

# **Thierisches Leben ohne Bakterien im Verdauungskanal.**

(III. Mittheilung). Versuche an Hühnern.

Von

**George H. F. Nuttall und H. Thierfelder.**

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 14. April 1897.)

Durch in früheren Mittheilungen<sup>1)</sup> beschriebene Versuche haben wir den Beweis erbracht, dass Thiere (Meerschweinchen) ohne Anwesenheit von Bakterien im Darm zu leben und zu wachsen vermögen. Wir haben solche bakterienfreie Thiere benutzt, um die Frage zu entscheiden, ob die aromatischen Substanzen des Harns lediglich der Eiweissfäulniss im Darm ihre Entstehung verdanken, oder ob sie auch in den Geweben gebildet werden. Sie mussten weiterhin geeignete Objecte für das Studium der Einwirkung von Reinkulturen pathogener und nicht pathogener Bakterien auf den Organismus darstellen. Für ein Experimentiren in dieser Richtung, welches sehr viele Einzelversuche erforderte, war aber offenbar unsere Methodik zu complicirt und zu unsicher. Die Vorbereitungen waren zu umständlich und kostspielig, die Pflege der Thiere erforderte zu viel Mühe und Sorgfalt, das Gelingen hing von zu viel Zufälligkeiten ab. Viel bequemere Thiere wie Meerschweinchen schienen Hühner zu sein, vor allem deshalb, weil sie spontan innerhalb des Apparates aus den Eiern auskriechen konnten und von Anfang an ohne fremde Hilfe ihre Nahrung zu sich nahmen. Wir hatten schon zu Beginn unserer Versuche an diese Thiere gedacht, aber von ihnen Abstand genommen, weil von verschiedenen Seiten angegeben wird, dass ein grosser Theil der Hühnereier inficirt ist. Wenn wir jetzt

1) Diese Zeitschrift Bd. 21 S. 109 und Bd. 22 S. 62.

trotzdem beschlossen, mit ihnen zu arbeiten, so geschah es in der Hoffnung, durch Benutzung möglichst frischer Eier und durch möglichst gründliche Sterilisation derselben vielleicht doch günstigere Resultate zu erhalten. Diese Hoffnung hat sich allerdings nicht erfüllt, trotzdem halten wir es nicht für überflüssig, unsere Erfahrungen mitzuthemen.

Es wurden folgende Vorversuche angestellt. Fünf ganz frisch gelegte Eier kamen in den Brutofen. Unmittelbar vor dem Herausschlüpfen, d. h. sobald sich in der Schale ein durch das Picken des Hühnchens entstandener Riss zeigte, befreiten wir das Thier von der Schale, tödteten es und nahmen die bakteriologische Untersuchung vor. Vom Magen- und Darminhalt, vom Dottersack, den in der Schale abgelagerten Exkrementen wurden mikroskopische Präparate und aerobe und anaerobe Gelatine- und Agarculturen angelegt. Die mikroskopische Untersuchung verlief bei allen fünf Hühnchen negativ, die Kulturen blieben bei dreien ganz steril, bei den zwei andern wuchsen nur auf den aeroben Platten einige wenige Colonien (Schimmelpilz, Mikrocooccus), aber so wenige, dass eine Verunreinigung aus der Luft angenommen werden konnte.

Diese Resultate ermuthigten uns, einen Versuch zu wagen. Der Apparat, den wir benutzten, war im Wesentlichen derselbe, welcher uns früher<sup>1)</sup> gedient hatte, nur etwas modificirt.

