem um 3 Uhr an Milzbrand gestorbenen Kaninchen wird ein Tropfen Blut mit Humor aqueus vermischt und das Präparat in der Recklinghausen'schen Kammer bei Bruttemperatur dem ozonisirten Sauerstoffstrome ausgesetzt. Sämmtliche im Gesichtsfelde sichtbaren Bacillen wachsen zu Fäden. Um 7 Uhr, wo die Fäden bereits über das Gesichtsfeld ausgewachsen sind, wird der Versuch unterbrochen. Die mit dem Tropfen aus der Recklinghausen'schen Kammer geimpfte Maus erlag nach 40 Stunden den Folgen der Infection.

2. Blut vom Kaninchen, das um 7 $\frac{1}{2}$  Uhr Morgens an Milzbrand zu Grunde gieng. Beginn der Durchleitung des ozonisirten Sauerstoffs um 12 Uhr. Schon nach einer Stunde sieht man das Auswachsen in die Fäden, indem die Bacillen doppelt bis dreifach so lang werden. An den neu ausgewachsenen Fäden ist deutlich Quertheilung zu beobachten. Auch fand ich, dass einige Glieder nach der Quertheilung durch einfache Verschiebung sich von einander trennten. In den späteren Stunden war jedoch nur das Auswachsen in die Fäden sichtbar. Um 7 Uhr Abends wird der Versuch unterbrochen und das Präparat in den Brütöfen gestellt. Am folgenden Tage Morgens enthalten einige sehr lange Fäden deutliche Sporen.

Vier noch weitere Versuche mit ozonisirtem Sauerstoff ergaben das gleiche Resultat, nämlich Auswachsen in die Fäden.

3. Ein milzbrandkrankes Kaninchen wird während der Agonie getödtet und ozonisirter Sauerstoff durch das Blut durchgeleitet. Beginn des Versuches um 11 $\frac{1}{2}$  Uhr. Schon in der ersten Stunde sieht man Verlängerung der Bacillen, sodann Quertheilung und Lostrennung der Segmente durch Verschiebung genau so wie im Luft- oder Sauerstoffstrom. Gegen Ende des Versuches, nach mehrstündigem Durchleiten des Ozons sind einzelne Bacillen in Fäden ausgewachsen. Um 6 Uhr wird der Versuch unterbrochen.

Wie zu erwarten war, — wuchsen und vermehrten sich die Bacillen in ozonisirter Luft wie im ozonisirtem Sauerstoff. Statt mehrerer Versuche will ich nur einen anführen, wo in dem mehrere Stunden nach dem Tode des Kaninchens entnommenen Blute die Bacillen im Strome ozonisirter Luft nicht in die Fäden auswuchsen, sondern sich quertheilten und durch leise Verschiebung lostrennten. Auf Tafel II Fig 7 ist die Theilung der Bacillen in ozonisirter Luft abgebildet.

Das merkwürdige Ergebniss der Versuche mit Ozon hat mich zuerst auf die Vermuthung gebracht, dass es vielleicht Folge einer fehlerhaften Versuchsanordnung war. Der Einwand lag nahe, dass der Ozon nur den Rand und nicht das

Centrum des capillären Raumes berühre, — allerdings sprachen entschieden dagegen die Versuche mit Sauerstoff und Kohlensäure, die in der gleichen Kammer ausgeführt, so verschiedenen Effect auf die Bacillen ausübten. Dass das Ozon in den ganzen Tropfen der Kammer diffundirt, zeigten ferner die Versuche mit den Fäulnissbakterien, wo nach halbstündiger Durchleitung regelmässig ein absoluter Stillstand der Fäulnissbakterien erfolgte. Dass wirklich Ozon das Leben der Milzbrandbacillen nicht hindert, sondern eher fördert, geht mit Sicherheit aus folgenden Versuchen hervor.

Durch 2—3 cm. in einem Reagenzröhrchen befindlichen milzbrandbacillenhaltigen Blutes wurde eine halbe bis eine ganze Stunde lang stark ozonisirter Sauerstoff durchgeleitet — hierauf Kaninchen mit dem Blute geimpft. In mehreren solchen Versuchen giengen die geimpften Thiere regelmässig an Milzbrand zu Grunde. In einem Versuche sogar wurden zwei cm. Milzbrandblut mit Humor aqueus verdünnt, — in einem Dreikugelapparat, — wie er bei Stickstoffbestimmungen nach Will und Varrentrap benutzt wird, gebracht und durch dasselbe 7 Stunden lang ozonisirter Sauerstoff bei Zimmertemperatur durchgeleitet. Nach so langer Behandlung mit Ozon wurden fast alle Blutkörperchen zerstört, die Farbe der Flüssigkeit wurde olivengrün und durch spektroskopische Untersuchung konnte man nur Spuren von Oxyhämoglobin in der Lösung nachweisen. Die Bacillen dagegen zeigten keine Veränderung, sie waren homogen, glashell, ohne jede körnige auf Absterben deutende Trübung. Mit diesem Blute geimpfte Thiere — ein Kaninchen und eine Maus — sind an Milzbrand nach 48 Stunden gestorben.