Der Boden, auf dem das Thier sitzen sollte, bestand nicht aus einem Drahtnetz, sondern aus einer Metallplatte und hatte eine centrale, gewöhnlich durch einen Schieber verschlossene Oeffnung, durch welche Exkremente, Futterreste und dergl. in das untere Gefäss (16)<sup>2)</sup> gestossen werden konnten. Statt des Milchkolbens waren in die Kautschukplatte die Hälse von drei Flaschen eingefügt, von denen die eine fein gehackte und sterilisirte Eier, die zweite sterilisirte Grütze und die dritte sterilisirtes Wasser enthielt. Durch besondere Vorrichtungen liess sich der Inhalt dieser Flaschen in beliebiger Menge in kleine, auf dem Boden stehende Futtergläser befördern. Durch den

<sup>1)</sup> Siehe die Abbildung in dieser Zeitschrift Bd. 21. S. 116.

<sup>2)</sup> Die Zahlen beziehen sich auf die Abbildung.

den Glockentubus verschliessenden Kautschukstopfen trat ausser dem Thermometer und den Ventilationsröhren noch ein Rohr ein, das zu einer über dem Apparat aufgehängten mit sterilem Sand gefüllten Blechbüchse führte, und durch welches trockner Sand auf den Boden als Unterlage für das Thier geleitet werden konnte. In den bis auf einen kleinen Stumpf abgeschnittenen Gummisack (21) war ein kurzer, hohler Blechcylinder eingebunden, den nach aussen ein gut passender Deckel abschloss. Die Sterilisation geschah in der früher beschriebenen Weise.

Die ganz frisch gelegten Eier wurden mit warmem Wasser abgewaschen, mit der Bürste abgerieben, mit 5 % Salzsäure und 1 ‰ Sublimat behandelt, darauf in einen Sartorius'schen Brutofen gebracht und in gewöhnlicher Weise ausgebrütet. Sie wurden täglich zweimal eine halbe Stunde abgekühlt und ebenso oft gewendet, jeden zweiten Tag mit verdünntem Sublimat besprengt. Ungefähr 12 Stunden vor der Zeit, zu der das Auskriechen der Hühnchen erwartet werden durfte, brachten wir zwei Eier nochmals in 5 % Salzsäure, darauf in 1 ‰ Sublimat und aus diesem je eines durch den in den Gummisack eingebundenen Blechcylinder hindurch in zwei für die Versuche vorbereitete Apparate, in denen eine constante Temperatur von ungefähr 37° herrschte. Die Blechcylinder wurden alsbald wieder mit ihrem Deckel verschlossen und die Fugen mit heissem Wachs ausgestrichen.

Versuch 1. Sobald die Schale angepickt war, wurde das Ei mit der Gummihand so gewendet, dass die angepickte Stelle nach oben lag. Da das Thier sich nicht von selbst herausarbeitete, entfernten wir, wieder mit der Gummihand, vorsichtig die Eischale, brachten sie in eine kleine, in den Apparat mit eingeführte Blechbüchse, verschlossen diese letztere mit ihrem Deckel und beförderten sie in den Gummisack. Das Thier machte einen durchaus behaglichen Eindruck, bewegte sich, so weit der Raum es zuliess, frass und trank ordentlich und nahm an Körperumfang zu. Am 7. Tage zeigte sich eine deutliche Zersetzung in der Flasche, welche das gehackte Ei enthielt. Verfärbung und Gasentwicklung nahmen mehr und mehr zu, so dass am 11. Tage der Versuch abgebrochen wurde.

Das Thier hatte bis zuletzt gut gefressen. Es wog 66,5 gr., das Ei hatte 52 gr. gewogen, so dass eine erhebliche Gewichtszunahme festgestellt werden konnte.

Versuch 2. Das Thier kroch spontan aus. Die Eischale wurde in derselben Weise entfernt, kleine Reste blieben auf dem Boden liegen. Auch dieser Versuch missglückte: schon nach 48 Stunden trat Zersetzung in der Eiflasche ein.

Da unsere Vorversuche gezeigt hatten, dass bei Benutzung ganz frischer Eier die meisten Hühnchen unmittelbar nach dem Auskriechen steril sind und da andererseits eine ungenügende Sterilisation unserer Apparate, speciell der Eiflaschen auszuschliessen war, vermutheten wir, dass in der Eischale befindliche Bakterien den unglücklichen Ausgang unserer Versuche verursacht hätten. Folgende Experimente bestätigten unsere Annahme.

Ein frisches Ei wurde für 4—5 Minuten in 5% Salzsäure gelegt, dann mit Alkohol und Aether abgespült und an dem stumpfen Ende mit feiner steriler Nadel durchbohrt. Jetzt klebten wir ein steriles, mit Wattebausch versehenes Glasrohr mittelst Siegelack in der Weise an das Ei an, dass das feine Loch in das Rohr hineinsah, durchbohrten das gegenüberliegende spitze Ende des Eies ebenfalls mit steriler Nadel, behandelten das Ei nochmals mit Salzsäure, Alkohol und Aether, entleerten es durch Blasen in das Glasrohr, zogen das ausgeblasene Ei schnell durch die Flamme und zertrümmerten es innerhalb eines sterile Bouillon enthaltenden Cylinderglases. Das Glasrohr mit den an ihm haftenden Resten der Eischale wurde herausgezogen, das Glas mit Watte verschlossen und in den Brutschrank gestellt. Wir setzten fünf derartige Versuche an: in allen trat Bakterienentwicklung ein, bei einem nach 24, bei zwei nach 48, bei den beiden letzten nach 72 bzw. 96 Stunden.

Waren die Bakterien von aussen her in die Schale eingewandert, so konnte man hoffen, die Eier durch eine noch energischere Behandlung mit Salzsäure und mit Sublimat keimfrei zu machen. Wir brachten deshalb eine weitere Serie von frischen Eiern nach vorausgegangenem Abbürsten für 5 Minuten in 10% sterile Salzsäure, aus dieser in Alkohol, darauf 6—10

Minuten in 5<sup>0/00</sup> Sublimat, weiter mittelst eines sterilen Löffels nach einander in 5—6 sterile 10% Salzsäure enthaltende Bechergläser, darauf in Wasser und zuletzt in sterile Bouillon. In allen 7 Versuchen entwickelten sich im Brutschrank Bakterien und zwar in zwei Versuchen nach 24 Stunden, in den übrigen nach 2, 3, 7, 9 bzw. 13 Tagen. Zwei Controllversuche, die in derselben Weise, aber mit gekochten Eiern angestellt wurden, blieben selbst nach dreiwöchigem Verweilen im Brutschrank steril. Die Salzsäure hatte sehr energisch eingewirkt, an einzelnen Stellen war die Kalkschale bis auf eine ganz dünne Lage aufgelöst. Das Sublimat war sehr tief bis auf die unter der Schale befindliche Haut eingedrungen, wie zahlreiche schwarze Flecken von Schwefelquecksilber bewiesen, welche der von den Bakterien entwickelte bzw. der in die Kulturflüssigkeit eingeleitete Schwefelwasserstoff auf der Schalenhaut hervorgerufen hatte. Offenbar war dieser Sublimatgehalt der Kalkschale die Ursache, dass die Entwicklung der Bakterien in einzelnen dieser Versuche so sehr spät eintrat, während sie in den früher beschriebenen Experimenten, bei denen kein Sublimat zur Verwendung kam, sehr viel schneller beobachtet wurde. Eine noch längere Behandlung der Eier mit Salzsäure durfte nicht gewagt werden, sie hätte die Kalkschale völlig aufgelöst und die Festigkeit der Eier zu sehr geschädigt.

Unsere Erfahrungen zwingen zu der Annahme, dass die Bakterien sich schon innerhalb des Ovidukts, bevor und während die Bildung der Kalkschale erfolgt, auf der Schalenhaut festsetzen.

Von einer Verwendung der Hühner zum Studium der eingangs erwähnten Frage musste also Abstand genommen werden. Leider scheint uns dieses Resultat zugleich einen Verzicht auf die experimentelle Inangriffnahme dieser Fragen überhaupt zu bedeuten.