Das Verhalten der Milzbrandbacillen gegen Ozon klärt uns über manche bis jetzt unverständliche Punkte auf, die die durch Spaltpilze bewirkten Infectionskrankheiten betreffen. Wie schon Eingangs erwähnt können die gewöhnlichen Fäulnissbakterien von den Athmungs- und Verdauungsorganen aus in die nächstliegenden Drüsen gelangen. Uebereinstimmend wird hervorgehoben, dass weder in den gesunden Geweben noch im Blute entwickelte Formen der Spaltpilze

sich finden. Auch betonen alle Beobachter, dass im circulirenden Blute die wenigsten, oder gar keine Sporen der Spaltpilze zu finden seien. Nun wissen wir aber, dass die Oxydationen im Thierkörper genau so geschehen — wie wir sie ausserhalb desselben durch activen Sauerstoff oder Ozon bewirken können. Ozon tödtet die gewöhnlichen Fäulnissbakterien in jedem Stadium ihrer Entwicklung und nichts liegt näher als die Annahme, dass die Keime der Fäulnissbakterien deshalb nicht zur Entwicklung und zum Leben im Blute resp. Geweben kommen, weil der daselbst befindliche active Sauerstoff sie sofort zerstören würde. Man kann demnach vermuthen, dass nur solche Formen der Spaltpilze, welche gleich den Milzbrandbacillen, durch Ozon nicht verändert werden, in den Geweben und im Blute sich entwickeln können und durch ihren Lebensprocess resp. specifische Producte ihres Stoffwechsels oder auf irgend eine andere Weise die verschiedenen Formen der Infectionskrankheiten bewirken.

Im Anschluss an diese Untersuchungen will ich noch einige von mir beobachtete Formen der Milzbrandbacillen beschreiben, die ich alle als krankhafte und Absterbungsformen bezeichnen möchte. — Ich sah sie namentlich dann auftreten, wenn die Temperatur in der Recklinghausen'schen Kammer über  $50^{\circ}$  C. war oder das Präparat eintrocknete, ferner bei saurer Reaction der Nährlösung oder nach längerem Verweilen in der Kohlensäureatmosphäre. Ist die Reaction der Nährlösung sauer, wie ich das wiederholt bei meinen Vorversuchen mit Ozon beobachtet habe, so wachsen die Bacillen nicht in Fäden, sondern man bemerkt zuerst eine bedeutende Verdickung der Stäbchen, sodann end- oder seitenständige knospenartige Anschwellungen, welche auswachsen und so ramificirte Formen bilden, wie Fig. 8 (a. b. c.) darstellt. Nach mehreren Stunden zeigen sich in den Anschwellungen körnige, sporenähnliche Gebilde. Wurden diese Präparate 10—20 Stunden lang im Brütöfen gehalten, so

zeigte sich keine wesentliche Veränderung, keine deutliche Sporenbildung und nur der Inhalt dieser verästelten Gebilde wurde mehr granulirt. Kaninchen oder Mäuse mit diesen Formen geimpft blieben stets gesund. In seiner Monographie hat Toussaint<sup>1)</sup> den meinigen ähnliche Formen abgebildet und als sporanges polyspores bezeichnet. Sie wurden durch Kulturen von Milzbrandsporen im Hundeblyserum erhalten. Toussaint giebt jedoch an, dass die in seinen Sporangien entstandenen Sporen gewöhnliche Milzbrandbacillen reproduciren.

Diese Arbeit wurde auf Veranlassung des Herrn Prof. Nencki und in dessen Laboratorium ausgeführt und ich spreche für seine freundliche Hülfe ihm meinen wärmsten Dank aus.

<sup>1)</sup> Loc. cit., Taf. I, Fig. 15.

Bern, im Juli 1880.

### Erklärung der Tafel I.

Fig. 2, 3 und 4. Vermehrung der Milzbrandbacillen durch Theilung im Sauerstoffstrome.

Fig. 5. Desgleichen im Luftstrome.

Fig. 6. a. Zu Fäden ausgewachsene Bacillen im Strome ozonisirten Sauerstoffs — nach 5 Stunden. b. das gleiche Präparat nach 16stündigem Verweilen im Brütöfen.

Fig. 7. Theilung der Bacillen im Strome ozonisirter Luft.

Fig. 8. Abnorme Formen der Milzbrandbacillen im Strome ozonisirter Luft — in saurer Nährlösung. a. b. c. ist dasselbe Präparat nach 2—3 $\frac{1}{2}$  und 5 Stunden.

Fig. 9. a. Milzbrandbacillen durch zufälliges Erhitzen des Präparates auf 50° C. verändert. b. Körniger Zerfall.

Fig. 2.

374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499 500

Fig. 3.

a

b

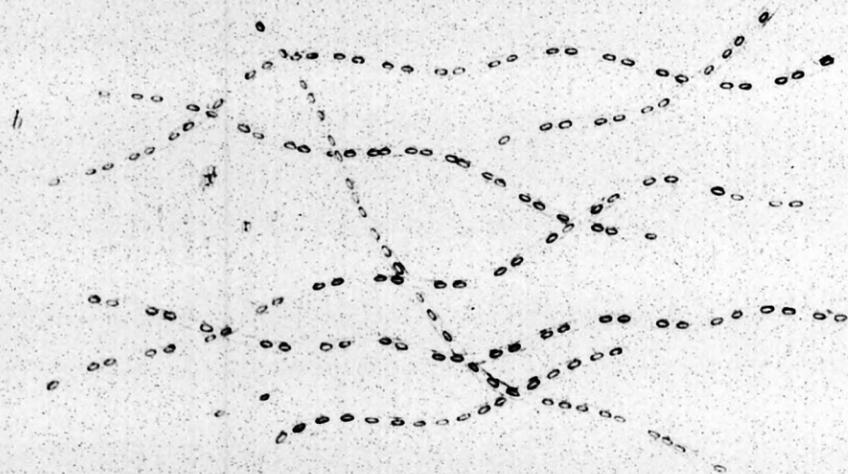
Fig. 5.

Fig. 4.

Fig. 7.

a

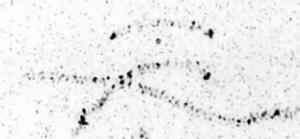
Fig. 8.



a

Fig. 9.

b



b)